

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI

UNIVERSITE DE BAMAKO

Un Peuple - Un But - Une Foi

Faculté de Médecine de Pharmacie
et d'Odonto-Stomatologie



Année Universitaire 2009-2010 Thèse N°/___/

TITRE :

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 01 /12 / /2010 devant la Faculté
de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
de l'Université de Bamako

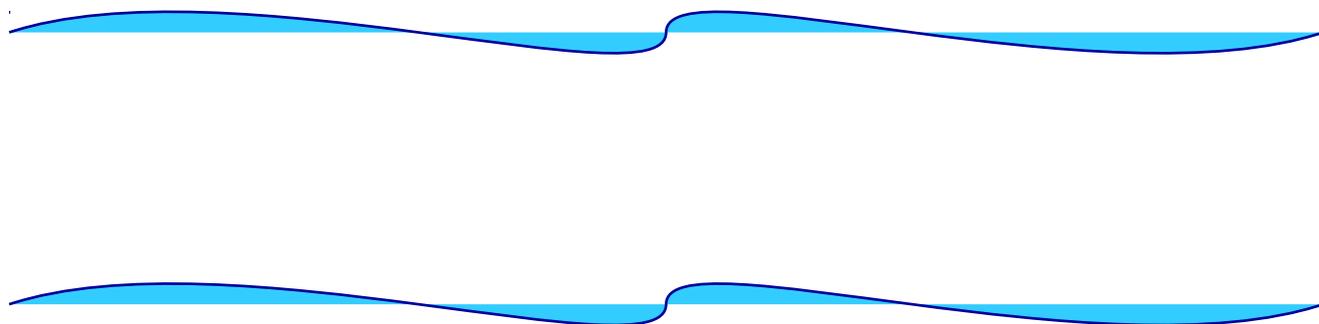
Par M. Benjamin SANOGO

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

JURY

Th

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali



Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Je dédie ce travail à **Dieu** qui nous a permis de le réaliser dans la bonne santé.

A mon père Tjitjaka Joseph SANOGO

Papa, tu nous as inculqué le sens du travail bien fait, de l'honneur, de la dignité, de la rigueur du courage, de la persévérance, de l'entraide et surtout de la discipline.

Tu nous as toujours assisté dans les épreuves difficiles, puisse ce travail soit une grande satisfaction pour toi, c'est la réalisation de l'un des profonds vœux que tu formules à l'égard de tes enfants.

Puisse Dieu t'accorder une bonne santé et longue vie

A ma mère Lucie SANOGO

Maman, c'est ici le lieu de te remercier pour les prières, les bénédictions et les sacrifices. Tu nous as assistés pendant nos épreuves préscolaire, scolaire, et estudiantine. Attentive, compréhensive, modeste, généreuse, pleine d'amour et de sérénité. Que dieu te garde longtemps parmi nous dans la santé.

Maman je t'aime.

A mes frères et sœurs Alfred, Bruno, Christiane, Mari, Mari Thérèse, Tintio Amélie, Suzanne, et Delphine

Les mots me manquent pour vous remercier du soutien que m'avez fait bénéficier durant l'accomplissement de ce travail.

Je vous souhaite beaucoup de réussite dans toutes vos entreprises.

A la famille TALL, Tonton Aguib, Tantie Djenebou, Amadou dit Dany et Moctar dit Abba

Vous êtes pour moi ma deuxième famille. Je vous remercie pour tout ce que vous avez fait pour moi depuis ma tendre enfance jusqu'à maintenant. Je vous témoigne de ma reconnaissance. Puisse Dieu vous garder longtemps en vie dans la santé. Amen.

A mon beau frère Mamadou BOUARE et sa famille

Cher beau frère je te remercie pour tes conseils et le soutien que tu m'as apporté. Je ne pourrai jamais assez te remercier, j'implore Dieu qu'il te donne pleine satisfaction dans tout ce que tu entreprends. Amen.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

A Zoé et la famille DEMBELE

Vous êtes l'incarnation de la foi chrétienne. La générosité et la jovialité que vous témoignez à l'égard des autres font de vous un être exceptionnel. Puisse le seigneur guider vos pas à jamais.

REMERCIEMENTS

A la nation malienne pour l'effort fourni pour ma formation

A tout le personnel de la pharmacie hospitalière du Point G

A mes amis d'enfance Dr Benjamin DEMBELE dit B, Michel dit Papa, Nama Abou dit Tiècoroba Yaya OUATTARA, Yacouba SISSOKO, Adama SANOGO, Daouda KONE dit Daoudi etc. Je vous dis merci pour l'amitié sincère que nous avons sue gardée.

A mes amis du quartier, Enoc dit Amono POUDIOUGOU, Fadogni DIALLO, Kizito DEMBELE, Aldiouma DOLO

A mes camarades de promotion du DMT Korotimi Karabenta dit Dada, M^{me}TOURE Bintou MAGA, Badiallo, Ramata, Fousseyni TRAORE

A mes cadets thésards du DMT et de la pharmacie hospitalière du CHU du point G

A mes aînés thésards de la pharmacie hospitalière du Point G, Aboubacar DIAMOUTENE, Siaka DEMBELE, Lassine DIALLO

A mes camarades de promotion de la pharmacie hospitalière du Point G, M^{me} TRAORE Kadia COULIBALY, Bernadette COULIBALY

A mes camarades des écoles fondamentales et secondaires.

A mes Professeurs de la FMPOS

Au personnel du Département Médecine Traditionnelle : merci pour vos conseils de tous les jours.

A mes camarades de promotion de la FMPOS

Pour ces années de travail, pour tous les moments de joie et de peine.

A tous ceux qui de près ou loin m'ont aidé à réaliser ce travail aussi le votre.

MENTION SPECIALE

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Au Professeur Drissa DIALLO pour ses conseils

Au Professeur Rokia SANOGO pour la formation reçue

Au Docteur DIAKITE Chaka chef du service clinique du DMT pour ses conseils

Aux Docteurs Sekou BAH, Seydou Moussa COULIBALY et Simaga Aichata DIAKITE pour tout l'effort qu'ils déploient pour la formation des internes de la pharmacie hospitalière du CHU du Point G

Au Docteur TOGOLA Adiaratou pour ses conseils

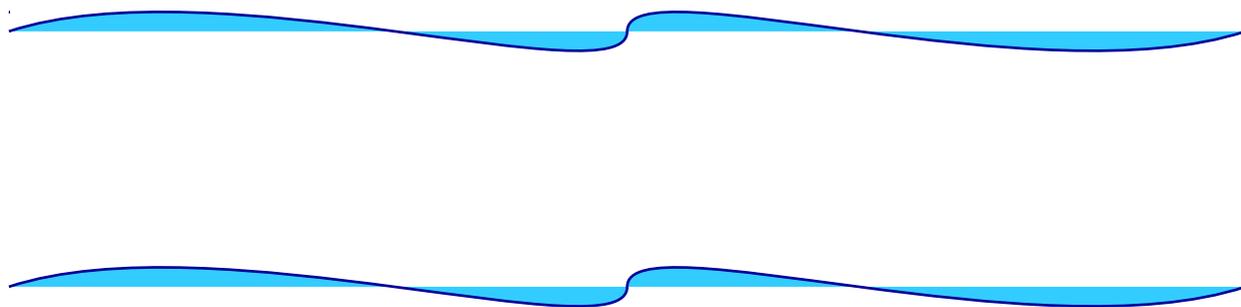
Aux Docteurs HAIDARA et DENOU du DMT pour le soutien qu'ils nous ont apporté

A tonton Fagna SANOGO, tonton Kassim, tanti Tapa du DMT pour le service et les conseils qu'ils nous ont fait bénéficier.

Au personnel de l'officine Idielydo : Dr Aldiouma, Dr Abdoulaye, Awa GUINDO, Dr GUINDO Sali KONATE, Aminata SANGARE, Amsétou TIMBO, Djeneba

Au personnel du Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) :

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali



Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

A notre Maître et Président du jury : Professeur Elimane Mariko

Professeur de pharmacologie à la FMPOS

Colonel Major de l'Armée Malienne, Chargé de mission au Ministère de la défense et des
Anciens combattants

Coordinateur de la Cellule sectorielle du VIH/SIDA au Ministère de la défense et des Anciens
combattants

Honorable maître, vous nous faites ce jour, un honneur en acceptant de juger ce travail
malgré vos multiples occupations.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude et de notre respect.

A notre Maitre et juge Docteur Arouna TOGORA

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Spécialiste en psychiatrie au CHU du point G

Maitre Assistant en psychiatrie à la FMPOS

C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail ce qui nous offre l'opportunité de vous exprimer notre profonde admiration et notre profonde gratitude. Cher maître recevez ici nos sincères remerciements.

A notre Maitre et juge Docteur Youssoufa Mamadou MAÏGA

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Spécialiste en neurologie au CHU du point G

Maitre Assistant en neurologie à la FMPOS

Formateur à l'Académie française de neurologie

Cher maitre, nous sommes flattés de vous avoir pour juger notre travail.

Votre générosité, votre disponibilité ainsi que vos qualités intellectuelles nous honorent.

Recevez ici très cher maître, l'expression de notre profonde reconnaissance et gratitude

A notre Maître et Directrice de thèse Professeur Rokia SANOGO,

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Maître de conférences Agrégé en Pharmacognosie

Enseignant Chercheur de Pharmacognosie à la FMPOS

Maitre de Recherche au Département de Médecine Traditionnelle

Votre courage, votre ponctualité, votre rigueur scientifique, votre disponibilité, votre compréhension, votre sens élevé pour le respect de la dignité humaine sont entre autres des qualités enviées de tous. Vous resterez pour nous un exemple à suivre. Vous avez accepté de diriger ce travail malgré vos multiples occupations. Les mots nous manquent pour vous remercier. Cher maître recevez ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre Maitre et Co-directeur de thèse Docteur Sekou BAH

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Maitre Assistant de Pharmacologie à la FMPOS

Pharmacologue à la Pharmacie Hospitalière du CHU du Point G

Titulaire d'un Master en Santé Communautaire Internationale

Membre du Comité Technique de Pharmacovigilance du Ministère de la Santé

Votre abord facile, votre simplicité, vos qualités scientifiques sont pour nous une source
d'inspiration. Les mots ne sauront exprimer la gratitude que nous nourrissons à votre égard.

Cher maitre recevez ici notre sincère remerciement.

Sommaires

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Introduction	1
Objectifs	3
Généralités	
Les crises d'épilepsie.....	6
Traitements des épilepsies.....	15
Epilepsies et conceptions traditionnelles africaines.....	24
Les méthodes d'études des anticonvulsivants.....	26
Rappel sur les antioxydants.....	35
Méthodes d'études des antioxydants.....	38
Monographies	
Pteleopsis suberosa.....	40
Flueggea virosa.....	44
Méthodologie	
Etude phytochimique.....	50
Dosage.....	57
Activités biologiques.....	64
Résultats	68
Analyses et discussion	83
Conclusion	88
Recommandations	90
Annexes.....	92
Références bibliographiques	95

Liste des tableaux

Tableau I : classification internationale des crises épileptiques.....	7
Tableau II : Rubriques de la classification internationale des épilepsies et syndromes épileptiques.....	10
Tableau III : Teneurs en eau, en cendre et l'indice de mousse des feuilles, écorces de tronc et de racines de <i>P. suberosa</i> et les feuilles de <i>S.virosa</i>	69
Tableau IV : rendements et aspects des différents extraits.....	70
Tableau V : Extraction par les solvants à polarité croissante.....	71
Tableau VI : Extraits méthanoliques.....	72
Tableau VII : Résultat réaction de caractérisation en tubes.....	73
Tableau VIII : Résultats de la CCM des extraits butanoliques de nos échantillons.....	75
Tableau IX : Résultats de la CCM des extraits aqueux et hydroalcooliques de nos échantillons.....	77
Tableau X : Activité anti-convulsivante des extraits aqueux des écorces de racine et de tronc de <i>Pteleopsis suberosa</i> : temps de latence ; nombre de convulsions	81
Tableau XI : Activité anti-convulsivante des extraits aqueux des écorces de racine et de tronc de <i>Pteleopsis suberosa</i> : Mortalité, nombre de crises et pourcentage de protection contre les crises par rapport au groupe témoins.....	82

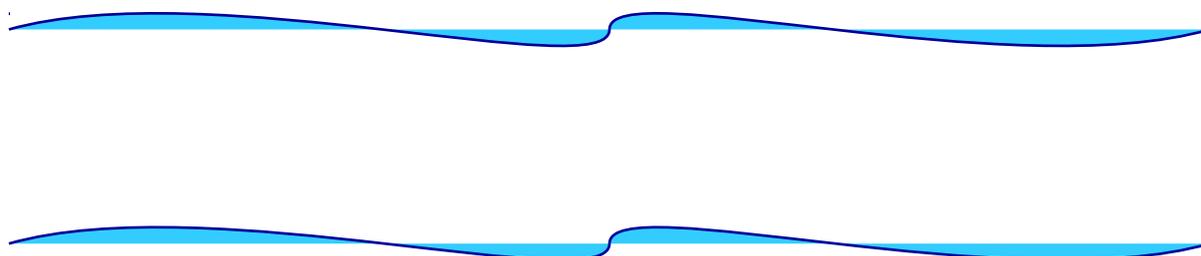
Liste des figures et des photos

Figure 1 : Schéma d'extraction par décoction.....	60
Figure 2 : Schéma d'extraction par infusion à l'eau.....	61
Figure 3 : Schéma d'extraction par l'éthanol à 70%.....	61
Figure 4 : Schéma d'extraction par les solvants à polarité croissante.....	64
Figure 5 : CCM des extraits butanolique.....	74
Figure 6 : Chromatogramme des extraits aqueux et hydroalcooliques.....	76
Figure 7 : Chromatogramme extrait méthanolique.....	78
Figure 8 : Chromatogramme des extraits aqueux de <i>P.suberosa</i> , <i>S.virosa</i> révélé avec la solution de DPPH	79
Figure 9 : Résultats de la fixation des extraits de <i>B. aegyptiaca</i> , <i>F. virosa</i> et <i>P. suberosa</i> au récepteur GABA _A -benzodiazépines.....	80
Photo1 : <i>Pteleopsis suberosa</i>	40
Photo 2 : <i>Flueggea virosa</i>	44

Sigles et abréviations

AcOEt :	acétate d'éthyle
AE:	antiépileptique
AND:	acide désoxyribonucleique
BAW :	butanol-acetic acid-water
BZD:	benzodiazépines
CCM:	chromatographie sur couche mince
CHCl ₃ :	chloroforme
DCM :	dichlorométhane
DMT :	département médecine traditionnelle
EEG :	électroencéphalogramme
ESM :	effet sensibilisant de membrane
EtOH :	éthanol
FeCl ₃ :	chlorure ferrique
FMPOS :	faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie
GABA :	gamma amino butyric acid
g :	gramme
HCl :	acide chlorhydrique
INRSP :	instituteur national de recherches en santé publique
Ip :	intrapéritoneal
M :	molaire
mA :	milliampère
m :	mètre
MeOH :	méthanol
mg :	milligramme
ml :	millilitre
mn :	minute
mm :	millimètre
nm :	nanomètre
Rf :	facteur de rétention (rapport frontal)
s	seconde
sc :	sous cutané
SNC :	système nerveux centrale

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali



INTRODUCTION

La médecine traditionnelle est un réservoir de connaissances, de philosophie et de cosmogonie encore substantiellement inexploité, elle offre des possibilités de traitements efficaces et accessibles pour les pathologies prévalant dans les communautés, constitue aussi un héritage culturel national et un moyen de relier les populations à leur propre histoire et à leur propre culture¹.

L'OMS estime que 80% de la population des pays à revenu faible ou moyen comptent en premier lieu sur la médecine traditionnelle pour les soins primaires. Bien que l'on ne connaisse pas le nombre exact des tradipraticiens de santé dans la plupart des pays, ils forment un groupe de praticiens important que les communautés respectives reconnaissent, auxquels elles font confiance et qu'elles respectent¹.

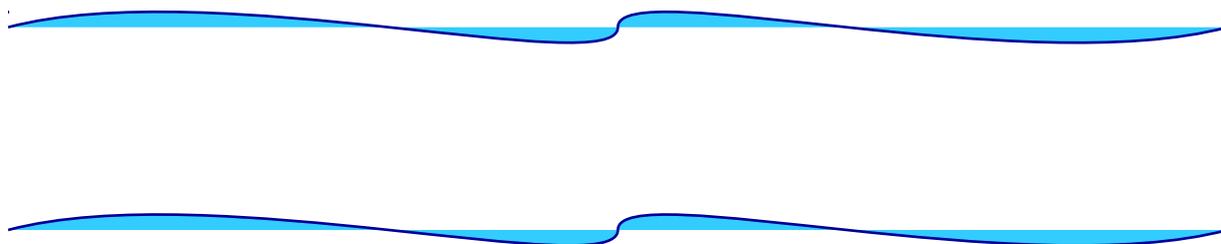
L'épilepsie, une des affections neurologiques chroniques les plus fréquentes, constitue un problème majeur de santé publique. Certains médicaments conventionnels utilisés dans le traitement de l'épilepsie comme l'acide valproïque sont chers et difficilement accessibles aux populations des pays en voie de développement².

De même certains sont souvent à l'origine de beaucoup d'interactions médicamenteuses².

La médecine traditionnelle pourrait être un moyen pour prendre en charge certains patients épileptiques.

Au Mali pour traiter l'épilepsie on compte principalement sur la médecine traditionnelle. Cela à cause du coût des médicaments conventionnels et aussi pour lutter contre la stigmatisation et économiser le temps. Le recours à la médecine conventionnelle se fait généralement après que la médecine traditionnelle ait échoué. Malgré un large usage de plantes pour le traitement des maladies au Mali, il y a peu de données publiées sur l'évaluation ethno-pharmacologiques des plantes utilisées contre l'épilepsie et les états de convulsions au Mali³.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali



Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Objectifs

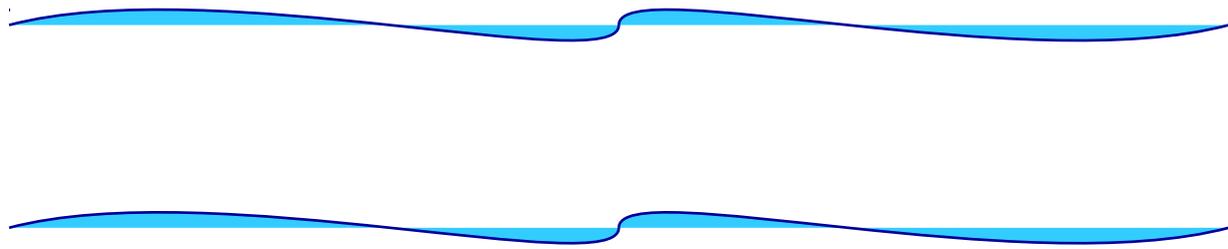
▯ **Objectif général**

Etudier les activités biologiques de deux (02) plantes médicinales maliennes.

▯ **Objectifs spécifiques**

1. Caractériser les principaux groupes chimiques présents dans les différents organes des deux plantes de la médecine traditionnelle du Mali
2. Evaluer l'activité antioxydante des extraits des deux plantes.
3. Déterminer le taux de fixation des extraits des deux plantes sur le complexe de récepteur GABA_A- benzodiazépine
4. Evaluer les propriétés anticonvulsivantes des extraits des deux plantes in vivo

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali



Les crises d'épilepsie 2

1. Définition

Les crises d'épilepsie sont des manifestations cliniques paroxystiques motrices, sensitives, sensorielles ou psychiques, accompagnées ou non d'une perte de connaissance, liées à une décharge anormale, excessive et hypersynchrone d'une population plus ou moins étendue de neurones du cortex cérébral.

La maladie épileptique (l'épilepsie au sens large) est définie par la répétition, chez un même sujet, de crises épileptiques spontanées.

Une crise épileptique unique ou la répétition dans le cadre d'une affection cérébrale aiguë, de crises épileptiques, ne constituent donc pas une maladie épileptique. Il s'agit simplement de crises «accidentelles», accompagnant un dysfonctionnement transitoire et réversible du système nerveux central.

Bien que les données électroencéphalographiques (EEG) soient d'importance capitale dans le diagnostic des crises épileptiques, en aucun cas le diagnostic ne sera se porté sur ces seules données : il n'ya pas d'épilepsie sans crise clinique.

2. Epidémiologie

L'épilepsie, une des affections neurologiques chroniques les plus fréquentes, constitue un problème majeur de santé publique.

L'épilepsie est considérée comme un problème important de santé publique en Afrique. La prévalence de l'épilepsie est plus élevée dans les pays en voie de développement que dans les pays développés, bien que dans les pays en voie de développement avec de faibles revenus, beaucoup de facteurs favorisants puissent être prévenus.

La prévalence et l'incidence de l'épilepsie dans les zones rurales et périurbaines sont généralement plus élevées que dans les villes. Au Mali la prévalence de la maladie était de 15,6 pour 1000 et 11,3 pour 1000 respectivement pour la zone rurale et pour la ville [4].

L'incidence globale de l'épilepsie varie selon les études entre $17,3 \cdot 10^5$ hab. an et $136 \cdot 10^5$ hab. an.

Le ratio standardisé de mortalité chez les patients épileptiques est de 2 à 3 fois supérieur à celui de la population générale. Le décès peut être en relation directe avec l'étiologie de l'épilepsie (alcoolisme, tumeur, affection dégénérative) ou survenir accidentellement au cours d'une crise : état de mal épileptique, inhalation, asphyxie, traumatisme crânien secondaire, noyade... Les patients présentant une épilepsie à crises tonico-cloniques semblent les plus exposés.

3. Classification

La classification internationale des crises épileptiques (1981) distingue, sur la concordance des critères cliniques et EEG, trois groupes principaux : les crises généralisées, les crises partielles et les crises inclassables.

Une telle classification permet d'utiliser des termes précis, de ne plus confondre la description des crises et celles des épilepsies et d'éviter la persistance de concepts obsolètes («absences temporales», «crise psychomotrice») dont l'emploi est source de confusion.

Tableau.1 Classification internationale des crises épileptiques

Crises généralisées

- Absences
 - absences
 - absences atypiques
- Crises myocloniques
- Crises cloniques
- Crises toniques
- Crises tonico-cloniques
- Crises atoniques

Crises partielles

- Crises partielles simples
 - avec signes moteurs
 - avec signes somatosensitifs ou sensoriels
 - avec signes végétatifs
 - avec signes psychiques
- Crises partielles complexes
 - début partiel simple suivi de troubles de la conscience et/ou d'automatismes
 - avec de la conscience dès le début de la crise, accompagnée ou non d'automatismes
- Crises partielles secondairement généralisés
 - crises partielles simples secondairement généralisées
 - crises partielles complexes secondairement généralisées
 - crises partielles simples évoluant vers une crise partielle complexe vers une généralisation secondaire

Crises non classées

3.1. Crises généralisées

Dans les crises généralisées, la décharge paroxystique est d'emblée propagée aux deux hémisphères, et semble de ce fait intéresser simultanément l'ensemble du cortex cérébral. Les caractéristiques cliniques de ces crises ne comportent donc aucun signe pouvant les rattacher à un système anatomique fonctionnel localisé dans des deux hémisphères. Les manifestations motrices, lorsqu'elles existent, sont d'emblée bilatérales et symétriques. Les manifestations EEG critiques sont caractérisées par des décharges de pointes, polypointes, pointes-ondes, ou polypointes-ondes bilatérales, synchrones et symétriques sur les deux hémisphères.

3.2. Crises partielles

Dans les crises partielles ou focales, la décharge paroxystique intéresse normalement un secteur limité des structures corticales, la zone épileptogène. Cette zone est constituée par une population neuronale confinée à une partie d'un seul hémisphère. Les premiers signes cliniques de la crise (« signal-symptôme » de Jackson) sont donc d'une valeur locomotrice, car ils traduisent la désorganisation de la zone épileptogène et/ou de structures très proches

La sémiologie des crises partielles dépend des caractéristiques anatomo-fonctionnelles des réseaux de la décharge critique à partir de la zone épileptogène, constitués par les différentes structures recrutées par la propagation de la décharge critique à partir de la zone épileptogène. La désorganisation séquentielle de ces structures est responsable de formules sémiologiques extrêmement variées d'un patient à l'autre, mais remarquablement fixes d'une crise à l'autre chez un même patient, pour autant que la zone épileptogène soit unique. La sémiologie finale de la crise est produite par la succession et par l'intégration spatio-temporelle d'un certain nombre de signes cliniques élémentaires, positifs et inhibiteurs. La désorganisation critique d'un réseau épileptogène n'est jamais physiologique, ce qui explique le caractère dyspraxique et les simulacres de comportements rencontrés dans certaines crises à sémiologie élaborée.

Les manifestations EEG des crises partielles sont unilatérales et focales, au moins au tout début de crise. La décharge peut rester focale, se propager à une partie ou la totalité d'un hémisphère, voire embraser l'ensemble des deux hémisphères, provoquant une généralisation secondaire.

L'appréciation du niveau de la conscience est donc le critère fondamental permettant de différencier les deux types de crises partielles. Dans cette perspective, la conscience peut être définie comme la « qualité de réponse aux stimuli de l'environnement » et comme «

possibilité de garder le souvenir des éléments intérieurs et extérieurs survenus pendant la crise
»

L'appréciation du niveau du niveau de conscience peut s'avérer difficile en pratique, particulièrement dans les crises de très brève durée, dans certaines crises partielles à symptomatologie psychique et chez certains patients (très jeunes enfants par exemple). Le terme moins spécifique de « perturbation du contact » est préféré par certains auteurs, encore que dans certaines situations, il puisse être difficile de classer une crise durant laquelle le contact reste préservé mais le contenu n'est pas mémorisé par le patient.

Par ailleurs, l'existence d'un trouble de la conscience n'a pas en soi de valeur localisatrice. Ce signe reflète en le caractère étendu de la décharge critique. En conséquence, on peut s'interroger sur l'intérêt d'une distinction entre crises partielles « simples » et « complexes », distinction qui ne préjuge en rien de l'origine et de la propagation de la décharge épileptique.

Afin de résoudre ces problèmes, un nouveau système de classification, basé uniquement sur la sémiologie des crises, s'affranchissant des termes « simple » et « complexe » et séparant clairement crises et syndromes épileptiques est en cours de discussion au sein de la ligue internationale contre l'épilepsie.

3.3. Crises inclassables

Certaines crises restent inclassables, soit par l'absence de renseignements cliniques suffisants (certaines crises convulsives nocturnes par exemple), soit en raison d'une sémiologie déroutante (certaines crises néonatales par exemple).

3.4. Classification syndromique des épilepsies

Principe

La classification syndromique des épilepsies (CSE), repose sur le concept de syndrome épileptique, défini par le « groupement d'un certain nombre de symptômes et des signes apparaissant ensemble d'une manière constante et non fortuite ».1 Ces symptômes diversement associés selon le cas, correspondent :

- aux différents types de crises, caractérisés par leur topographie, leur phénoménologie, leur sévérité, leur récurrence ;
- au contexte clinique dans lequel s'inscrit l'épilepsie : âge de début, antécédents familiaux et personnels, histoire clinique ;
- aux manifestations neurologiques et extra-neurologiques associées à l'épilepsie ;
- aux données EEG critiques et intercritiques ;

- aux données de l'imagerie.

Les bases de la CSE sont constituées par deux axes, symptomatologique et étiopathogénique (tableau)

L'axe symptomatologique distingue, comme pour la classification des crises

Tableau II : Rubriques de la classification internationale des épilepsies et syndromes épileptiques

Epilepsies et syndromes épileptiques focaux

- Idiopathiques
- Symptomatiques
- Cryptogéniques

Epilepsies et syndromes épileptiques généralisés

- Idiopathiques
- Cryptogéniques et/ ou symptomatiques
- Symptomatiques
 - Sans étiologie spécifique
 - Syndromes spécifiques

Epilepsie dont le caractère focal ou généralisé n'est pas déterminé

- Avec association de crises généralisées et partielles
- Sans caractères généralisés ou focaux certains

Syndromes spéciaux

- Crises occasionnelles, liées à une situation épileptogène transitoire
- Crise isolée, état de mal isolé

- les épilepsies généralisées dans lesquelles toutes les crises sont de type généralisé. Les manifestations motrices, lorsqu'elles existent sont d'emblée bilatérales par des décharges de pointes, pointes-ondes, ou polypointes-ondes bilatérales et symétriques ;

- les épilepsies partielles ou focales dans lesquelles les crises naissent d'un secteur limité de structures corticales : la zone épileptogène. Bien qu'une généralisation secondaire soit possible, les manifestations cliniques initiales renvoient à la désorganisation d'un réseau neuronal topographiquement circonscrit à une partie d'un seul hémisphère. De même, les manifestations EEG critiques sont unilatérales et focales, au moins en tout début de crise.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

L'axe étiopathogénique distingue :

- les épilepsies idiopathiques, qui surviennent indépendamment de toute lésion cérébrale. Le facteur étiologique principal est représenté par prédisposition génétique réelle ou présumée ;
- les épilepsies symptomatiques, qui résultent d'une lésion structurelle diffuse ou focale, évolutive ou fixée, du système nerveux central. Cette lésion peut être objectivée directement par les explorations neuroradiologiques. Le cas échéant, un déficit neurologiques ou une anomalie biologique témoignent de sa présence ;
- les épilepsies cryptogéniques (dont la cause est cachée) sont présumées symptomatiques d'une cause occulte qui échappe à nos moyens d'investigation (anamnestiques, cliniques ou paracliniques). Cette catégorie inclut les épilepsies survenant en dehors de toute lésion cérébrale prouvée mais ne correspondant pas aux critères des épilepsies idiopathiques. Il peut s'agir d'une catégorie d'attente, certaines lésions pouvant faire tardivement leur preuve : une épilepsie «cryptogéniques» parce que la tomographie est normale peut s'avérer «asymptomatique» sur les données de l'imagerie par résonance magnétique.

Sont ainsi définis par la conjonction des deux axes, symptomatologique et étiopathogénique, les épilepsies et syndromes en relation avec une localisation (focaux, partiels), qui peuvent être idiopathiques, cryptogéniques ou symptomatiques ; les épilepsies et syndromes épileptiques généralisés (idiopathiques, cryptogéniques ou symptomatiques), les épilepsies et syndromes dont la nature focale ou généralisée n'est pas déterminée (soit par association de différents types de crises soit par insuffisance de renseignements et les syndromes spéciaux.

Epilepsies et syndromes épileptiques partiels

Dans les épilepsies partielles, la sémiologie clinique critique et / ou les résultats des examens complémentaires mettent en évidence l'origine focale des crises. Dès lors, l'épilepsie sera classée, en fonction des facteurs étiopathogénique retenus, dans l'une des trois rubriques classiques : idiopathique, cryptogéniques ou symptomatique.

Epilepsies et syndromes épileptiques partiels

Dans les épilepsies partielles, la sémiologie clinique critique et / ou les résultats des examens complémentaires mettent en évidence l'origine focale des crises. Dès lors, l'épilepsie sera classée, en fonction des facteurs étiopathogéniques retenus, dans l'une des trois rubriques classiques : idiopathique, cryptogénique ou symptomatique.

Epilepsies partielles idiopathiques

Les partielles idiopathiques (EPI) représentent numériquement un des groupes les plus importants des épilepsies de l'enfant.

Les EPI sont des syndromes âge-dépendants caractérisés par l'absence de déficit neurologique ou intellectuel. De même, il n'existe pas de lésion cérébrale démontrable sur les examens neuroradiologiques. Dès lors, une prédisposition génétique réelle ou présumée est le seul facteur étiopathogénique retrouvé. Des antécédents familiaux d'épilepsie, en particulier idiopathique, sont fréquents. Les crises, habituellement brèves et rares, sont quelquefois fréquentes en début d'évolution. L'EEG comporte une activité de fond et une organisation du sommeil normal. Les anomalies focales peuvent avoir une morphologie évocatrice et sont augmentées pendant le sommeil. La réponse thérapeutique est habituellement de bonne qualité, bien que le caractère constamment bénin de certaines EPI semble actuellement remis en question.

Epilepsie partielle bénigne à pointes centrotemporales, ou épilepsie à paroxysmes rolandiques

L'épilepsie partielle bénigne à pointes centrotemporales, ou épilepsie à paroxysmes rolandiques (EPR) est la plus caractéristique des EPI et la plus fréquente des épilepsies de l'enfant. L'âge de début est compris entre 3 et 13 ans. Il est de 9,9 ans en moyenne, avec une légère prédominance masculine. Le pronostic est excellent et la guérison est de règle autour de la puberté.

Les crises, cloniques, somatomotrices ou tonico-cloniques, impliquent l'hémiface et la région bucco-pharyngo-laryngée. Elles sont typiquement en rapport avec le sommeil et sont

responsables d'une anarthrie avec conservation de la conscience. Elles peuvent s'étendre au membre supérieur homolatéral, ou se généraliser secondairement. Les parents sont réveillés par des bruits vocaux à type de grognements ou de gargouillements, liés à l'anarthrie et à l'hypersalivation. Une composante somatosensitive avec paresthésies unilatérales dans les mêmes territoires est fréquente.

L'EEG intercritique montre des pointes centrotemporales lentes, biphasiques et de haut voltage qui augmentent en fréquence à l'endormissement et à tous les stades de sommeil où elles tendent à devenir bilatérales. Un enregistrement de sieste est donc indispensable lorsque le diagnostic est suspecté et que les tracés de veille ne sont pas concluants.

La rareté des crises, leur brièveté, leur caractère habituellement nocturne peuvent permettre une abstention thérapeutique. Dans les cas où un traitement est indiqué, il doit être conduit en monothérapie exclusive. La persistance des anomalies EEG après environ deux ans de traitement n'est pas une contre-indication formelle à un essai d'arrêt des médicaments.

Epilepsie partielle bénigne de l'enfant à paroxysmes occipitaux

Contrairement à l'EPR, la nosographie de l'épilepsie partielle de l'enfant à paroxysmes occipitaux (EPBEPO) est toujours discutée.

Selon la description princeps de Gastaut, les crises sont initialement caractérisées par des symptômes visuels : illusions, hallucinations élémentaires, amaurose critique, qui évoluent souvent vers des crises hémicloniques, des crises partielles complexes avec automatismes ou des crises secondairement généralisées. Une céphalée post-critique de type migraineux est retrouvée dans un quart des cas. L'EEG intercritique est caractérisé par une activité de fond normale et par des pointes ou pointes-ondes occipitales ou bilatérales, de haut voltage, qui surviennent seulement lorsque les yeux sont fermés et disparaissent lors des ouvertures oculaires.

Des travaux plus récents ont confirmé cette forme classique et individualisé une autre forme électronique, caractérisée par un début plus précoce et des crises essentiellement motrices s'accompagnant d'un trouble de la conscience et de vomissements, les phénomènes visuels pouvant manquer.

4. Diagnostic positif des crises épileptiques

Le diagnostic positif de crise épileptique doit être évoqué devant la survenue brutale et inopinée d'un événement clinique bref dont les différentes séquences semblent s'enchaîner selon une progression logique et se reproduisent de façon stéréotypée d'un épisode à l'autre

chez un même patient. Lorsque la conscience n'est pas abolie pendant la crise, le diagnostic repose sur la description des phénomènes cliniques par le patient. Lorsque conscience est abolie pendant la crise, le diagnostic repose presque exclusivement sur la fiabilité des données recueillies auprès des témoins de l'épisode.

L'observation directe des crises est évidemment une situation privilégiée, rare en pratique courante.

Les meilleurs signes en faveur d'une crise généralisée convulsive sont la présence d'un stertor, d'une obnubilation post-critique et une morsure latérale de la langue. Ce dernier signe est cependant inconstant. Une asthénie intense, des courbatures musculaires sont également évocatrices. Une perte d'urine n'est ni constante ni spécifique.

Une amnésie totale couvrant une période isolée de rupture du contact oriente soit vers une absence, soit vers une crise partielle complexe. Dans la première situation, début et fin des manifestations sont brutales. Dans la seconde, l'altération du contact est souvent de plus longue durée et il existe habituellement un retour progressif à un état de conscience normal.

- **L'électroencéphalogramme (EEG)**

L'EEG est l'enregistrement de l'activité électrique du cortex cérébral à l'aide d'électrodes posées sur le cuir chevelu. C'est un examen indolore et sans danger puisque aucun courant électrique n'est envoyé vers le patient. Il joue un rôle important dans l'étude de l'[épilepsie](#) car cette maladie correspond à la production par le cortex cérébral d'une activité électrique anormale très typique.

L'enregistrement de cette activité électrique et son analyse permettent d'aider le médecin à poser le diagnostic d'épilepsie. Cet enregistrement a évidemment toujours lieu entre les crises. Il faudrait évidemment une grande chance pour que le patient fasse justement une crise durant l'enregistrement EEG qui dure 20 minutes en moyenne.

L'électroencéphalogramme (EEG) est donc un examen capital dans le processus diagnostique. Il permet, dans une certaine mesure, de confirmer ou d'infirmer la suspicion clinique d'épilepsie, et de préciser souvent le type d'épilepsie dont souffre le patient, ce qui aura des répercussions sur le choix du [traitement](#). Cependant, il présente des limites qui rendent importants l'histoire du patient et... l'expérience du médecin.

Dans certains cas de diagnostic difficile, on a recours à un enregistrement vidéo couplé à l'EEG, en continu, durant quelques jours. Cet examen a l'avantage de permettre l'enregistrement des crises.

Traitements des épilepsies

Les deux impératifs du traitement antiépileptique sont le contrôle complet des crises et l'absence de l'absence d'effet indésirable. Une démarche thérapeutique rationnelle s'appuie sur une connaissance de la pharmacologie des médicaments antiépileptiques, dont le nombre s'est sensiblement accru ces dernières années. Les choix thérapeutiques dépendent d'une évaluation diagnostique précise du type de crise et, si possible, du type de syndrome épileptique en cause. Ils dépendent également du profil psychologique et de la condition médico-sociale du patient. L'échec du traitement médical pourra parfois faire envisager un traitement chirurgical.

- Quatre molécules classiques sont considérées comme des antiépileptiques majeurs, du fait de leur large spectre d'activité et de leur large diffusion. En France les deux plus anciens, le phénobarbital (PB, Gardéнал, Alepsal, Kaneuron) et la phénytoïne (PTH, Di-hydan) ont tendance à être progressivement supplantés par la carbamazépine (CBZ, Tégréтол) et par le valproate de sodium (VPA, Dépakine)

- Phénytoïne

La phénytoïne (PTH, Di-hydan) possède un large spectre d'activité antiépileptique s'étendant des crises partielles aux crises secondairement généralisées. Elle est inefficace dans les absences typiques, qu'elle semble même pouvoir aggraver. En raison de ses effets sédatifs peu marqués, la PTH en préparation injectable (Dilatin, Prodilatin) est un médicament dans le traitement des états de mal épileptiques.

Malgré son efficacité, l'utilisation en première intention de la PTH dans le traitement au long cours des épilepsies n'est pas conseillée. En effet la cinétique du médicament, non linéaire, se caractérise par une marge thérapeutique étroite. De ce fait, la PHT est un antiépileptique peu maniable : à partir d'un certain seuil, l'augmentation minimale de la dose administrée provoque une brutale élévation du taux plasmatique, entraînant des signes d'intoxication, inaugurés par un nystagmus, puis par des signes cérébello-vestibulaire. L'ajustement des doses nécessite habituellement de répéter les dosages plasmatiques. A moyen terme, la PTH a des effets cosmétologiques marqués, caractérisés par une hypertrophie gingivale, un épaissement des traits du visage, un hirsutisme, une hyperséborrhée, une acné. A long terme, les effets délétères sur la fonction cérébelleuse sont certains.

La posologie est de 5 à 8 mg/kg/jour chez l'enfant et de 3 à 5 mg/kg/jour chez l'adulte, soit 250 à 350 mg/jour. La dose totale journalière peut être d'emblée, en une ou deux prises. Des

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

dosages plasmatiques toutes les 3 semaines pendant les 3 premiers mois doivent être effectuées afin de dépister un surdosage précoce.

- **Carbamazépine**

La carbamazépine (CBZ, TégrétoL, TégrétoL LP), synthétisée en 1961, possède un large spectre d'activité antiépileptique s'étendant des crises partielles aux crises secondairement généralisées. C'est un médicament de choix dans le traitement des crises partielles, en raison de son efficacité, de sa bonne tolérance clinique et de l'absence de perturbation des fonctions cognitives lors des traitements au long cours. Elle est déconseillée dans les épilepsies généralisées idiopathiques, car elle peut aggraver les absences typiques et les myoclonies. L'introduction de nouvelles formes galéniques à libération prolongée permet de limiter le nombre de prises quotidiennes à deux.

Lors de la mise en route du traitement, une éruption érythémateuse et prurigineuse survient dans 2 à 5 % des cas et impose en règle l'arrêt du traitement. Une sensation de malaise général, liée à un surdosage transitoire, avec des nausées, diplopie, asthénie, difficultés de concentration, est pratiquement constante lorsque l'ascension posologique a été trop rapide.

La carbamazépine a des effets inducteurs enzymatiques marqués. La contraception orale est de ce fait aléatoire. Une leuconéutropénie modérée est fréquente lors des traitements chroniques à la CBZ. Une hyponatrémie est plus rare. Ces anomalies biologiques restent le plus souvent sans traduction clinique. La posologie est de 20 à 25 mg/kg/jour chez l'enfant, sous forme de solution buvable dosée à 100 mg pour 5 ml. En deux ou trois prises, ou sous forme de comprimés à effet prolongé dosés à 200 ou 400 mg en deux prises. Le traitement doit être introduit progressivement, avec une posologie initiale de 100 à 200 mg, puis une augmentation de 100 mg par semaine.

- **Valproate**

Le valproate (VPA), sel sodique de l'acide dipropylacétique ou acide valproïque ou valproate de sodium (Dépakine, Dépakine Chrono), synthétisé dès 1882, est un solvant organique dont les propriétés antiépileptiques ont été découvertes par hasard en 1963. Il s'agit d'un antiépileptique à très large spectre, actif sur tous les types de crises. Son efficacité est remarquable dans les épilepsies généralisées idiopathiques qui constituent son indication privilégiée. Son efficacité dans les épilepsies partielles est démontrée. Elle est probablement comparable à celle des produits de référence dans ce domaine (PTH, CBZ).

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

La tolérance du VPA est la plus excellente. Lors d'une administration chronique, l'altération des fonctions cognitives est nulle ou très minime. La molécule se comporte, à l'inverse du PB, de la PHT et de la CBZ, comme un inhibiteur enzymatique. Les formes galéniques à libération prolongée peuvent autoriser une seule prise quotidienne.

Les inconvénients du VPA comprennent une prise de poids par effet orexigène, un tremblement d'attitude dose-dépendant et une alopécie partielle, inconstante et réversible. Les hépatopathies graves sont désormais exceptionnelles et être prévenues par un diagnostic précoce. Les signes d'appel comportent des troubles digestifs, une recrudescence des crises et des modifications des paramètres hépatiques. Une hyperammoniémie modérée est constante mais rarement symptomatique chez les sujets à fonction hépatique normale.

La posologie usuelle est de 30 mg/kg/jour chez le petit enfant, sous forme de solution buvable à 200 mg par ml ou de sirop à 200 mg par cuillère-mesure en deux prises, et de 15 à 20 mg/kg/jour chez l'enfant plus âgé et l'adulte, sous de comprimés à action prolongée dosés à 500 mg, soit 1000 mg à 1500 mg par jour en une ou deux prises. Le traitement doit être introduit progressivement, avec une posologie initiale de 250 à 500 mg, puis une augmentation de 250 à 500 mg par semaine.

- Les nouvelles molécules antiépileptiques (GVG, FBM, GBP, LTG, TPM, TGB) présentent un certain nombre de caractéristiques communes. Leurs indications principales sont représentées par les patients mal contrôlés par les molécules antiépileptiques classiques ou qui présentent une intolérance à ces molécules.

- Vigabatrin

Le vigabatrin ou gamma-vinyl-GABA (GVG, Sabril) est un inhibiteur irréversible de la GABA-transaminase et élève ainsi le taux intracérébraux de GABA, principal neuromédiateur inhibiteur du système nerveux central. L'inhibition étant irréversible, la durée d'action du GVG est prolongée, ce qui autorise une monoprise quotidienne et rend inutile le dosage plasmatique. Les interactions médicamenteuses sont limitées à une baisse modérée des taux de PTH.

Une indication privilégiée du GVG est représentée par le traitement des spasmes du syndrome de West, où le GVG peut être prescrit en monothérapie de première intention. Sinon, le GVG est indiqué en thérapeutique additive dans les épilepsies partielles, lorsque toutes les associations thérapeutiques appropriées se sont révélées idiopathiques comportant des absences typiques et des myoclonies, qu'il pouvait aggraver.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Le GVG est en règle bien toléré. Une psychose aiguë réversible doses-dépendants comportent une asthénie, fréquente en début de traitement mais transitoire, et un effet orexigène. Récemment, des rétrécissements concentriques du champ visuel (RCCV), en règle asymptomatiques, ont été mis en évidence chez environ un tiers des patients traités au long cours par le GVG. Bien que l'imputabilité du GVG ne semble exclusive dans la survenue de ces RCCV, le législateur impose désormais la pratique d'une périmétrie visuelle statique ou cinétique préalable à l'instauration du traitement, périmétrie qui sera régulièrement répétée tous les trois mois. L'apparition d'un CRV capmimétrique devra faire envisager un arrêt progressif du médicament.

La dose utile est de 40 à 80 mg/kg/jour chez l'enfant, en utilisant préférentiellement les sachets de poudre à dissoudre dosés à 500 mg, et de 20 à 55 mg/kg/jour chez l'adulte, soit 1500 à 4000 mg (3 à 8 comprimés à 500 mg) en une ou deux prises. Le traitement doit être introduit progressivement, avec une posologie initiale de 500 mg, puis une augmentation de 500 mg par semaine.

- **Felbamate**

Le Felbamate (FBH, Taloxa) a été synthétisé à partir de la famille des carbamates. Son absorption est rapide et sa biodisponibilité élevée. C'est un inhibiteur enzymatique puissant qui subit les actions métaboliques des autres médicaments antiépileptiques et augmente les taux plasmatiques de PHT, CBZ et VPA. Ses mécanismes d'action sont multiples et son efficacité est souvent importante. En revanche, sa tolérance est parfois moyenne, avec effets cognitifs et anorexie.

Le problème majeur est la possibilité d'hépatites toxiques et d'aplasies médullaires parfois mortelles, ce qui a considérablement réduit son utilisation et explique que sa délivrance soit soumise à des conditions particulières : usage hospitalier, indication de nécessité absolue après évaluation du rapport bénéfique/risque. L'indication légale est actuellement limitée aux patients présentant un syndrome de Lennox-Gastaut réfractaire.

La dose utile est de 15 à 45 mg/kg/jour, soit 600 à 3000 mg par jour en deux ou trois prises. Des comprimés à 400 et 600 mg sont disponibles. Le traitement doit être introduit progressivement, avec une posologie initiale de 400 mg, puis une augmentation de 400 mg par semaine. Chez l'enfant, une dose initiale de 15 mg/kg/jour doit être prescrite, en utilisant la solution buvable de 600 mg pour 5 ml. La co-prescription de PHT, CBZ et VPA impose une

réduction des doses de ces médicaments. Une surveillance bimensuelle de l'hémogramme et l'enzymologie hépatique est nécessaire.

- **Gabapentine**

La gabapentine (GBP, Neurotin) avait initialement été conçue pour exercer des propriétés gabaergiques, mais s'est avérée ultérieurement exercer ses propriétés antiépileptiques par d'autres mécanismes. Son absorption est rapide, avec une biodisponibilité de 60% environ et une demi-vie de 5 à 7 heures. La GBP est bien tolérée, non métabolisée et n'exerce aucune interaction métabolique.

En raison de son profil de tolérance favorable, la GBP est indiquée en monothérapie de première intention ou en thérapeutique additive dans les épilepsies partielles de l'adultes et d'une intolérance aux autres médicaments pourraient constituer une indication de choix de la GBP. En revanche, la GBP n'est indiquée dans les épilepsies généralisées idiopathiques car elle semble aggraver les absences.

La dose utile est de 15 à 35 mg/kg/jour, soit 1800 à 3600 mg chez le grand enfant et l'adulte, en trois prises. Des gélules à 100, 300 et 400 mg sont disponibles. Le traitement doit être introduit avec une posologie initiale de 400 mg, puis peut être rapidement augmenté de 400 mg toutes les 72 heures.

- **Lamotrigine**

La lamotrigine (LTG, Lamictal) est une phényltriazine initialement développée pour ses propriétés antifongiques. Elle agit par baisse de la libération des neurotransmetteurs excitateurs, glutamate essentiellement, mais aussi sur les canaux sodiques voltages-dépendants. L'absorption est rapide et la biodisponibilité totale, avec une demi-vie longue. La molécule possède l'avantage d'un large spectre antiépileptique, s'étendant des crises partielles aux crises généralisées.

La LTG est indiquée dans les épilepsies généralisées ou partielles réfractaires, chez l'adulte et chez l'enfant de plus de 12 ans, en complément d'un autre antiépileptique ou en monothérapie après échec d'un traitement antérieur. Chez l'enfant de moins de 12 ans, elle peut être prescrite en association dans les formes sévères d'épilepsie généralisée. La LTG est bien tolérée. Elle bénéficierait même d'un effet psychotrope favorable. Elle est sensible aux effets inducteurs des autres antiépileptiques, qui accélèrent son métabolisme, tandis que ce dernier est diminué de moitié par le VPA. La dose utile, de 5 à 15 mg/kg/jour chez l'enfant et

de 3 à 7 mg/kg/jour chez l'adulte, doit être doublée en cas d'inducteur enzymatique associé (PB, CBZ, PHT, PRM) et divisée par deux en cas de co-prescription d'un inhibiteur enzymatique tel que le VPA. Un dosage plasmatique de la LTG, actuellement non disponible en routine, pourrait de ce fait être utile. La mise en route du traitement doit être progressive en raison de la possibilité, surtout en cas de prescription initiale trop rapide et/ou en cas d'association avec le VPA, d'éruptions cutanées en règle bénignes mais parfois graves.

- **Tiagabine**

La tiagabine (TGB, Gabitril) est un inhibiteur spécifique de la recapture synaptique, neuronale et gliale, du GABA. La molécule, rapidement absorbée, fortement métabolisée, est liée à 95% aux protéines plasmatiques. La demi-vie plasmatique est 7 à 9 heures. Les inducteurs enzymatiques (PB, CBZ, PHT) accélèrent l'élimination de la TGB, nécessitant une augmentation de ses doses. En revanche, la TGB est dépourvue d'effet inducteur enzymatique, rendant une contraception orale possible.

La tiagabine est indiquée en thérapeutique additive dans les épilepsies partielles de l'adulte. Des sensations vertigineuses avec étourdissements, une asthénie et sédation résument les effets indésirables. Ils seront évités par une augmentation progressive et la prise du médicament en fin de repas.

La dose utile est de 0,5 à 1 mg/kg/jour chez l'adulte, soit 30 à 70 mg par jour en trois prises. Des comprimés à 5, 10 et 15 mg sont disponibles. L'ascension posologique est, au maximum, de 5 mg par semaine.

- **Topiramate**

Le topiramate (TPM, Eptomax) est un inhibiteur faible de l'anhydrase carbonique. Ses mécanismes d'action sont multiples. La biodisponibilité est totale avec une demi-vie longue et une faible fixation protéique. Les interactions sont minimales. L'action antiépileptique du TPM dans les crises partielles et les crises secondairement généralisées est certaine et parfois importante.

Le TPM est indiqué en thérapeutique additive dans les épilepsies partielles de l'adulte et de l'enfant de plus de 4 ans. La tolérance neuropsychologique du TPM est parfois moyenne, avec nécessité d'augmenter la dose très progressivement les doses, par paliers de 25 à 50 mg par semaine. Le médicament multiplie par 3 à 10 le risque de lithiase rénale, ce qui le fait contre-

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

indiquer chez les sujets ayant présenté des antécédents de coliques néphrétiques. Il présente de plus un effet anorexigène net, responsable d'une assez fréquente perte de poids.

La dose utile est de 3 à 15 mg/kg/jour chez l'adulte, soit 200 à 600 mg par jour en deux prises, et de 5 à 9 mg/kg/jour chez l'enfant. Des comprimés à 50, 100 et 200 mg sont disponibles. Le traitement doit être introduit progressivement, avec une posologie initiale de 50 mg tous les 14 jours, en deux prises.

- Fosphénytoïne

La fosphénytoïne (FOS, Prodilatin) est un ester de la PHT qui se comporte comme a voie une prodrogue convertie en PHT dans l'organisme. Un flacon à 750 mg de FOS est équivalent à 500 mg de PHT. Son principal intérêt est sa solubilité dans l'eau, ce qui permet d'utiliser la voie intramusculaire lorsque l'administration orale de la PHT est impossible ou contre-indiquée. Récemment commercialisée en France, la FOS est disponible sous forme injectable pour le traitement des états de mal épileptiques, où intraveineuse (IV) reste seule indiquée, et la prévention des crises sérielles post-traumatiques ou post-neurochirurgicales.

La dose utile pour le traitement des états de mal, chez l'adulte et de l'enfant de plus de 5 ans, est de 20 mg/kg d'équivalent-PHT en injection IV. Le rythme de la perfusion ne doit pas dépasser 150 mg d'équivalent-PHT par minute.

- Les antiépileptiques d'appoint

Benzodiazépines

Les benzodiazépines (BZ) ont un effet antiépileptique majeur et immédiat sur tous les types de crises. Des phénomènes de tolérance (épuisement sur l'effet antiépileptique) apparaissent après quelques semaines dans près de la moitié des cas. De plus, une dépendance (recrudescence des crises lors du sevrage) est fréquente, rendant difficile l'arrêt du traitement. Pour ces raisons, l'emploi des BZ reste limité dans le traitement chronique des épilepsies.

Le diazépam (valium) et le clonazépam (Rivotril) IV sont utilisés dans le traitement d'urgence des crises sérielles ou des états de mal. Le diazépam par voie rectale est utile dans la prévention et le traitement des convulsions fébriles prolongées.

Le clonazépam (Urbanyl) et le nitrazépam (Mogadon) per os sont utilisés en traitement adjuvant de certaines épilepsies rebelles ou dans d'autres indications : traitement intermittent de certaines épilepsies à recrudescence cataméniale, traitement de certaines morphéiques.

Autres médicaments

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

L'éthosuximide (ETH, Zarontin) est spécifiquement actif contre les absences typiques. Il peut être utile dans le traitement des absences atypiques et des myoclonies. La posologie chez l'enfant est de 20 à 25 mg/kg/jour en deux prises, en utilisant le sirop à 250 mg par mesure ou les capsules à 250 mg. Le traitement doit être introduit progressivement, avec une posologie initiale de 250 mg, puis une augmentation de 250 mg par semaine, en deux prises.

La primidone (PRM, Mysoline) se transforme dans l'organisme en PB. Ses effets de ce fait difficiles à distinguer de ce dernier. La posologie est de 10 à 15 mg/kg/jour en une ou deux prises, en utilisant les comprimés dosés à 250 mg.

La phénéturide, anciennement associé, à doses fixes, au PB et à la PHT dans la Trinuride, reste, reste encore disponible en préparation magistrale.

La phénacémide (Epiclase) a été retirée de la pharmacopée française dans les années 80, comme les diones l'avaient été dans les années 60.

L'orténal, association de 100 mg de phénobarbital et de 5 mg de sulfate d'amphétamine, a été retirée du marché en 1997. Les toxicomanes pouvaient en effet extraire le correcteur amphétaminique, afin de l'utiliser à des fins non médicales.

Le progabide (Gabrène) a été commercialisé en 1985 et retiré du marché en 1998, sa toxicité hépatique rendant compte d'un faible volume de prescription.

L'oxcarbazépine (Trileptal) est une prodrogue dans l'organisme en monohydroxy-CBZ. Elle est moins inductrice enzymatique que la CBZ, permettant des polythérapies plus faciles. Une hyponatrémie biologique, parfois symptomatique, est cependant fréquente. L'oxcarbazépine est tolérée que la CBZ, avec une efficacité clinique comparable, ce qui permet d'élever les doses totales administrées pour un même patient.

La zonizamide, de la famille des sulfonamides, est un inhibiteur faible de l'anhydrase carbonique. Son développement a été interrompu aux Etats-Unis et en Europe en raison d'une incidence élevée de lithiases rénales. L'incidence de cette complication étant très faible au Japon et en Corée, la zonizamide est commercialisée dans ces pays dans le traitement des épilepsies partielles.

La losigamone présente une structure chimique originale. Ses mécanismes d'action sont peu connus. La molécule est totalement métabolisée et subit l'influence des autres antiépileptiques. La dose utile varie entre 1000 et 1800 mg/j. La molécule est efficace dans les épilepsies partielles, avec des effets secondaires discrets.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

La levetiracetam (UBC-L059, Kepra) est un dérivé du piracetam. Ses mécanismes d'action inconnus. L'absorption est rapide, avec une demi-vie de 5 à 8 heures. Les doses utiles sont comprises entre 2000 et 4000 mg/j. La molécule, efficace dans les épilepsies généralisées aux épilepsies myocloniques.

Le mode d'action du stiripentol est indirect, passant par une interaction favorable avec la CBZ. Ce médicament, développé en France, pourrait de plus avoir des indications privilégiées en neuropédiatrie.

La remacemide, la ralitoline, le prégabalin et de nombreuses autres molécules originales sont en cours de développement préclinique et clinique.

Autres molécules utilisées dans le traitement des épilepsies

De nombreux médicaments ont démontré une efficacité antiépileptique dans certaines conditions particulières. Les corticoïdes (sous forme d'hydrocortisone, de cortisolone ou de tétracosactide) sont utilisés dans certaines encéphalopathies épileptogènes de l'enfant, dans le syndrome de West et dans le syndrome de Landau-Kleffner. Les immunoglobulines humaines peuvent être utiles dans l'encéphalite de Rasmussen. L'acétazolamide (Diamox), inhibiteur de l'anhydrase carbonique, est utilisé comme médicament anti-absences d'appoint et comme adjuvant de la CBZ dans certaines épilepsies partielles. La flunarizine (Sibélium), ainsi que d'autres inhibiteurs calciques, peut être utilisée comme d'appoint de certaines épilepsies pharmacorésistances.

Epilepsies et conceptions traditionnelles africaines [5]

1. La pharmacopée et la médecine traditionnelles

Depuis que des symposia africains se sont succédés (Dakar en 1968, Caire en juillet 1975, Abidjan en 1979) la pharmacopée africaine a confirmé tout le bien qu'on pense

d'elle.

Mais qu'est ce que la pharmacopée traditionnelle?

Selon J Kerharo c'est " l'art de préparer suivant les connaissances et les pratiques ancestrales, les médicaments mis par la nature à la disposition des africains"

Le même auteur définit encore mieux la pharmacopée traditionnelle comme " un recueil écrit de drogues identifiées avec les formules et les recettes pour préparer les médicaments.

La médecine traditionnelle est caractérisée par son empirisme mais aussi par son caractère ésotérique et par son contexte métaphysique qui domine dans sa pratique courante.

Signalons toutefois que "empirisme n'est pas synonyme d'absence de base scientifique"

la médecine traditionnelle africaine " étant l'ensemble des connaissances, techniques de préparation et usages des substances, recours aux mêmes et pratiques explicables ou non basées sur les fondements socioculturels et religieux des collectivités africaines s'appuyant par ailleurs sur les expériences vécues et les observations transmises de génération en génération, oralement ou par écrit et utilisé pour diagnostiquer, prévenir ou éliminer un déséquilibre du bien être physique, mental ou social.

Généralement les connaissances acquises par l'expérience sont communes d'une région à une autre ; quelquefois il s'agit d'une expérience propre vécue par le thérapeute lui-même. 3

2. Conceptions traditionnelles

La médecine traditionnelle est indissociable des conceptions religieuses, des connaissances qu'ont les thérapeutes traditionnels, des causes de la maladie, de leur diagnostic et de leur traitement. L'épilepsie, étrange maladie qui fut considérée depuis l'antiquité comme un mal mystérieux et dénommé "morbus sacer" est toujours conçue comme une maladie sacrée. Elle est alors crainte et mal vue : car contagieuses selon certaines conceptions et héréditaire pour d'autres. Elle fait aussi l'objet d'une certaine marginalisation (rejet ou surprotection entraînant de nombreux problèmes sociaux. Si en médecine traditionnelle il n'existe pas de souci d'ordre professionnel, il se pose malheureusement le problème d'ordre social et psychologique grave car l'individu ne vit que par "le poids de sa parole", la place qu'il occupe dans la communauté. Le rejet est aussi important que la maladie elle-même.

L'épileptique est généralement frappé de toutes sortes d'interdits. Naturellement, un grand nombre de ces interdits sont des précautions utiles provenant de certaines observations empiriques. Par exemple on sait que le feu (les étincelles et la chaleur), les grands accès de colère peuvent favoriser ou déclencher une crise convulsive. De même les baignades dans les

rivières et dans les fleuves seront rejetées et contre indiquées comme dans les autres cas. En médecine traditionnelle malienne la maladie épileptique est conçue comme une malédiction, une non observation de règles ou d'interdits, un mauvais sort jeté, un mal causé par un "esprit" ; conception variable selon les thérapeutiques traditionnels (marabouts et féticheurs). Elle est désignée entre autre par les noms kirikirimacien, binibana, suivant les régions. Il s'agit du grand mal tonico-clonique qui est surtout plus connu et qui suscite une plus grande curiosité, les manifestations symptomatiques et son étiologie non naturelle font que l'on considère comme une maladie peu ou pas ordinaire. La crise serait la manifestation d'une force extérieure invisible qui pénètre dans la victime et qui se retirerait après avoir agi. Tout comme la conception de la maladie, les méthodes diagnostiques diffèrent également, le thérapeute est marabout ou féticheur. Le diagnostic demande le plus souvent le concours du malade par un interrogatoire, mais parfois il est systématiquement fait par le thérapeute lui-même, à partir :

- D'éléments visibles : observation des signes cliniques
- D'éléments invisibles :
 - les techniques divinatoires, le plus souvent la géomancie
 - les astres (telle que la lune)

Notons toutefois qu'en médecine traditionnelle la difficulté d'effectuer un diagnostic précis est évidente et que l'impression est parfois causées d'erreurs pouvant être fatales pour le malade.

Il est aussi nécessaire de distinguer la crise d'épilepsie des manifestations similaires que nous avons déjà citées mais aussi des transes rituelles (le jinebana : personne possédée par des "esprits", la danse des possédés : cérémonie rituelle au cours de

Les méthodes d'études des anticonvulsivants [6]

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Les antiépileptiques peuvent être étudiés selon deux méthodes : la méthode in vivo et méthode in vitro.

1. La méthode in vivo

Pour induire les crises convulsives chez les souris on fait recours soit à l'électrochoc soit à des substances chimiques telles que le Penthylenetetrazol (PTZ), la strychnine, la picrotoxine, l'isoniazide, la yohimbine etc.

□ L'électrochoc

L'essai de l'électrochoc a été d'abord utilisé comme une indication des composés efficaces contre le grand mal.

Les crises toniques en extension des membres postérieurs sont induites par un stimulus électrique qui sont supprimées par les antiépileptiques mais aussi par d'autres médicaments actifs sur le SNC.

Procédure :

Des groupes de 6-10 souris mâles NMRI (18-30 g) sont utilisés. Le test commence 30 mn après l'administration par la voie i.p ou 60 mn par la voie per os du produit à tester ou le témoin.

Un appareil avec des électrodes auriculaires et cornéaires (Woodbury and Davenport 1952) est utilisé pour transmettre le stimulus. L'intensité du stimulus dépend de l'appareil, e.g 12 mA 50 Hz pour 0,2 seconde ont été utilisés. Dans ces conditions tous les témoins font des crises toniques en extension.

Evaluation :

Les animaux sont observés de près pendant 2 mn. La disparition des convulsions toniques en extension des membres postérieurs est utilisée comme un critère positif. Le taux d'inhibition des crises relatives aux groupes contrôles est calculé. En utilisant des doses variées, les valeurs de la DE₅₀ et 95% de l'intervalle de confiance sont calculés.

□ Les produits chimiques

□ Penthylenetetrazol (Métrazole) (PTZ)

Penthylenetetrazol (PZT) est la 6,7,8,9-tetrahydro-5H-tetrazolo (1,5-a)azepine, la DCI du **Metrazol** aussi connu sous le nom de pentetrazole

C'est un médicament utilisé comme stimulant circulatoire et respiratoire (autre nom commercial : **Cardiazole**). Les doses élevées provoquent des convulsions. Il a été utilisé dans

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

les états de choc comme découvert par le neurologue et psychiatre américano-hongrois **Ladislav J. Meduna** en 1934. On ne l'a jamais considéré comme efficace, les effets secondaires tels que les crises sont difficiles à éviter. Son approbation par la FDA (Food and Drug Administration) a été révoquée en 1982.

Il est considéré comme un antagoniste gabaergique.

Son mécanisme epileptogène au niveau des neurones est cependant mal éclairci diminuant le temps de rétablissement entre les potentiels d'action en augmentant la perméabilité de l'axone aux ions K^+ .

D'autres études ont montré une augmentation de la perméabilité membranaire à certains ions comme Na^+ et Ca^{2+} conduisant à une excitation globale de la membrane neuronale.

Toutefois les caractéristiques pharmacologiques comme la biodisponibilité, le métabolisme, la demi-vie, l'excrétion ne sont pas connues.

En 1939, le PTZ a été remplacé par l'électrochoc comme méthode pour induire des crises dans les hôpitaux pour malades mentaux en Angleterre

Cet essai a d'abord été utilisé pour évaluer les substances antiépileptiques. Cependant il a été montré que la plupart des agents anxiolytiques sont aussi capable de prévenir ou d'antagoniser les convulsions induites par le métrazole.

Procédure :

Les souris des deux sexes de poids corporel variant entre 18-22g sont utilisées. La substance à tester ou le médicament de référence est administré en sc, i.p, per os à un groupe de dix animaux.

Le PTZ est administré en sc 15nm après l'administration, 30 nm en i.p, 1h en per os à la dose de 60mg/kg. Chaque animal est placé dans une cage individuelle pour être bien observé pendant une période de 1h. Les crises et les convulsions tonico-cloniques sont enregistrées. Au moins 80% des animaux dans le groupe contrôle doivent faire des convulsions.

Evaluation :

Le nombre d'animaux protégés dans le groupe traité est calculé comme le pourcentage d'animaux affectés dans le groupe contrôle. Les valeurs de DE_{50} peuvent être calculées, en outre la latence d'apparition des crises peut être calculée. Le retard du début des crises est calculé en comparaison avec le groupe contrôle.

□ **Strychnine**

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

L'action convulsivante de la strychnine est due à une interférence avec l'inhibition post-synaptique produite par la glycine.

La glycine est un important neurotransmetteur, inhibiteur des neurones moteurs et des interneurons dans la corde spinale, et la strychnine agit comme un antagoniste sélectif et compétitif qui bloque l'effet inhibiteur de la glycine sur tous ses récepteurs.

L'inhibition post-synaptique de la strychnine dans le SNC est aussi produite par la glycine. Les composés qui reversent l'action de la strychnine ont montré des propriétés anxiolytiques.

Procédure :

Les groupes de dix souris des deux sexes et poids compris entre 18-22g sont utilisées. Ils sont traités oralement avec le produit à tester ou le produit de référence (e.g diazépam 5mg/kg).

Une heure après on leur administre la strychnine à la dose de 2mg/kg. Le temps au bout duquel les convulsions apparaissent en extension et la mort est notée pendant une période d'une heure.

Avec cette dose de la strychnine les convulsions doivent être observées chez 80% des animaux du groupe contrôle.

Evaluation :

Les valeurs DE_{50} sont calculées en utilisant des doses variées en prenant le pourcentage du groupe contrôle comme 100%. Les courbes temps/réponse, l'intervalle entre le traitement et l'injection de la strychnine varie de 30 à 120mn.

□ Isoniazide

L'isoniazide peut précipiter les convulsions chez les patients sujets à des crises. Il est considéré comme un inhibiteur de la synthèse du GABA (Costa et al 1975). Les crises tonico-cloniques provoquées chez les souris sont antagonisées par les substances anxiolytiques.

Procédure :

Dix souris des deux sexes avec des poids entre 18-22g sont traitées avec le produit à tester ou le médicament de référence (e.g diazépam 10 mg/kg en i.p) par la voie per os ou i.p. Le groupe témoin reçoit le véhicule.

L'isoniazide 300 mg/kg (acide isonicotinique hydrazide) leur est injecté en sc 30 mn après administration par la voie i.p ou 1h après la voie per os du produit à tester ou le médicament de référence.

L'apparition des crises toniques, cloniques et la mort sont enregistrées pendant les 2h qui suivent.

Evaluation :

Le pourcentage des crises ou la mort dans le groupe contrôle est pris comme 100%. La suppression des effets dans le groupe traité est calculée comme le pourcentage du contrôle. Les valeurs DE₅₀ sont calculées.

□ **La Picrotoxine**

Les convulsions induites par la picrotoxine sont utilisées pour une évaluation approfondie des composés actifs sur le SNC.

La picrotoxine est considérée comme un antagoniste des récepteurs GABAergiques qui agit en modifiant la fonction des canaux de transport des ions Cl⁻ du complexe de récepteurs gabaergiques.

Le médicament de référence (e.g diazépam 10 mg/kg en i.p) par la voie per os ou i.p. Le groupe témoin reçoit le véhicule.

On administre aux animaux 3,5 mg/kg de picrotoxine en sc 30 mn ou 1h après l'administration du produit à tester ou le produit standard respectivement par les voies i.p ou per os.

Les symptômes suivants sont observés pendant 30 mn : les crises cloniques, les crises toniques et la mort. Le temps du début des crises et de la mort sont enregistrés.

Evaluation :

Pour les courbes temps/réponse les animaux reçoivent le produit 30, 60 ou 120 mn avant la picrotoxine. La protection est exprimée comme le taux d'inhibition relatif par rapport au véhicule contrôle. Le temps avec le plus grand taux d'inhibition est considéré comme le pic de l'activité du produit.

Les valeurs de la DE₅₀ est calculées en prenant le pourcentage des crises dans le groupe contrôle comme 100%.

2. La méthode in vitro

□ **L'essai in vitro pour les composés gabaergiques : la liaison ³H-récepteur GABA**

Le gaba est connu pour être un important neurotransmetteur inhibiteur dans le cerveau. Les anomalies du système gaba ont été trouvées dans les maladies neurologiques et psychiatriques telles que la chorée de Huntingdon, l'anxiété, les attaques de paniques, la schizophrénie et

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

l'épilepsie. Le gaba est aussi impliqué dans le mécanisme d'action des BDZ et beaucoup de médicaments du SNC.

Le gaba marqué par un élément radioactif est lié aux préparations de la membrane synaptique du cerveau d'un mammifère. Le marquage du récepteur post-synaptique avec ^3H -GABA demande une attention particulière à cause d'une possible interférence avec les liaisons non synaptiques puisque ^3H -GABA peut aussi se lier de façon non spécifique aux membranes plasmiques. La plus importante desquelles est la liaison Na^+ dépendant du gaba aux membranes du cerveau, un processus qui apparait être associé aux transports des sites du gaba. La liaison Na^+ dépendant du ^3H -GABA a des caractéristiques consistants avec le marquage des récepteurs gaba. La potentialité relative de plusieurs aminoacides d'être en compétition pour ces sites de liaison égale leurs capacités à imiter le gaba de façon neurophysiologique.

Par conséquent la liaison Na^+ indépendant du ^3H -GABA est une méthode simple et sensible pour évaluer les composés ayant des propriétés GABA-mimétiques.

Les récepteurs GABA sont divisés en deux sous-types GABA_A et GABA_B .

Procédure :

Réactifs :

Tris-maléate buffer 0,05 M (pH 7,1)

6,05g de Tris base sont dissous dans l'eau distillée complétée à 1000 ml. 5,93g de Tris-maléate sont dissous dans 500 ml d'eau.

Le Tris-maléate 0,05 M, buffer pH 7,1 est préparé en ajoutant lentement le Tris-base jusqu'à ce que le pH atteigne 7,1.

Sucrose 0,32 M : 109,5g de sucre sont dissous dans de l'eau distillée et complétée à 1000ml. La solution est gardée à 4°C.

^3H -GABA (l'activation spécifique approximativement 40Ci/mmol) est constitué d'une concentration de 780 nmol dans l'eau distillée et 20 μl est ajouté à chaque tube de test) produisant une concentration finale de 15 nmol pour cet essai.

L'isoguvacine ou le muscimol est préparé en dissolvant 8,35mg d'isoguvacine ou muscimol dans 10 ml d'eau, 20 ml de ces solutions donne une concentration finale de 0,1 mM d'isoguvacine ou muscimol quand on y ajoute 1 ml d'une solution moyenne d'incubation.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Substances à tester : 1mM de solution est initialement préparée. Les solutions sont diluées par série pour obtenir la concentration requise avant l'addition du mélange d'incubation. Les concentrations finales sont généralement de 2.10^{-8} à 11.10^{-5} M.

Préparation du tissu :

Des rats mâles Charles-River (100-150g) sont décapités et leurs cerveaux entiers rapidement enlevés et homogénéisés dans 15 volumes de glace-sucrose 0,32M. La solution homogénéisée est centrifugée à 1000g pendant 10mn.

Le granulé (fraction nucléaire) est éliminé et le fluide surnageant est centrifugé à 20000g pour 20mn. Le surnageant et le granulé mitochondrial sont mis en suspension dans 15 volumes d'eau distillée en utilisant un homogénéisateur Tekmar. La suspension est centrifugée à 8000g pour 20mn. Le surnageant est collecté et remis en suspension comme précédemment, en utilisant un mouvement léger qui consiste à le faire gicler.

Les granulés bruts de la membrane synaptique finalement obtenus sont mis en suspension (sans homogénéisation) dans 15 volumes d'eau distillée et centrifugés à 48000g pour 20mn. Le surnageant est éliminé et les tubes à centrifuger contenant les granulés membranaires sont pris avec le parafilm et gardé au froid à -70°C .

Procédure :

Les granulés frais membranaires du cerveau entier d'un rat sont mis en suspension dans 15 volumes de 0,05M de Tris-maléate buffer (pH 7,1) par homogénéisation à 4°C . Le Triton X-100 est ajouté à une concentration finale de 0,05%. Cette suspension est ensuite incubée à 37°C pendant 30mn suivie d'une centrifugation à 48000g pour 10mn. Le surnageant est éliminé et les granulés sont remis en suspension par homogénéisation dans le même volume 0,05 Tris-maléate buffer (pH 7,1) à 4°C .

La préincubation avec le Triton accroît les liaisons spécifiques des récepteurs GABA tout diminuant les liaisons non spécifiques.

Pour la procédure de l'essai standard de la liaison Na^+ -indépendant ^3H -GABA, précédemment gelées plusieurs fois, les membranes synaptiques brutes traitées par le triton sont incubées dans le triplicata à 4°C pour 5mn dans le Tris-maléate buffer (pH 7,1) contenant 15mM de ^3H -GABA seul ou en présence de 0,1mM d'isoguvacine ou muscimol, ou la substance à tester.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

La procédure est comme suit :

- 1ml du Tris-maléate homogène 0,05M
- 20µl de ^3H -GABA
- 20µl de la substance à tester ou 20ml d'isoguvacine ou muscimol 0,1 mM

Après l'incubation à 4°C pour 5mn, la réaction est terminée par centrifugation pour 15mn à 5000 rpm. Le fluide surnageant est aspiré et le granulé est lavé deux fois avec 1ml du tris-maléate buffer, 2ml de liquiscint sont ajoutés à chaque tube qui est ensuite tourbillonné vigoureusement. Les contenus des tubes sont transférés dans des flacons scintillants et les tubes sont rincés avec 2ml de cocktail, 6ml de liquiscint sont ajoutés au flacon scintillant. La radioactivité est mesurée par photométrie de la scintillation du liquide.

Evaluation :

La liaison spécifique ^3H -GABA est définie comme la radioactivité qui peut être déplacée par une grande concentration du GABA non marqué et est obtenue en soustrayant la radioactivité de la liaison totale de la radioactivité de la liaison en présence de 0,1Mm d'isoguvacine.

Les résultats sont convertis en pourcentage de la liaison spécifique ^3H -GABA déplacée par une concentration donnée de la substance à tester. Les valeurs de IL_{50} avec un intervalle de confiance 95% sont ensuite obtenues par computer derived linear regression analysis.

La liaison au récepteur GABA_A

Deux sous-types de récepteurs gaba ont été identifiés.

- **GABA_A** pour lequel le muscimol est l'agoniste typique, alors que la bicuculline, la picrotoxine et le SR 95531 sont des antagonistes, et
- **GABA_B** pour lequel le baclofène est l'agoniste typique.

Des membranes du cerveau des rats, seul le GABA_A est marqué avec un radioactif sélectif de GABA_A, ^3H -SR95531 dans des gammes de concentration donnée. L'essai permet spécifiquement l'estimation de la substance à tester avec des liaisons caractéristiques de la sous-population du GABA_A. Plusieurs sous-types de GABA_A ont été identifiés par de la méthode de binding des ligands.

Les techniques de la biologie moléculaire ont révélé que le GABA_A est rassemblé comme une structure pentamérique avec différentes sous-unités (α , β et γ) rendant possible le fait qu'un tel nombre de récepteurs GABA_A hétéromérique existent dans le système nerveux central et périphérique des mammifères.

Procédure

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Matériels

Ligand radioactif: ^3H -SR 95531 (^3H -2-(3carboxypropyl)-3amino-6-(4-méthoxyphenyl)-pyridazinium bromide.

Préparation de la membrane:

Les rats sont tués par décapitation, les cerveaux sont rapidement disséqués et après séparation du cervelet, placés dans la solution glace-sucrose. Les cerveaux (approximativement 20g de poids humide) sont ensuite homogénéisés dans un verre de Teflon Potter (1g de cerveau/15ml d'une solution de sucrose D (D) 320mM) et centrifugé à 1000g à 4°C pour 10mn. Les granules sont éliminés et le surnageant centrifugés à 2000g pour 20mn. Les surnageants qui en résultent sont éliminés et les granules sont lysés par le choc hypoosmotique (addition de 20 volumes de glace bidistillée). Après l'homogénéisation dans un verre homogénéisateur Teflon, la suspension est agitée à froid pendant 20mn, et centrifugée à 48000g pour 20mn. Les granules obtenus sont mis en suspension dans la glace bidistillée, la suspension est agitée et centrifugée comme précédemment. Les granules obtenus sont remis en suspension dans un incubateur buffer (50mM de tris-HCl et 100mM de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, pH 7,4) correspondant à 1g de cerveau humide/1ml buffer. La suspension de la membrane est immédiatement mise dans 1ml à -20°C plusieurs fois. Le contenu protéinique de la membrane est déterminé selon la méthode Lowry et al. (1951) avec de l'albumine provenant sérum bovin comme utilisée comme standard.

Essai

Pour chaque concentration, les essais sont exécutés en triplicate. Le volume total de chaque échantillon d'incubation est 200 μl (microtiter plates).

Les expérimentations de saturation

Liaison total :

-50 μl ^3H -SR 95531 (12 concentrations, $2 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-7}\text{M}$)

-50 μl incubation buffer

Liaison non spécifique :

-50 μl ^3H -SR 95531 (4 concentrations, $2 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-7}\text{M}$)

-50 μl (D) bicuculline (10^{-4}M)

Les expérimentations de compétition

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

-50µl ³H-SR 95531 (1 concentration, 8-10.10⁻⁷M)

-50µl incubation buffer sans ou avec le marquage d'une substance à tester (15 concentrations, 10⁻¹⁰ à 10⁻³M)

La réaction du binding commence en additionnant 100µl de la suspension membranaire par échantillon d'incubation. Les échantillons sont incubés pour 30mn à 4°C. La réaction est stoppée en soumettant le volume total d'incubation à une filtration rapide sous vide sur un verre filtre filter.

Ainsi, la radioactivité de la membrane liée est séparée de la radioactivité de la membrane libre.

Les filtres sont lavés immédiatement avec approximativement 20ml de glace rincée au buffer (50mM de Tris-HCl, pH 7,4) par échantillon. La radioactivité de la membrane liée est mesurée après l'addition de 2ml d'un cocktail de liquide de scintillation par échantillon dans un liquide de scintillation packard counter.

Evaluation

Les paramètres suivants sont calculés :

- liaison totale
- liaison non spécifique
- liaison spécifique : liaison totale – liaison non spécifique

La constante de dissociation (K_i) de la substance à tester est déterminée à partir de l'imprégnation de compétition de ³H-SR95531 contre une substance non marquée par l'analyse des données de binding par l'ordinateur [8].

Rappel sur les antioxydants

1. Définition :

On nomme antioxydant, toute substance qui lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle d'un substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat. Le terme de substrat oxydable inclut toutes sortes de molécules *in vivo*. Lorsque des espèces réactives de l'oxygène sont produites, *in vivo*, de nombreux antioxydants interviennent. Ce sont principalement des enzymes : la super oxydase dismutase (SOD), le glutathion peroxydase (GPO), la catalase et aussi des molécules de faible masse moléculaire comme le tripeptide glutathion ou l'acide urique [1].

□ Le stress oxydant :

En situation physiologique il y a un équilibre parfait entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et les systèmes de défenses antioxydantes. On parlera de stress oxydant lorsqu'il y a un déséquilibre profond entre antioxydants et pro-oxydants en faveur de ces derniers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles [1].

2. Les radicaux libres

Plusieurs fonctions de l'organisme reposent sur une série de réactions chimiques que l'on regroupe sous le terme oxydation. Des molécules appelées radicaux libres sont les produits de dégradation naturels de l'oxydation. D'une part, la production de radicaux libres est utile parce que ces derniers peuvent aider les cellules du système immunitaire à lancer une attaque contre des tumeurs, des bactéries et des cellules infectées par des virus. Cependant, la production d'une grande quantité de radicaux libres sur une période prolongée risque de causer des problèmes pour l'organisme. [1].

2.1. Origines des radicaux libres

La pollution de l'environnement (automobiles, industries) génère les espèces réactives de l'oxygène.

Le tabac : une bouffée de cigarette contient environ 1014 radicaux et aussi des traces d'ions métalliques pouvant réagir avec le peroxyde d'hydrogène.

La vitamine C : considérée comme un antioxydant, elle peut dans certaines conditions, être à l'origine des radicaux libres (notamment en présence de peroxyde d'hydrogène).

2.2. Dommages liés aux radicaux libres

Les radicaux libres sont caractérisés par leur grande réactivité chimique et leur courte durée de vie.

De part leur nature instable les radicaux libres (ERO) sont toxiques et interagissent avec toute une série de substrats biologiques importants. Des dénaturations de protéines, des inactivations d'enzymes, une oxydation de glucose, des cassures au niveau de l'ADN avec possibilité de mutation et des processus de peroxydation lipidique peuvent alors apparaître avec des conséquences souvent irréversibles pour la cellule. C'est ainsi que certains radicaux libres semblent jouer un rôle dans les phénomènes de vieillissement, qui pourraient être la conséquence des dommages oxydants irréversibles accumulés tout au long de l'existence.

2.3. Stress oxydatif et l'épileptogénèse

Le stress oxydatif et le dysfonctionnement de la mitochondrie sont des facteurs contribuant à la genèse des troubles neurologiques. Récemment de plus en plus de preuves scientifiques soutiennent l'association entre le stress oxydatif et l'épilepsie. Quoique certaines épilepsies congénitales soient associées au dysfonctionnement de la mitochondrie, peu de chose est connu sur son rôle dans les épilepsies acquises comme l'épilepsie du lobe temporal (TLE : Temporal Lobe Epilepsy).

Le stress oxydatif et le dysfonctionnement de la mitochondrie apparaissent comme des facteurs importants non seulement résultants des crises, mais aussi contribuent à l'épileptogénèse.

L'apparition de l'épilepsie augmente avec l'âge et le stress oxydatif est le mécanisme le plus important conduisant à la vieillesse de la cellule et aux maladies dégénératives liées à l'âge, suggérant l'implication du dysfonctionnement de la mitochondrie à la genèse des crises.

La mitochondrie a des fonctions cellulaires critiques qui influencent l'excitabilité neuronale incluant la production d'Adénosine Triphosphate (ATP), l'oxydation des acides gras, le contrôle de la nécrose, la régulation des acides gras cycliques, la biosynthèse des neurotransmetteurs et la régulation cytosolique (Ca^{2+}) de l'homéostasie. La mitochondrie est le premier site de production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) en les rendant

vulnérables au stress oxydatif et les dommages qui peuvent affecter la fonction cellulaire des macromolécules, la capacité des chaînes de transport d'électrons à produire l'ATP, la défense antioxydante, la stabilité de l'ADN mitochondrial, les synapses du glutamate, les dommages de l'oxydation d'une ou plusieurs de ces cellules cibles peuvent affecter l'excitabilité neuronale et augmente la susceptibilité des crises. En choisissant comme cibles spécifiques le stress oxydatif et le dysfonctionnement de la mitochondrie, l'énergie produite au cours des réactions cellulaires avec les traitements pharmacologiques et non pharmacologiques peut être un nouveau moyen pour atténuer l'épileptogénèse [7]

3. Les antioxydants de l'organisme

Afin de se protéger contre une exposition excessive aux radicaux libres, l'organisme peut fabriquer ses propres antioxydants à partir des nutriments suivants qui se trouvent dans la nourriture et les suppléments nutritionnels :

- o l'acide aminé cystéine
- o des minéraux comme le cuivre, le manganèse, le sélénium et le zinc
- o les vitamines du complexe B

La nourriture renferme également des antioxydants tout faits qui contribuent à protéger l'organisme, dont :

- o **vitamine C ou (acide ascorbique)** : est un puissant réducteur qui joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. Il se trouve dans les légumes, le chou, le poivron, le persil et les agrumes.
- o **vitamine E ou (Tocophérol)** : joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant. On la trouve dans les huiles végétales principalement l'huile de germe de blé et de tournesol, les noix, les amandes, les graines, le lait les œufs et les légumes à feuilles vertes.
- o **caroténoïdes mixtes comme l'alpha-carotène, le bêta-carotène et le lycopène** : servent de précurseur à la vitamine A. Il est capable de réagir avec l'oxygène et empêche ainsi l'oxydation des constituants biologiques. Il est présent dans *Amaranthus viridis*, *Daucus carota*, *Cucumis melo*, *Capsicum annum*, *Brassica oleracea*, *Mangifera indica*.
- o **Zinc** : est nécessaire pour la synthèse de l'ADN et des protéines. Il protège contre les radicaux libres. Les sources alimentaires sont les germes de blé, les fruits oléagineux, les fromages, les haricots, les légumes et les céréales [1].

Méthodes d'études des antioxydants

1. Test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosome

Principe : ce test consiste en la détection de l'activité antioxydante d'une substance par oxydation des lysosomes par le 2, 2'-azobis, 2-amidinopropane [1].

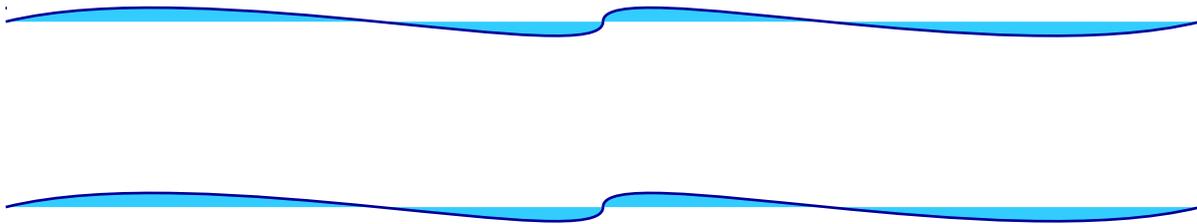
2. Réduction du radical 1,1'-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH)

Test sur CCM : le principe consiste à déposer les produits à tester sur des plaques de CCM en aluminium recouvertes de gel de silice GF254 et à les développer dans des systèmes de solvants appropriés. Après séchage, les plaques sont révélées avec une solution méthanolique de DPPH à 2mg/ml. Les activités antiradicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-blanc sur fond violet [1].

□ Test mesurant l'activité antioxydante au moyen des caroténoïdes

Principe: les plaques CCM sont préparées de la même manière que pour le test du DPPH, puis giclées avec une solution chloroformique à 0,5 mg/ml de β - carotène. La plaque CCM est ensuite exposée sous une lampe UV à 254 nm jusqu'à décoloration de la plaque. Les zones antioxydantes apparaissent en jaune sur fond blanc. Il faut faire particulièrement attention aux substances déjà colorées en jaune, car elles peuvent donner de faux positifs [10].

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali



Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Pteleopsis suberosa (Eng et Diel.) Combretaceae

1. Systématique :

<u>Règne</u>	Végétal
<u>Embranchement</u>	Phanérogames ou spermaphytes
<u>Sous embranchement</u>	Angiospermes
<u>Classe</u>	Dicotylédones
<u>Sous-classe</u>	Dialypétales
<u>Ordre</u>	Myrtales
<u>Famille</u>	Combretaceae
<u>Genre</u>	Pteleopsis
<u>Espèce</u>	suberosa

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali



***Pteleopsis suberosa*: Photo archive ONG AIDEMET (photo 1)**

2. Habitat : Zones soudanienne et soudano-guinéenne, Sahel – sols sablonneux

Description botanique :

- Arbuste ou petit arbre à cime étroite
- Ecorce très caractéristique, verruqueuse, gris-jaune ;
- Feuilles ovales, alternes, plus ou moins opposées ;
- Fleurs jaunâtres en pseudo-ombelles, fruits à 3-4 ailes.

3. Noms vernaculaires :

- Bambara : tèrèni, ntélinin
- Malinké : gwan
- Myanka : nyanyanga
- Senoufo : nanyinge

4. Utilisations traditionnelles :

- Racines bouillies : maux d'estomac ;
- Ecorces : dysenterie amibienne, maux de dents, soins des enfants pleurant sans cesse, hémorroïdes, démangeaisons filariennes, conjonctivite, trachome, cataracte ;
- Fibres de l'écorce : toux, hémorragies après extraction dentaire ;
- Fibres du bois : toux, bilharziose ;
- Feuilles bouillies : méningite ;

Rameaux feuillus bouillis : angine ;

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

- Cure dents : prévention des caries dentaires [8]

5. Chimie :

La plante contient :

- des saponosides et tanins [9]
- les saponosides triterpenoïques

Treize saponosides oléananes (1-13), quatre d'entre eux étaient des nouveaux composés (1-4), ont été isolés de l'écorce de tige de *P.suberosa* Eng et Diels (combretacée). Leurs structures ont été déterminées par la spectroscopie IR et ¹³C NMR et la spectrométrie ESI-MS. Les composés ont été identifiés comme 2alpha, 3beta, 19alpha, 23,24 pentahydroxy-11-oxo-olean-12-ène-28-oïque-o-beta-D-glucopyranosyl ester (1), acide 2alpha, 3beta, 19beta, 23,24-pentahydroxy-11-oxo-olean-12-ène-28-o-beta-D-glucopyranosyl ester (2), 2alpha, 3beta, 19alpha, 23-tetrahydroxy-11-oxo-olean-12-ène-28-oïque-28-0-beta-0-pyranosyl ester (3), et 2alpha, 3beta, 6beta, 19beta,24-pentahydroxy-11-oxo-olean-12-ène-28-oïque-28-0-beta-D glucopyranosyl ester (4). La présence de alpha, de beta de carbone saturé n'étant pas commune dans les oléananes et les aglycones de ces composés n'ont pas été trouvés dans la littérature antérieure [10].

6. Etudes pharmacologiques :

□ Activité anti-ulcère

La décoction, la forme traditionnelle d'administration de la drogue au Mali et l'extrait méthanolique ont été actifs sur toutes les souches de la bactérie testées. La CMI est de 62,5 à 500µg/ml pour la décoction et de 32,25 à 250µg/ml pour l'extrait méthanolique. Les résultats montrent que *P.suberosa* peut être la source de composés avec une potentielle thérapeutique contre l'ulcère associé à l'infection par *H.pylori* [10].

Les extraits chloroformique, éthanolique et aqueux et la décoction de l'écorce de *P.suberosa* sont actifs contre les lésions induites par l'éthanol et l'indométacine chez les rats. Les résultats tendent à confirmer l'usage populaire de la plante [11].

Les effets anti-ulcère et anti-inflammatoire de la fraction n-butanol (R-BuOH) obtenue à partir de l'extrait méthanolique de l'écorce de *P.suberosa* ont été investigués sur l'ulcère induit par l'éthanol chez les rats et l'œdème de la patte de souris induit par la carrageenan. Le

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

misoprostol (0,50mg/kg, p.o) et l'indométhacine (8,00mg/kg, p.o) sont utilisés comme contrôles positifs respectivement pour les activités anti-ulcère et anti-inflammatoire. Les résultats ont montré que R-BuOH réduit significativement l'incidence des lésions gastriques (50mg/kg, $p < 0,05$; 100mg/kg, $P < 0,01$) et restaure le niveau du groupe des sulfudryles totaux (T-SH) le groupe des sulfudryles non totaux (NP-SH) (50, 100mg/kg, $p < 0,05$, 200mg/kg, $p < 0,01$) dans l'estomac homogène [12].

Activité antioxydante et antiinflammatoire

Le traitement par R-BuOH atténue le niveau de MDA comme indice de peroxydation des lipides de la muqueuse gastrique. L'administration aux mêmes doses (50, 100 et 200mg/kg) a significativement réduit ($p < 0,01$) l'œdème de la patte de souris induit par la carrageenan dose-dépendant de (42,8% à 87,81% inhibition, 5h après l'administration de la carrageenan). L'effet anti-inflammatoire de R-BuOH à 200mg/kg était comparable à celui de l'indométacine [12].

Activité anticancéreuse

L'extrait méthanolique des feuilles de la plante a montré une activité contre la croissance des tumeurs. Le fractionnement de l'extrait actif a conduit à l'isolement et à l'identification de 16 flavonoïdes incluant les gallocatéchines et les flavonols ayant le kaempferol, la quercétine, la myrcétine comme aglycones. Parmi les dérivés de la myrcétine, la myrcétine 3-O-(3' acetyl)-alpha-L-arabinopyranoside (1), myrcétine 3-O-(4' acetyl)-alpha-L-arabinopyranoside (2) ont été trouvés pour la première fois. Six composés, myrcétine 3-O-alpha-L-rhamnopyranoside (4), myrcétine 3-O-beta-D-galactopyranoside (7), myrcétine 3-O-D-(6'-galactosyl)-beta-D-galactopyranoside (9), myrcétine 3-O-beta-D-xylopyranoside (10), myrcétine 3-O-alpha-L-arabinofuranoside (12), et gallocatéchine (14) ont montré une activité significative en réduisant la vie de la cellule et en induisant une apoptose par voie caspase-dépendant dans la cellule DU-145. Cela peut être dû en partie à la modulation du mécanisme de la sensibilité du rédox [13].

Activité antifongique

Sept espèces de combrétacées ont été investiguées pour leur activité antifongique contre les agents fongiques pathogènes *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Trichophyton rubrum*. *Pteleopsis suberosa* et *Terminalia avicemnioides* ont été les plantes les plus actives. Un screening phytochimique

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

montre que ces plantes sont particulièrement riches en tanins et saponosides qui pourraient être responsable de leur activité antifongique [14].

Activité respiratoire

Trois plantes ont été investiguées pour leur activité sur le tractus respiratoire du cobaye. Il s'agit de *Cryssopteryx febrifuga*, *Pteleopsis suberosa* et *Antada Africana*.

Pour l'acide citrique induit la toux chez le cobaye, les drogues des trois plantes ont diminué significativement le nombre de toux aux doses de 250 (P<0,01), 500 (P<0,05 ; P<0,01) et 1000 (P<0,01) mg/kg. Le pourcentage d'inhibition était respectivement 62,86 ; 69,03 ; et 77,44% pour *C.febrifuga*, 57,80 ; 53,90 et 61,40% pour *E.africana* et 37,13 ; 42,44 et 73,72 pour *P.suberosa*. La codéine phosphate (10 mg/kg) était utilisée comme médicament de référence a montré une inhibition de 76,32% [15].

***Flueggea virosa* (Roxb.ex.Wild.) Voigt Euphorbiaceae**

1. Synonymes: *Phyllanthus virosa* Roxb.ex.Wild

***Securinega virosa* Bail.**

2. Systematique :

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

<u>Règne :</u>	Végétal
<u>Sous-règne :</u>	Eucaryote
<u>Embranchement:</u>	Spermaphyte
<u>Sous-embranchement:</u>	Angiosperme
<u>Ordre :</u>	Tri coques
<u>Famille :</u>	Euphorbiacée
<u>Genre :</u>	Securinega
<u>Espèce :</u>	virosa



***Flueggea virosa*: Photo archive ONG AIDEMET (photo 2)**

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

3. Habitat : Espèce très répandue dans la forêt jusqu'au sahel, stations humides dans le sahel, sèche dans les savanes soudaniennes et soudano-guinéennes.

4. Caractéristiques : Arbuste à cime ouverte, écorce membraneuse gris-brun, feuilles alternes en elliptique ou ovales, fleurs vert-jaunâtre en fascicules axillaires, fruits charnus en boules blanches (0,6 à 0,8cm de diamètre)

5. Cycle végétatif : L'arbuste est en feuilles en février, fleurit d'avril à juin, fructifie à partir de mai.

6. Noms vernaculaires :

Bambara : jene, surukujé

Malinke: nginin

Myanka: jéné

Senoufo: jeme

Bow: sutèni, sudèrèmi

Bobofing: sunenh

Dogon: segele

7. Pharmacopée traditionnelle : Plante très utilisée (remède à tout faire)

-Racines :

- Pilées et réduites en poudre (avec du sel gemme): ictère, paludisme, bilieuse hémoglobinique, entémalysie employées comme laxatif.
- Macérées (instillations) : préventif des maux d'yeux.
- En décoction : fièvre bilieuse hémoglobinique, bilharziose, rhumatismes, blennorragie, stérilité, impuissance sexuelle, soins des morsures de serpent, hémorroïdes

-Rameaux feuillés en décoction : ictère, bilieuse hémoglobinique, paludisme, fièvre infantile, migraine, employés pour aider un enfant à marcher

-Instillation : conjonctivites

8. Utilisations diverses :

- Le fruit est comestible
- Les écorces seraient toxiques

9. Chimie :

- La plante contient du tanin et Chropra signale en 1933 un pourcentage de 8,9 dans l'écorce C1

Lors d'essais préliminaires pratiqués en 1948-1949 sur nos échantillons de Cote d'Ivoire

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Pairs K4 p-76 trouve dans les écorces et les tiges 0,6p100 d'alcaloïdes, un peu de tanin et un principe aphrogène non hémolytique. Reprenant par la suite cette étude de Paris et ses collaborateurs pour différents lots des résultats variables : 1p100 d'alcaloïdes dans un lot de racines, 0,04p100 dans un autre. Les résultats pour les écorces sont plus voisins les uns des autres 0,40 et 0,60p100. Ils concluent à la présence dans les écorces de tige et de racine de deux alcaloïdes dont l'un a été à l'état cristallisé et pour lequel ils proposent le nom de flueggéine et une formule en $C_{10}H_{15}ON$. Avec M^{me} Moyses, Paris P33 a signalé en outre la présence de choline dans les échantillons.

La présence en 1956 de la sécurinine dans *S.suffruticosa* suivie par la reconnaissance de l'activité pharmacologique de cet alcaloïde, ne tarde pas à susciter des recherches orientées vers *virosa*.

Nakato et coll. N25, N26, N27, après avoir isolé la virosécurinine, énantiomorphe de la sécurinine, donnent des conformations préférentielles de la dihydrosécurinine. Le caractère d'antipode optique de la virosécurinine et de la sécurinine est confirmé par Parello, Melera et Goutarel P17.

Iketubosin et Mathison I11 isolent de l'espèce nigériane l'homologue inférieur de la sécurinine, la norsécurinine $C_{12}H_{13}O_2N$ avec en outre de l'hordénine (qui correspond à la fluggéine de Paris). Sorito et coll. S53 isolent deux autres alcaloïdes, le premier extrait des feuilles dénommé viroallosécurinine, énantiomorphe de l'allosécurinine, le second, extrait des racines, dénommé virosine de formule $C_{12}H_{15}NO_2$ mais qui est différent de la norsécurinine. Ils en isolent aussi norsécurinine et dihydrosécurinine S54. Selon Hegnauer (H55), 4), les feuilles de l'espèce formosane contiennent 1,68p-100 d'alcaloïdes totaux, 1,14p-100 de virosécurinine, 0,01p-100 de viroallosécurinine et 1,15p-100 d'alcaloïdes isolé à l'état pur.

En bref, on connaît bien maintenant 10 alcaloïdes de *S.virosa* qui à par l'hordénine $C_{10}H_{15}ON$ (diméthylamino-éthyl-phenol ou p-hydroxy-phényl-éthyl-diméthylamine) sont des stéréoisomères ou des dérivés très voisins de la sécurinine [16].

Deux dimères c-c des alcaloïdes indoliques, qui n'avaient pas été trouvés précédemment, flueggenines A(1) et B(2) aussi bien que leur précurseur biosynthétique (-) norsecurinine, ont été isolés des racines de *F.virosa*. Leur structure et leur configuration absolue ont été élucidées par des méthodes spectroscopiques, spécialement 2DNMB, les analyses spectrales CD et soutenues par voie de synthèse unique comme proposée par (1) et (2) ont été testés sur deux

tumeurs de lignée cellulaire et l'alcaloïde (1) a montré une faible activité contre la lignée cellulaire P-388 [17].

- Les principes actifs cytotoxiques de *S.virosa* : virosecurinine et viroallosecurinine et leurs dérivés apparentés.

La virosecurinine (1) et la viroallosecurinine (2) ont été isolées comme deux alcaloïdes cytotoxiques des feuilles de *S.virosa*. Une comparaison de cytotoxicité sur (1) et plusieurs de ces dérivés indiquent que un alpha, bêta, et un gamma, delta-lactone insaturé localisé dans un système d'anneaux tendus, tels que -B, -C et -D de (1) est structurellement requis pour une cytotoxicité significative [18].

10. Etudes pharmacologiques :

- Activité antiplasmodiale

Dans cette étude la plus grande activité antiplasmodiale a été trouvée pour MeOH/H₂O de l'extrait des feuilles de *Flueggea virosa* (Roxb.ex. Willd) Voigt subsp.virosa (Euphorbiacée) IC₅₀=2µg/ml, pour la décoction à base de racines de *F.virosa* IC₅₀=3µg/ml) et pour l'extrait chlorométhylinique des racines de *Vernonia colorata* (Willd) Drake subsp.gramdis (DC/C Jeffrey (Asteracée) IC₅₀=3µg/ml [19].

Cette étude a montré que les extraits les plus actifs (IC₅₀ <10µg/ml) utilisés contre les souches chloroquine-sensible (CQ) et chloroquine-résistant (W2), des clones *P.falciparum* ont été les extraits aqueux et méthanolique de *Maytenus undata* (Thumb.) Bkacklock (Celasteracée), l'extrait méthanolique de *Flueggea virosa* (Willd) Voigt (Euphorbiacée), *Maytenus putterlickioides* (Loes.) Excell et Mendica (Celasteracée), et *Warburgia stuhlmannii* Eng. (Canellacée.) [20].

Pour cette étude les plantes les plus actives étaient *Argemone mexicana*, *Securinega virosa*, *Spondias mombin* et *Opilia celtifolia* avec IC₅₀ s'étendant de 1,00 à 4,01µg/ml [21].

Dans cette étude les activités antiplasmodiales in vitro des extraits de *Cussonia spicata* (Analiacée), *Artemesia afra*, *Vermonia colorata*, *V.natalensis* (Asteracée), *Parinari curatellifolia* (Chrysobalanacée), *Clutia hirsuta*, *F.virosa* (Euphorbiacée), *Adenia gummifera* (Passifloracée) et *Hymenodictyon floribundum* ; (Rubiaceae) ont été évaluées. Les extraits lipophiles des parties aériennes de *A.afra* ; et de *V.colorata* ont été les plus actifs sur la souche sensible à la chloroquine PoW et contre celle du clone résistant à la chloroquine Dd2 de *P.falciparum* [22].

- L'activité trypanocide de la bergénine, le constituant majeur de *F.virosa* sur *Trypanosoma brucei*

La présence de la bergénine en quantité substantielle dans l'extrait méthanolique des feuilles de *F.virosa* (Euphorbiacée) a été établie comme forte taxonomie chimique de différenciation entre *F.virosa* et *S.virosa*. La bergénine a montré un effet inhibiteur de la forme sanguine de *T.brucei* avec une IC₅₀ de 1µg/ml [23].

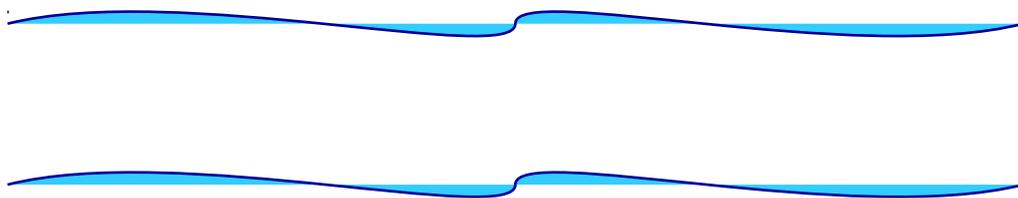
- L'activité antitrypanosomale

Huit extraits lipophiles de cinq plantes ont révélé des résultats promettant pour leur activité antitrypanosomiale avec une valeur de la IC₅₀ au dessous de 1µg/ml, parmi eux les extraits préparés de *Albizia gummifera* (2) ; *Ehretia amoena* (1) ; *Endata abyssinica* (2) ; *S.virosa* (1) et *Vermonia subuligera* (2) [25].

L'activité antioxydante

Un flavonoïde glucoside 3-O-kaempferol 4-O-(galloyl)-beta-D-glucoside, un nouveau dérivé de la bergénine, 11-O-caffeoylbergénine parmi lesquels d'autres flavonoïdes connus ont été isolés des feuilles de *F.virosa*. Les composés isolés ont montré une forte activité antiradicalaire en utilisant le DPPH [26].

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali



Travaux personnels

Méthodologie :

□ **Choix des plantes à étudier**

Le choix des plantes s'est justifié par leur usage en médecine traditionnelle (Kerharo et Adams 1974) et le résultat d'un screening de fixation des extraits de ces plantes sur le complexe de récepteur GABA_A-benzodiazépine, en effet les plantes ayant montré une forte activité ont été choisies pour le test de l'activité anticonvulsivante in vivo en utilisant le PTZ.

□ **Expérimentation**

Les études expérimentales ont été réalisées au Département de Médecine Traditionnelle de l'INRSP.

Le test de fixation des extraits sur le complexe de récepteur GABA_A-benzodiazépine s'est réalisé à Bordeaux.

1. Etude phytochimique :

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué par les écorces de racines, les écorces de tronc, les feuilles de *Pteleopsis suberosa* et les feuilles de *Flueggea virosa*. Les échantillons de *Pteleopsis suberosa* ont été récoltés à KATI par un herboriste du marché de Médine. Un pulvérisateur Resch type SM2000 OSI/1430 µpm a été utilisé pour le broyage des drogues après leur séchage (deux semaines) à l'ombre, à la température ambiante du laboratoire du DMT.

1.2. Matériel de laboratoire

- Balance analytique de précision (type SARTORIUS)
- Tubes à essai, éprouvettes graduées

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

- Entonnoir, coton, papier filtre, compresses
- Pipettes, erlenmeyer, poire
- Ampoule à décanter
- Bain-marie Buchi 461 water bath
- Béchers, spatules, ballons de concentration
- Rotavapor, lyophilisateur, creusets, agitateur magnétique
- Agitateur simple

1.3. Réactions de caractérisation

Les groupes chimiques contenus dans nos échantillons ont été caractérisés par des réactions en tubes.

Les résultats sont classés comme suit :

- Présence abondante de la substance: + + +
- Présence peu abondante de la substance: + +
- trace de la substance: +
- absence de la substance : ---

□ Alcaloïdes

Ils forment un groupe important de substances naturelles d'intérêt thérapeutique par leur diversité structurale et l'éventail de leurs activités pharmacologiques. Ce sont des substances azotées qui agissent comme des bases.

Solution à analyser

Nous avons ajouté à de la poudre végétale 10g de l'acide sulfurique dilué au 1/10 (50ml) dans un erlenmeyer de 250 ml. L'ensemble a été laissé en macération à la température du laboratoire pendant 24 heures puis filtré. Le filtrat a été complété à 50 ml avec de l'eau distillée.

Caractérisation

Nous avons pris deux tubes à essai dans lesquels nous avons introduit le filtrat un (01) ml. Dans le premier tube nous avons ajouté cinq (05) gouttes de réactif de Mayer (solution aqueuse de mercuri-iodure de potassium) ; dans le deuxième tube et 5 gouttes de réactif de Dragendorff (solution aqueuse d'iodo-bismuthate de potassium). La présence d'alcaloïdes est caractérisée par la formation d'un précipité dans chaque tube.

▯ **Substances Polyphénoliques**

Solution à analyser

La solution à analyser est un infusé à 5 %. Nous avons ajouté à de la poudre végétale cinq (05) g de l'eau bouillante 100ml contenue dans un erlenmeyer de 250ml. Nous avons arrêté l'ébullition, surmonté d'un entonnoir et laissé infuser 15 mn. Le filtrat a été complété à 100 ml avec de l'eau distillée.

Caractérisation

▯ **Tanins**

Ce sont des esters de l'acide gallique ou de glucose. Leurs propriétés biologiques sont liées à leur pouvoir de former des complexes avec les macromolécules en particulier les protéines, la gélatine et les alcaloïdes à partir des solutions aqueuses. Ce sont des composés qui se polymérisent donnant des polymères de masse allant de 500 à 3000.

Dans un tube à essai contenant de l'infusé un (01) ml, nous avons ajouté une solution aqueuse diluée de FeCl_3 à 1 % (1ml). En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

▯ **Tanins catéchiques**

A l'infusé à 5 % (5ml), nous avons ajouté 1ml d'alcool chlorhydrique (5ml d'éthanol 95° alcoolique, 5ml d'eau distillée, 5ml de HCl concentré). Nous avons porté à ébullition pendant 15 mn.

En présence de tanins catéchiques, il y a formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique.

A 30ml d'infusé à 5 % nous avons ajouté 15ml de réactif de Stiasny (10ml de formol à 40 %, 15ml d'acide chlorhydrique concentré). Nous avons chauffé au bain-marie à 90° C pendant 15 mn. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques.

▯ **Tanins galliques**

Filtrer et saturer le filtrat d'acétate de sodium pulvérisé, ajouter une (01) ml goutte à goutte d'une solution de FeCl_3 à 1 %, le développement d'une teinte bleu-noire montre la présence de tanins galliques.

□ **Flavonoïdes**

Ce sont les pigments universels des végétaux responsables de la coloration des fruits, des fleurs et souvent des feuilles.

A l'infusé à 5 % présentant une coloration plus ou moins foncée, nous avons ajouté un acide (5ml de H₂SO₄) puis une base (5ml de NH₄OH). Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut conclure à la présence d'anthocyane.

Réaction à la cyanidine

Nous avons introduit dans un tube à essai 5 ml de l'infusé à 5 %, ajouté cinq (05) ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95 %, l'eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes) ; puis quelques copeaux de magnésium et 1ml d'alcool isoamylique.

L'apparition d'une coloration rose-orangée (flavones) ou rose-violacée (flavanones) ou rouge (flavonols, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques.

La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les auronnes, les catéchines et les isoflavones.

□ **Leucoanthocyanes**

Nous avons effectué la réaction à la cyanidine sans ajouter les copeaux de magnésium et chauffé pendant 15mn au bain-marie.

En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée. Les catéchols donnent une teinte brun-rouge.

□ **Dérivés anthracéniques**

Ils appartiennent au groupe des quinones. Ils se caractérisent par leur pouvoir oxydant élevé.

□ **Anthracéniques libres**

Solution à analyser

A de la poudre végétale un (01) g, nous avons ajouté du chloroforme 10ml et chauffé pendant trois (03) minutes. Nous avons filtré à chaud et complété à 10ml si nécessaire.

Caractérisation

A 1ml de l'extrait chloroformique obtenu nous avons ajouté un (01) ml d'ammoniaque dilué au 1/2 et agité.

La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

□ **Anthracéniques combinés**

- **O-hétérosides**

Nous avons préparé un hydrolysât à partir du résidu de la drogue épuisée par le chloroforme auquel nous avons ajouté 10ml d'eau et un 1ml d'acide chlorhydrique concentré. Nous avons maintenu le tube à essai au bain-marie bouillant pendant 15 mn. Nous avons filtré et complété le filtrat à 10ml.

Nous avons agité cinq 5 ml de l'hydrolysât avec 5ml de chloroforme. Nous avons soutiré la phase organique et l'avons introduite dans un tube à essai. Nous avons gardé la phase aqueuse.

A la phase organique, nous avons ajouté 1ml d'ammoniaque dilué au 1/2. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence d'anthraquinones.

Si la réaction est négative ou faiblement positive, rechercher les O-hétérosides à génine réduite.

Nous avons prélevé 5 ml de l'hydrolysât et ajouté 3 à 4 gouttes de FeCl₃ à 10 %. Nous avons chauffé pendant 5mn au bain-marie puis refroidi sous courant d'eau. Nous avons agité avec 5ml de chloroforme puis soutiré la phase chloroforme. Nous l'avons introduite dans un tube à essai.

Nous avons ajouté 1ml d'ammoniaque dilué et agité.

En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment.

- **C-hétérosides**

La solution à analyser est la phase aqueuse obtenue avec la solution à analyser des O-hétérosides. A cette solution nous avons ajouté de l'eau (10ml) et du FeCl₃(1ml). Le tube à essai a été maintenu au bain-marie pendant 30mn puis refroidi sous un courant d'eau. Nous avons agité avec du CHCl₃ (5ml) puis soutiré la phase chloroformique. Nous y avons ajouté de l'ammoniaque diluée au 1/2 (1 ml).

L'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de C-hétérosides.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

▣ **Stérols, triterpènes et caroténoïdes**

Solution à analyser

L'extrait à tester a été obtenu à partir de la poudre de drogue végétale un (01)g et de l'éther 20ml laissés en macération pendant 24 heures. Nous avons filtré et complété à 20ml avec de l'éther.

Caractérisations

▣ **Stérols et triterpènes**

Nous avons évaporé à sec dans un tube à essai 10ml d'extrait, puis fait dissoudre le résidu dans 1ml d'anhydride acétique et dans un (01) ml de chloroforme. Nous avons partagé dans deux tubes à essai, l'un servant de témoin puis avons mis dans le fond du second tube à l'aide d'une pipette 1 à 2ml d'acide sulfurique concentré.

A la zone de contact des deux liquides il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageant devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et tri terpènes.

▣ **Caroténoïdes**

Après évaporation jusqu'à sec de cinq (05) ml d'extrait, nous avons ajouté 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine dans le chloroforme. Il se développe en présence de caroténoïdes une coloration bleue devenant rouge par la suite.

▣ **Hétérosides cardiotoniques**

Ils forment un groupe homogène possédant un intérêt thérapeutique réel. Ils demeurent des médicaments majeurs de l'insuffisance cardiaque.

Solution à analyser :

Nous avons introduit de la poudre végétale 10g d'éthanol à 50 % (30ml), porté en ébullition et filtrer après refroidissement.

Caractérisation :

Extraire le filtrat avec chloroforme (CHCl_3), partager cette phase chloroformique entre trois (03) tubes à essai et évaporer au bain marie bouillant jusqu'à sec et reprendre avec une solution alcaline.

En présence d'hétérosides cardiotoniques, les colorations suivantes se sont développées :

Tube 1 Kedde : rouge-violacé, orangé

Tube 2 Baljet : orangé

Tube 3 Remond et Martoud : violet-fugace

▣ **Saponosides**

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Ce sont des hétérosides caractérisés par leurs propriétés tensioactives.

Solution à analyser

La solution à analyser est un décocté à 1 %. Nous avons porté à ébullition dans un erlenmeyer de l'eau distillée (100ml) et y avons projeté de la poudre de drogue végétale un (01) g. Une ébullition modérée a été maintenue pendant 15mn. Nous avons filtré et ajusté après refroidissement à 100ml.

Caractérisation

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, nous avons réparti successivement 1, 2,10 ml du décocté à 1%. Le volume de chaque tube a été ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube a été agité pendant 15 secondes dans le sens de la longueur puis laissé au repos pendant 15 minutes puis la hauteur de la mousse a été mesurée.

L'indice de mousse (I.M.) a été calculé à partir du tube dans lequel la hauteur de la mousse a été de 1cm (N).

□ **Autres caractérisations**

Composés réducteurs

Le décocté aqueux à 10 % (5ml) a été évaporé au bain-marie jusqu'à sec. Nous avons ajouté au résidu un (01) ml de réactif de Fehling (0,5 ml réactif A + 0,5 ml réactif B, mélange extemporané).

L'obtention d'un précipité rouge-brique indique la présence de composés réducteurs.

□ **Oses et holosides**

Le décocté aqueux à 10 % cinq (05) ml a été évaporé à sec. Nous avons ajouté au résidu 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré, puis après cinq (05) mn 3 à 5 gouttes d'alcool saturé avec du thymol.

Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides.

□ **Mucilages**

Nous avons ajouté à 1 ml de décocté à 10 % de l'éthanol absolu cinq (05) ml.

L'obtention d'un précipité floconneux, par mélange, indique la présence de mucilages.

□ **Coumarines**

Nous avons évaporé à sec l'extrait éthéré cinq (05) ml obtenu après une macération de 24 heures, puis avons repris le résidu avec de l'eau chaude (2ml). Nous avons partagé la solution

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

entre deux (02) tubes à essai. Nous avons ajouté dans l'un des tubes de l'ammoniaque à 25 % (0,5 ml) et observé la fluorescence sous UV 366nm.

Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

2. Dosages :

2.1. Teneur en eau :

Une seule méthode a été utilisée pour le dosage de l'eau :

□ **Méthode gravimétrique**

Principe

C'est une méthode pondérale qui consiste en la détermination de la perte en masse d'une quantité connue de poudre par dessiccation à l'étuve ou au four réglé à la température de $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24 h.

Matériel :

- Balance analytique de précision (type SARTORIUS)
- Four
- Pince
- Spatule métallique
- Verre de montre (ou creuset)
- Dessiccateur

Technique

Nous avons taré cinq verres de montre et y avons introduit des prises d'essai (PE) de 1 à 2g (pesées au mg près). Nous avons ensuite pesé les verres de montre contenant les poudres avant de les introduire dans le four réglé à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pour une dessiccation pendant 24 h. Au sortir du four nous avons refroidi les poudres dans un dessiccateur contenant un desséchant (chlorure de calcium, anhydride phosphorique) et les avons ensuite pesées.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Le calcul suivant permet d'obtenir le pourcentage en eau :

Calcul: Masse prise d'essai = masse avant four - tare

Masse eau = masse avant four – masse après four

$$\% \text{ eau} = (\text{masse eau} \div \text{masse PE}) \times 100$$

2.2. Cendres

Matériel

- Balance analytique de précision (type SARTORIUS)
- Four
- Creusets en porcelaine ou en fer
- Spatule métallique
- Dessiccateur
- Pince

□ Cendres totales

Les cendres proviennent des tissus de la plante ou des éléments étrangers (sable, terre...) adhérant à la drogue végétale. Elles sont obtenues par calcination complète de la matière végétale dans l'air.

La teneur en cendres est obtenue par dosage pondéral des cendres blanches obtenues par calcination de la drogue végétale dans un four.

• **Mode opératoire**

Nous avons pesé 3 prises d'essai de la drogue (M) dans 3 creusets en silice préalablement tarée (T).

Après incinération au four à une température d'environ 600°C pendant 6 h, et refroidissement dans un dessiccateur, nous avons déterminé la masse des creusets contenant les prises d'essai et les avons noté M'1, M'2 et M'3.

La masse moyenne en cendres totales (MCt) contenue dans le creuset est donnée par la formule :

La masse moyenne de la prise d'essai (PE) est donnée par la formule :

Le pourcentage des cendres totales (% Ct) est donné par la formule

Détermination de la teneur en cendres sulfuriques

C'est une méthode d'évaluation des substances inorganiques de la drogue végétale. Les cendres sulfuriques sont obtenues après une attaque de la drogue par l'acide sulfurique.

La teneur est déterminée par dosage pondéral des sulfates non volatils obtenus par calcination de la matière végétale préalablement traitée avec de l'acide sulfurique dilué au ½. Les sulfates résultent de la conversion des sels organiques.

Dans un creuset en quartz sec préalablement taré (T), nous avons introduit une prise d'essai de la poudre et pesé l'ensemble (M).

Nous avons ensuite humecté la poudre avec une quantité suffisante d'acide sulfurique dilué au ½ et trituré avec une baguette.

Le creuset a été laissé à l'étuve jusqu'à l'évaporation à sec puis mis au four à la température de 600 °C pendant 6 heures. Nous avons pesé le creuset après refroidissement (M'). La masse des cendres sulfuriques (MCs) s'obtient comme suit :

$$MCs = M' - T$$

La masse de la prise d'essai est : PE = M - T

Le pourcentage des cendres sulfuriques (% Cs) est donné par la formule :

▣ **Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %**

C'est une évaluation du contenu en constituants siliceux de la matière végétale. Ces cendres sont déterminées à partir de l'action de l'acide chlorhydrique dilué à 10 % sur les cendres totales.

Nous avons introduit la totalité des cendres dans un erlenmeyer et ajouté 20 ml d'acide chlorhydrique à 10 %. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15 mn au bain-marie. Après refroidissement, nous avons recueilli, lavé la matière non soluble sur un papier filtre sans cendre, puis transféré le filtre dans un creuset sec préalablement taré (T).

Le creuset contenant le papier filtre a ensuite été séché à l'étuve pendant 24 heures et calciné pendant 6 heures au four à la température de 600°C. Après refroidissement dans un dessiccateur, nous avons pesé le creuset contenant les cendres (M').

- La masse des cendres chlorhydriques (MCc) est donnée par la formule :

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

$$\text{MCC (masse cendre chlorhydrique)} = M' - T$$

- La masse de la prise d'essai (PE) est la masse de poudre utilisée pour les cendres totales.
- Le pourcentage des cendres chlorhydriques (% Cc) s'obtient de la manière suivante :

PE : (prise essai)

1.4. Extractions

□ **Extraction par décoction**

Le principe est de faire une décoction pendant 15 mn afin de récupérer les substances extractibles par l'eau à chaud.

- 200 g de poudre de chacun des quatre échantillons ont été bouillis avec 2000ml d'eau (décoction 10%).
 - Nous avons refroidi, filtré le décocté, puis procédé à la concentration sous vide du filtrat au rotavapor à la température de 52°C.
 - La solution concentrée obtenue a été lyophilisée et le résidu a été conservé dans des flacons stériles hermétiquement fermés après les différentes pesées.

- Formule de calcul du rendement :

□ **Extraction par infusion**

100g de poudre de drogue ont été introduits dans un ballon contenant 1000ml d'eau bouillante pendant un temps de 15mn. Les infusés obtenus ont été filtrés sur des compresses puis

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

concentré au rotavapor à sec sous vide à 52°C. Le concentré obtenu a été lyophilisé et conservé dans des flacons stériles hermétiquement fermés.

A chaque fois le rendement de l'extraction a été évalué.

□ **Extraction par l'éthanol (70%):**

Nous avons préparé un extrait par macération 100g de poudre de chaque drogue avec 1000ml d'ETOH à 70% pendant un temps de 24H sous agitation magnétique. Les macérés ont été filtrés sur des compresses puis concentrés au rotavapor sous vide à 52°C. L'extrait obtenu a été lyophilisé et conservé dans des flacons stériles hermetiquement

Figure 3 : Schéma d'extraction par l'éthanol à 70%

□ **Extraction par les solvants à polarité croissante**

Nous avons utilisé successivement les solvants suivants : l'éther de pétrole, le dichlorométhane (DCM), l'acétate d'éthyle, le butanol et l'eau.

Un gramme (1g) de poudre de chaque échantillon a été d'abord extrait par l'éther de pétrole (20 ml) pendant une heure (1h) sous agitation magnétique, le marc obtenu a été repris par le

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

DCM, extrait pendant 1h sous agitation magnétique et ainsi de suite. Le marc obtenu du butanol a été repris par l'eau et bouilli pendant quinze minutes (décocté épuisé). Le même volume a été utilisé pour tous les solvants.

Figure 4 : Schéma d'extraction par les solvants à polarité croissante

Figure 4 : Schéma d'extraction par les solvants à polarité croissante

1.5. Chromatographie

Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

La CCM est une méthode physico-chimique qui comporte une répartition du soluté entre deux phases, une phase stationnaire et une phase mobile. Elle permet de séparer les constituants d'une substance en fonction de leur vitesse de migration.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

□ **Matériels** : spatule, flacons, pince, crayon, règle, cutter, balance de type Sartorius, micropipettes, cuves avec couvercle, pulvérisateurs, plaque de Silice 60FG254, lampe UV.

□ **Solvants** :

□ De dissolution :

Mélange méthanol : eau (1 : 1) pour les extraits aqueux. A 10 mg de l'extrait nous avons ajouté (un) 1 ml du mélange méthanol eau.

Les extraits organiques sont repris par leurs solvants d'origine. Nous avons utilisé (01) un ml de chaque solvant : Ether de pétrole, DCM, Acétate d'éthyle, Butanol.

□ De migration :

Les systèmes de solvants : Ether de pétrole-Acétate d'éthyle (1 :1), (2:1), (1:2) ont été employés pour les extraits organiques et le système Butanol : Acide acétique : Eau (60:15:25) pour les extraits aqueux et CH₃-MeOH-H₂O (70-30-03) pour les extraits butanoliques.

□ **Révélateurs**:

Réactif de Godin ; Réactif de Dragendorff.

□ **Dépôts** :

Peser 10 mg d'extraits dans des flacons ; dissoudre dans 1ml de solvant de dissolution convenable. Déposer sur les plaques, 10 microlitres des différentes solutions à l'aide de micropipettes graduées. Introduire les plaques dans des cuves pour la migration. Après migration, nous avons séché les plaques et procédé à l'observation sous lampe ultraviolette aux longueurs d'ondes 254 et 366 nm. Calculer ensuite les facteurs de rétention (Rf) de chacune des taches observées.

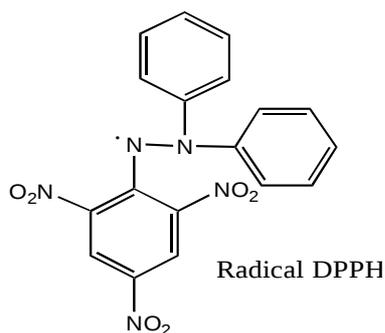
dx (distance parcourue par la substance x)

Rf =

ds (distance parcourue par le front du solvant S)

Activités biologiques

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali



1. Détermination de l'activité antioxydante :

Cette activité a été déterminée par le principe de la réduction du radical DPPH (1-1 Diphényl 2 pycril hydrazile) sur plaque de CCM.

Tous les extraits ont été soumis à ce test. Un mélange méthanol-eau (1 : 1) a servi à la dissolution des extraits polaires tandis que les extraits apolaires ont été dissous dans leur solvant d'extraction (10 mg de chaque extrait ont été dissout dans 1 ml de solvant approprié). Des dépôts de 10 μ l de chaque solution d'extrait ont été réalisés sur des plaques de Silicagel. Les systèmes de solvants Ligoïne : Acétate d'éthyle (1 : 1) et Butanol-Acide acétique-eau (60 : 15 : 25) ont été respectivement employés pour la migration des extraits apolaires et polaires.

Après la migration des substances, les plaques de CCM ont été révélées avec une solution méthanolique à 2 mg/ml de 1-1 Diphényl 2 pycril hydrazile. Les substances actives apparaissent en tâche jaune sur fond violet. **10**

2. Test de fixation au récepteur GABA_A-benzodiazépines

Le récepteur des benzodiazépines : l'essai [³H]-flumazenil

Matériels

Les extraits :

- *F. virosa* (feuilles)
- *B. aegyptiaca*
- *P. suberosa* (écorces de racines, du tronc et les feuilles)

Les réactifs :

- [Méthyle-³H]-flunitrazépam (70-90 Ci/mmol)
- Clonazépam

Préparation du tissu :

Les rats mâles Wister sont décapités et leurs cerveaux sont rapidement enlevés. Les cortex cérébraux sont enlevés, pesés et homogénéisés avec un homogénéisateur Potter-Elvehjem dans 20ml de glace-sucrose 0,32M. L'homogénat est centrifugé à 1000g pour 10mn. Le granulé est éliminé et le surnageant est centrifugé à 30000g pour 20mn. Le granulé membranaire qui en résulte est mis dans 20 volumes de 0,05M Tris buffer pH 6,9.

Essai

1ml 0,05 Tris buffer, pH 6,9

70µl 0,5M Tris buffer, pH 6,9

50µl ³H-flunitrazépam

20µl véhicule (pour la liaison totale) ou 0,1mM de clonazépam (pour la liaison non spécifique) ou les concentrations des substances appropriées, 300µl de suspension de tissu.

Les tubes contenant ³H-flunitrazépam, buffer, les substances et H₂O sont incubés à 0-4°C dans un bain de glace. On additionne aux tubes à dix secondes d'intervalle 300 µl de la suspension de tissu à plusieurs reprises.

Le minuteur commence avec l'addition du mélange dans le premier tube. Les tubes sont incubés à 0-4°C pour 20mn et l'essai se termine par une filtration sous vide grâce aux tubes GF/B Whatman. Ces opérations sont effectuées à dix secondes d'intervalle. Chaque filtre est immédiatement rincé avec 5ml de glace-buffer, pH 6,9.

The filters are counted in 10ml of liquid scintillation counting cockt

Evaluation

La liaison spécifique est définie comme la différence entre la liaison totale et la liaison en présence du clonazépam. La liaison spécifique est approximativement 97% de la liaison totale du ligand.

Le pourcentage d'inhibition pour chaque concentration de la substance est le moyen de détermination. Les valeurs de IC_{50} sont calculées en utilisant la méthode d'analyse log-probit [8].

3. Test du Penthylentetrazol (PTZ) ou Metrazol :

□ Matériels

□ Matériel végétal

Il est constitué par les extraits, le décocté 10 % de l'écorce de racine, de l'écorce de tronc de *Pteleopsis suberosa*.

□ Matériel animal

Nous avons travaillé sur des souris blanches mâles et femelles de poids variant entre 20 et 36 g. Les souris sont issues d'une souche non consanguine sélectionnée à partir d'une lignée de souris présentant des caractéristiques de rigueur et de productivité appelée CF₁ (Carworth Farms Souche 1) et qui a été introduite à l'institut Marchoux en 1967 et pris le nom de OF₁ (Oncins Souche 1). Les souris ont été suivies dans les locaux du DMT à Dares-salam.

□ Produits utilisés

Le produit convulsivant : Penthylentetrazol (PTZ)

Nous avons utilisé un agitateur type vibreur (Vortex®) pour solubiliser et homogénéiser le PTZ dans un volume de 10 ml d'une solution salée NaCl 0,9 % (0,9g de NaCl dans 100 ml d'eau distillée).

Le PTZ a été administré à la dose de 60 mg/kg par voie intra péritonéale.

Traitements

Extraits : Décocté lyophilisé de l'écorce de racine et de tronc de *Pteleopsis suberosa* (100 et 200 mg/kg de poids corporel)

Médicaments de référence : Phénobarbital (50 mg/kg) et Diazépam (30 mg/kg)

Témoin : Eau distillée 25 ml/kg.

Les différents traitements ont été administrés par voie intragastrique aux souris

Sélection des animaux

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Avant de commencer le test proprement dit, nous avons soumis les animaux à un essai de sensibilisation au PTZ. Le PTZ a été administré par la voie intra péritonéale à la dose de 60 mg/kg.

Seuls les animaux ayant fait des crises convulsives de type tonico-clonique après administration du PTZ, ont été sélectionnés pour le test proprement dit et cela une semaine après le test de sensibilité.

Evaluation de l'effet anticonvulsivant:

Les différents traitements ont été administrés par voie intragastrique: les extraits de *P. suberosa* aux doses de 100 mg et 200 mg/kg dissous dans 25 ml d'eau distillée.

Une heure après les traitements, le PTZ a été administré à la dose de 60 mg/kg par voie intra péritonéale.

Immédiatement après l'administration du PTZ, chaque souris a été observée pendant 30 minutes.

Les paramètres suivants ont été notés : le début des convulsions (temps de latence entre le produit convulsivant et l'apparition des convulsions), le nombre de crises et le nombre de mort.

Expression des résultats

L'effet convulsivant a été exprimé en temps de latence, en nombres de convulsions, de crises et pourcentages de mort et de protection des groupes traités contre les crises par rapport au groupe témoin.

Le temps de latence et le nombre de convulsions ont été exprimés en moyenne plus ou moins la déviation standard. La significativité a été estimée avec le test *t* de Student avec

$P < 0,01$ (très significatif) et $P < 0,05$ (significatif) par rapport au témoin.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali



Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Résultats :

Nous reportons ici les résultats de nos études expérimentales sur les quatre échantillons:

***Pteleopsis suberosa* (écorces de racines, écorce de tronc, feuilles) *Securinega virosa* (feuilles)**

Matières premières végétales

Plantes	Drogue	Masse en (g)	Couleur
<i>P. suberosa</i>	Ecorce de racines	520	Marron
<i>P. suberosa</i>	Ecorce de tronc	960	Marron
<i>P. suberosa</i>	Feuilles	1090	Vert
<i>S. virosa</i>	Feuilles	700	Vert

Etudes phytochimiques :

1. Dosages

Dans le **tableau III** ci- dessous nous avons énuméré les résultats des différents dosages réalisés sur les poudres des quatre (04) échantillons.

Tableau III : Teneurs en eau, en cendre et l'indice de mousse des feuilles, écorces de tronc et de racines de *P. suberosa* et les feuilles de *S.virosa*

Nature du dosage	<i>P. suberosa</i> ER	<i>P.suberosa</i> ET	<i>P.suberosa</i> F	<i>S. virosa</i> F
Eau (gravimétrie) (%)	10,21	10,63	8,76	10,25
Cendres totales (%)	21,39	21,81	14,16	9,60
Cendres chlorhydriques (%)	5,76	2,04	3,73	1,97
Cendres sulfuriques	8,67	9,33	7,00	7,00
Indices de mousse	250	250	200	-

ER = Ecorces de racine, **ET** = Ecorces de tronc, **F**= Feuilles

Pour trois échantillons la teneur en eau est supérieure à celle requise pour une bonne conservation de la drogue végétale. Nous n'avons pas pu déterminer l'indice de mousse pour les feuilles de *S. virosa* parce que la hauteur de la mousse dans les différents était inférieure à 1cm.

2. Extractions

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Le **tableau IV** suivant fait apparaître les différents rendements et aspects obtenus de nos différentes extractions.

Tableau IV : rendements et aspects des différents extraits.

Plantes/Organes	Extraits	Rendements en %	Coloration	Aspects
<i>Pteleopsis suberosa</i> (Ecorce de racines)	Eau décocté 10%	16,83	marron	granuleux
	Infusé 10%	17,11	marron	granuleux
	Macéré 10%	12,49	marron	granuleux
<i>Pteleopsis suberosa</i> (Ecorce de tronc)	Eau décocté 10%	22,84	marron	granuleux
	Infusé 10%	23,16	marron	granuleux
	Macéré 10%	21,38	marron	granuleux
<i>Pteleopsis suberosa</i> (Feuilles)	Eau décocté 10%	13,18	jaune	floconneux
	Infusé 10%	9,70	jaune	granuleux
	Macéré 10%	15,40	vert jaunâtre	floconneux
<i>Flueggea virosa</i> (Feuilles)	Eau décocté 10%	18,75	Jaune brunâtre	granuleux
	Infusé 10%	18,57	jaune	floconneux
	Macéré 10%	25,08	Jaune verdâtre	granuleux

Tableau V : Extraction par les solvants à polarité croissante

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Plantes/Organes	Extraits	Rendement (%)	Couleur
<i>Pteleopsis suberosa</i> (Ecorces de racine)	Ether P	1	jaune
	DCM	1	brun
	AcoEt	1	marron
	BuOH	6	brun
	Décocté épuisé	15	Jaune brunâtre
<i>Pteleopsis suberosa</i> (Ecorces de tronc)	Ether P	1	jaune
	DCM	1	brun
	AcoEt	1	marron
	BuOH	8	brun
	Décocté épuisé	35	Jaune brunâtre
<i>Pteleopsis suberosa</i> (Feuilles)	Ether P	1	vert
	DCM	1	vert jaunâtre
	AcoEt	2	vert
	BuOH	10	vert
	Décocté épuisé	15	vert
<i>Flueggea virosa</i> (Feuilles)	Ether P	2	vert
	DCM	4	vert jaunâtre
	AcoEt	3	vert
	BuOH	5	vert
	Décocté épuisé	58	vert

Le plus grand rendement a été obtenu pour tous les extraits par le décocté épuisé (jusqu'à 58% pour les feuilles de ***S.virosa***)

Tableau VI : Extraits méthanoliques

Plantes/Organes	Rendement (%)	Aspect/Couleur
<i>Pteleopsis suberosa</i> (Ecorces de racine)	21,86	marron
<i>Pteleopsis suberosa</i> (Ecorces de tronc)	22,66	marron
<i>Pteleopsis suberosa</i> (Feuilles)	17,16	vert
<i>Flueggea virosa</i> (Feuilles)	14,52	vert

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Les écorces de tronc ont donné le meilleur rendement par l'extraction avec le méthanol.

3. Les réactions de caractérisations

Nous avons effectué deux types de caractérisations :

- Les réactions en tubes
- La chromatographie sur couche mince

□ Les réactions en tubes

Le tableau suivant présente les groupes chimiques obtenus dans les poudres des différents échantillons. Dans nos conditions d'étude nous avons observé dans nos quatre (04) échantillons la présence de tanins galliques et d'hétérosides cardiotoniques. Il est à noter l'absence de saponosides dans les feuilles de *S.virosa* de même que d'anthracénosides combinés et de composés réducteurs dans tous nos échantillons. Nous avons observé la présence d'alcaloïdes en très faible quantité dans les feuilles de *S.virosa*.

Groupes chimiques recherchés	Plantes étudiées			
	<i>P. suberosa</i> ER	<i>P.suberosa</i> ET	<i>P.suberosa</i> Feuilles	<i>S.virosa</i> Feuilles
Coumarines (fluorescence U.V 366 nm)				
Caroténoïdes (Carr et Price)	---	---	++	+
Antracénosides libres (Bornstager)	+++	+++	++	---
Antracénosides combinés C- Hétéroside	---	---	---	---
Antracénoside combinés O- Hétéroside	---	---	---	---
Flavonoïdes : Génines flavoniques (Shibata)	+	---	+	+
Flavonoïdes : Hétérosides flavoniques (Shibata)	---	---	---	---
Alcaloïde Bases :Bouchardat-MayerDragendorff)	---	---	---	+
Alcaloïdes : Sel (Bouchardat-Mayer-Dragendorff)	---	---	---	+
Saponosides : Mousse	+++	+++	+++	---
Saponosides : Indice de mousse	250	250	200	---
Tanins : Réaction avec FeCl ₃	+++	+++	+++	+++
Tanins : Réaction avec HCl	++	++	---	+
Tanins catéchiques : Réaction de Stiasny	++	++	---	+
Tanins galliques : Réaction de Stiasny	++	++	+++	+++

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Composés réducteurs	---	---	---	---
Oses et holosides	---	---	+	++
Polyuronides (mucilages)	---	---	+++	+
Stérols et triterpènes : Hétérosides triterpéniques (Liebermann)	++	---	---	+
Hétérosides cardiotoniques (Raymond-Marthoud)	++	+++	+++	+++
Hétérosides cardiotoniques : Kedde	+	+	+	+
Hétérosides cardiotoniques : Baljet	+	+	+	+
Anthocyanes	---	---	---	---
Leucoanthocyanes	++	+++	++	---

Tableau VII : Résultat réaction de caractérisation en tubes

ER = Ecorces de racine ; ET = Ecorce de tronc

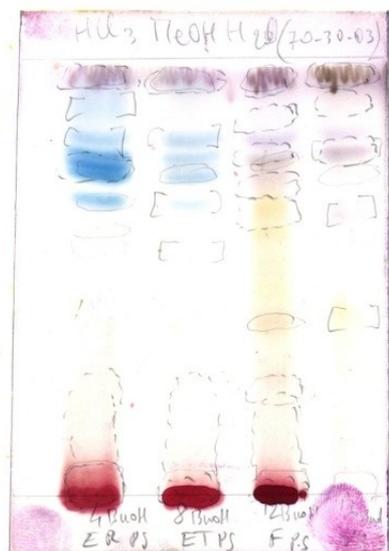
Légende : +++ : Présence abondante ; ++ : Présence peu abondante + : Traces

--- : Absence.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

□ Chromatographie sur couche mince

Les données de la phytochimie (chromatographie sur couche mince) des poudres des quatre (04) échantillons de nos plantes sont reportées dans les tableaux et figures suivants : chaque tableau comprend les informations sur le facteur de rétention (Rf), l'observation à la lumière UV (à 254 nm et la fluorescence 366 nm) et les différentes colorations après révélation avec le réactif : Réactif de Godin (Universel)



Légende

ER PS : écorces de racines *P.suberosa*

ETPS : écorces de tronc *P.suberosa*

FPS : feuilles *P.suberosa*

FSV : feuilles *F.virosa*

Révélateur : Godin

Système de solvant : chloroforme-méthanol-eau(70-30-03)

Figure 5 : CCM des extraits butanolique

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Tableau VIII: Résultats de la CCM des extraits butanoliques de nos échantillons

CH₃-MeOH-H₂O (70-30-03)

Echantillons	Rf	254 nm	366 nm	Godin
ER (PS)	0,04	sombre	sombre	rouge
	0,16	violet	-	visible
	0,56	violet	-	visible
	0,68	violet	-	bleu
	0,75	violet	bleu ciel	bleu
	0,78	-	-	bleu
	0,89	-	-	bleu
	0,96	violet	orange	violet
	0,95	violet	orange	bleu
ET (PS)	0,04	sombre	sombre	rouge
	0,16	sombre	sombre	marron
	0,64	-	-	bleu
	0,68	-	-	bleu
	0,75	-	-	bleu
	0,95	violet	orange	bleu
F(PS)	0,04	sombre	sombre	rouge
	0,12	-	sombre	jaune
	0,25	-	sombre	jaune
	0,39	sombre	-	jaune
	0,65	-	sombre	jaune
	0,70	-	violet	jaune
	0,76	vert clair	-	violet
	0,86	-	violet	visible
F (SV)	0,95	vert	rouge	marron
	0,02	sombre	sombre	visible
	0,39	-	-	jaune
	0,74	violet	-	visible
	0,75	-	-	violet
	0,79	-	violet	visible
	0,89	-	violet	violet
0,95	vert	rouge	marron	

De nombreuses taches ont eu une florescence jaune-verdâtre à UV 366nm et une coloration violet à après révélation au réactif de Godin. Beaucoup de composé obtenu ont donné une coloration bleue après révélation au Godin.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Remarque : d'une façon générale, les colorations bleues obtenues après révélation par le réactif de Godin pourraient être des coumarines, les substances colorées en jaune-vert et violet des stérols et des composés terpéniques. Et celles en jaune clair des Flavonoïdes.

Les taches noir verdâtres obtenues après révélation par le réactif FeCl_3 pourraient être des tanins.

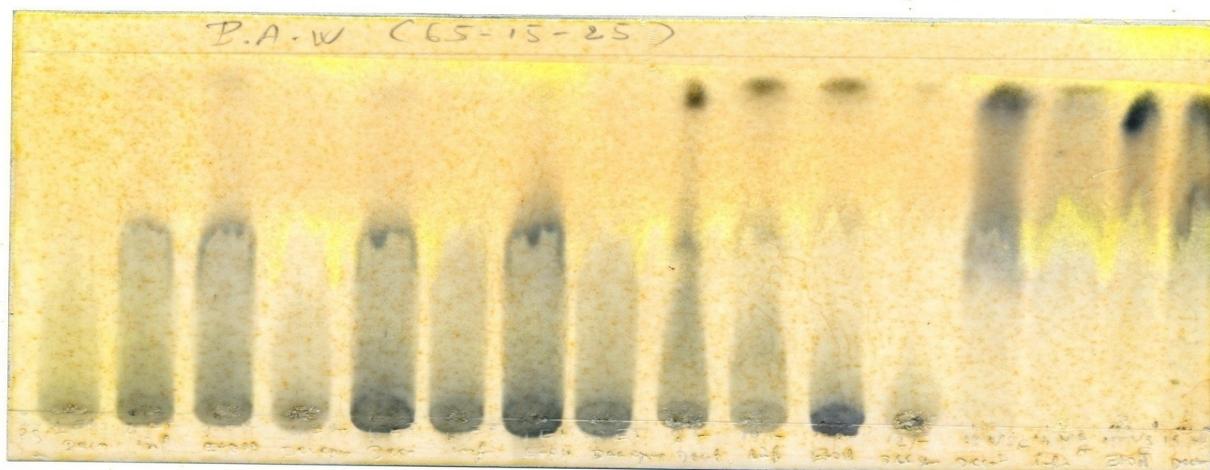


Figure 6 : Chromatogramme des extraits aqueux et hydroalcooliques

Système de solvant : B.A.W

Révéléateur : FeCl_3

Légende

DERP : décocté 10% écores de racines *P.suberosa* ; IERP : infusé 10% écorces de racines *P.suberosa* ; EtERP : éthanol 70% écorces de racine *P/suberosa* ; DépERP : décocté épuisé écorces de racine *P.suberosa*

DETP : décocté 10% écores de tronc *P.suberosa* ; IETP : infusé 10% écorces de tronc *P.suberosa* ; EtETP : éthanol 70% écorces de tronc *P/suberosa* ; DépETP : décocté épuisé écorces de tronc *P.suberosa*

DFP : décocté 10% feuilles *P.suberosa* ; IFP : infusé 10% feuilles *P.suberosa* ; EtFP : éthanol 70% feuilles *P.suberosa* ; DépFP : décocté épuisé feuilles *P.suberosa*

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

DFV : décocté 10% feuilles *F.virosa* ; IFFV : infusé 10% feuilles *F.virosa* ; EtFFV : éthanol
70% feuilles *F.virosa* ; DépFFV : décocté épuisé feuilles *F.virosa*

Tableau IX: Résultats de la CCM des extraits aqueux et hydroalcooliques de nos échantillons

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	FeCl ₃
Décocté 10%(ERPS)	0,04	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,06	-	violet	vert noirâtre
Infusé 10%(ERPS)	0,05	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,09	vert clair	violet	vert noirâtre
	0,70	-	violet	vert noirâtre
EtOH (ERPS)	0,05	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,11	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,70	vert clair	-	vert noirâtre
	0,85	vert clair	-	vert noirâtre
	0,90	-	violet	vert noirâtre
	0,94	vert clair	-	vert noirâtre
Décocté épuisé(ERPS)	0,06	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,98	-	violet	vert noirâtre
Décocté 10% (ETPS)	0,08	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,98	-	violet	vert noirâtre
Infusé 10% (ETPS)	0,06	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,98	-	violet	vert noirâtre
EtOH (ETPS)	0,06	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,25	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,93	-	violet	vert noirâtre
décocté épuisé(ETPS)	0,06	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,98	-	violet	vert noirâtre
Décocté 10% (FPS)	0,06	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,46	vert clair	-	vert noirâtre
	0,85	vert clair	violet	vert noirâtre
Infusé 10% (FPS)	0,06	sombre	violet	vert noirâtre
	0,46	vert clair	violet	vert noirâtre
	0,82	vert clair	-	vert noirâtre
EtOH (FPS)	0,06	sombre	violet	vert noirâtre
	0,46	vert clair	violet	vert noirâtre
Décocté épuisé (FPS)	0,05	-	violet	vert noirâtre
Ecocté10% (FFV)	0,21	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,35	vert clair	sombre	vert noirâtre
	0,80	-	violet	vert noirâtre
	0,82	vert clair	violet	vert noirâtre
Infusé 10% (FFV)	0,12	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,29	vert clair	sombre	vert noirâtre
	0,74	orange	violet	vert noirâtre
	0,19	sombre	sombre	vert noirâtre
EtOH (FFV)	0,38	sombre	sombre	vert noirâtre
	0,48	vert clair	violet	vert noirâtre
	0,74	orange	violet	vert noirâtre
	0,84	vert clair	orange	vert noirâtre
	0,91	-	orange	vert noirâtre
	0,22	sombre	sombre	vert noirâtre
Décocté10% (FFV)	0,36	vert clair	sombre	vert noirâtre
	0,72	orange	violet	vert noirâtre
	0,84	bleu clair	violet	vert noirâtre

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Les taches vert noirâtre obtenues après révélation par le FeCl_3 pourraient être des tanins ce qui confirmerait la richesse de nos échantillons en tanins mis en évidence par les réactions en tubes.



Figure 7: Chromatogramme extrait méthanolique

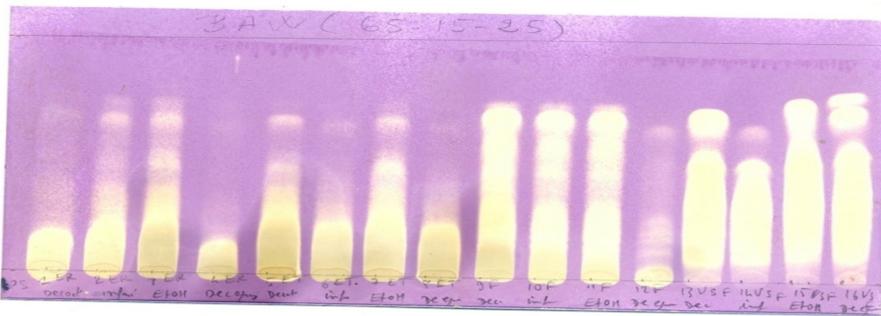
Légende :

ERPS : écorces de racines *P.suberosa* ; ETPS : écorces de tronc *P.suberosa* ; FPS : feuilles *P.suberosa* ; FFV : feuilles *F.virosa* ; Système de solvant : CHCl_3 -MeOH- H_2O (70-30-03)

Révélateur : Dragendorff

La tache noire apparue après l'utilisation du réactif de dragendorff peut être l'alcaloïde présent dans les feuilles de *F.virosa* que nous avons mis la présence en évidence lors des réactions de caractérisation en tubes.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali



Les tests biologiques

1. Activité antiradicalaire

Les chromatogrammes obtenus avec l'ensemble de nos extraits ont été révélés avec une

solution de DPPH pour évaluer l'activité antioxydante, les résultats se présentent sous forme de taches jaune-clair sur fond violet.

Les extraits aqueux et hydroalcooliques de nos quatre (04) échantillons ont montré une forte activité antioxydante. Cependant les extraits des décoctés épuisés des racines et des feuilles de *P. suberosa* ont été les moins actifs.

Figure 8 : Chromatogramme des extraits aqueux de *P.suberosa*, *S.virosa* révélaté avec la solution de DPPH

Résultats : Activité antiradicalaire se présente sous forme de taches jaune sur fond violet.

2. Effet anticonvulsivant

2.1 Effet anticonvulsivant *in vitro* : fixation au récepteur GABA_A-benzodiazépines.

Les résultats de la fixation des extraits au récepteur GABA_A-benzodiazépines sont reportés sur la figure N°5.

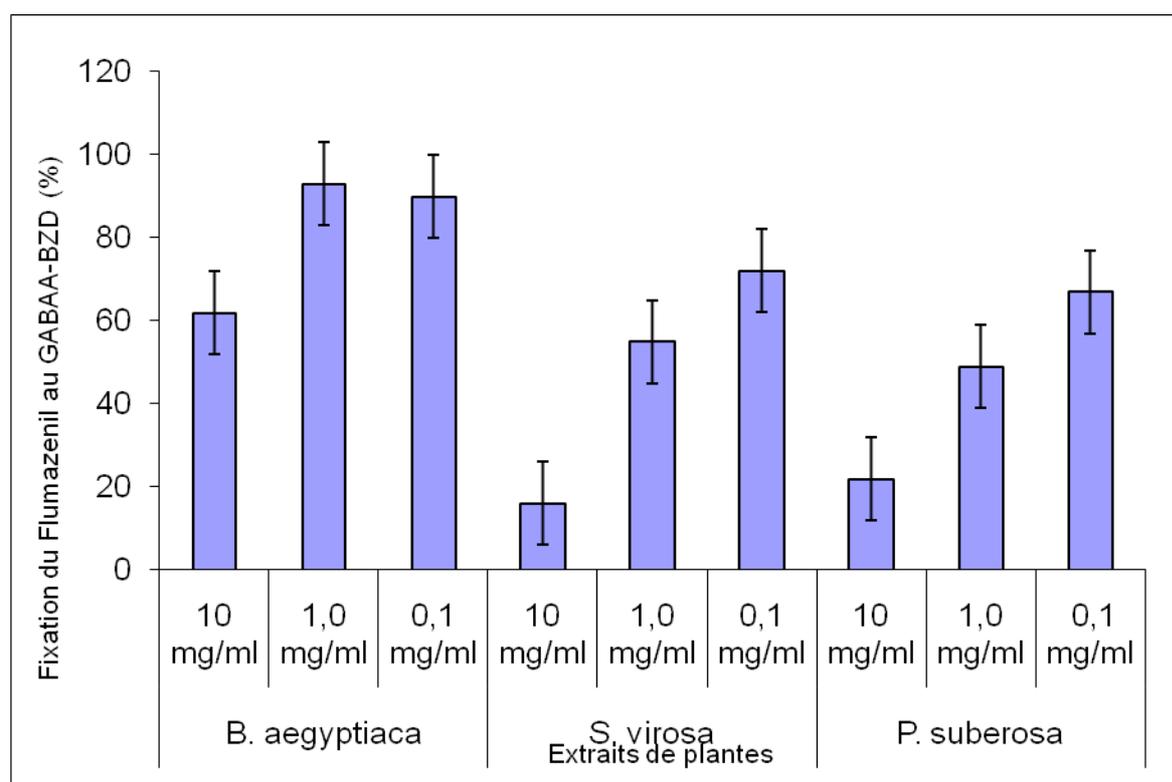


Figure 9 : Résultats de la fixation des extraits de *B. aegyptiaca*, *F. virosa* et *P. suberosa* au récepteur GABA_A-benzodiazépines

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Il s'agit du taux de fixation à différentes concentrations des extraits de *B.aegyptiaca*, *S.virosa* et *P.suberosa*.

L'activité est définie comme étant la capacité de déplacer le flumazénil de son site de fixation au GABA_A-BZD. Les extraits actifs sont pour lesquels nous avons un faible taux de fixation du flumazénil. Il est important de remarquer que les extraits les plus actifs sont ceux de *S.virosa* et *P.suberosa*. Nous observons aussi une activité de fixation au complexe de récepteur GABA_A-benzodiazépine dose-dépendante.

2.2 Effet anticonvulsivant *in vivo* : Convulsions provoquées par le Penthylenetetrazol (PTZ).

Les résultats de l'effet anticonvulsivant des extraits de *Pteleopsis suberosa* sur des convulsions provoquées par le PTZ chez les souris sont reportés dans les tableaux IX et X

Tableau X : Activité anti-convulsivante des extraits aqueux des écorces de racine et de tronc de *Pteleopsis suberosa* : temps de latence ; nombre de convulsions

Lots (mg/kg)	Temps de latence en min	Nombre de Convulsions (NC) ± DS
Témoin 25	2,40±0,89	63,20±18,00
PSER 100	1,6±0,54 (-50,00%)	34,60±5,41 *
PSER 200	2,22±0,83 (-09,05%) NS	46,40 ±10,33
PSET 100	3,80±0,83 (+36,84%) **	35,80±3,63 *
PSET 200	2,80±0,83 (+14,29%)	48,40 ±19,26
Phénobarbital 50	4,60±0,54 (+47,83%) **	23±1,22**
Diazépam 30	30,00±00 (+100,00%) **	00±00 **

Nombre d'animaux par lots : 5 ; NC = Nombre de convulsions ; DS : Déviation standard

** P< 0,01 rapport au témoin ; *P<0,05 rapport au témoin ; ER = Ecorce de racine ; ET = Ecorce de tronc

Pour nos deux (02) extraits à la dose de 100mg/kg nous avons observé une réduction significative du nombre de convulsions.

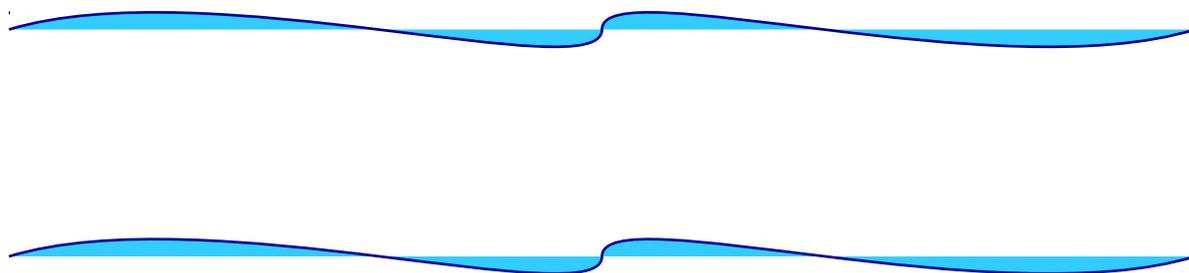
Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Tableau XI: Activité anti-convulsivante des extraits aqueux des écorces de racine et de tronc de *Pteleopsis suberosa* : Mortalité, nombre de crises et pourcentage de protection contre les crises par rapport au groupe témoins.

Lots (mg/kg)	Nombre et pourcentage de mort	Nombre de crise	% de protection contre les crises
Témoin eau 25	2/5 (40%)	13	---
PS ER 100	0/5 (00%)	3	76
PS ER 200	1/5 (20%)	3	76
PS ET 100	0/5 (00%)	6	53
PS ET 200	0/5 (00%)	4	69
Phénobarbital 50	0/5 (00%)	2	84
Diazépam 30	0/5 (00%)	0	100

De même pour les deux (02) extraits à la dose de 100 mg/kg nous n'avons pas enregistré de mort, le pourcentage de protection contre les crises est assez élevé à savoir 76% pour les écorces de racines et 53% pour les écorces de tronc.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali



Analyses et discussion

Cette étude a porté sur la phytochimie et les activités antioxydantes et anticonvulsivante de deux (02) plantes du Mali.

Le matériel végétal était constitué des écorces de racines, de tronc, des feuilles de *Pteleopsis suberosa* et les feuilles de *Fluegea virosa*.

Le screening phytochimique a révélé la présence de plusieurs composés chimiques dans nos plantes. Les plus abondants étaient les coumarines, saponosides, tanins, stérols, triterpènes, hétérosides cardiotoniques, leucoanthocyanes, les anthracénosides. Les mucilages, les oses et holosides n'ont été présents que dans l'échantillon des feuilles des deux(02) plantes.

Dans l'échantillon de *S. virosa* nous avons révélé la présence des alcaloïdes ceci collabore avec les travaux de (Tatematsu et coll. 1991 ; Kerharo et Adams 1974).

P.suberosa contient des flavonoïdes ce qui confirme les travaux de (De Leo et al. 2006). Dans notre étude nous avons noté l'absence des flavonoïdes dans nos conditions expérimentales dans les écorces de tronc *P.suberosa*. Ceci pourrait s'expliquer par les variabilités des substances en fonction de l'organe de la plante.

La forte présence des tanins dans les différents organes *P.suberosa* confirme les travaux réalisés sur la plante. (Kerharo et Adams 1974).

Les **tanins** sont surtout connus pour leur propriété astringente mise à profit pour stopper les hémorragies. Ils permettent par ailleurs de lutter contre les infections du fait de leur capacité à complexer les macromolécules, en particulier les protéines : enzymes digestives et autres, protéines fongiques ou virales (Bruneton, 1993).

Les **saponines** qui ont été caractérisées comme arjunglucoside.

Plusieurs drogues doivent leurs propriétés anti-inflammatoires et anti-œdémateuses à des saponosides (Bruneton, 1993). Certes les drogues à saponosides sont traditionnellement utilisées pour leurs propriétés antitussives et/ou expectorantes. Cependant ces activités n'ont été pas évaluées dans cette étude.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Les hétérosides cyanogénétiques, composés réducteurs et Anthocyanes ont donné des réactions négatives dans cette étude. Tandis que l'observation à la lampe UV et la révélation des chromatogrammes des extraits avec les réactifs de Godin et de Dragendorff ont permis de confirmer la présence de plusieurs composés obtenus par les réactions en tubes notamment les tanins, les saponosides, les stérols et les triterpènes, les coumarines et les alcaloïdes. Ceux-ci pourrait justifier l'utilisation traditionnelle des ces plantes.

La teneur en eau par la méthode gravimétrique a été de **10,21 %**, **10,69%**, **8,76%**, **10,25%** respectivement pour les écorces de racines, de tronc, les feuilles de *P.suberosa* et les feuilles de *S.virosa*. Dans nos conditions d'études seules les feuilles *P.suberosa* pouvaient se prêter à une bonne conservation. La forte teneur en eau dans nos échantillons pourrait être due à l'humidité résiduelle car le séchage a été effectué pendant la période hivernale.

Cette teneur étant dans tous nos échantillons supérieure à 10 % est préjudiciable à la bonne conservation des drogues. En effet une teneur en eau supérieure à 10 % favorise les réactions d'oxydation, de fermentation ainsi que la formation de moisissures qui sont souvent dommageables pour l'activité thérapeutique de la drogue (Paris et Hurabielle, 1981). Toutefois, nous ne pouvons pas comparer ses résultats car les données de la littérature ne donnent aucune information sur les valeurs de la teneur en eau par la méthode gravimétrique de nos plantes étudiées. Cependant Mariko en 2007 avait obtenu une teneur en eau de 6,22% pour les écorces de racines de *F.virosa*.

Les écorces de racines et tronc de *P.suberosa* présentent les taux le plus élevé en cendres totales et sulfuriques, le taux le plus élevé en cendre sulfurique a été obtenu avec les écorces des racines de *P.suberosa*. Cependant nous n'avons pas de données de la littérature nous permettant de comparer ces résultats.

La teneur en cendres chlorhydriques est plus élevée dans les échantillons de *P.suberosa* que celui de *S.virosa*, par contre la faible teneur dans l'échantillon de *F.virosa* 1,97% présente une similitude avec les résultats de (Mariko, 1999) qui avait obtenu un taux 1,95%. Le taux élevé des cendres chlorhydriques dans les échantillons de *P.suberosa* peut témoigner de la présence d'éléments siliceux ou d'une contamination de la drogue avec du sable ou de la poussière.

Pour ce qui concerne **l'activité antioxydante** nous avons observé une forte activité antioxydante des extraits aqueux et hydroalcooliques dans tous nos échantillons par la méthode utilisant le principe de la réduction du radical de DPPH, d'autres méthodes

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

pouvaient être utilisées comme le test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosome, le test mesurant l'activité antioxydante au moyen des caroténoïdes.

L'activité antioxydante obtenue par les feuilles de *F.virosa* concorde avec celle de (Sanogo R et coll. 2009) qui ont constaté une forte activité antiradicalaire des composés isolés des feuilles de la plante.

Cependant nos résultats ne sont pas conformes à ceux de (Mariko 1997) qui n'avait trouvé aucune pour les écorces de racines de *F.virosa*. Cette discordance pourrait s'expliquer par variabilité de substances en fonction de l'organe.

L'effet antioxydant de ces différents extraits pourrait être dû à leur richesse en composés polyphénoliques tels que les tanins et les coumarines. En effet, les substances polyphénoliques, selon de nombreux auteurs sont des composés à haut potentiel antioxydant (Bruneton, 1993 ; Cavin, 1999).

Les Combrétacées sont des plantes riches en tanins (Kerharo et Adams 1974). Ceci pourrait expliquer les résultats biologiques des échantillons de *P.suberosa* qui ont montré une forte activité antioxydante.

Le test de fixation des extraits de nos trois (03) plantes a donné un taux fixation important au complexe de récepteur GABA-benzodiazépines des extraits de *P.suberosa* et *F.virosa* ce qui pourrait justifier l'activité anticonvulsivante des extraits de *P.suberosa* observée chez les

souris. *B.aegyptiaca* n'a pas eu d'effet. Ceci confirme les travaux de (Pedersen et col.2008).

Cette plante pourrait agir par d'autres mécanismes contre les convulsions : effet stabilisateur des membranes cellulaires par blocage des canaux sodium voltage-dépendant (PHT, CBZ, LTG, TPM) ; blocage des canaux calciques voltage-dépendant de type T (ETH) ; augmentation de l'action inhibitrice du GABA par action agoniste sur le récepteur ionophore-chlore GABA_A (BDZ, PB, TPM), par inhibition de la dégradation (GVG) ou par inhibition de la recapture synaptique (TGB) du GABA ; inhibition de la libération d'acides aminés excitateurs, glutamate et aspartate (LTG) ; blocage du récepteur NMDA (FBM) ; blocage des récepteurs au glutamate de type kaïnate/AMPA (TPM)□

Pour ce qui concerne l'effet anticonvulsivant in vivo seuls les extraits de *P.suberosa* ont été testés parce que nous avons été limités par nos moyens. Nous avons utilisé le PTZ, considéré comme un antagoniste gabaergique qui produit des convulsions bien que beaucoup d'autres produits puissent être utilisés.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Les activités obtenues ont été remarquables ce qui pourrait justifier les résultats du test in vitro.

Cependant nous avons observé une diminution du temps de latence pour les extraits des écorces de racine de *P.suberosa* à la dose de 100mg/kg par rapport au témoin. Ceci pourrait être du au phénomène d'absorption, l'extrait ayant une absorption lente va avoir un effet retardé, aussi cet extrait pourrait être administré pour prévenir les crises et non pour les contrôler. Nous avons constaté la diminution de l'effet avec l'augmentation de la dose de l'extrait. Ceci pourrait s'expliquer par une cinétique pharmacologique non linéaire des substances actives contenues dans les extraits ce qui entrainerait une saturabilité des transporteurs. Ce phénomène s'observe chez certains antiépileptiques comme la phénytoïne. C'est le cas des mécanismes de passage avec transporteur et surtout celui des transformations enzymatiques saturables (en dessous du seuil de saturation, la cinétique reste linéaire). La demi-vie d'élimination augmente avec la dose. Inversement, la clairance totale diminue avec la dose. Le produit disparaît plus lentement, le temps mis à atteindre l'équilibre s'allonge. De même lorsqu'on augmente les doses, la concentration plasmatique moyenne à l'équilibre (ou le plateau) augmente proportionnellement plus que la dose. C'est pourquoi on parle aussi de « cinétique dose dépendante ».

Les substances à cinétique non linéaire sont caractérisées par la grande irrégularité du rapport dose administrée/concentration plasmatique ce qui entraine un risque de surdosage. L'effet anticonvulsivant des extraits de *P.suberosa*, pourrait se justifier d'une part par leur richesse en flavonoïdes (**Dekermendjian et coll. 1999**).

Et d'autre part la présence de substances polyphénoliques qui ont une forte activité antiradicalaire. En effet plusieurs études ont mis en évidence le fait que les antioxydants protègent l'organisme contre les crises convulsives. L'hyperexcitabilité neuronale et la production excessive de radicaux libres sont impliquées dans la pathogenèse de nombreux troubles neurologiques. Le taux élevé du métabolisme oxydatif couplé à un niveau bas du système de défense antioxydante et la présence de nombreux acides gras polyinsaturés rendent le cerveau hautement vulnérable aux dommages causés par les radicaux libres (**Waldbaum et coll. 2009**).

Des études ont montré l'affinité des flavonoïdes sur le site de fixation des BZD sur le complexe de récepteur GABA_A (**Dekermendjian et coll.1999**)

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Aussi les flavonoïdes et leurs dérivés possèdent une affinité pour le site de fixation des BZD sur le récepteur $GABA_A$ (**Kahnberg et coll., 2002**) et un certain nombre d'entre eux ont montré des activités in vivo (**Ai et coll., 1997**)

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

CONCLUSION

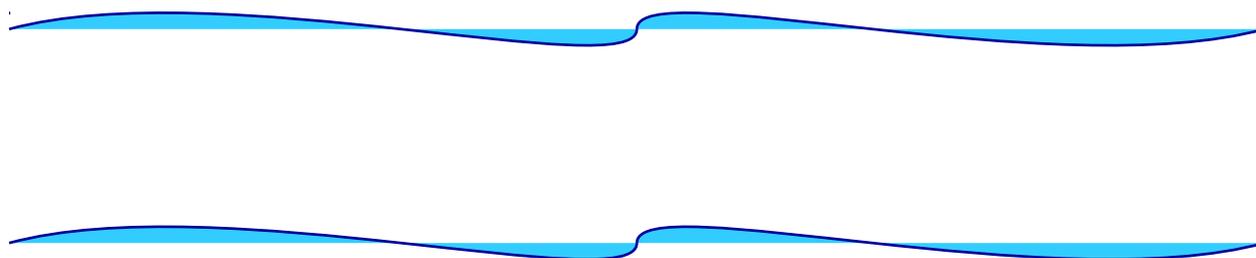
La médecine traditionnelle reste encore le premier recours pour plus de 80% de la population africaine à cause de l'inaccessibilité et le coût élevé des médicaments conventionnels.

Au terme de cette étude visant à étudier les activités antioxydante et anticonvulsivante, il ressort que ces plantes possèdent des vertus pouvant justifier leur utilisation pour le traitement des crises convulsives.

En effet les études phytochimiques ont révélé la présence de nombreux composés tels que les tanins, coumarines, leucoanthocyanes, saponosides, stérols et triterpènes dans nos échantillons. Par contre les alcaloïdes ont été retrouvés uniquement dans les feuilles de *Securinega virosa*. La présence de ces composés a été confirmée par la chromatographie sur couche mince (CCM) après révélation avec les réactifs de Godin et Dragendorff.

Tous les extraits testés pour leurs activités biologiques ont montré une efficacité notable.

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali



Recommandations

INRSP/DMT, FMPOS, Ministère de la Santé:

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Poursuivre les investigations sur deux plantes à savoir : *Pteleopsis suberosa* et *Flueggea virosa* qui ont données une forte activité antioxydante, de fixation au complexe de récepteur GABA_A-benzodiazépines.

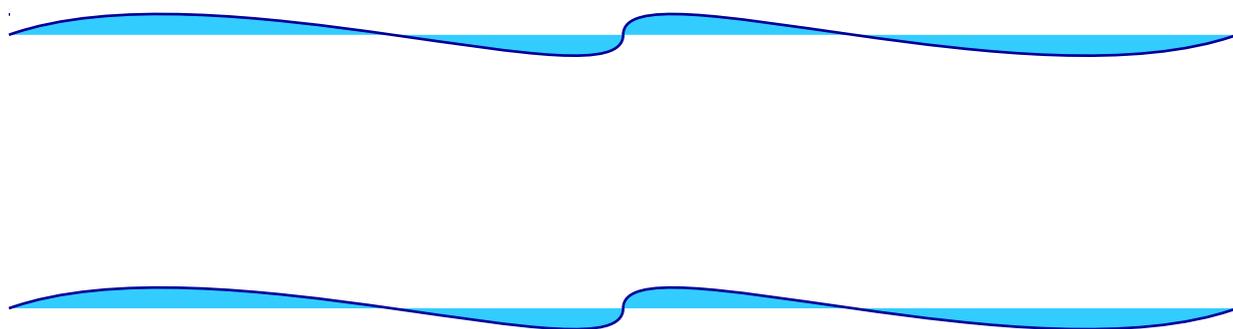
Ministère de la santé, Ordres professionnels de la Santé, Fédération Malienne des Thérapeutes Traditionnels :

Rendre pérenne la collaboration entre chercheurs et tradipraticiens de santé

Ministère de la Santé, Ministère des Enseignements Secondaire Supérieur et de la Recherche Scientifique, Partenaires Techniques et Financiers :

Appuyer les structures de recherches

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali



Composition des réactifs

► Réactif de BALJET

Acide picrique.....1 g
Ethanol à 50° alcoolique q s p.....100 ml

► Réactif de DRAGENDORFF

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

Nitrate de bismuth pulvérisé.....	20,80 g
Iode.....	38,10 g
Iodure de sodium anhydre.....	200 g
Eau distillée q s p.....	1000 ml

Agiter pendant 30 mn

► **Réactif du DPPH**

1,1 diphényl 2 picrylhydrazyle en solution méthanolique à 2 mg / ml (M / V).

► **Réactif de FEHLING**

Solution A :

CuSO ₄	35 g
Eau distillée.....	500 ml
H ₂ SO ₄	5 ml

Laisser refroidir et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.

Solution B :

Sel de Seignette.....	150 g
Eau distillée.....	500 ml

Refroidir et ajouter 300 ml de lessive non carbonatée à 1 litre avec de l'eau distillée.

NB : Mélanger les deux solutions à volume égal au moment de l'emploi.

► **Réactif de GODIN**

Solution A :

Vanilline	1 g
Ethanol à 95° alcoolique.....	1000 ml

Solution B :

Acide perchlorique.....	3 ml
Eau distillée.....	100 ml

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

Mélanger les deux solutions au moment de l'emploi, ensuite pulvériser sur les plaques CCM avec une solution de H₂SO₄ à 4 %.

► **Réactif de GUIGNARD (Papier picrosodé)**

Acide picrique1 g
Carbonate de sodium.....10 g
Eau distillée q s p.....100 ml

► **Réactif de KEDDE**

Acide dinitro 3,5 benzoïque.....1 g
Ethanol à 95 ° alcoolique q s p.....100 ml

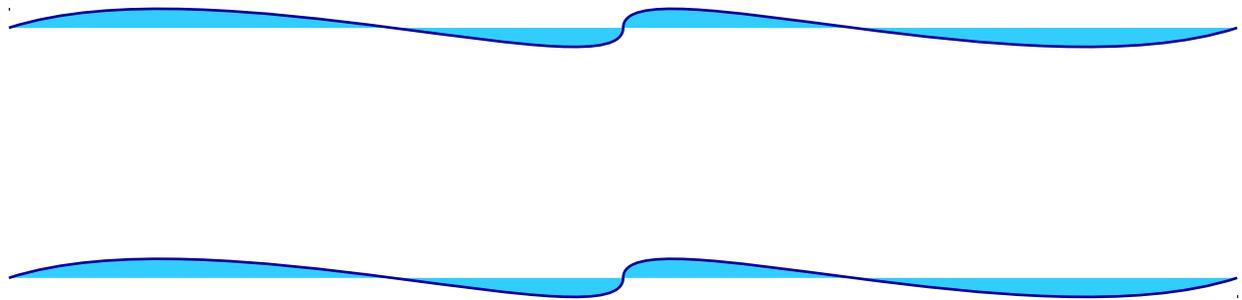
► **Réactif de MAYER**

Iodure de potassium.....25 g
Chlorure mercurique.....6,77g
Eau distillée q s p.....50 ml

► **Réactif de RAYMOND MARTHOUD**

1,3 dinitrobenzène.....1 g
Ethanol à 96° alcoolique q s p.....100 m

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali



Références bibliographiques

1. **Mariko M** – Etude de la phytochimie et des activités biologiques de trois (03) plantes : Terminalia avicennioïdes, Combretum molle et Securinega virosa – thèse de pharmacie, Bamako 2007 p1, 48
2. **Diop AG et al.** – Filières des soins anti-épileptiques en Afrique. *Epilepsie*, 1998;10:115121.
3. **P. Thomas, A. Arzimanoglou** – Epilepsie p 13-245
2^{èm} Edition Masson

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du Mali

4. **Sekou BAH** –Epilepsy in: Ethnopharmacological and phytochemical investigation of plants used against schistosomiasis in Mali, p.14 Faculty of Mathematics and Natural Sciences University of Oslo 2006.
5. **Arborio S et al.** – Kirikirimasien (epilepsy) in Mali: etiologic and nosologic dimensions. *Med Trop*, 1999;59:176–80.
6. **Konaté G** – Contribution à l'étude des remèdes traditionnels utilisés dans le traitement de l'épilepsie- thèse de pharmacie Bamako 1986 P.6-23
7. **H. Gerhard Vogel-Wolfgang H. Vogel (Eds)** – Test for anxiolytic activity (p.214, 215,216,219,220), Anticonvulsivant activity (p.227-229), Anti-epileptic activity p.260 in *Drugs discovery and Evaluation. Pharmacological Assays Springer Berlin*
8. **Waldbaum S, Patel M** – Mitochondria, oxidative stress and temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*, 2010 Jan; 88(1): 23-45. Epub 2009 Oct 21
9. **Malgras, D** – Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes – Ed Karthala et ACCT **1992)** P 154
10. **Baba-Moussa F, Akpagana K, Bouchet P.** –Antifungal activities of seven West African Combretaceae used in traditional medicine.*J Ethnopharmacol* 1999 Sep; 66 (3): 335-8
Laboratory of Botany and Mycology, Faculty of Pharmacy of Reims, France
11. **De Leo M, De Tommasi N, Sanogo R, D'Angelo V, Germanò MP, Bisignano G, Braca A.** –Triterpenoids saponins from *Pteleopsis suberosa* stem bark *Phytochemistry*.2006 Dec; 67(24):2623-9. Epub 2006 Sep6
12. **Germanò MP, Sanogo R, Guglielmo, De Pasquale R, Crisafi G, Bisignano G** –Effects of *P.suberosa* extracts on experimental gastric ulcers and *H.pylori* growth *Ethnopharmacol.* 1998 Jan; 59 (3): 167-72Pharmaco-biological Departement; School of Pharmacy, University of Messina, Italy
13. **De Pasquale R, Germanò MP, Keita A, Sanogo R, Lank L** –Antiulcer activity of *P.suberosa*.
J Ethnopharmacol. 1995 Jun 23; 47 (1): 55-8Pharmaco-biological Departement; School of Pharmacy, University of Messina, Italy
14. **Germanò MP, D'Angelo V, Biasini T, T Miano TC, Braca A, De Leo, De Pasquale R, Sanogo R.** –Antiulcer, anti-inflammatory and antioxidant activities of the n-butanol fraction from *P.suberosa* bark. *J Ethnopharmacol.* 2008 Jan 17; 115 (2): 271-5 Epub 2007 Oct 7
Pharmaco-biological Departement ; School of Pharmacy, University of Messina, Vill.ss.annunziata, Messina, Italy.gernamp@pharma.unime.it.

15. **De Leo M, Braca A, Sanogo R, Gardile V, De Tommasi N, Russo A.** –Antiproliferative activity of *P.suberosa* leaf extract and its flavonoid in human prostate carcinoma cells. *Planta Med.* 2006 Jun 72 (7): 604-10-Epub 2006 Apr 24. Dipartimento di chimica Bioorganica e Biofarmacia, Università di Pisa, Pisa, Italy.
16. **Occhiuto F, Sanogo R, Germanò MP, Keita A, D'Angelo V, De Pasquale R** –Effects of some Malian plants on the respiratory tract of guinea-pigs *J Pharma Pharmacol* 1999 Nov; 51(11): 1299-303
Pharmaco-biological Departement ; School of Pharmacy, University of Messina, Italy
17. **Kerharo, J. et ADAM, J.G.** – Pharmacopée sénégalaise traditionnelle : plantes médicinales et toxiques – Ed Vigot et Frères, Paris (1974) P195-198
18. **Gan LS, Fan CQ, Yang SP, Wu Y, Lin LP, Ding J, Yue JM.** Flueggenines A and B, two novel C,C-linked dimeric indolizidine alkaloids from *Flueggea virosa*. *Org Lett.* 2006 May 25;8(11):2285-8.
19. **Tatematsu H, Mori M, Yang TH, Chang JJ, Lee TT, Lee KH.** – Cytotoxic principles of *Securinega virosa*: virosecurinine and viroallosecurinine and related derivatives. *J Pharm Sci.* 1991 Apr; 80(4): 325-7 Division of Medicinal Chemistry and Natural Products, School of Pharmacy, University of North Carolina Chapel Hill 27599.
20. Kaou AM, Mahiou-Leddet V, Hutter S, Ainouddine S, Hassani S, Yahaya I, Azas N, Ollivier E. –Antimalarial activity of crude extracts from nine African medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2008 Feb 28;116(1):74-83. Epub 2007 Nov 9.
21. **Muthaura CN, Rukunga GM, Chabra Se, Omar Sa, Guantai AN, Gathirwa JW, Tolo FM, Mwitari PG, Keter LK, Kimami CW, Mungai GM, Njazi EN.** – Antimalarial activity of some plants traditionally used treatment of malaria in Kwale district of Kenya. *J Ethnopharmacol.* 2007 Jul 25; 112(3): 545-51. Epub 2007 May 5. Center for Traditional Medicine and Drugs Research, Kenya Medical Research Institute, P.O. Box 54840,00200 Nairobi, Kenya.
22. **Diallo D, Diakité C, Mounkoro PP , Sangaré D, Graz B, Falquet J, Giani S.** – Knowledge of traditional healers on malaria in Kendi (Bandjagara) and Finkolo (Sikasso) in Mali. *Mali Med.*2007; 22(4): 1-8 Département de la Médecine Traditionnelle de INRSP; BP 1746 Bamako Mali.
23. **Kraft C, Jenett-Siems, Siems K, Jakupovic J, Mari S, Bienzle U, Eich E.** – In vitro antiplasmodial evaluation of medicinal plants from Zimbabwe. *Phyther Res.* 2003 Feb ;

Etude des activités antioxydantes et anticonvulsivantes de deux (02) plantes médicinales du
Mali

17(2) : 123-8. Institut für Pharmazie (Pharmazeutische Biologie), Freie Universität Berlin,
Germany

24. **Nyasse B, Nono J, Sonke B, Denier C, Fontaine C.** – Trypanocidal activity of bergenin,
the major constituent of *Flueggea virosa*, on *Trypanosoma brucei*. *Pharmazie*. 2004 Jun;
59(6): 492-4

Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, High Teachers College, University of
Yaoundé I, Cameroon; bnyasse@uyede.uninet.com.

25. **Freiburghaus F, Ogwal EN, Nkunya MH, Kamiusky R, Brun K.** – In vitro
antitrypanosomal activity of African plants used in traditional medicine in Uganda to treat
sleeping sickness.

Trop Med Inst Health. 1996 Dec; 1(6): 765-75. Swiss Tropical Institute, Basel, Switzerland.