

UNIVERSITÉ DE BAMAKO



FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE
ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE (FMPOS)



Année universitaire: 2006-2007

N°...

TITRE :

ÉTUDE DE LA PHYTOCHIMIE ET DES ACTIVITÉS
BIOLOGIQUES DE DEUX PLANTES UTILISÉES EN
MÉDECINE TRADITIONNELLE GABONAISE : *Terminalia*
catappa L. (COMBRETACEAE) ET *Kalanchoe crenata* (Andr.)
Haw. (CRASSULACEAE)

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 27 Février 2007 devant la Faculté de Médecine, de
Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par Mlle Lewise Nathalie CAESAR

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

JURY

Président : Professeur Ibrahim I. MAÏGA

Membres : Docteur Mounirou BABY

Professeur Ababacar I. MAÏGA

Co-directrice : Docteur Rokia SANOGO

Directeur : Professeur Drissa DIALLO

**FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-
STOMATOLOGIE**
ANNEE UNIVERSITAIRE 2006 - 2007

ADMINISTRATION

DOYEN : ANATOLE TOUNKARA - PROFESSEUR

1^{er} ASSESSEUR : DRISSA DIALLO – MAÎTRE DE CONFERENCE AGRÉGÉ

2^{ème} ASSESSEUR : SEKOU SIDIBE – MAÎTRE DE CONFERENCE

**SECRETAIRE PRINCIPAL : YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - MAITRE
DE CONFERENCE AGRÉGÉ**

**AGENT COMPTABLE : MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL -
CONTROLEUR DE FINANCES**

PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie-Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo- phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	Pédiatrie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine Interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie

Liste du personnel enseignant par D.E. R & par grade

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie–Traumatologie. Chef de D.E.R
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.

2. MAITRES DE CONFERENCES AGRÉGÉ

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
---------------------	---------------

Mr Djibril SANGARE
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP
Mr Abdoulaye DIALLO
Mr Gangaly DIALLO
Mr Mamadou TRAORE

Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Anesthésie- Réanimation
Chirurgie viscérale
Gynéco-Obstétrique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïda SOW
Mr Salif DIAKITE
Mr Filifing SISSOKO
Mr Sekou SIDIBE
Mr Abdoulaye DIALLO
Mr Tiéman COULIBALY
Mme TRAORE J. THOMAS

Gynéco-Obstétrique
Gynéco-Obstétrique
Chirurgie Générale
Orthopédie – Traumatologie
Anesthésie - Réanimation
Orthopédie – Traumatologie
Ophtalmologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE
Mr Sadio YENA
Mr Issa DIARRA
Mr Youssouf COULIBALY
Mr Samba Karim TIMBO
Mme TOGOLA Fanta KONIPO
Mr Zimogo Zié SANOGO

Gynéco-Obstétrique
Chirurgie Générale et Traumatologie
Gynéco-obstétrique
Anesthésie -Réanimation
ORL
ORL
Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mme Diénéba DOUMBIA
Mr Mamadou L. DIOBANA
Mr Nouhoum ONGOIBA
Mr Zanafon OUATTARA
Mr Adama SANGARE
Mr Sanoussi BAMANI
Mr Doulaye SACKO
Mr Ibrahim ALWATA
Mr Lamine TRAORE
Mr Mady MAKALOU
Mr Aly TEMBELY
Mr Niani MOUNKORO
Mr Tiemoko D. COULIBALY
Mr Souleymane TOGORA
Mr Mohamed KEITA

Anesthésie-Réanimation
Stomatologie
Anatomie & Chirurgie Générale
Urologie
Orthopédie-Traumatologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Orthopédie- Traumatologie
Ophtalmologie
Orthopédie-Traumatologie
Urologie
Gynécologie-Obstétrique
Odontologie
Odontologie
ORL

D.E.R DES SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO
Mr Siné BAYO

Chimie Générale & Minérale
Anatomie-Pathologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGRÉGÉ

Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie Chef de D.E.R
Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
Mr Amagana DOLO	Parasitologie

3. MAITRES DE CONFERNCES

Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdourahamane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Mamadou CISSE	Biologie
Mr Sekou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie-Biologie animale
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie - Virologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Abdourahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie-Virologie
Mr Cheik Bougadari TRAORE	Anatomie-Pathologie
Mr Lassana DOUMBIA	Chimie Organique
Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Mahamadou A. THERA	Parasitologie

5. ASSISTANTS

Mr Mangara M. BAGAYOGO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Guimogo DOLO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Abdoulaye TOURE	Entomologie moléculaire médicale
Mr Djibril SANGARE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Mouctar DIALLO	Biologie parasitologie
Mr Boubacar TRAORE	Immunologie
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie Chef de D.E.R
Mr Moussa TRAORE	Neurologie

Mr Issa TRAORE
Mr Mamadou M. KEITA
Mr Hamar A. TRAORE
Mr Dapa Aly DIALLO
Mr Moussa Y. MAIGA

Radiologie
Pédiatrie
Médecine Interne
Hématologie
Gastro-Entérologie- Hépatologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGRÉGÉ

Mr Toumani SIDIBE
Mr Bah KEITA
Mr Boubacar DIALLO
Mr Somita KEITA
Mr Abdel Kader TRAORE
Mr Siaka SIDIBE
Mr Mamadou DEMBELE

Pédiatrie
Pneumo-phthisiologie
Cardiologie
Dermato-Léprologie
Médecine Interne
Radiologie
Médecine Interne

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Mamady KANE
Mr Saharé FONGORO
Mr Bakoroba COULIBALY
Mr Adama D. KEITA
Mr Bougouzié SANOGO

Radiologie
Néphrologie
Psychiatrie
Radiologie
Gastro-entérologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme Tatiana KEITA
Mme TRAORE Mariam SYLLA
Mme SIDIBE Assa TRAORE
Mme Habibatou DIAWARA
Daouda K. MINTA

Pédiatrie
Pédiatrie
Endocrinologie
Dermatologie
Maladies Infectieuses

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIABATE
Mr Kassoum SANOGO
Mr Seydou DIAKITE
Mr Mahamadou B.CISSE
Mr Arouna TOGORA
Mme DIARRA Assétou SOUCKO
Mr Boubacar TOGO
Mr Mahamadou TOURE
Mr Idrissa A CISSE
Mr Mamadou B DIARRA
Mr Anselme KONATE
Mr Moussa T. DIARRA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Souleymane COULIBALY
Mr Soungalo DAO
Mr Cheick Oumar GUINTO

Psychiatrie
Cardiologie
Cardiologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Médecine Interne
Pédiatrie
Radiologie
Dermatologie
Cardiologie
Hépto-Gastro -Entérologie
Hépto-Gastro-Entérologie
Pneumologie
Psychologie
Maladies Infectieuses
Néphrologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki CISSE
Mr Gaoussou KANOUTE

Toxicologie
Chimie analytique, **Chef de D.E.R**

2. MAITRES DE CONFERENCES AGRÉGÉ

Mr Ousmane DOUMBIA
Mr Drissa DIALLO

Pharmacie Chimique
Matières Médicales

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boulkassoum HAIDARA
Mr Elimane MARIKO
Mr Benoît KOUMARE
Mr Alou KEITA
Mr Ababacar I. MAIGA

Législation
Pharmacologie
Chimie Analytique
Galénique
Toxicologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Yaya KANE
Mme Rokia SANOGO

Galénique
Pharmacognosie

5. ASSISTANTS

Mr Saïbou MAIGA
Mr Ousmane KOITA

Législation
Parasitologie Moléculaire

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA

Santé Publique, **Chef de D.E.R**

2. MAITRE CONFERENCES AGRÉGÉ

Mr Moussa A MAIGA

Santé Publique

3. MAITRE DE CONFERENCES

Mr Sanoussi KONATE

Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G.TOURE
Mr Adama DIAWARA
Mr Hamadoun SANGHO
Mr Massambou SACKO
Mr Alassane A. DICKO

Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique

5. ASSISTANTS

Mr Samba DIOP
Mr Seydou DOUMBIA
Mr Oumar THIERO

Anthropologie Médicale
Epidémiologie
Biostatistique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

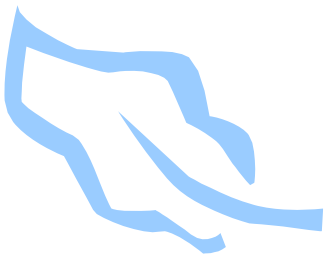
Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Yaya COULIBALY	Législation

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Doudou BA	Bromatologie
Pr. Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr. Eric PICHARD	Pathologie Infectieuse
Pr. Mounirou CISSE	Hydrologie
Pr. Amadou Papa DIOP	Biochimie



**DEDICACES
ET
REMERCIEMENTS**



DEDICACES

A notre Seigneur,

Merci Seigneur de m'avoir donné la vie, la santé et l'opportunité de présenter ce travail.

A mon père, Ernest CAESAR-OLIVEIRA,

Papa, merci, merci pour ta présence, ton amour et ton soutien. Merci d'avoir toujours répondu présent pour moi. Que de sacrifices tu as dû consentir pour mes études, pour que je sois celle que je suis aujourd'hui. Ce travail, papa, est le fruit de tes efforts, de ton soutien et de ton amour. Puisses-tu en être fier aussi modeste sois-t-il car c'est en pensant à toi que je l'ai réalisé. Reçois ici, l'expression de tout mon amour et de ma profonde reconnaissance.

Je ne t'échangerai pour rien au monde papa.

A ma mère, Solange CAESAR-OLIVEIRA née DAMBAULT,

Ma petite maman chérie, que te dire en ce jour ?

Les mots me manquent pour t'exprimer toute ma gratitude et mon amour. Tu as toujours été tellement présente pour moi, tu m'as donné tellement d'amour. Sans ton affection et ton soutien moral maman, je n'aurais sans doute pas terminé ce travail. Si je devais choisir parmi toutes les mères du monde, c'est toi que je choisirai, c'est toi que je garderai auprès de mon cœur. Ce travail est aussi le tien maman, sois-en fière.

Merci encore pour tout.

A mon grand-père, Jean-Ernest OLIVEIRA,

Papi John, c'est avec beaucoup de joie qu'en ce jour je pense à toi car je sais à quel point tu es fière de ta petite fille. Merci d'être ce grand-père attentionné et aimant.

A ma grand-mère, Alphonsine DELICAT,

Pour toutes tes prières de tous les jours mamie, pour toute l'attention et l'amour dont tu nous as entouré, reçois ici toute l'affection qu'une petite fille puisse témoigner à sa grand-mère. Mamie Kéké, que le Seigneur te garde encore longtemps auprès de nous.

A mon oncle, André MOUSSAVOU MOUYAMA,

Tu es un oncle extraordinaire. Tes encouragements, ta disponibilité et tes conseils ne m'ont jamais fait défaut. Reçois ici l'expression de toute ma gratitude et de mon profond respect. Merci Tonton.

A mes petites sœurs, Daisie, Fouti, Cécile et à mon petit frère, Dorian,

Votre présence dans ma vie est une véritable bénédiction, vous m'apportez tant de choses ! Votre soutien et votre amour me donnent tous les jours la volonté d'aller de l'avant pour que vous soyez fiers de votre grande sœur.

Considérez ce travail comme le fruit de nos efforts communs. Qu'il vous sert d'exemple dans la suite de vos études.

A toi Lino,

Les mots me manquent pour te dire combien je te suis reconnaissante pour ton soutien sans faille et pour ton Amour. Tu as toujours répondu présent même dans les pires moments et Dieu seul sait qu'il y en a eu ! Comment t'exprimer ce que je ressens ? Comment te dire tout ce que tu représentes pour moi ? Merci infiniment pour tout. Ce travail est aussi le tien Alain.

Puisse Dieu exaucer nos prières.

A ma tante Annie DELICAT (*in memoriam*) : J'aurai tant aimé que tu vois ce travail, mais Dieu en a décidé autrement. J'espère que de là où tu es, tu es fière de moi. Reposes en paix.

A mon parrain, Jean-Rémy TATY (*in memoriam*) : Toutes mes pensées en ce jour se tournent vers toi. Que ton âme repose en paix auprès de notre Seigneur.

REMERCIEMENTS

A ma tante, Florence ENKODO : Pour tous tes conseils et ton soutien. Pour tout le temps que tu passais au téléphone à me remonter le moral, merci.

A ma tante, Eugénie DEMOUSSA : Merci pour tous les instants inoubliables que nous avons partagés. Tu as été pour nous plus qu'une tante : une grande sœur.

A ma grand-mère Nathalie OLIVEIRA : Merci mon homonyme d'avoir cru en moi.

A toutes mes mamans,

Vous êtes trop nombreuses pour toutes vous citer. Recevez en ce jour l'expression de ma sincère affection et de ma profonde reconnaissance pour le cocon familiale et chaleureux dans lequel vous nous avez élevé. Merci pour tout.

A tantine Manco, tantine Fabienne, tonton Alain, tonton Any, ya Chrichri et tantine Fifi ;

A tous mes cousins, cousines, neveux et nièces ;

Aux familles CAESAR, OLIVEIRA, DELICAT, BOUANGA, MINKO MI AYI, ESSIMENGANE, AYOUMA-OTHAKEME et BOULENDE ;

A Mwetse Nyanguï Bouassa et Armel Nkouambat : Les mots me manquent pour vous exprimer ici ma profonde gratitude et l'immense affection que j'ai pour vous. Je ne vous remercierai jamais assez pour toute l'attention que vous m'avez accordé, pour l'oreille et l'épaule que vous m'avez si gentiment et si souvent offert. Je ne l'oublierai jamais. Ce travail est aussi le vôtre.

A Marjorie Eyang Esseng : Cela fait environ 10 ans que nous nous connaissons. Chaque instant passé auprès de toi restera à jamais dans mon cœur. Merci d'avoir été là lorsque j'avais besoin de toi. Que Dieu nous aide dans notre nouvelle vie qui commence dès aujourd'hui ! Si nous nous battons, nous y arriverons. Courage ma sœur.

A tous ceux qui m'ont enseigné : Merci pour la richesse intellectuelle que vous m'avez transmis.

Au personnel du Département Médecine Traditionnelle : Merci pour tout.

Au personnel de l'INRSP : Merci pour votre disponibilité.

A mes camarades internes au laboratoire de biologie de l'INRSP : Merci pour votre amitié et courage pour la suite.

A mes camarades internes au DMT : Aminata Tounkara, Awa Coulibaly, Adiza Amadou, Halimatou Karadji, Marjorie Eyang Esseng,

Pour tous nos moments de joie et de peine ; pour tous les instants partagés...

A mes camarades de promotion de la FMPOS (promotion Drissa Diallo) : Pour toutes ces années de travail, pour tous ces moments partagés aussi bien dans la joie que dans la peine, merci. L'entente et la solidarité nous ont permis de surmonter pas mal de difficultés et ont fait la grandeur de notre promotion.

Que Dieu nous assiste dans la nouvelle vie qui s'offre à nous.

A mes grandes sœurs et grands frères de cœur : Ingrid, Mestre, Christelle, Gisèle, Ange, Dorothee, Blaise, Huguette, Raïssa. Je ne vous oublierai jamais.

A tous mes dôtôgôs : Linda, Romaric, Frange, Polle, Christian, Maruschka, Irène, Noé, Fabrice, Thibault...

A mes neveux et nièces de Bamako : Océane, Loïs, Warel Aimé, Theyc Maëlle, Ianis Daniel, Elsa dite Jennifer, Marie- Alida...

A Bernard Panzou et Reine Raïssa Aworet : Merci d'avoir été là

A Hery : Que ce travail te donne la volonté de te battre pour tes études

A Tom, Romaric et Thibault : Pour tous les moments passés en votre compagnie

A Peggy Avomo Obiang : Je me souviendrai longtemps de ce que nous avons vécu ensemble. Courage ma sœur, ton tour arrive.

A la chorale gabonaise : Larissa, Sabrina, Linda, Mwetse, Marjorie, Fabrice, Simplicie, Achille, J.B., Irène et Florence.

A la famille DIAKITE et DIAWARA: Vous m'avez accueilli et offert une famille dans laquelle j'ai retrouvé fraternité et réconfort. Recevez ici toute mon affection et ma gratitude.

A tous mes amis du Bénin, Burkina-Faso, Cameroun, Centrafrique, Côte-d'Ivoire, Mali, Niger, Mauritanie, Tchad et d'ailleurs. J'espère que nous garderons le contact.

A mes cadets du DMT : Nana Maïga, Mariam Diakité, Boubacar Tounkara, Samba Sanogo, Mory Elimane Mariko, Mahamane Haïdara : Courage !

A tous ceux que je n'ai pas cité ;

A l'ensemble de la communauté gabonaise ;

A tous ceux qui se souviendront de Lewise Nathalie CAESAR ;

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

MENTION SPECIALE

A Mon Cher pays le Gabon, pour la bourse qu'il a bien voulu me consentir.

A l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) pour le financement dont nous avons bénéficié pour la réalisation de ce travail.

A l'Université d'Oslo à travers le projet CNRST – NUFU Plantes Médicinales

Au Professeur Drissa DIALLO

Au Docteur Rokia SANOGO

Au Docteur Sergio GIANI

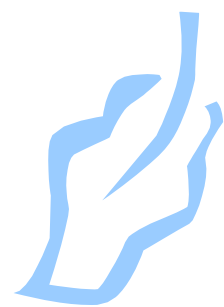
Au Docteur Chiaka DIAKITE

Au Professeur Ababacar MAIGA

A tanti TAPA : Merci pour la chaleur maternelle dont tu as fait preuve à mon égard

A tonton Kassim COULIBALY : Merci de m'avoir accordé, gratuitement, un peu de ton temps, pour la réalisation de ce travail

A tonton Yossi : Merci pour ton dévouement. Tu es mon tonton de cœur.



**HOMMAGES
AUX
MEMBRES DU JURY**



HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury,

Professeur Ibrahim I. MAÏGA,

- Maître de conférences de bactériologie - virologie,
- Chef de service du laboratoire de biologie médicale de l'Hôpital National du Point G,
- Responsable de l'enseignement de la bactériologie et de la virologie à la FMPOS.

Honorable Maître, c'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations.

Vous nous donnez ainsi l'opportunité de vous exprimer notre profonde admiration. Vos qualités humaines et intellectuelles font de vous un Maître apprécié de tous. Soyez assuré de notre sincère gratitude.

A notre Maître et Juge,

Docteur Mounirou BABY,

- Maître assistant en Hématologie,
- Directeur du Centre National de Transfusion Sanguine (C.N.T.S.) de Bamako,
- Chargé de l'enseignement de l'Hématologie.

Au cours de votre enseignement d'Hématologie, nous avons apprécié votre rigueur scientifique et vos qualités humaines. Veuillez recevoir ici cher Maître, notre profonde gratitude.

A notre Maître et Juge,

Professeur Ababacar I. MAÏGA,

- Maître de conférences en Toxicologie,
- Chargé de l'enseignement de la Toxicologie.

Cher Maître, nous vous remercions d'avoir accepté de participer à l'amélioration de la qualité de ce travail. Vous nous avez mis à l'aise par votre grande modestie et votre sociabilité. Recevez ici cher Maître nos sentiments de respect et de reconnaissance.

A notre maître et Codirectrice de thèse,

Docteur Rokia SANOGO,

- Maître assistante en pharmacognosie,
- Chargée de l'enseignement de la Pharmacognosie à la FMPOS.

Cher Maître, nous avons apprécié en vous votre dynamisme et votre détermination dans le travail. Vos critiques, vos remarques et vos suggestions ont été d'un grand apport dans la réalisation de ce travail. Permettez cher Maître de vous exprimer ici toute notre reconnaissance et notre respect.

A notre Maître et Directeur de thèse,

Professeur Drissa DIALLO,

- Maître de conférence agrégé en pharmacognosie,
- 1^{er} Assesseur à la FMPOS
- Responsable de l'enseignement de la Pharmacognosie et de la Phytothérapie à la FMPOS,
- Chef du Département de Médecine Traditionnelle de l'INRSP.

Très cher maître, nous vous remercions de la confiance que vous avez placée en nous, en nous acceptant comme élève dans votre service, et pour la patience dont vous avez fait preuve à notre égard durant toute notre formation.

Vous nous avez appris le sens de la rigueur dans le travail. Votre générosité, votre disponibilité ainsi que vos qualités intellectuelles nous honorent.

Recevez ici cher Maître, l'expression de notre profonde reconnaissance.

ABREVIATIONS

AcOEt : Acétate d'éthyle

ADN : Acide désoxyribonucléique

BAW : Butanol-Acetic acid-Water

CCM: Chromatographie sur couche mince

cm : Centimètre

CNAM : Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie

cp : Comprimé

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

DCM : Dichlorométhane

dL : Décilitre

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DMT : Département Médecine Traditionnelle

EMB : Eosine Bleu de Méthylène

EtOH : Ethanol

FMPOS : Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

g : Gramme

G6PD : Glucose 6-phosphate déshydrogénase

Hb : Hémoglobine

IM : Intra-Musculaire

INRSP : Institut National de Recherches en Santé Publique

IV : Intraveineuse

Kc : *Kalanchoe crenata*

KcF : Feuilles fraîches de *Kalanchoe crenata*

L : litre

LDH : Lactate déshydrogénase

MeOH : Méthanol

MGG: May Grün Wald Giemsa

MH : Mueller Hinton

min : Minute

MTA : Médicament Traditionnel Amélioré

NH₄OH : Ammoniaque

NO : Monoxyde d'azote

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Rf : Facteur de rétention (rapport frontal)

Rh : Rhésus

SAD : Sabouraud Dextrose Agar

Tc : *Terminalia catappa*

TcET : Ecorces de tronc de *Terminalia catappa*

TMS : Triméthylsilane

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
MOTIVATIONS ET OBJECTIFS	3

TRAVAUX ANTERIEURS

1. MONOGRAPHIE DES PLANTES	5
1.1. <i>Terminalia catappa</i> L. -----	5
1.2. <i>Kalanchoe crenata</i> (Andr.) Haw. -----	13
2. RAPPELS-----	17
2.1. LE SANG -----	17
2.1.1. Le plasma -----	17
2.1.2. Les éléments figurés du sang -----	18
2.1.3. Les éléments nécessaires à l'érythropoïèse -----	19
2.1.4. Les fonctions du sang -----	20
2.2. L'ANEMIE -----	21
2.2.1. Définition et épidémiologie -----	21
2.2.2. Physiopathologie -----	22
2.2.3. Symptomatologie -----	22
2.2.4. Diagnostic des anémies -----	24
2.2.5. Traitement général -----	25
2.2.6. Classification des anémies -----	27
2.2.7. Quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'anémie -----	30
2.3. LES ANTIOXYDANTS -----	31
2.3.1. Généralités -----	31
2.3.2. Quelques définitions -----	32
2.3.3. Origine des radicaux libres -----	33
2.3.4. Dommages liés aux radicaux libres -----	33
2.3.5. Intérêt des antioxydants -----	34
2.3.6. Sources -----	35
2.3.7. Effets des antioxydants sur certaines pathologies -----	42
2.3.8. Méthodes d'étude des antioxydants -----	44
2.3.9. Quelques plantes à activité antioxydante -----	45

2.4. LE COMPLEMENT	46
2.4.1. Définition	46
2.4.2. Les différentes voies d'activation du complément	46
2.4.3. Les fonctions du complément	47

TRAVAUX PERSONNELS

1. METHODOLOGIE	48
1.1. LIEUX D'ETUDE	48
1.2. MATERIELS	48
1.2.1. Matériel végétal	48
1.2.2. Matériel animal	49
1.2.3. Microorganismes	49
1.2.4. Matériel technique	49
1.3. ETUDE PHYTOCHIMIQUE	50
1.3.1. Réactions de caractérisation	50
1.3.2. Dosages	59
1.3.3. Substances extractibles par l'eau	61
1.3.4. Substances extractibles par l'éthanol	61
1.3.5. Cendres	61
1.3.6. Extractions	64
1.3.7. Ionogramme	69
1.3.8. Chromatographie	71
1.4. ACTIVITES BIOLOGIQUES	76
1.4.1. Activités biologiques <i>in vitro</i>	76
1.4.2. Activités biologiques <i>in vivo</i>	89
2. RESULTATS	91
2.1. ETUDE PHYTOCHIMIQUE	91
2.1.1. Matériels	91
2.1.2. Réactions de caractérisations	91
2.1.3. Dosages	92
2.1.4. Extractions	93
2.1.5. Ionogramme	95
2.1.5. Chromatographie	96
2.2. ACTIVITES BIOLOGIQUES	110
2.3.1. Activités biologiques <i>in vitro</i>	110

2.3.2. Activités biologiques <i>in vivo</i> -----	120
3. ANALYSES ET DISCUSSION -----	124
CONCLUSION -----	129
RECOMMANDATIONS -----	131
BIBLIOGRAPHIE -----	132
ANNEXES -----	139
FICHE SIGNALÉTIQUE -----	142
RESUME -----	142

TABLE DES FIGURES ET TABLEAUX

FIGURES :

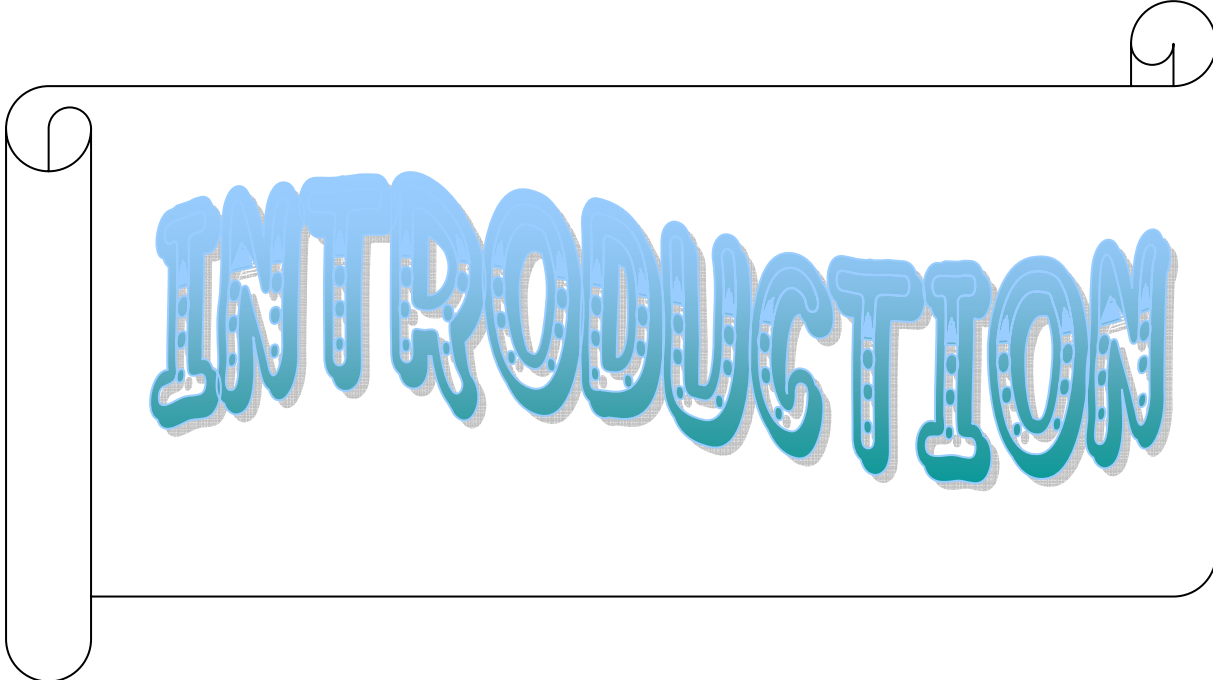
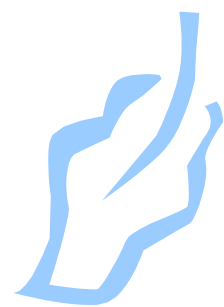
1 : Photo de <i>Terminalia catappa</i> -----	7
2 : Feuilles, fleurs et fruits de <i>Terminalia catappa</i> -----	8
3 : Ecorce et tronc de <i>Terminalia catappa</i> -----	8
4 : Plants de <i>Kalanchoe crenata</i> -----	14
5 : Globules rouges du sang circulant -----	18
6 : Schéma d'extraction par les solvants à polarité croissante de la poudre d'écorces de tronc de <i>Terminalia catappa</i> -----	65
7 : Schéma de l'extraction par macération à l'eau de la poudre d'écorces de tronc de <i>Terminalia catappa</i> -----	66
8 : Schéma de l'extraction par macération éthanolique de la poudre d'écorces de tronc de <i>Terminalia catappa</i> -----	66
9 : Schéma de l'extraction par infusion de la poudre d'écorces de tronc de <i>Terminalia catappa</i> -----	67
10 : Schéma de l'extraction par décoction de la poudre d'écorces de tronc de <i>Terminalia catappa</i> -----	68
11 : Schéma de la digestion des feuilles fraîches pilées de <i>Kalanchoe crenata</i> ---	68
12 : Photo du Rotavapor utilisé pour concentrer les extraits -----	69
13 : Réaction de méthanolyse (<i>Chambers et Clamp, 1971</i>) -----	73
14 : Schéma de la formation des dérivés du TMS (<i>Chambers et Clamp, 1971</i>) ---	74
15 : Chromatogramme de l'extrait éther de pétrole des écorces de tronc de <i>T. catappa</i> révélé au réactif de Godin -----	100
16 : Chromatogramme du décocté, de l'infusé et du macéré de la poudre d'écorces de tronc de <i>T. catappa</i> -----	103

17 : Chromatogramme représentant les monosaccharides présents dans le digesté des écorces de tronc de <i>Terminalia catappa</i> -----	109
18 : Chromatogramme représentant le décocté, l'infusé et le macéré aqueux des écorces de tronc de <i>T. catappa</i> révélés au DPPH -----	111
19 : Courbes représentant les résultats de l'activité sur la fixation du complément de nos différents extraits -----	118

TABLEAUX :

1 : Diagnostic des anémies -----	24
2 : Indications des médicaments antianémiques -----	26
3 : Plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'anémie -----	30
4 : Plantes à activité antioxydante -----	45
5 : Résultat des réactions de caractérisation -----	91
6 : Pourcentage des substances dosées dans les différentes drogues -----	92
7 : Résultats des extractions aqueuses et éthanolique (70 %) de <i>Terminalia catappa</i> et de <i>Kalanchoe crenata</i> -----	93
8 : Résultats des extractions par les solvants à polarité croissante de la poudre d'écorces de <i>T. catappa</i> -----	94
9 : Résultats de l'ionogramme pour les ions sodium (Na ⁺) et potassium (K ⁺) pour 100 g d'extraits aqueux des plantes -----	95
10 : Résultats de la CCM des extraits polaires de <i>Terminalia catappa</i> et de <i>Kalanchoe crenata</i> révélée au Godin -----	96
11 : Résultats de la CCM des extraits apolaires de <i>Terminalia catappa</i> révélée au Godin -----	98
12 : Résultats de la CCM des extraits polaires de <i>Terminalia catappa</i> et de <i>Kalanchoe crenata</i> révélée au FeCl ₃ -----	101
13 : Résultats de la CCM des extraits apolaires de <i>Terminalia catappa</i> révélée au FeCl ₃ -----	104
14 : Composition en monosaccharides des polysaccharides de l'extrait aqueux lyophilisé du décocté, selon la recette du tradithérapeute,	

de la poudre d'écorces de <i>Terminalia catappa</i> -----	105
15 : Composition en monosaccharides des polysaccharides de l'infusé de la poudre d'écorces de tronc de <i>Terminalia catappa</i> -----	106
16 : Composition en monosaccharides des polysaccharides de l'extrait aqueux du macéré de la poudre d'écorces de tronc de <i>Terminalia catappa</i> -----	106
17 : Composition en monosaccharides des polysaccharides du digéré de la poudre d'écorces de tronc de <i>Terminalia catappa</i> -----	107
18 : Composition en monosaccharides des polysaccharides du digéré des feuilles de <i>Kalanchoe crenata</i> -----	108
19 : Résultats du test antioxydant sur les extraits aqueux et hydroalcooliques des écorces de tronc de <i>Terminalia catappa</i> et des feuilles de <i>Kalanchoe crenata</i> dans un système BAW (60 :15 :25) révélé avec le DPPH -----	110
20 : Résultats du test antifongique de nos extraits -----	112
21 : Diamètres d'inhibition des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> par les extraits de plantes et les antibiotiques standards -----	113
22 : Diamètres d'inhibition des souches de <i>Escherichia coli</i> par les extraits de plantes et les antibiotiques standards -----	114
23 : Diamètres d'inhibition des souches de <i>Streptococcus</i> β -hémolytique par les extraits des plantes et les antibiotiques standards -----	115
24 : Diamètres d'inhibition des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> par les extraits des plantes et les antibiotiques standards -----	116
25 : Diamètres d'inhibition des souches de <i>Proteus mirabilis</i> par les extraits des plantes et les antibiotiques standards -----	117
26 : Détermination de la concentration inhibitrice 50 des différents extraits de <i>T. catappa</i> et de <i>K. crenata</i> -----	118
27 : Variation de masse des souris -----	120
28 : Valeurs du poids corporel, poids et de la rate et les poids relatifs du foie, de la rate des animaux traités avec le décocté aqueux de <i>T. catappa</i> -----	121
29 : Effets du décocté aqueux de <i>T. catappa</i> sur les paramètres hématologiques des souris -----	122

A graphic of a scroll with a black outline and rounded corners. The scroll is unrolled, with the top and bottom edges curving inward. The word "INTRODUCTION" is written across the center of the scroll in a large, bubbly, blue font with a slight shadow effect.

INTRODUCTION



INTRODUCTION

Dans de nombreux pays en voie de développement, l'accès à la médecine conventionnelle reste limité aux grandes agglomérations. Les difficultés de déplacements, l'insuffisance du personnel qualifié, le coût élevé des prestations et des médicaments conventionnels et les facteurs socio-économiques, ne laissent à une grande partie de la population, d'autres choix, que celui de la médecine traditionnelle pour traiter les maladies courantes.

Notre travail est une contribution à l'étude de deux plantes médicinales de la pharmacopée gabonaise : *Terminalia catappa* L. (*Combretaceae*) et *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. (*Crassulaceae*) utilisées dans la prise en charge de l'anémie.

Kalanchoe crenata est une plante caractérisée par des feuilles épaisses et succulentes. Elle est très répandue en Afrique tropicale et est traditionnellement et principalement utilisée contre les otites et le rhume mais aussi contre les douleurs oculaires, de l'oreille et l'asthme.

Terminalia catappa est une plante qu'on retrouve sur la plupart des côtes du monde. Elle est traditionnellement utilisée dans l'anémie mais aussi contre la gonorrhée, l'asthme, les maladies hépatiques, les rhumatismes et les maladies de la peau.

L'anémie constitue un problème de santé publique dans le monde entier et en particulier dans les pays en voie de développement car elle entraîne des conséquences majeures sur la santé aussi bien que sur le développement économique et social.

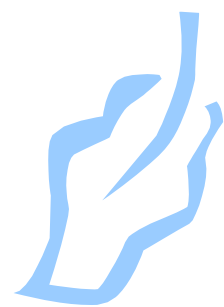
L'OMS estime que, pour l'ensemble du monde, l'anémie atteint le chiffre ahurissant de 2 milliards d'individus affectés. Elle estime aussi qu'environ 50 % des cas est du à la carence en fer et que les populations à haut risque sont les nourrissons, les enfants et les femmes en âge de procréer.

Au Mali, la prévalence de l'anémie en zones rurales et périurbaines se situe entre 8,3 et 28,6 % chez l'adulte ; 31 et 52,6 % chez l'enfant ; les estimations de la prévalence en milieu hospitalier bamakois montrent une grande variabilité selon les populations étudiées. En effet, 58,4 % des femmes en fin de grossesse, 53,7 % des nouveau-nés à la naissance selon *Diallo et al.* en 1994 et 27,30 % des adultes hospitalisés dans le service de médecine interne de l'hôpital du Pt G selon *Dicko* en 1997 sont anémiés.

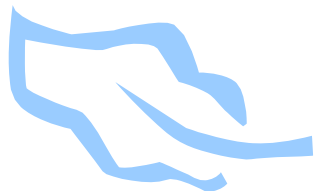
Bien que l'anémie soit reconnue comme un problème de santé publique depuis de nombreuses années, on a rapporté à ce jour peu de progrès dans ce domaine et son niveau élevé de prévalence à l'échelle mondiale reste inacceptable. Il devient donc urgent de mettre en place de nouvelles stratégies thérapeutiques afin de lutter efficacement contre ce fléau.

Le Département de médecine traditionnel de Bamako, centre collaborateur de l'OMS, travaille en collaboration avec les tradithérapeutes afin de mettre à la disposition de la population des médicaments traditionnels améliorés (MTA) à base de plantes.

Le but de la présente étude est de mettre au point un MTA qui contribuerait à la prise en charge des anémies.

A graphic of a scroll with a black outline and rounded corners. The scroll is unrolled on the left and right sides, with the top and bottom edges slightly curved. The text is centered on the scroll.

MOTIVATIONS ET OBJECTIFS



MOTIVATIONS ET OBJECTIFS

MOTIVATIONS :

Notre travail a été motivé par :

- la revalorisation de la médecine traditionnelle ;
- l'insuffisance de l'accès aux soins conventionnels ;
- la prévalence élevée de l'anémie ;
- la vérification des propriétés thérapeutiques des écorces de troncs de *Terminalia catappa* L. dans la prise en charge des anémies ;
- la recherche des activités biologiques de *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. ;
- la formulation, au niveau du DMT, d'un nouveau MTA pour la prise en charge des anémies.

OBJECTIFS :

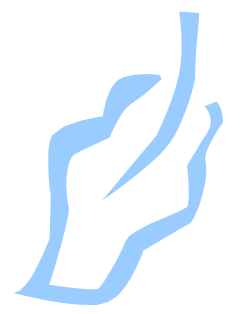
Objectif général :

Etudier la phytochimie et quelques activités biologiques de deux plantes utilisées en médecine traditionnelle gabonaise : *Terminalia catappa* L. (*Combretaceae*) et *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. (*Crassulaceae*).

Objectifs spécifiques :

- Identifier les groupes chimiques présents dans la poudre d'écorces de tronc de *Terminalia catappa* et de *Kalanchoe crenata* ;
- Déterminer la teneur en ions Na⁺ et K⁺ des extraits aqueux obtenus à partir de nos drogues ;

- Déterminer la composition en monosaccharides des polysaccharides des extraits aqueux de nos deux plantes ;
- Déterminer l'activité antibactérienne des extraits de nos deux plantes ;
- Déterminer l'activité antifongique des extraits obtenus à partir de nos drogues ;
- Déterminer l'activité antioxydante des extraits de *T. catappa* et *K. Crenata* ;
- Déterminer la capacité de fixation du complément par les extraits de *T. catappa* et *K. Crenata* ;
- Déterminer l'effet du décocté obtenu à partir de la poudre d'écorces de tronc de *Terminalia catappa* selon la préparation du tradithérapeute sur certains paramètres du sang.

A large graphic of a scroll with a black outline and rounded corners. The scroll is unrolled, with the top and bottom edges showing the rolled-up part. The text is centered on the unrolled portion.

TRAVAUX ANTERIEURS



1- MONOGRAPHIE DES PLANTES

1.1- Terminalia catappa L.

➤ Synonymes

Plusieurs synonymes existent pour *T. catappa*. Il y a entre autres :

- *Juglans catappa* Lour
- *Terminalia latifolia* Blanco
- *Terminalia mauritiana* Blanco
- *Terminalia moluccana* Lamk
- *Terminalia mirobalana* Roth
- *Terminalia subcordata* Willd

➤ Systématique

Règne : Végétal

Sous-règne : Eucaryotes

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes ou Spermatophytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Dialypétales

Série : Caliciflores

Sous-série : Diplo-méristémones

Ordre : *Myrtales*

Famille : *Combretaceae*

Sous-famille : *Strephonematoïdeae*

Tribu : *Laguncularieae*

Sous-tribu : *Terminaliideae*

Genre : *Terminalia*

Espèce : *catappa*

➤ **Noms vulgaires**

Le nom vulgaire de *T. catappa* est :

- « Badamier – Amande tropicale » (Europe),
- « Amandier des Indes » (Indes),
- « M'handaya » (Comores),
- « Lingtak » (Malaisie). Mais aussi :
- en Wolof (Sénégal) « Gerté tubab »
- et au Nigeria c'est « Efik mbànsàn ».
- « Cocoma » en Côte d'Ivoire
- en Bambara, on l'appelle « Cocomasi ».

➤ **Description botanique**

C'est un très bel arbre de 20 à 25 m de haut à rameaux étagés et aux grandes feuilles lisses formant un bouquet. Les feuilles sont caduques, simples, un peu ovales, à pétiole court et épais. Elles virent du jaune au rouge avant de tomber. Le badamier perd la quasi totalité de ses feuilles environ deux fois par an, en Janvier-Février et en Juillet-Août. Ce qui est inhabituel chez les arbres subsahariens.

Les jeunes feuilles sont velues et les nervures très marquées sont peu nombreuses.

Les inflorescences sont en épis serrés et portent de nombreuses petites fleurs duveteuses comportant un calice à cinq divisions et dix étamines. Les fleurs femelles, blanches, et les fleurs mâles qui sont sur le même arbre, sont inaperçues et pas très voyantes.

Le fruit est une drupe sèche ovale, charnue et bombée, virant du vert au jaune ou rouge ou pourpre quand il mûrit. La peau externe lisse couvre une couche de fibres semblables à du liège qui entourent la chair.

Le bois qui est élastique, est rougeâtre, avec des grains croisés, bouclés et tordus.



Figure 1: Photo de *Terminalia catappa*



Figure 2: Feuilles, fleurs et fruit de *Terminalia catappa*



Figure 3: Ecorce et tronc de *Terminalia catappa*

➤ **Origine et répartition géographique**

C'est un arbre originaire de Malaisie et de l'ouest du Pacifique. Introduit en Afrique, il est présent dans les zones bien irriguées allant de l'Afrique de l'ouest (Sénégal) à l'Afrique centrale.

C'est une plante pantropicale qu'on retrouve surtout en bord de mer sur la plupart des côtes.

Au Gabon, on la retrouve surtout à l'Ouest, depuis le Nord jusqu'au Sud, sur toute la surface côtière.

Au Mali, importée de Côte d'Ivoire, c'est une plante encore peu répandue qu'on rencontre presque exclusivement à Bamako.

➤ **Conditions culturelles**

Grâce à leur coquille légère, les fruits sont le plus souvent dispersés par l'eau.

La propagation se fait grâce à ses graines.

Sa culture demande le plein soleil, de l'humidité et un sol bien irrigué.

C'est un arbre qui tolère le sel et la sécheresse.

Comme pour beaucoup d'arbres tropicaux, le badamier peut être cultivé dans un pot où sa taille peut être contrôlée pendant plusieurs années.

Quand la tige simple atteint une bonne taille, elle donne plusieurs branches horizontales.

➤ **Utilisation en médecine traditionnelle**

Feuilles : Au Nigeria, elles sont macérées dans l'huile de palme pour le traitement des amygdalites.

En Inde et au Pakistan, le jus de feuilles est utilisé contre la gale, les maladies de peau et la lèpre (www.naturia.per.sg).

On les utilise aux Philippines contre les parasites intestinaux, contre les affections hépatiques à Taiwan et contre la diarrhée.

Jeunes feuilles : Elles sont utilisées dans la préparation de pommade contre la gale, la lèpre et autres maladies cutanées (*Burkill, 1985*).

Ecorces : Elles ont été recommandées pour leur utilisation en décoction dans le traitement de la gonorrhée, la leucorrhée, les fièvres nauséuses et les crampes d'estomac à San Diego, et dans celui de la diarrhée au Brésil. Mais elles sont aussi utilisées pour soigner les plaies, la blennorragie et l'anémie.

En Indonésie, l'écorce riche en tannins et donc astringente est utilisée en médecine buccale (*Boullard, 2001*).

Fruits : En Inde, ils sont utilisés contre la lèpre et les maux de tête. Les fruits mûrs sont utilisés contre les nausées de voyage au Mexique.

Les amandes servent à préparer des émulsions adoucissantes pectorales, antitussives tant en Extrême Orient qu'aux Caraïbes (*Boullard, 2001*).

Feuilles, écorces et fruits : En Asie du Sud Est, ils sont utilisés pour lutter contre la dysentérie et contre les rhumatismes en Indonésie et en Inde.

Fruits et écorces : On les utilise contre la toux à Samoa et l'asthme au Mexique.

➤ Chimie

Les feuilles, les fleurs et les écorces sont riches en tanins (*punicaline, punicalagine et tercateine*). Les fruits en contiennent également autour de 6-20 %.

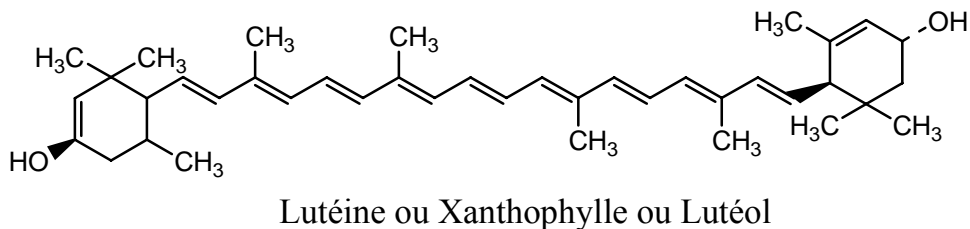
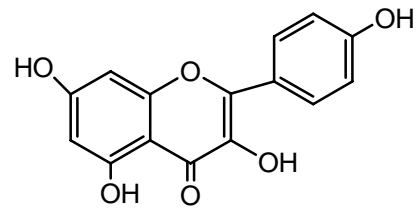
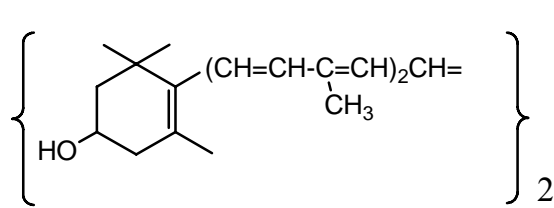
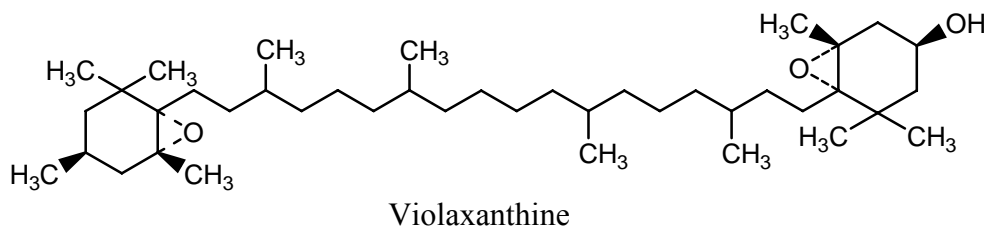
Certains colorants responsables de la coloration des feuilles sont : la *violaxanthine*, la *lutéine* et la *zéaxanthine*. Il y a également des flavonoïdes actuelles comme la *quercetine* et le *kaempferol*.

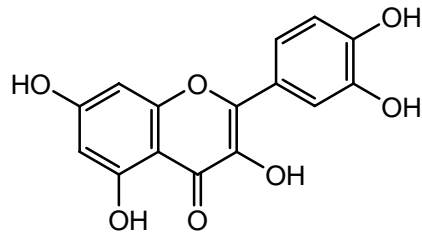
La présence de stérols a également été rapportée.

L'amande obtenue à partir du fruit contient 51-63 % d'une huile appelée : Huile de badamier ou Huile d'amande indienne.

Le matériel végétal de Côte d'Ivoire a été analysé et contient des glycérides, de l'acide palmitique (34,4 %), de l'acide oléique (32,1 %), de l'acide linoléique (27,5 %) et de l'acide stéarique (6 %) (*Burkill, 1985*).

Formules chimiques de quelques composés isolés de *T. catappa*





Quercétine

➤ **Données pharmacologiques**

Les feuilles, en usage externe, sont rafraîchissantes et sudorifiques. Elles contiennent des agents pour la chimio-protection du cancer et offrent probablement des possibilités intéressantes anticarcinogéniques. Elles ont également un effet anticlastogénique (processus qui empêche des coupures dans les chromosomes) dû à leurs propriétés antioxydantes (www.tropilab.com).

L'amande a montré une activité aphrodisiaque, elle peut probablement être employée dans le traitement de quelques formes d'insuffisances sexuelles. Cette amande est également employée par des sélectionneurs de poissons tropicaux d'aquarium pour les maintenir sains, ceci grâce à ses propriétés antibactériennes (www.tropilab.com).

Dans la péninsule indochinoise (*Burkill, 1985*) son écorce riche en tanins et donc astringente est utilisée en médecine buccale.

En Chine on attribue des vertus astringentes prononcées aux décoctions ou infusion de fruits du mirobolan (*Boullard, 2001*).

L'exploration biochimique des feuilles de *Terminalia catappa* par *Fofana*, en 2004, a révélé un pouvoir immunogène.

➤ **Autres usages**

Le Badamier est très souvent planté comme espèce ornementale mais surtout pour donner de l'ombre, ses feuilles et ses écorces, riches en tanins, servaient à la fabrication de teinture noire et d'encre.

Le bois, dans l'ouest du Pacifique, est utilisé pour ses propriétés de dureté et de durabilité. En Malaisie, il sert pour la construction de bateaux et de maisons. Dans

certaines îles, le bois est transformé en des articles résistants comme des chariots, des roues et des poteaux. Les copeaux de bois trempés dans l'eau donnent une solution jaune.

L'amande est comestible et a une saveur très subtile se rapprochant beaucoup de l'amande commerciale, à la différence que l'amande du Badamier peut être mangée. Même l'huile extraite à partir de ces amandes séchées est également comestible et utilisée pour la cuisson en Amérique du sud.

1.2- *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw.

➤ **Systematique**

Règne : Végétal

Sous-règne : Eucaryotes

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes ou Spermatophytes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Dialypétales

Série : Caliciflores

Sous-série : Diplo-méristémones

Ordre : *Rosales ou Saxifragales*

Famille : *Crassulaceae*

Genre : *Sempervivum*

Sous-genre : *Kalanchoe*

Espèce : *crenata*

➤ **Noms vulgaires**

On lui connaît des noms dans certaines langues du Gabon ; en Puvi : Bukolo ; en Punu et Nzébi : Madjoudjouga ; en Obamba et Téké : Landjouga.

Au Togo on l'appelle : Aoke.

➤ **Description botanique**

C'est une plante d'aspect caoutchouteux, succulente et persistante pouvant atteindre 1,5 m de haut environ. Les feuilles crénelées, sont opposées et lisses.

Les fleurs, de couleur jaune orangée, sont groupées et possèdent quatre sépales et quatre pétales réunies en tube érigé (Boullard, 2001).



Figure 4: Plants de *Kalanchoe crenata*

➤ **Origine et répartition géographique**

Peu de détails sont connus en ce qui concerne les origines de cette espèce de *Kalanchoe*. C'est une plante très répandue en Afrique tropicale. On la rencontre également en Afrique de l'Ouest, de l'Est, en Australie et dans une partie de l'Asie.

Au Gabon, on la retrouve principalement dans des zones fraîches, humides et moyennement ensoleillées. C'est une plante répandue dans tous le pays.

➤ Conditions culturelles

La culture, facile, est de type tropicale. La reproduction se fait par semis ou bouturage de tige ou de feuille. En fait, le semis est peu pratiqué en raison de la très petite taille de la graine.

Le bouturage des feuilles consiste à prélever une feuille saine, mûre mais pas trop âgée, avec son pétiole, puis, après cicatrisation pendant deux à trois jours, planter la base du pétiole dans un mélange terreux légèrement humide.

Cette espèce a la faculté de produire de petites racines dans les échancrures des feuilles après que celles-ci aient été détachées de la plante.

Les fleuristes provoquent l'apparition des boutons floraux en réduisant la durée du jour à 8-10h, la plante étant maintenue dans le noir le reste du temps. La durée du jour peut ensuite être augmentée pour la floraison elle-même.

➤ Utilisations en médecine traditionnelle

La sève de feuilles réchauffée est communément utilisée dans le traitement des otites (c'est une indication scientifiquement reconnue) (Boullard, 2001). Dans la médecine traditionnelle Ghanéenne, les feuilles sont considérées comme purifiantes mais cette propriété est mitigée.

La sève réchauffée des feuilles est également utilisée, au Gabon, contre les otites, le rhume, les épistaxis et les douleurs oculaires.

Les feuilles, lorsqu'elles sont bouillies sont utilisées contre l'asthme, et lorsqu'elles sont macérées dans l'eau, servent à calmer les palpitations. Au Nigeria, leur infusion et leur décoction sont utilisées comme sédatives le plus souvent dans l'asthme (Burkill, 1985). Chez certains peuples nigériens, elles sont utilisées dans les incantations pour la recherche du calme. Au Gabon, les femmes utilisent la décoction des feuilles pour faciliter les accouchements.

Au Rwanda (Rwangabo, 1993), on les utilise pour soigner les coliques et maux de ventre (Boullard, 2001).

La plante entière, en décoction, est utilisée comme anthelminthique et les racines, également en décoction, sont utilisées par les femmes enceintes comme tonique.

Les racines fraîches sont prisées ou encore mâchées dans le traitement du rhume.

➤ **Chimie**

Dans le matériel végétal nigérian, on a retrouvé des traces d'alcaloïdes, avec une forte présence dans les racines (*Burkill, 1985*).

➤ **Données pharmacologiques**

En Côte d'Ivoire, la sève des feuilles est utilisée comme antivomitif et comme calmant contre les douleurs intercostales et intestinales. Les feuilles elles, sont utilisées comme antihémorragiques.

En Tanzanie, la sève de feuilles est utilisée comme galactogogue sous forme de boisson mais aussi comme antipaludique, tout comme les racines.

En République Démocratique du Congo ainsi qu'au Gabon, on utilise la sève de feuilles comme cicatrisant pour les plaies, contre le rhume et les maladies oculaires et auditives (*Burkill, 1985*).

➤ **Autres usages**

Au Gabon, les feuilles de *Kalanchoe crenata* sont consommées comme légume. C'est une plante fréquemment plantée pour la beauté des fleurs qu'elle produit.

2- RAPPEL

2.1- LE SANG

Le sang est un liquide rouge visqueux et opaque qui circule dans les vaisseaux sanguins (artères et veines).

C'est le seul tissu liquide de l'organisme. A l'intérieur de ce liquide se trouvent en suspension les éléments figurés baignant dans un liquide complexe : le plasma.

Le sang possède un goût salé et métallique, d'une couleur rouge écarlate quand il est riche en oxygène (sang artériel), et d'une couleur rouge sombre quand il est dépourvu en oxygène (sang veineux).

2.1.1- Le plasma

Le plasma, partie liquide du sang dans laquelle sont suspendues les cellules sanguines, est composée d'eau à 90% ; cependant, c'est un liquide complexe qui comprend un nombre important de substances organiques et inorganiques.

Les protéines sont les substances organiques les plus abondantes puisqu'elles occupent 7 % du poids total du plasma. On distingue trois grands groupes de protéines plasmatiques :

- les albumines ;
- les globulines ;
- le fibrinogène.

Les albumines forment le groupe le plus important.

Les protéines plasmatiques sont pour la plupart fabriquées par le foie, à l'exception des immunoglobulines, qui, proviennent des tissus lymphoïdes.

2.1.2- Les éléments figurés du sang

Après centrifugation, les éléments figurés vont se déposer au fond de l'éprouvette alors que le plasma, moins lourd, flotte à la surface. Ces éléments figurés sont :

- les globules blancs (leucocytes) qui participent à la défense de l'organisme et qui comprennent les granulocytes ou polynucléaires, les monocytes et les lymphocytes ;
- les plaquettes intervenant dans la coagulation ;
- les globules rouges proprement dits (érythrocytes) dont la fonction est de transporter l'oxygène.

Ces éléments figurés correspondent à 45 % environ du volume total du sang. Le reste (55 %) est donc composé de plasma.

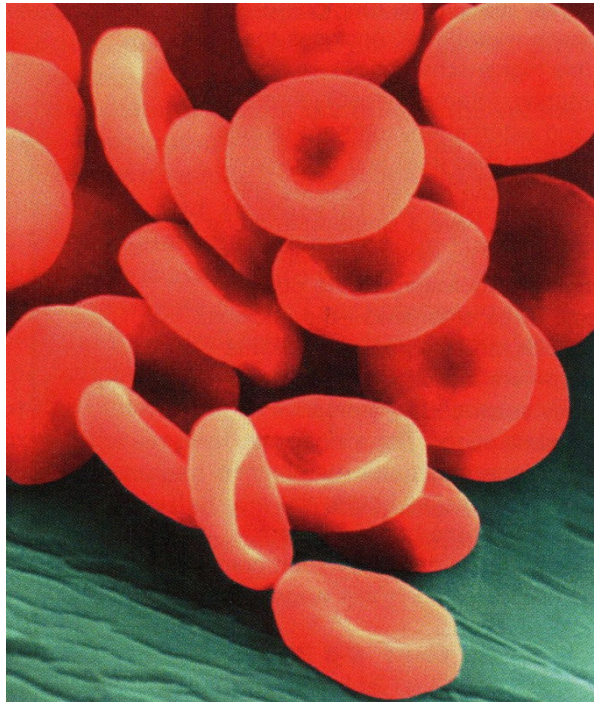


Figure 5: Globules rouges du sang circulant

(www.leucemie-espoir.org)

2.1.3- Les éléments nécessaires à l'érythropoïèse

Ces éléments sont des nutriments tels que des acides aminés, des glucides, des lipides, mais aussi les facteurs de croissance indispensables que sont le fer, l'acide folique et la vitamine B₁₂.

Le fer est un élément essentiel de la molécule d'hémoglobine car c'est sur lui que l'oxygène se fixe.

Le fer de l'organisme qui n'est pas pris en charge par l'hémoglobine existe sous forme de réserve ou sous forme circulante. Dans les deux cas il n'est pas libre mais fixé à une protéine. Les réserves en fer sont de deux types :

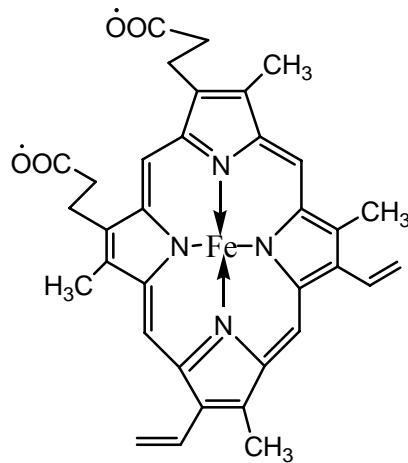
- une réserve rapidement accessible : la ferritine ;
- une réserve lentement disponible : l'hémosidérine.

Le fer circulant dans le plasma est fixé à la sidérophiline, également appelée transferrine.

L'acide folique est une vitamine indispensable à la synthèse des cellules de l'érythropoïèse. L'absorption de l'acide folique se fait le long de l'intestin grêle. Un déficit en acide folique provoque une perturbation de la prolifération et de la maturation des érythrocytes.

La vitamine B₁₂ est une molécule contenant du cobalt ; elle appartient au groupe des cobalamines. Les besoins quotidiens sont faibles, de l'ordre de 1µg, et sont largement couverts par l'alimentation. La vitamine B₁₂ est mise en réserve dans le foie en grande quantité. Un déficit en cette molécule entraîne une insuffisance de prolifération et de maturation des érythrocytes ; il s'agit d'une anémie appelée anémie pernicieuse.

Structure chimique de l'hème



2.1.4- Les fonctions du sang

Le sang possède plusieurs fonctions :

- Transport de l'oxygène et des nutriments (substances nutritives pouvant être assimilées directement par l'organisme, sans avoir besoin de passer par le tube digestif) en provenance des poumons et du système digestif ;
- Transport des déchets vers les poumons (gaz carbonique) et vers les reins (déchets à base d'azote) ;
- Transport des hormones ;
- Protection (prévention de l'hémorragie et de l'infection par le transport des anticorps et des globules blancs) ;
- Régulation par le maintien de la température du corps en absorbant la chaleur, mais également en répartissant cette chaleur dans tout l'organisme ;

- Régulation de l'acidité de tous les tissus ;
- Maintien d'une certaine quantité de liquide dans les vaisseaux, permettant une tension artérielle suffisante pour irriguer l'ensemble des organes.

2.2- L'ANEMIE

2.2.1- Définition et épidémiologie

L'anémie est définie comme la diminution du taux de l'hémoglobine par unité de volume de sang au dessous des valeurs physiologiques. On parle d'anémie au dessous de :

- 13 g d'hémoglobine pour 100 mL de sang chez l'homme adulte ;
- 12 g d'hémoglobine pour 100 mL de sang chez la femme et l'enfant ;
- 14 g d'hémoglobine pour 100 mL de sang chez le nouveau-né.

Les globules rouges sont mesurés sur trois valeurs de l'hémodiagramme (prélèvement de sang sur anticoagulant comportant deux types d'analyses distinctes : l'analyse quantitative des globules rouges, des leucocytes et des plaquettes et l'examen morphologique des cellules) : leur nombre, le taux d'hémoglobine et l'hématocrite. Ce qui est important pour l'organisme, ce n'est pas le nombre de globules rouges, mais la quantité d'oxygène qu'ils transportent et par conséquent le taux d'hémoglobine par unité de volume.

Il existe des fausses anémies par hémodilution répertoriées dans quatre cas :

- la grossesse, à partir du 2^e trimestre ;
- les splénomégalies volumineuses ;
- certaines immunoglobulines monoclonales ;
- l'insuffisance cardiaque.

L'anémie est la modification la plus fréquente en pathologie. Elle représente environ la moitié des anomalies constatées sur un hémogramme.

2.2.2- Physiopathologie

La baisse du taux d'hémoglobine peut résulter de deux mécanismes fondamentaux, une augmentation des pertes à laquelle une augmentation compensatrice de la production médullaire ne parvient pas à faire face ou une diminution de la production médullaire.

Dans le premier cas, les réticulocytes augmentent, témoignant de l'effort de la moelle qui tend à compenser l'excès de perte, mais cette augmentation est légèrement retardée par rapport au début de l'anémie.

Dans le deuxième cas, la baisse du taux des réticulocytes est le *primum movens* de l'anémie et elle précède la baisse du taux d'hémoglobine.

On qualifie souvent les anémies du premier groupe d' « anémies régénératives », et celles du deuxième groupe d' « anémies arégénératives ».

2.2.3- Symptomatologie

Les manifestations cliniques de l'anémie, quelle qu'en soit l'étiologie, dépendent essentiellement de la diminution de la capacité du sang à transporter l'oxygène, ce qui entraîne une hypoxie cellulaire, et de l'augmentation compensatrice du débit cardiaque.

Pâleur : habituellement nette si le taux d'hémoglobine est inférieur à 9 g/dL ; la pâleur est surtout visible à la conjonctive palpébrale, aux lèvres et aux ongles.

Symptômes subjectifs : faiblesse, vertiges, céphalées, bourdonnements d'oreilles, sensation de mouches volantes, tendances aux syncopes, parfois irritabilité ou somnolence.

Dyspnée et Tachycardie (« cœur anémique ») : dans les anémies légères, l'élévation du débit cardiaque et du volume d'éjection systolique peut être suffisant pour compenser au repos la diminution de la capacité du sang à transporter l'oxygène, mais à l'effort le patient a des palpitations, une tachycardie dite « d'effort » et une dyspnée. Pour des efforts de moins en moins marqués l'asthénie est nette.

Dans les anémies graves, on observe une dilatation ventriculaire et des signes d'insuffisances cardiaques avec dilatation du cœur. L'élévation du débit cardiaque survient lorsque le taux d'hémoglobine est < 7 g/dL . Cela se traduit par une polypnée permanente avec tachycardie, et à l'auscultation ou des gros vaisseaux un soufflement systolique anorganique, voire, plus tardivement des œdèmes des membres inférieurs ainsi que des signes d'anoxie cérébrale et autres symptômes subjectifs.

Troubles digestifs : anorexie et vomissement, diarrhées.

Aménorrhée chez la femme et impuissance chez l'homme.

Fièvre peu élevée et augmentation du métabolisme basal.

Ictères et Splénomégalie dans certains types d'anémie

N.B : Dans les cas extrêmes le patient pourrait tomber dans ce qu'on appelle « le coma anémique ».

2.2.4- Diagnostic des anémies

Tableau 1 : Diagnostic des anémies (*Fattorusso V. et Coll., 2004*)

	Volume globulaire moyen (VGM)	Concentration globulaire moyenne en hémoglobine	ÉTIOLOGIE	EXAMENS DE LABORATOIRE
Anémie microcytaire hypochrome	Inférieur à 82 fl	Inférieure à 32%	Anémie ferriprive	Fer sérique diminué Capacité totale de fixation du fer augmenté Réticulocytes diminués
			Thalassémies	Hémoglobine F, A2, H, S Réticulocytes augmentée
			Anémie sidéroblastiques (peuvent être normocytaires)	Sidéroblastes dans le sang Fer sérique augmenté Résist. globul. augmenté
Anémie normocytaire normochrome	Entre 82 et 98 fl	Entre 32 et 36 %	Hémorragie récente Anémies hémolytiques auto-immunes	Hyperplasie médullaire Réticulocytes augmentés Test de Coombs + Réticulocytes augmentés Hyperbilirubinémie indirecte
			Anémies dans les maladies chroniques	Fer sérique diminué Capacité de fixation du fer diminuée
			Anémie aplastique	Leucopénie Moelle osseuse pauvre
Anémie macrocytaire normochrome	Supérieur à 98 fl	Supérieur à 36 %	Déficit en vitamine B12	Sang : mégaloctes Moelle : mégaloblastes Test de Schilling positif
			Déficit en acide folique	Folates érythrocytaires diminués

2.2.5- Traitement général

Selon le type d'anémie, le traitement doit être spécifique et l'effet obtenu permet souvent de confirmer le diagnostic. Dans l'anémie pernicieuse, le traitement est poursuivi durant toute la vie.

Note : Dans le diagnostic des anémies, l'erreur la plus fréquente consiste à *en méconnaître la cause*.

Le principe du traitement d'une anémie est celui du traitement de son étiologie.

Il faut se rappeler que les médicaments antianémiques d'usage courant (fer, acide folique et vitamine B₁₂) n'ont d'efficacité que lorsqu'il existe un déficit correspondant.

Contrairement à ce que suggèrent de nombreuses publicités médicales, il n'existe aucun médicament antianémique « tous azimuts ».

La stimulation de l'érythropoïèse par la corticothérapie relève par ailleurs de cas particuliers et d'un domaine spécialisé. L'indication de la vitamine B₆ relève également de cas fort rares du domaine du spécialiste. Quant à l'érythropoïétine recombinante, elle n'est à coup sûr indiquée que dans l'anémie sévère de l'insuffisant rénal chronique et dans l'anémie induite par des chimiothérapies avec un sel de platine.

Tableau 2: Indications des médicaments anémiques (Bernard J. et Coll., 1996)

Médicaments	Indications	Doses
Sels de fer <i>per os</i>	Anémies par carence martiale prouvée	100 à 200 mg de fer métal/jour (le nombre de comprimé dépend de la teneur en fer du sel utilisé). Durée : 4 mois
Fer injectable	Grandes malabsorptions Dialysés rénaux Exceptionnellement sidéropénie carencielle résistante au fer <i>per os</i>	<i>Cf.</i> : Indications données par le laboratoire
Vitamines B ₁₂ <i>per os</i>	Pas d'indication sauf exceptionnelle en cas d'apport	
Vitamines B ₁₂ <i>per os</i> + facteur intrinsèque animal	Pas d'indication	
Vitamines B ₁₂ IM	Exclusivement : anémie par carence prouvée en vitamines B₁₂	Hydroxocobalamine : 1000 µg/injection ; 6injections suffisent à remplir les réserves, puis 1 injection/mois Cyanocobalamine : 1000 µg/injection tous les 2 jours jusqu'à 10 ou 12 puis 1 injection/mois
Acide folique <i>per os</i>	Exclusivement carence prouvée en acide folique	Spéciafoldine 5 à 15 mg/jour (1 cp. Contient 5 mg)
Acide folinique	Pas d'indication sauf malabsorption et neutralisation d'un traitement antifolique	Variable selon les indications
Prednisone	Anémies hémolytiques auto- immunes et certaines érythroblastopénies	1,5 à 2 mg/kg jour, puis doses dégressives. Indication du spécialiste
Androgènes	Exclusivement insuffisances médullaires quantitatives graves	2 mg/kg jour. Indication du spécialiste
Erythropoïétine recombinante	- Anémie de l'insuffisance rénale - Anémie des cancers traités par cisplatine	Indication du spécialiste

Dans certaines situations d'urgence ou l'anémie est symptomatique, voire profonde, une transfusion sanguine est réalisée.

Pour cela on utilise des concentrés globulaires issus des dons de sang. Ils sont perfusés à l'anémique en respectant la compatibilité des groupes et phénotypes sanguins et du Rhésus.

Les anémies inexpliquées exigent un examen clinique et radiologique approfondi.

2.2.6- Classification des anémies

Il existe plusieurs types d'anémies :

2.2.6.1- Anémies par carence martiale ou « ferriprives » de l'adulte

La carence martiale est la 1^{ère} cause des anémies de l'adulte, et les anémies par carence martiale sont, dans tous les pays et sous toutes les latitudes, les plus fréquentes des anémies. (*Bernard J. et Coll., 2001*)

C'est une anémie chronique caractérisée par des hématies petites et pâles (anémie microcytaire hypochrome) due à un déficit en fer nécessaire à la synthèse de l'hémoglobine.

2.2.6.2- Les anémies inflammatoires

Les anémies inflammatoires sont les plus fréquentes des anémies, après les anémies par carence martiale. Elles sont particulièrement fréquentes en milieu hospitalier.

2.2.6.3- Les anémies aiguës hémorragiques

Une confusion est fréquemment faite entre « anémie par hémorragie chronique » et « anémie aiguë hémorragique ». Les premières sont dues à des hémorragies répétées, mais minimes par elles-mêmes, qui ne modifient pas sensiblement la masse sanguine, elles sont liées à la perte de fer. Elles réalisent donc un tableau

d'anémie microcytaire arégénérative. A l'inverse, les anémies aiguës hémorragiques correspondent à des saignements importants et forcement limités dans le temps, entraînant une perte de masse globulaire et par conséquent une anémie immédiate.

2.2.6.4- Anémies mégaloblastiques

C'est un groupe d'anémies macrocytaires et mégaloblastiques dues à un déficit en vitamine B₁₂ ou en acide folique, exceptionnellement à d'autres causes.

2.2.6.5- Les anémies hémolytiques

Les anémies hémolytiques ont des mécanismes très divers et des étiologies très nombreuses. Une fois affirmé le diagnostic d'hyperhémolyse, et après avoir écarté les causes les plus fréquentes, un avis spécialisé est le plus souvent nécessaire. Parmi les anémies hémolytiques majeures, on peut citer les hémolyses bactériennes et parasitaires, et les hémoglobinopathies.

2.2.6.5.1- Les hémolyses bactériennes et parasitaires

Les hémolyses bactériennes étaient surtout fréquentes au cours de la septicémie à *Clostridium perfringens* avec un tableau d'hémolyse aiguë intravasculaire accompagnant la septicémie. Elles s'observent parfois aussi dans d'autres infections *postabortum*, et beaucoup plus rarement, dans d'autres septicémies : à colibacilles ou à streptocoques hémolytiques.

Les hémolyses parasitaires s'observent au cours du paludisme et des bartonelloses. L'hémolyse palustre, fréquente, survient dans un contexte fébrile souvent fébrile souvent associée à une neutropénie, une monocytose et une thrombopénie. La réticulocytose peut être basse, le Plasmodium détruisant principalement les réticulocytes. Le diagnostic repose sur la mise en évidence du parasite.

2.2.6.5.2- Anémies hémolytiques dues aux hémoglobinopathies

Les hémoglobinopathies sont des maladies du sang dues à une anomalie de l'hémoglobine dont les plus fréquentes sont les thalassémies et la drépanocytose. La thalassémie est due à un déficit de synthèse de l'hémoglobine (hémoglobinopathie quantitative), tandis que la drépanocytose résulte d'un changement dans la structure de l'hémoglobine (hémoglobinopathie qualitative).

Certains individus sont porteurs d'une anomalie de l'hémoglobine. Ils ne sont pas malades mais peuvent transmettre cette anomalie à leurs descendants (hétérozygotes). Les personnes homozygotes ou doubles hétérozygotes sont malades et ont une anémie hémolytique plus ou moins sévère. On parle de thalassémie sévère et de syndrome drépanocytaire.

2.2.7- Quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'anémie

Tableau 3: Plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'anémie
(Adjanohoun E. et Coll., 1985)

Noms scientifiques et Famille	Partie utilisée	Extrait utilisé
<i>Acridocarpus congolensis</i> Sprague (<i>Malpighiaceae</i>)	Racines	Décocté
<i>Bougainvillea glabra</i> Choisy (<i>Nyctaginaceae</i>)	Fleurs	Décocté
<i>Bridelia ferruginea</i> Benth. (<i>Euphorbiaceae</i>)	Racines et Ecorces de tronc	Décocté
<i>Erigeron floribundus</i> (Kunth) Schults-Bip. (<i>Asteraceae</i>)	Feuilles	Décocté
<i>Fagara zanthoxyloïdes</i> Lam. (<i>Rutaceae</i>)	Ecorces de racines	Décocté
<i>Hymenocardia acida</i> Tul. (<i>Euphorbiaceae</i>)	Ecorces de racines fraîches	Décocté
<i>Mitragyna stipulosa</i> (D.C.) O. Kuntze (<i>Rubiaceae</i>)	Ecorces de la tige fraîche	Décocté
<i>Parinari capensis</i> Harv. (<i>Chrysobalanaceae</i>)	Racines fraîches	Décocté
<i>Syzigium brazzavillense</i> Aubr. et Pellegr. (<i>Myrtaceae</i>)	Ecorces de tiges	Décocté

2.3- LES ANTIOXYDANTS

2.3.1- Généralités

Les êtres vivants aérobies ont besoin de l'oxygène dans leur environnement pour se développer et pour vivre. En effet, ces derniers utilisent le haut niveau énergétique de l'oxygène moléculaire pour oxyder des substances comme les hydrates de carbone, les protéines, les graisses et produire essentiellement du dioxyde de carbone (CO₂), de l'eau et de l'énergie nécessaire au processus de la vie. Le métabolisme des composés endogènes et exogènes par les enzymes telles que les monoamines-oxydases ou les mono-oxygénases nécessite l'utilisation de l'oxygène (*Cavin, 1999*).

En thérapeutique, l'oxygène est utilisé en inhalation contre l'anoxie cellulaire ou globale, les hémorragies ainsi que dans de nombreuses affections pulmonaires, les embolies gazeuses des plongeurs, etc...

Cependant, l'oxygène peut être également une source d'agression pour tous les êtres vivants. Sous l'action des rayons UV, des radiations ionisantes, des métaux de transition ou au cours de diverses réactions enzymatiques, l'oxygène peut fournir des formes hautement réactives telles que l'anion superoxyde (O₂⁻), l'oxygène singulet (¹O₂), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), les peroxydes alkyles (ROOH) et les radicaux hydroxyles (OH), peroxydes (ROO), et alcoyles (RO) qui sont à l'origine de la peroxydation des lipides membranaires, au niveau du poumon, du système nerveux central et de la rétine (*Allain, 1996*). On leur donne le nom d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO).

Sur le système nerveux, la toxicité de l'oxygène se traduit par des troubles visuels, des contractions musculaires, des convulsions (*Allain, 1996*).

Dans les conditions normales la production des radicaux libres est contrôlée par l'organisme par un phénomène appelé homéostasie. L'homéostasie est l'établissement d'un équilibre fragile entre la formation de substances pro-oxydantes et leur élimination (action des antioxydants). Lorsque cet équilibre est rompu en faveur de la

production des pro-oxydants, l'organisme endure un stress oxydant de telle sorte que les cellules ne peuvent plus éliminer leur surproduction (*Pincemail et al., 2002*).

Les ERO sont utilisées par les cellules phagocytaires de l'organisme (macrophages) pour combattre les agents infectieux (bactéries, virus). Cependant, cette utilisation avantageuse des ERO ne va pas sans conséquences car elles ont la capacité d'agir sur les structures biologiques des cellules (protéines, lipides, ADN). En effet, des études épidémiologiques et cliniques ont suggéré le rôle de ces ERO dans le développement de nombreux processus pathologiques : maladie de Parkinson, asthme, arthrite, mongolisme, neuro-dégénérescence telle que la maladie d'Alzheimer, athérosclérose (*Pincemail et al., 2002*) ou encore la trisomie 21, le cancer de peau non mélanome et mélanome (*Chevalley, 2000*).

2.3.2- Quelques définitions

➤ Radical libre :

On appelle radical libre, toute espèce moléculaire indépendante contenant un ou plusieurs électrons non appariés. Le terme radical a été le plus souvent assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant mais tous les radicaux libres ne sont pas des oxydants et tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres. Les radicaux libres sont considérés comme des armes à double tranchant. En effet, ils protègent notre organisme contre les microorganismes et les cellules tumorales mais sont aussi à l'origine de l'altération et de l'usure des tissus (*Allain, 1996*). Ils constituent une cible privilégiée pour l'amélioration des thérapies à différents stades pathologiques.

➤ Antioxydant :

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), la glutathion peroxydase (GPO), la catalase et aussi des molécules de faible masse moléculaire comme le tripeptide glutathion ou l'acide urique (Cavin, 1999).

➤ **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 (Pincemail et al, 1999).

2.3.3- 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 10^{14} 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) (Chevalley, 2000).

2.3.4- Dommages liés aux radicaux libres

Les radicaux libres sont caractérisés par leur grande réactivité chimique et leur courte durée de vie (Allain, 1996).

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 (*Pincemail et al., 2002*). 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.

2.3.5- Intérêt des antioxydants

L'intérêt porté aux antioxydants est grandissant surtout ceux d'origine naturelle. Les antioxydants agissent de diverses manières. Leur action inclut le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente ou leur réduction, la complexation d'ions et de métaux de transition (*Cavin, 1999*). En situation physiologique, ces systèmes antioxydants ont la capacité de réguler la production des ERO (*Pincemail et al, 2002*).

➤ Les différents Types

Il existe deux catégories d'antioxydants : les antioxydants naturels et les autres substances à propriétés antioxydantes. On les regroupe en antioxydants de type I ou II selon leur mécanisme d'action.

- Antioxydants de Type I

Les antioxydants de type I sont des substances qui vont interrompre la chaîne de propagation dans le processus de formation des peroxydes en leur cédant un hydrogène. Ils sont appelés « Phagocytes de radical libre ».

Exemples :

Le gallate de propyle, le tocophérol (Vit E) et le terbutyl hydroxy-anisol (BHA).

- Antioxydants de Type II

Ils empêchent ou diminuent la formation des radicaux libres. Ils sont appelés aussi les séquestrants de métaux. Ils précipitent les métaux en inhibant leur réactivité par occupation de tous les sites de coordinations.

Exemple : Acide citrique, Cystine

2.3.6- Sources

En plus des substances propres à l'organisme, les médicaments, l'alimentation et les plantes sont des sources potentielles d'antioxydants (*Cavin, 1999*).

➤ Médicaments

Comme médicaments à propriété antioxydante, nous pouvons citer : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), les antihyperlipoprotéiniques et les antihypertenseurs. Citons quelques exemples :

- Probucol® (Lurselle)

Ce produit diminue non seulement le taux de cholestérol dans le sang mais aussi supprime l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) et prévient ainsi l'athérogénèse (*Cavin, 1999*).

- *N- Acétyl- Cystéine*

Il a un important intérêt dans les affections des poumons dues à des espèces réactives de l'oxygène. C'est un précurseur du glutathion. Tripeptide composé de Cystéine, d'acide glutamique et de glycine, le glutathion est le transporteur d'hydrogène dans l'organisme.

- L'hydrazaline, le captopril, le terazosin

Ce sont des médicaments utilisés contre l'hypertension artérielle, reconnus pour la production d'enzymes antioxydantes dans certaines conditions (*cyberscience.com*).

➤ Antioxydants naturels

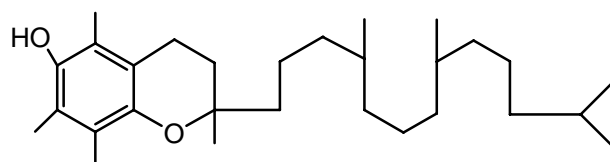
Leur intérêt ne cesse de croître, de plus en plus de publications sur leur compte sont retrouvés dans les revues scientifiques. Elles sont présentes dans toutes les parties des plantes supérieures. Ce sont pour la plupart des composés phénoliques (c'est-à-dire des composés possédant un noyau aromatique contenant un ou plusieurs constituants hydroxyles), incluant différents groupes fonctionnels dérivés (esters, glycosidique) ; on les retrouve dans les plantes alimentaires et ils sont consommés par un grand nombre d'individus (*Bossokpi, 2002*).

▪ Alimentation

Certaines substances que nous rencontrons dans notre alimentation de tous les jours possèdent aussi des propriétés antioxydantes.

- Tocophérol (vitamine E)

Vitamine de la reproduction, c'est le principal agent antioxydant membranaire ; elle prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* par capture des radicaux peroxydes. On les rencontre dans les fruits et légumes à feuilles vertes, le lait et les graines, les noix, les œufs et les amandes ainsi que dans les huiles végétales telles que l'huile de palme, de maïs, de soja, de charbon, d'olives pressées à fond et de tournesol (*Cavin, 1999*).



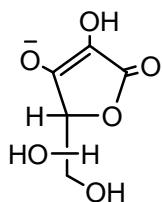
Vitamine E

- Acide ascorbique (vitamine C)

Substance à propriétés antiasthéniques, l'acide ascorbique est aussi un puissant réducteur ; il intervient dans la régénération de la vitamine E (*Mireille, 2001*).

Dans le tube digestif, elle manifeste un effet antioxydant en empêchant l'oxydation des nitrates en nitrites et nitrosamides (composés cancérigènes) (www.esculape.com/textes/antioxydant.html, 30/11/2003).

La vitamine C est aussi probablement la plus effective et la moins toxique de tous les antioxydants solubles dans l'eau identifiée dans le système des mammifères (*Levine, 1986 ; Frei et coll., 1988*). Légumes, persil, agrumes et bien d'autres fruits en sont particulièrement riches (*Bossokpi, 2002*). Les concentrations de la vitamine C dans les lentilles sont plus élevées que dans le plasma (*Taylor et coll., 1991*).



Vitamine C ou Acide ascorbique

- Sélénium

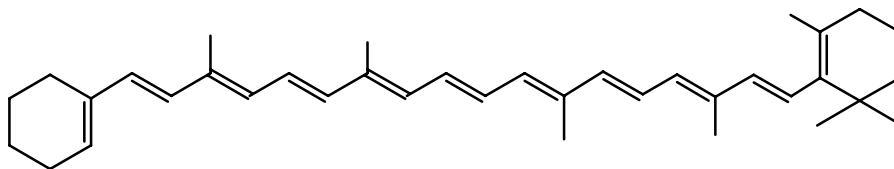
Le sélénium est un oligoélément qui ne possède pas d'activité antioxydante proprement dite. Il est toutefois considéré comme tel puisqu'il participe à la constitution et à la régulation de la glutathion peroxydase, enzyme qui participe à la destruction des peroxydes lipidiques (*Pincemail et al, 1999*).

Jadis connu comme toxique, les effets bénéfiques du sélénium sur l'organisme ne sont connus que depuis un quart de siècle. Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure) et prévient le vieillissement. Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers (*Diallo, 2005*). Il a été montré qu'un apport de 200 µg faisait baisser de moitié le risque du cancer de la prostate (*Aouissa, 2002*).

On le retrouve dans la viande, le poisson et les céréales.

- **β-carotène**

Il sert de précurseur à la vitamine A. Il est capable de réagir avec l'oxygène singulet et empêche ainsi l'oxydation des constituants biologiques. Il est présent dans *Amarindus viridis* L. (épinard vert), *Lactuca sativa* L. (laitue cultivée), *Daucus carota* L. (carotte), *Prunus armeniaca* L. (abricot), *Capsicum annuum* L. (poivron), *Carica papaya* L. (papayer), *Brassica oleracea* L. (chou), *Mangifera indica* L. (manguier).



B- carotène

▪ **Plantes**

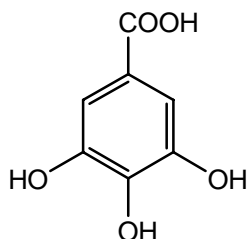
Les plantes sont sources de nombreux composés à propriétés antioxydantes. Peuvent être cités entre autres composés les tanins, les flavonoïdes, les coumarines, les caroténoïdes.

- Les tanins

Les tanins sont des composés présentant des propriétés antioxydantes significatives. Deux grands groupes peuvent être distincts :

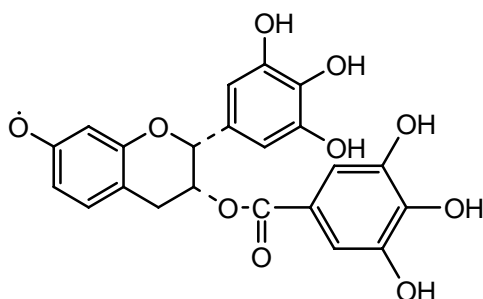
- Les tanins hydrosolubles : des esters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol.

Exemple : l'acide gallique

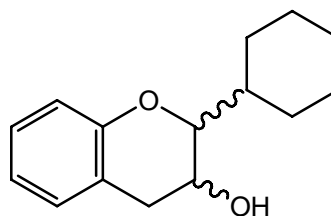


Acide gallique

- Les tanins condensés ou proanthocyanidols : polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols. Ils ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères y compris (*Bruneton., 1993*).



Gallate d'épigalocatéchine



Flavon-ol

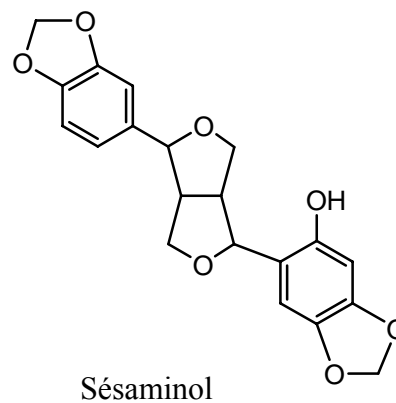
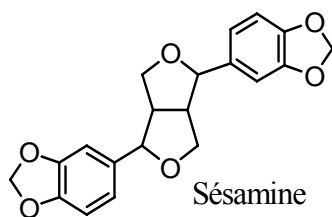
- Les caroténoïdes

Constituants membranaires des chloroplastes, ils forment un groupe de pigments liposolubles contribuant à la coloration jaune, orange ou rouge des fruits et des légumes. Ils sont très souvent retrouvés dans les plantes alimentaires telles que la tomate (*Solanum lycopersicum* L.), la carotte (*Daucus carota* L.), le melon (*Cucumis melo* L. subsp. *melo*) et l'épinard (*Spinacia oleracea* L.).

Les caroténoïdes réagissent avec l'oxygène singulet, les radicaux peroxydes et alkyles, en capturant les radicaux libres. Exemple : le β -carotène

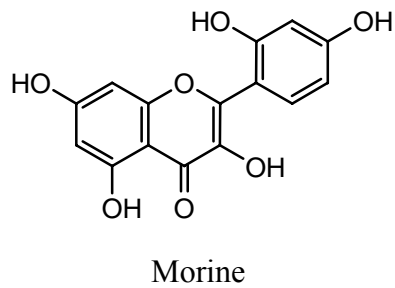
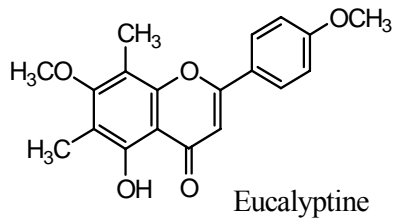
- Les lignanes

Les lignanes les plus étudiés du point de vue de leurs activités antioxydantes sont les dérivés bifuranyles des graines de sésame (*Sesamum indicum* DC, *Pedaliaceae*). La forte résistance à la détérioration oxydative de l'huile de sésame a suscité depuis plusieurs années de nombreuses recherches sur les graines de sésame. Les lignanes diarylfuranofuraniques tels que le sésaminol, ont montré des propriétés antioxydantes expliquant ainsi la stabilité de cette huile. Exemples : la sésamine et le sésaminol



- Les flavonoïdes

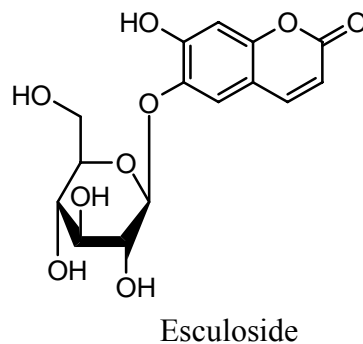
Les flavonoïdes constituent un groupe de métabolites très répandu dans les plantes. Ils se trouvent presque dans toutes les parties de la plante, à différentes concentrations où ils jouent un rôle déterminé dans le système de défense comme antioxydants. Ces composés sont intéressants dans le domaine médical car associé à de nombreuses activités biologiques telles que anti-inflammatoires, antihépatotoxiques, antitumorales, antihypertensives, antithrombiques, antibactériennes, antivirales, anti-allergiques et antioxydantes. Les relations structures-activités des flavonoïdes et des autres composés phénoliques ont démontré que l'activité était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation. Exemples : l'eucalyptine ou encore la morine



- Les coumarines

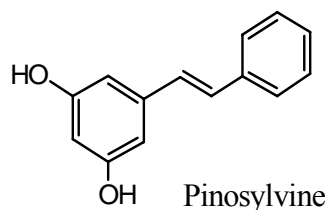
Les coumarines ont la capacité de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ces composés agissent comme les flavonoïdes.

Exemple : l'esculoside



- Les stilbénoides

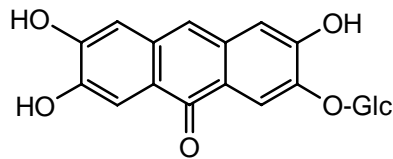
Ce sont des composés phénoliques possédant deux noyaux benzéniques séparés par un pont éthane ou éthène. Présents dans de nombreuses familles de végétaux supérieurs, ils sont souvent antifongiques et antimicrobiens. Exemple : la pinosylvine



- Les xanthones

Les xanthones sont des substances phénoliques reconnues pour leur activité antimicrobienne, leur cytotoxicité et surtout l'inhibition de la monoamine-oxydase.

Exemple : la manguiférine.



Manguiférine

2.3.7- Effets des antioxydants sur certaines pathologies

➤ Le stress oxydatif et les antioxydants en relation avec le risque de cataracte

La cataracte est un dysfonctionnement des lentilles dû à une opacification, elle est l'une des causes majeures de cécité de par le monde.

Les jeunes lentilles ont une réserve en antioxydants et en enzymes antioxydantes qui peuvent prévenir les dommages.

Le stress environnemental tel que le tabac et l'exposition excessive à la lumière entraîne une déplétion en antioxydants et ainsi donc rehausse le risque de cataracte. Des études ont montré que l'absorption des ascorbates, les caroténoïdes et tocophérol aussi bien que la consommation de légumes et fruits peuvent être les moins coûteux et les plus réalisables de façon à retarder la cataracte (*Chétima, 2003*).

➤ Les antioxydants et la prévention du cancer

L'intérêt des antioxydants dans la prévention du cancer concerne surtout les cancers dus au tabac tel que le cancer du poumon.

Une étude a montré que la consommation des fruits et légumes, sources premières de β -carotène, vitamine E, et autres antioxydants tel que le glutathion est inversement associée au risque de cancer du poumon chez les hommes et les femmes de différents pays, chez les fumeurs, les ex-fumeurs et ceux qui n'ont jamais fumé (*Block et col., 1992 ; Ziegler et col., 1996*).

➤ **Les antioxydants et la prévention du diabète**

Des études *in vivo* et *in vitro* ont montré que les radicaux réactifs contribuent à la destruction des cellules pancréatiques dans le diabète insulino-dépendant (*Rabinovitch et col., 1982*).

La raison de cette sensibilité des cellules pancréatiques aux radicaux pourrait être une déficience des cellules en défense (*Grankvitst et coll., 1981 ; Malaisse et coll., 1982*). Ces radicaux sont responsables de la perturbation de la production en insuline par les cellules β du pancréas.

L'acide dihydrolipoïque qui est un antioxydant, exerce une considérable action par l'inhibition partielle de l'inflammation et par une suppression incomplète du diabète.

➤ **Les antioxydants et l'anémie**

Fournier et coll. en 1993 ont rapporté que les radicaux libres dérivés de l'oxygène provoquent dans les lipides et les phospholipides membranaires une réaction radicalaire en chaîne avec peroxydation des lipides.

En présence d'oxygène, apparaît un radical peroxy ($\text{ROO}\cdot$) qui se transforme en hydroperoxyde lipidique instable puis forme par rupture spontanée un radical hydroxyl ($\text{OH}\cdot$) et un radical alcoxy ($\text{RO}\cdot$). Il apparaît aussi lors de la peroxydation lipidique, de l'oxygène sous la forme excitée qui réagit spontanément et vigoureusement avec les structures biologiques stables.

Toutes ces réactions entraînent la perte de l'intégrité membranaire et des hémolyses dans le cas des globules rouges.

Les antioxydants qui possèdent la capacité de piéger les radicaux libres jouent donc un rôle bénéfique pour la protection de l'intégrité de la cellule et en particulier de la membrane.

2.3.8- Méthodes d'études des antioxydants

2.3.8.1- 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 (*Amadou, 2004*).

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

Test sur CCM : Il 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 2 mg/mL. Les activités antiradicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-blanc sur fond violet (*Cavin, 1999*).

2.3.8.3- Test mesurant l'activité antioxydante au moyen des caroténoïdes

Test sur CCM

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 (*Cavin, 1999*).

2.3.9- Quelques plantes à activité antioxydante

Tableau 4 : Plantes à activité antioxydante

Familles & Noms scientifiques	Parties utilisées	Références
<i>Anacardiaceae</i> <i>Lannea velutina</i> Rich	Feuilles, écorces (des racines et tronc)	Bathily, 2001
<i>Araliaceae</i> <i>Cussonia barteri</i> Seem	Racines	Diallo, 2000
<i>Capparidaceae</i> <i>Maerua angolensis</i> DC.	Feuilles, fruits, écorces	Fotsing, 2005
<i>Cesalpiniaceae</i> <i>Cassia nigricans</i> Vahl.	Parties aériennes	Mogode, 2005
<i>Combretaceae</i> <i>Combretum glutinosum</i> Perr. ex DC. <i>Guiera senegalensis</i> J.F. Gmel.	Ecorces du tronc, écorces des racines Feuilles	Souley Amadou, 2005
<i>Ebenaceae</i> <i>Diospyros abyssinica</i> (Hiern) F. White	Feuilles	Diallo, 2000
<i>Hypericaceae</i> <i>Psorospermum guineense</i> Hochr	Feuilles	Bathily, 2001
<i>Leguminosaeae</i> <i>Burkea africana</i> Hook.	Ecorces du tronc	Diallo, 2002
<i>Mimosaceae</i> <i>Entada africana</i> Guill. et Perr	Racines	Keita, 2002

2.4- Le complément

2.4.1- Définition

Le complément est un système auxiliaire de l'immunité en particulier de la réponse humorale et de la réponse innée. Le complément comprend un ensemble d'environ 30 protéines plasmatiques et parfois membranaires synthétisées essentiellement par le foie et les macrophages et qui peuvent être activées par des cascades protéolytiques. Il existe 3 voies de déclenchement de la cascade du complément :

2.4.2- Les différentes voies d'activation du complément

- 1) La voie classique : Elle est déclenchée par les anticorps. Le complément (C1 à C9) associé aux anticorps est capable de tuer les cellules portant des antigènes viraux et même inactiver des virus enveloppés en absence d'anticorps spécifiques.
- 2) La voie alterne : Elle est déclenchée par des substances bactériennes en absence d'anticorps.
- 3) La voie dépendante des lectines qui reconnaissent certains polysaccharides bactériens.

Ces deux dernières voies sont mises en jeu dans la réponse innée.

Les phases initiales de la cascade du complément sont différentes selon la voie utilisée mais conduisent toutes à l'activation de la fraction C3 qui elle-même active C5. Dans la voie alterne la fraction C3 est directement activée par liaison covalente à des composants structuraux propres aux bactéries. Dans la voie classique ou la voie des lectines les fractions C4 et C2 sont d'abord activées, permettant le recrutement de C3. Dans la voie des lectines, la fraction C4 est activée après que des protéines affines

pour les sucres (**les lectines**) et présentes dans le plasma ont rencontré des polysaccharides bactériens tels que le lipopolysaccharide (LPS). Les phases terminales communes utilisent les fractions C6, C7, C8, C9. La moitié des protéines du complément servent à réguler l'action des facteurs C1-C9 essentiellement afin d'éviter l'emballement du système et de protéger nos propres cellules contre le complément.

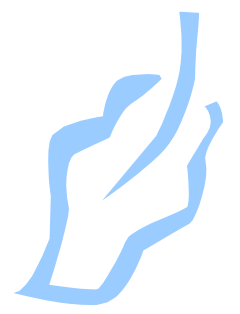
2.4.3- Fonctions du complément

Trois grandes fonctions sont attribuables au complément : l'opsonisation, l'inflammation et la lyse.

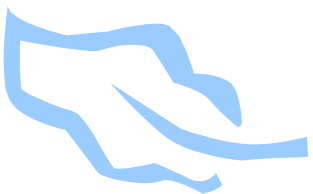
- L'opsonisation. Le fragment C3 du complément vient s'attacher de façon covalente à la surface des bactéries (de façon dépendante des anticorps dans la voie classique ou indépendante des anticorps dans la voie alterne). Les bactéries ainsi recouvertes de C3 sont phagocytées plus efficacement par les macrophages (implications de récepteur au complément)

- L'inflammation. Les fragments C5 (ou **anaphylatoxines**) se fixent à des récepteurs au complément présents sur les mastocytes et les neutrophiles. Dans le premier cas, cela conduit à la dégranulation des mastocytes (c'est à dire le relâchement du contenu des granules des mastocytes dans le compartiment extracellulaire). Ces granules contiennent eux-mêmes des molécules pro-inflammatoires telles que l'histamine. Dans le second cas, on a un chimiotactisme (c'est à dire une attraction) des neutrophiles vers le foyer infectieux.

- La lyse. Les fragments C6-C9 forment le complexe d'attaque membranaire (MAC) qui perce la paroi et la membrane de bactéries. Ce mode d'action du complément ne nécessite pas l'implication des récepteurs au complément.

A graphic of a scroll with a black outline and rounded corners. The scroll is unrolled, showing the text in the center. The top and bottom edges of the scroll have small circular details suggesting binding or stitching.

TRAVAUX PERSONNELS



1- METHODOLOGIE

1.1- LIEUX D'ETUDE

Pour cette étude, le matériel végétal a été récolté à Libreville (GABON) et acheminé sur Bamako. Les études phytochimiques et les activités biologiques ont été réalisées d'une part, au Département de Médecine Traditionnelle (DMT) et d'autre part, au laboratoire de microbiologie et d'hématologie du Département de Diagnostic et Recherche Biomédicale (DDRB) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP).

1.2- MATERIELS

1.2.1- Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué par les écorces de tronc de *Terminalia catappa* et les feuilles de *Kalanchoe crenata*. Ces échantillons ont été récoltés, d'une part, au cours du mois d'octobre 2005 à la sablière qui est une zone de la périphérie de Libreville (GABON), et, d'autre part, au cours du mois de janvier 2006, toujours à Libreville, respectivement pour *T. catappa* et *K. crenata*. Un spécimen de chaque échantillon est disponible à l'herbier de Libreville sous les numéros 11148, 559 et 2082 respectivement pour *T. catappa* et *K. crenata*.

Un pulvérisateur Resch type SM2000 OSI / 1430 µm a été utilisé pour le broyage de *T. catappa* après son séchage à l'ombre, à la température ambiante du laboratoire du DMT.

1.2.2- Matériel animal

Les animaux sur lesquels les études ont été menées étaient des souris mâles et femelles blanches de la race OF1 (Oncins France Souche 1), ayant des masses comprises entre 23 et 42 g.

1.2.3- Microorganismes

Champignon : *Candida albicans*

Bactéries : *Escherichia coli* ; *Staphylococcus aureus* ; *Klebsiella pneumoniae* ; *Proteus mirabilis* ; *Streptococcus* β -hémolytique et la souche de référence 25922 d'*E. coli*.

1.2.4- Matériel technique

Boîtes de Pétri ; pipettes Pasteur stériles; eau physiologique ; tubes stériles de 16×160 mm ; micropipettes de 20 μ L ; eau distillée ; flacons stériles ; balance de précision ; spatule ; milieux de culture ; microscope ; plaques et cuves en verre pour la chromatographie ; réfrigérateur ; étuve réglée à 37 °C ; disques non imprégnés de 6 mm de diamètre.

1.3- ETUDE PHYTOCHIMIQUE

1.3.1- Réactions de caractérisation

Toutes les réactions de caractérisation ont été effectuées selon le protocole suivant :

➤ **Alcaloïdes**

Le terme alcaloïde a été introduit par W. Meisner pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases. Les alcaloïdes ont une structure complexe, leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative s'exerçant dans les domaines les plus variés tel que le système nerveux.

Préparation de la solution à analyser

A la drogue végétale séchée et grossièrement pulvérisée (10 g), ajouter de l' H_2SO_4 à 10 % (50 mL), dans un erlenmeyer de 250 mL. Après macération pendant 24 heures à la température du laboratoire filtrer puis compléter le filtrat obtenu à 50 ml avec de l'eau distillée.

Caractérisation

Introduire dans deux tubes à essais une quantité de filtrat (1mL) dans chacun puis ajouter un peu de réactif de Mayer (solution aqueuse de mercuri-iodure de potassium, 5 gouttes) dans le premier tube et un peu de réactif de Dragendorff (solution aqueuse d'iodo-bismuthate de potassium, 5 gouttes) dans le second. La présence d'alcaloïdes est caractérisée par la formation d'un précipité.

➤ **Polyphénols**

Certains polyphénols sont des inhibiteurs enzymatiques mais, ils sont surtout reconnus pour leurs propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires.

Préparation de la solution à analyser (infusé à 5 %)

A 5 g de poudre, nous avons ajouté de l'eau bouillante (100 mL) dans un erlenmeyer de 250 mL. Après une infusion de 15 mn, compléter le filtrat à 100 mL avec de l'eau distillée.

Caractérisation

❖ Tanins

Ce sont des composés phénoliques hydrosolubles qui présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines. Ils exercent un effet antidiarrhéique, vasoconstricteur et antiseptique.

Réaction de coloration

Dans un tube à essai, introduire 5mL d'infusé à 5 % et ajouter une solution aqueuse de FeCl_3 à 1 % (1 mL). La présence de tanins est caractérisée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

Différenciation des tanins : Réaction de Stiasny

Ajouter à l'infusé à 5 % (30 mL), le réactif de Stiasny (10 mL de formol à 40 % et 5 ml d'HCl concentré : 15 mL) ; Chauffer le tout au bain-marie à 90 °C pendant 15 min environ. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques.

Filtrer, puis saturer le filtrat avec de l'acétate de sodium pulvérisé (5 g). Ensuite, ajouter goutte à goutte une solution de FeCl_3 à 1 % (1 mL). L'obtention d'une teinte

bleu - noire témoigne de la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

❖ Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. La principale activité biologique attribuée aux flavonoïdes est une propriété « vitaminique P » : ils sont potentiellement veino-actifs, ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance.

Réaction de coloration

A l'infusé 5 % présentant une coloration plus ou moins foncée, ajouter un acide (H_2SO_4 à 10 %), puis une base (NH_4OH 50 %). Une coloration s'accroissant par acidification, puis qui vire au bleu violacé en milieu basique, conclut à la présence d'anthocyanes.

Réaction à la cyanidine

Introduire dans un tube à essai l'infusé à 5 % (5 mL), et ajouter de l'alcool chlorhydrique (éthanol à 95 °alcoolique, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume, 5 mL) ; puis de l'alcool isoamylique (1 mL) et quelques copeaux de magnésium.

L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones), rose violacée (flavanones) ou rouge (Flavonols, flavanolols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence de flavonoïdes libres (génines).

Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques.

➤ Leucoanthocyanes

Le terme d'anthocyane s'applique à un groupe de pigments hydrosolubles responsables de la coloration rouge, rose, mauve, pourpre, bleue ou violette de la plupart des fleurs et des fruits.

Caractérisation

Effectuer la même réaction que précédemment sans ajout de copeaux de magnésium et chauffer au bain-marie pendant 15min. L'apparition d'une coloration rouge cerise ou violacée indique une réaction positive. Une teinte brun-rouge est observée en présence de catéchols.

➤ Dérivés anthracéniques

❖ Anthraquinones libres

A la poudre (1 g), ajouter du chloroforme (10 mL). Chauffer le mélange pendant 3 min au bain-marie et compléter le filtrat à 10 mL (si nécessaire) . A l'extrait chloroformique (1 mL), ajouter du NH_4OH 50 % (1 mL) et agiter. Une coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

❖ Anthraquinones combinées

O- Hétérosides :

Au résidu de la drogue épuisée par le chloroforme, ajouter de l'eau (10 mL) et un peu d'HCl concentré (1 mL). Maintenir le tube à essai au bain-marie bouillant pendant 15 min. A l'hydrolysate ainsi préparé (5 mL), ajouter du chloroforme (5 mL) et agiter. Soutirer la phase organique (chloroformique), et y ajouter de NH_4OH dilué (1 mL) : la

présence d'anthraquinones est révélée par une coloration rouge plus ou moins intense. Conserver la phase aqueuse.

En cas de réaction négative ou faiblement positive, poursuivre par addition de l'hydrolysât (5 mL), de FeCl₃ à 10 % (3 à 4 gouttes), agiter avec du chloroforme (5 mL). A la phase chloroformique, ajouter du NH₄OH dilué (1 mL) et agiter. En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge s'intensifie (caractéristique des *O*-hétérosides à genine réduite).

C - Hétérosides :

A la phase aqueuse conservée, ajouter de l'eau distillée (10 mL), puis du FeCl₃ à 10 % (1 mL). Mettre à ébullition au bain-marie pendant 30 min. Agiter avec du chloroforme (5 mL). A la phase chloroformique ajouter du NH₄OH dilué (1 mL). Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines *C*-hétérosides.

➤ Stérols et triterpènes

L'intérêt thérapeutique et l'emploi industriel des stéroïdes et des triterpènes en font un groupe de métabolites secondaires de 1^{ère} importance.

Préparation de la solution à analyser

La solution que nous avons utilisée est obtenue comme suit. A 1 g de la poudre ajouter de l'éther (20 mL); Laisser en macération pendant un temps suffisant. Filtrer et compléter le filtrat avec de l'éther (20 mL). Après avoir évaporé à sec 10 mL de l'extrait obtenu, dissoudre le résidu dans un mélange d'anhydride acétique (1 mL) et de chloroforme (1 mL). Partager la solution obtenue entre deux tubes à essai.

Caractérisation

Au fond d'un des tubes, l'autre servant de témoin, mettre du H₂SO₄ concentré (1 à 2 mL) à l'aide d'une pipette sans agitation. A la zone de contact des deux liquides, la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et triterpènes.

➤ Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des molécules tétraterpéniques. Leur chromophore caractéristique explique leur coloration jaune ou orangée et leur très grande sensibilité à l'oxydation. L'intérêt des caroténoïdes est multiple.

Caractérisation

Evaporer à sec une partie de l'extrait éthéré (5 mL) obtenu plus haut et ajouter un peu de solution saturée de tri chlorure d'antimoine dans le chloroforme (2 à 3 gouttes). Il se développe, en présence de caroténoïdes, une coloration bleue devenant rouge par la suite.

➤ Coumarines

Les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones. Elles sont principalement veinotoniques, vasculoprotectrices, vasodilatatrices et photosensibilisantes.

Caractérisation

Après évaporation à sec du reste de l'extrait éthérique (5 mL) obtenu plus haut, reprendre le résidu avec de l'eau chaude (2 mL). Partager la solution entre 2 tubes à essais. Ajouter, dans l'un des tubes à essai du NH₄OH à 25 % (0,5 mL). Faire une observation sous rayonnement ultraviolet à 366 nm. La présence d'une fluorescence

intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque est caractéristique des coumarines.

➤ *Hétérosides cardiotoniques*

Les glucosides cardiotoniques constituent un groupe bien individualisé et d'une grande homogénéité tant structurale que pharmacologique. Les hétérosides cardiotoniques d'origine végétale demeurent des médicaments majeurs de l'insuffisance cardiaque.

Préparation de la solution à analyser

Introduire une prise d'essai de poudre végétale (1 g) dans un tube à essai. Ajouter de l'éthanol à 60°alcoolique (10 mL) et une solution d'acétate neutre de plomb à 10 % (5 mL). Porter ensuite le tout à ébullition pendant 10 min et filtrer.

Caractérisation

Agiter le filtrat avec du CHCl_3 (10 mL) en évitant la formation d'une émulsion. Après décantation (dans une ampoule à décanter), soutirer la phase chloroformique et partager entre trois tubes à essai puis évaporer au bain-marie jusqu'à sec. Reprendre les résidus avec l'isopropanol (0,4 mL). Dans les trois tubes, ajouter respectivement 1mL de chacun des réactifs suivants : réactifs de Baljet, de Kedde et de Raymond-Marthoud. Introduire ensuite dans chaque tube, du KOH à 5 % dans l'éthanol à 80 % (5 gouttes). Après dix minutes de contact environ, le développement des colorations suivantes caractérisent les cardénolides:

tube 1 : orangé ; tube 2 : rouge violacé ; tube 3 : violet fugace.

➤ Saponosides

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives ; ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes.

Préparation de la solution à analyser (Décocté à 1 %) :

Porter à ébullition de l'eau distillée (100 mL) dans un erlenmeyer de 250 ml. Y introduire une prise d'essai de poudre végétale (1 g), puis, maintenir le mélange en ébullition modérée pendant 15 min. Filtrer et compléter le filtrat à 100 mL.

Caractérisation

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, répartir successivement 1, 2, ..., 10 ml du décocté à 1 %. Ajuster le volume dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Agiter ensuite chaque tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde (soit 30 agitations). Après un temps de repos de 15 min, mesurer la hauteur de la mousse dans chaque tube et noter le numéro du tube dans lequel la hauteur de mousse est de 1 cm (N). L'indice de mousse est obtenu par la relation :

$$\text{Indice de mousse} = \frac{1000}{N}$$

➤ **Composés réducteurs**

Introduire du décocté aqueux à 10 % (5 mL) dans un bêcher et évaporer au bain-marie jusqu'à sec. Ajouter au résidu, 1 mL du réactif de Fehling (mélange extemporané de 0,5 mL de réactif A et de 0,5 mL de réactif B). L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

➤ **Oses et holosides**

Introduire 5 mL d'un décocté à 10 % dans un bêcher. Au résidu obtenu après une évaporation à sec, ajouter quelques gouttes de H₂SO₄ concentré puis de l'alcool saturé avec du thymol (3 à 4 gouttes) 5 min après. Le développement d'une coloration rouge caractérise les oses et les holosides.

➤ **Mucilages**

Les mucilages sont des macromolécules osidiques qui se dissolvent plus ou moins au contact de l'eau pour former des solutions colloïdales ou des gels.

Caractérisations

Ajouter de l'éthanol absolu (5 mL) au décocté aqueux à 10 % (1 mL). L'obtention d'un précipité floconneux par mélange après dix minutes, indique la présence de mucilages.

➤ **Hétérosides cyanogénétiques**

La cyanogénèse est la faculté que possèdent certains organismes vivants (en particulier les végétaux) de produire dans des circonstances particulières de l'acide cyanhydrique. Les substances cyanogènes appelées encore hétérosides

cyanogénétiques sont très peu utilisées en pharmacie à cause de leur grande toxicité due à l'acide cyanhydrique.

Caractérisation

Dans un tube à essai, introduire environ 1 g de poudre, et ajouter un mélange à volume égal d'eau et de toluène (5 mL). Après agitation, nettoyer la partie supérieure du tube et y fixer à l'aide d'un bouchon, un papier picrosodé fraîchement préparé.

Une coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé caractérise une réaction positive.

1.3.2- Dosages

1.3.2.1. Taux d'humidité

Deux méthodes ont été utilisées pour le dosage de l'eau :

Méthode gravimétrique

Principe : C'est une méthode pondérale qui consiste en la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve.

Matériel : - Balance analytique de précision (type SARTORIUS)

- Four - Pince - Spatule métallique

- Verre de montre (ou creuset) - Dessiccateur – Etuve

Technique : Cinq verres de montre ont été tarés et des prises d'essai (PE) de 1 à 2 g (pesées au mg près) y ont été introduites. Ces verres de montre contenant les poudres ont été pesés avant d'être introduits dans l'étuve réglée à 103 ± 2 °C pour une dessiccation pendant 24 h. Au sortir de l'étuve les poudres ont été refroidies dans un

dessiccateur contenant un desséchant (chlorure de calcium, anhydride phosphorique) ; elles ont ensuite été pesées. 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

% eau = (masse eau ÷ masse PE) × 100

Méthode volumétrique

Principe : Elle consiste au dosage de l'eau par entraînement azéotropique. La réaction azéotropique se fait à une température constante. Après condensation des vapeurs de l'azéotrope, l'eau se sépare et est dosée en volume.

Matériel et solvants :

- Ballon de 250 millilitres.
- Réfrigérant à reflux tube droit de 20 centimètres de long
- Tube cylindre gradué
- Source de chaleur
- Eau distillée
- Solvant non miscible à l'eau (toluène, benzène, xylène, ...)

Technique : Nous avons introduit dans le ballon sec 1 mL d'eau distillée et 100 mL de toluène.

Ce mélange a été distillé pendant une heure (1 h), et laissé reposer pendant trente minutes (30 min).

Le volume initial (V_i) d'eau distillée est ensuite lu.

Nous avons ensuite introduit dans le ballon une prise d'essai (PE) de 5 g du matériel végétal.

L'ensemble a été bouilli pendant 1 h et laissé reposer pendant 30 min puis le volume final (Vf) d'eau dans l'appareil a été lu. On recherche le pourcentage d'eau dans la drogue par le calcul suivant.

Calcul : % d'eau dans la drogue = $(V_f - V_i) \times 100 \div PE$

1.3.3- Substances extractibles par l'eau

Nous avons fait une décoction pendant 15 min de la poudre végétale de *Terminalia catappa* et des feuilles fraîches de *Kalanchoe sp.* (1 g) dans de l'eau distillée (20 mL) puis le filtrat a été mis dans une capsule préalablement taré puis évaporé à sec. Nous avons pesé ensuite la capsule refroidie et déduit la masse du résidu.

1.3.4- Substances extractibles par l'éthanol 70 %

Nous avons fait macérer 1 g du matériel végétal dans de l'éthanol 70 % (20 mL) pendant 24 h. Après filtration, nous avons mis le filtrat dans une capsule tarée, et évaporé à sec (au bain-marie). Nous avons pesé ensuite la capsule refroidie et déduit la masse du résidu.

1.3.5- Cendres

Matériel : Le matériel est identique à celui utilisé pour la détermination de la teneur en eau par la méthode gravimétrique excepté les verres de montre, remplacés ici par des creusets.

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.

Mode opératoire : Peser une prise d'essai de la drogue (M) dans un creuset en silice préalablement taré (T). Après incinération au four à une température d'environ 600 °C, et refroidissement dans un dessiccateur, la masse du creuset contenant la prise d'essai est déterminée et notée M'.

La masse des cendres totales (MCt) contenues dans le creuset est donnée par la formule :

$$MCt = M' - M$$

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

$$PE = M - T$$

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

$$\% Ct = 100 \times \frac{MCt}{PE}$$

Réaliser 5 essais de la même manière afin de déterminer un pourcentage moyen.

Cendres sulfuriques

Ces cendres sont les substances résiduelles non volatilisées recueillies lorsque l'échantillon de drogue est calciné avec du H₂SO₄. Elles déterminent la quantité de substances inorganiques contenues dans la drogue.

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

La poudre est ensuite humectée avec H₂SO₄ à 50 % et laissée à l'étuve pendant 24 heures à la température de 100 °C, le creuset est porté à calcination dans un four à la

température de 600 °C pendant 6 heures et pesé ensuite 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 :

$$\% Cs = 100 \times \frac{MCs}{PE}$$

Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique 10 %

La détermination de ces cendres est faite sur les cendres totales.

Nous avons introduit les cendres totales dans un erlenmeyer et ajouté 20 mL d'acide chlorhydrique à 10 %. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15 min au bain-marie. Après refroidissement, recueillir et laver la matière non soluble sur un papier filtre sans cendre, puis, transférer le filtre dans un creuset sec préalablement taré (T).

Le creuset contenant le papier filtre est ensuite 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, peser le creuset contenant les cendres (M').

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

$$mCc = M' - T$$

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

$$PE = M - T$$

M étant la masse du creuset + celle de la poudre avant calcination

Le pourcentage des cendres chlorhydriques (% Cc) s'obtient de la manière suivante :

$$\% Cc = 100 \times \frac{mCc}{PE}$$

1.3.6- Extractions

Extraction par les solvants à polarité croissante

Le soxhlet a été utilisé pour l'extraction par les solvants à polarité croissante. Pour ce faire, les solvants suivants ont été utilisés : l'éther de pétrole, le dichlorométhane et le méthanol.

Une quantité de 20 g de la poudre à analyser a été introduite dans une cartouche placée dans le soxhlet surmonté d'un réfrigérant et porté par un ballon contenant le solvant d'extraction (100 mL). Une série de plusieurs siphonages a permis l'extraction jusqu'à épuisement de la poudre par chacun des solvants utilisés.

Le marc (résidu) a été séché et utilisé pour une digestion puis une décoction. Les extraits polaires ont été évaporés au Rotavapor, récupérés dans des ballons préalablement tarés en vue d'une lyophilisation. Les extraits apolaires ont été évaporés à l'air libre dans des flacons tarés.

Les extraits secs obtenus ont été pesés par la suite afin de déduire le rendement de l'extraction ; ils ont ensuite été conservés dans des flacons en verre hermétiquement fermés.

Ces extraits secs ont été utilisés pour les investigations ultérieures.

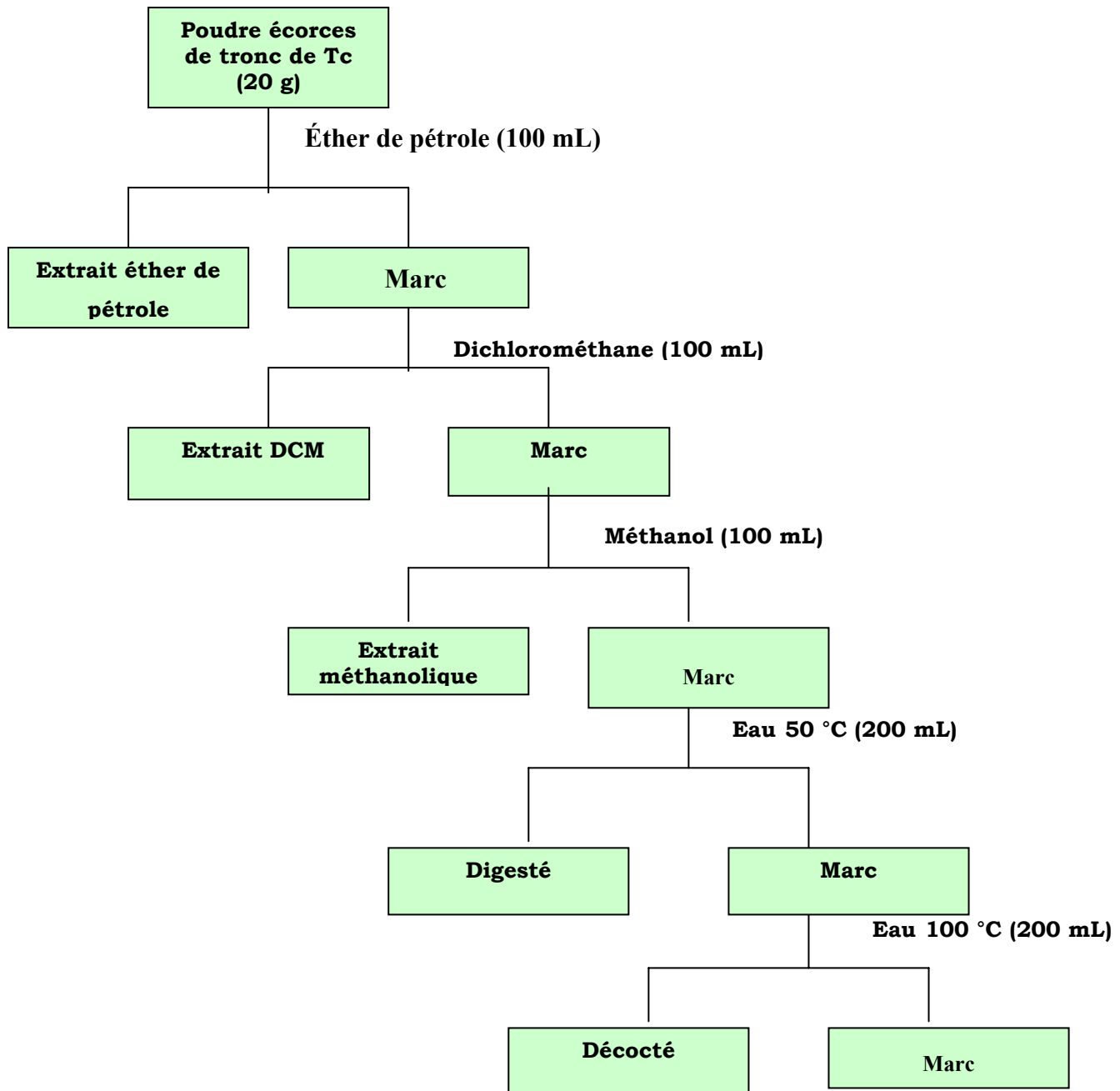


Figure 6 : Schéma d'extraction par les solvants à polarité croissante de la poudre d'écorces de tronc de *Terminalia catappa* (Tc).

Macération à l'eau

La poudre d'écorces de *Terminalia catappa* (100 g) et de l'eau distillée (500 mL) ont été introduits dans un erlenmeyer et soumis à une agitation magnétique pendant 24 heures à la température du laboratoire. Le mélange a été filtré et le filtrat lyophilisé après concentration.

Le lyophilisat obtenu a été par la suite conservé dans des flacons secs, propres et stériles.

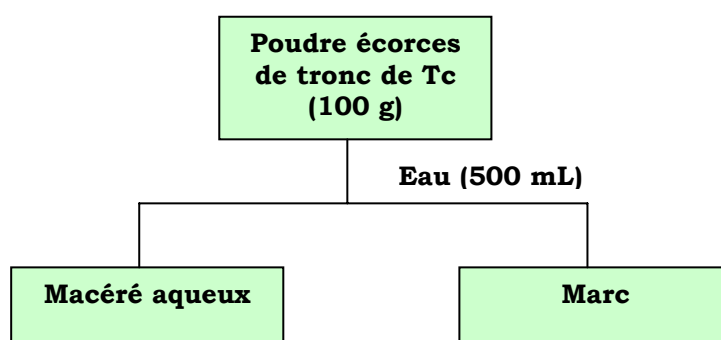


Figure 7 : Schéma de l'extraction par macération à l'eau de la poudre d'écorces de *Terminalia catappa* (Tc).

Macération à l'éthanol 70 %

Le mode opératoire est le même que celui de la macération aqueuse avec ici comme solvant de l'éthanol 70 %.

A la poudre végétale d'écorces de tronc de *Terminalia catappa* (250 g), il a été ajouté de l'éthanol à 70 °alcoolique (1500 mL). Le mélange a été laissé en macération à la température du laboratoire. Cette opération a été réalisée 3 fois.

Les extraits éthanoliques sont concentrés à sec, puis récupérés avec un peu d'eau distillée et lyophilisés.

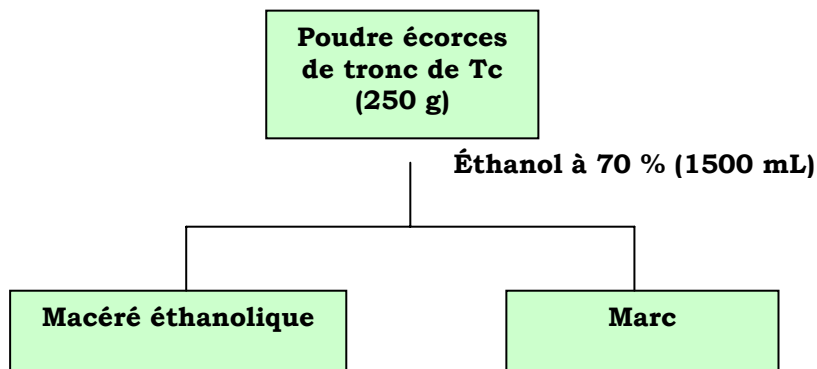


Figure 8: Schéma de l'extraction par macération éthanologique de la poudre d'écorces de tronc de *Terminalia catappa* (Tc).

Infusion à l'eau

Nous avons fait bouillir de l'eau distillée (1 L) puis nous y avons laissé infuser de la poudre d'écorces de tronc (100 g) jusqu'à refroidissement. L'infusé a ensuite été concentré, congelé puis lyophilisé. Le lyophilisat obtenu a été conservé dans des flacons propres, secs et stériles.

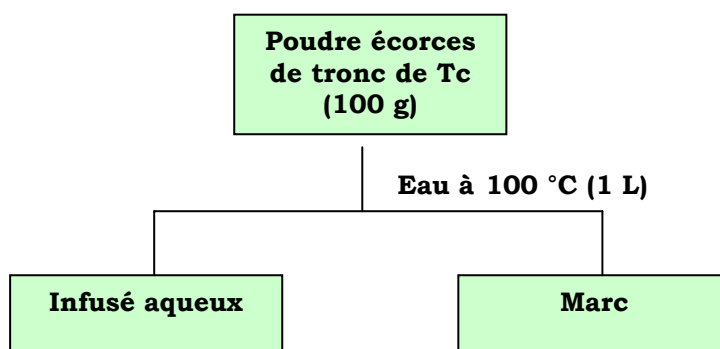


Figure 9: Schéma de l'extraction par infusion de la poudre d'écorces de tronc de *Terminalia catappa* (Tc).

Décoction

Nous avons fait bouillir de la poudre d'écorces de *Terminalia catappa* (100 g) dans de l'eau distillée (1 L) pendant 30 min. Le filtrat obtenu a été concentré puis lyophilisé. Le lyophilisat a ensuite été conservé dans des flacons secs, propres et stériles.

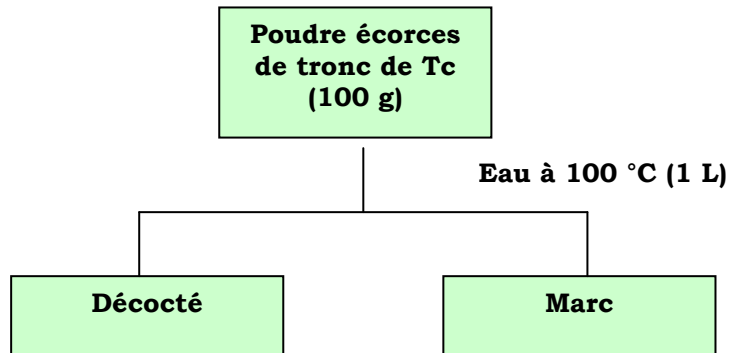


Figure 10: Schéma de l'extraction par décoction de la poudre d'écorces de tronc de *Terminalia catappa* (Tc).

Digestion

Nous avons laissé en contact les feuilles fraîches pilées de *Kalanchoe crenata* (150 g) avec de l'eau distillée (1500 mL) pendant 3 h à 50 °C. Le filtrat obtenu a été concentré, lyophilisé puis conservé dans des flacons propres secs et stériles.

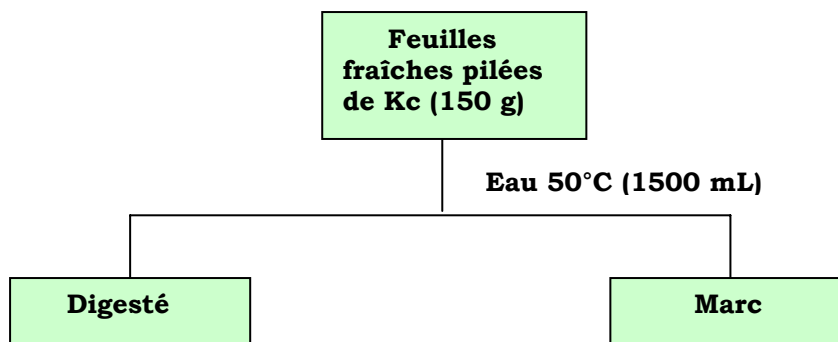


Figure 11: Schéma de la digestion des feuilles fraîches pilées de *Kalanchoe crenata* (Kc).



Figure 12 : Photo du Rotavapor utilisé pour concentrer les extraits

1.3.7- Ionogramme

Le PHF104 est un photomètre de flamme à dilution automatique qui permet le dosage simultané du sodium et du potassium avec un étalon interne au lithium, ainsi que le dosage du lithium avec un étalon interne au potassium.

Principe

La nébulisation d'un échantillon à travers une flamme entraîne une excitation des atomes et provoque le passage des électrons d'une couche (ou sous-couche) à une sous-couche immédiatement supérieure. L'électron, en revenant à son niveau d'énergie initial restitue cette énergie sous forme de photons.

Les photons émis par les atomes donnent un flux de lumière qui passe au travers d'un filtre interférentiel et qui est ensuite mesuré par un photomultiplicateur. L'échantillon doit se présenter sous forme d'un aérosol de façon à ce que le solvant s'évapore instantanément dans la flamme.

Les photons émis par l'étalon interne du lithium ou de potassium vaporisé dans la flamme sont envoyés au travers d'un filtre interférentiel sur un photomultiplicateur, générant ainsi une tension de référence.

Les photons émis par l'échantillon à doser selon le même procédé, génèrent une tension de mesure.

Les concentrations en sodium, potassium ou lithium sont affichées en temps réel sur l'appareil.

Description de l'appareil

L'appareil est composé de deux sous-ensembles :

- le compartiment flamme ;
- la partie mélangeur-diluteur.

✓ Le compartiment flamme

- le **brûleur** est en acier inoxydable. La flamme est alimentée par un mélange air-gaz (butane ou propane). Il est situé dans une cheminée étanche en verre, refroidie par une circulation forcée. La flamme est entourée d'un rideau d'air qui l'abrite de toute impureté ;

- la **cheminée**, de forme cylindrique, permet l'évacuation des gaz brûlés ;

- la **chambre de nébulisation** sphérique assure un mélange parfait du gaz, de l'air et de l'aérosol. Cette chambre est fixée sur la plaque latérale droite à l'aide d'un collier magnétique ;

- **détendeurs, air et gaz** : la fonction des deux détendeurs d'air et de gaz est d'ajuster les débits des constituants de la flamme et de les réguler.

✓ Mélangeur- diluteur

Le diluteur en continu permet un taux de dilution de l'ordre du 1/200^e de l'échantillon à doser. Cette partie est constituée de :

d'une pompe péristaltique ;

- d'un peigne tendeur des tuyaux de pompe ;
- d'un bloc mélangeur ;
- d'une évacuation.

1.3.8- Chromatographie

C'est un ensemble de procédés de séparation applicables à des mélanges moléculaires ou ioniques, basés sur des différences de distribution des solutés entre une phase stationnaire, généralement dispersée et une phase mobile continue, les deux phases étant mises en contact intime et à contre-courant.

Pour l'étude de nos deux plantes, nous avons utilisé la Chromatographie sur couche mince et la Chromatographie en phase gazeuse.

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.

Matériels : spatule, flacons, pince, crayon, règle, cutter, balance de type Sartorius, micropipettes, cuves avec couvercle, pulvérisateurs, plaque de Silice G 60 F₂₅₄, lampe UV.

Solvants :

De dissolution :

Mélange méthanol : eau (1 : 1) pour les extraits aqueux.

Acétate d'éthyle ou dichlorométhane pour les extraits apolaires.

Méthanol pour les extraits alcooliques et hydroalcooliques.

De migration : Le système de solvants Ether de pétrole : Acétate d'éthyle (4 : 1 et 5 :2) a été employé pour les extraits apolaires et le système Butanol : Acide acétique : Eau (60:15:25) pour les extraits polaires.

Révélateurs : *Réactif de Godin ; Trichlorure d'aluminium : $AlCl_3$; Réactif de Dragendorff*

Dépôts : Peser 10 mg d'extraits dans des flacons ; dissoudre dans 1 ml de solvant de dissolution convenable. Déposer sur les plaques, 8 microlitres des différentes solutions à l'aide de micropipettes graduées. Introduire les plaques dans des cuves pour la migration.

Après migration, sécher les plaques et procéder à l'observation à la lampe ultraviolette aux longueurs d'ondes 254 et 366 nm.

Calculer ensuite les facteurs de rétention (R_f) de chacune des taches observées.

Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Principe : Elle permet l'identification et la détermination quantitative des constituants de certains extraits. La phase mobile est gazeuse, les molécules à analyser sont transformées à l'état gazeux.

Les monosaccharides sont identifiés par comparaison de leur temps de rétention avec le temps de rétention, standard qui est le mannitol. Les masses des monosaccharides sont obtenues à partir des aires relatives.

Matériels : Flacon de 4 ml ; Acide chlorhydrique ; Pyridine ; Méthanol ; Mannitol ; Gaz hélium ; Triméthylsilane (TMS); Intégrateur Hp 3396A ; Chromatographe GC

8000 séries ; Générateur d'hydrogène ; Générateur air et azote. Micropipette 1 mL ; une seringue de 5 μ L ; un enregistreur ; une imprimante ; une étuve, des micropipettes.

Préparation de l'extrait à chromatographier

✓ Élimination des tanins

Matériels : eau distillée ; erlenmeyer ; baguette magnétique ; agitateur magnétique ; poudre de peau chromée.

Mode opératoire : Pour éliminer les tanins de nos extraits, nous avons pris de l'extrait (100 mg) auquel nous avons ajouté de la poudre de peau (200 mg), puis nous avons introduit le tout dans un erlenmeyer contenant de l'eau distillée (10 mL) et nous les avons portés en agitation magnétique pendant une heure de temps. Après, les solutions obtenues ont été filtrées sur papier filtre et lyophilisées. Les lyophilisats ont servi à la méthanolyse.

✓ Méthanolyse

Principe : La solution de méthanolyse (méthanol/HCl) agit sur les molécules de polysaccharides par rupture des liaisons glucosidiques. On obtient des méthylglucosides en C₁ puis des méthylesters glucosides.

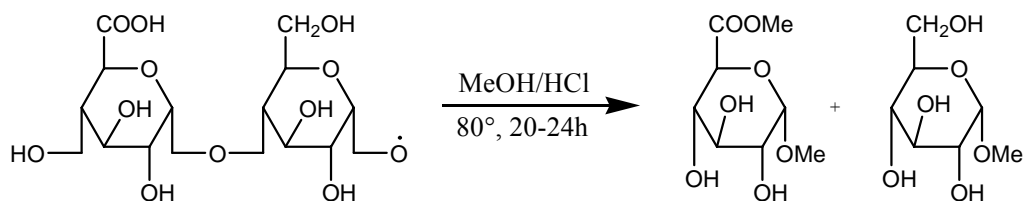


Figure 13 : Réaction de méthanolyse (*Chambers et Clamp, 1971*)

Mode opératoire : Introduire dans des flacons secs les différents extraits aqueux (2 mg) :

- ajouter 1 mL du mélange méthanol/HCl (4 M HCl/MeOH), puis 200 µL de mannitol (1 µg/mL de mannitol dans du méthanol); agiter et bien fermer ;

- Placer ces flacons dans l'étuve à 80°C. Décompresser les flacons au cours de l'incubation après 30mn. Au bout d'une heure, bien refermer les flacons et les replacer à l'étuve pendant 20-24 h;

- Evaporer les solutions après incubation sous un courant d'azote dans des conditions complètement anhydres ;

- Laver et sécher à 2 reprises chaque résidu avec du méthanol anhydre (200µL) ;

- Fermer les flacons puis conserver dans un dessiccateur.

✓ Dérivation

Principe : Le TMS agit sur des groupements hydroxyles libres des produits de la dépolymérisation pour donner des dérivés triméthylsilanes volatiles. Des conditions anhydres sont indispensables à l'opération.

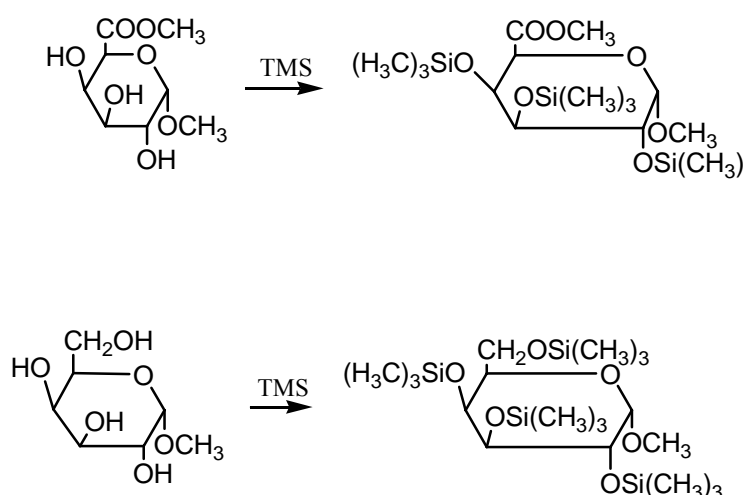


Figure 14 : Schéma de la formation des dérivés du TMS (*Chambers et Clamp, 1971*)

Mode opératoire : Ajouter du TMS au résidu sec (100 µL). Agiter et laisser reposer pendant 20 min.

Technique de la chromatographie en phase gazeuse

Injecter le mélange préparé plus haut (1 µL) dans la CPG ;

Le gaz porteur est l'hélium ;

Débit des gaz : He : 2 mL/min

H2 : 50 mL/min

Air : 300 mL/min

Le détecteur est à flamme et la flamme est produite par un mélange d'hydrogène/air ;

Le programme de température est le suivant :

140 °C $\xrightarrow{1\text{ °/min}}$ 170 °C $\xrightarrow{6\text{ °/min}}$ 250 °C $\xrightarrow{30\text{ °/min}}$ 300 °C ;

Temps d'arrêt : 3 min.

Méthode de calcul du pourcentage en polysaccharides des extraits

Après avoir calculé le temps de rétention relatif (TRR) en divisant le temps de rétention (TR) du pic de chaque sucre par celui du mannitol, calculer l'aire relative (AR) de chaque sucre en faisant l'aire du pic divisée par l'aire du mannitol.

Le pourcentage en polysaccharides est déterminé de la façon suivante :

$$\% = \frac{AR}{A} \times [\text{mannitol}]$$

A : Constante dont la valeur dépend du sucre (voir annexes)

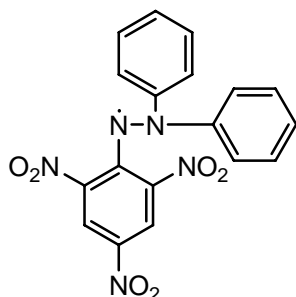
[mannitol] : Concentration du mannitol

1.4- ACTIVITES BIOLOGIQUES

1.4.1 Activités biologiques *in vitro*

1.4.1.1- 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 (*Takao et coll, 1994*).



Radical DPPH

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 propre solvant (10 mg de chaque extrait ont été dissous dans 1 ml de solvant approprié).

Des dépôts de 10 µl de chaque solution d'extrait ont été réalisés sur des plaques de Silicagel F₂₅₄. Les systèmes de solvants Ether de pétrole : Acétate d'éthyle (4 : 1 et 3 :2) et BAW (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 de 1-1 Diphényl 2 pycril hydrazile (2 mg/mL). Les zones d'activités ont été déterminées par l'apparition d'une coloration jaune sur fond violet.

1.4.1.2- Activité antifongique

Nous avons employé, pour la détermination de cette activité, la méthode bio autographique (*Rahalison et coll, 1991*).

➤ **Principe**

Elle consiste en la dilution rapide de substances antimicrobiennes ainsi qu'à l'isolement des constituants actifs à travers une cible. Les chromatogrammes sont recouverts d'un milieu de culture incorporé de microorganismes.

Après incubation pendant 24 h à 37 °C, un révélateur approprié permet d'observer l'activité.

➤ **Matériel biologique**

Les tests ont porté sur des souches cliniques de *Candida albicans* issues des prélèvements vaginaux réalisés au laboratoire de biologie médicale de l'INRSP.

➤ **Produits à tester et témoin**

Les extraits de drogue qui ont été employés pour le test, ont été utilisé à des concentrations de 10, 30 et 60 mg/mL . Les extraits polaires ont été dissous dans un mélange méthanol-eau (1-1) et les extraits apolaires dans leur solvant respectif.

La nystatine, antifongique de contact de la famille des polyènes, a été utilisée en solution chloroformique à la concentration de 0,1 mg/mL comme témoin positif.

➤ **Milieus de culture**

Trois milieux ont servi à la réalisation de ce test :

- Gélose Sabouraud + Chloramphénicol + Actidione

- Bouillon Sabouraud (SAD : Sabouraud Dextrose Agar)
- Malt agar

➤ **Préparation des milieux**

Gélose Sabouraud + Chloramphénicol + Actidione

A la poudre Gélose Sabouraud + Chloramphénicol + Actidione (15 g), nous avons ajouté de l'eau distillée (1 L) puis nous avons chauffé le mélange jusqu'à dissolution complète de la poudre. Le milieu ainsi préparé a été stérilisé à l'autoclave à la température de 121 °C pendant 15 min.

N.B : Le chloramphénicol et l'actidione permettent l'isolement du *Candida albicans* en éliminant les germes saprophytes.

Bouillon Sabouraud (Sabouraud liquide)

Nous avons dissout de la poudre de Gélose Sabouraud (15 g) dans de l'eau distillée (1 L). Nous avons procédé au chauffage du mélange en agitant jusqu'à obtention d'un mélange homogène. Le milieu ainsi préparé a été stérilisé à l'autoclave à la température de 121 °C pendant 15 min.

Milieu Malt Agar

Nous avons ajouté au Malt agar (48 g) de l'eau déminéralisée (1 L). Le mélange a été chauffé au bain-marie jusqu'à dissolution complète du malt agar. Le mélange a été ensuite mis (précautionneusement) à l'autoclave pendant 10 min à la température de 121 °C.

➤ Identification du germe à tester

Le germe a été identifié après un examen microscopique à l'état frais et après coloration au Gram suivi d'une culture et d'un test de filamentation.

Test de filamentation

Il est préalable au test biologique et atteste de l'authenticité de la souche de *Candida albicans*. Pour ce faire, nous avons ensemencé une colonie issue d'une culture de 24 heures dans un tube contenant 0.5 – 1 ml de sérum humain. L'inoculum doit être suffisant pour donner un très léger trouble dans le milieu (0,5 ml de sérum pour une colonie). Nous avons observé au microscope entre lame et lamelle (objectif 40) une goutte de la suspension après 3 heures d'incubation à 37 °C à l'étuve puis nous avons procédé enfin à l'appréciation de la production de tubes germinatifs caractéristiques de *Candida albicans*.

➤ Conservation des souches

Les souches ont été conservées sur le milieu Sabouraud + chloramphénicol + actidione coulé en tube incliné.

Pour ce faire, nous avons pris une jeune colonie de 24 heures et l'avons ensemencé sur la gélose en tube. Après incubation pendant 24 heures à 37 °C, nous avons gardé le tube en aérobiose (les tubes ne doivent pas être hermétiquement fermés).

NB : Les souches de *Candida albicans* doivent être repiquées tous les deux mois.

➤ Mode opératoire

Préparation des chromatogrammes

La chromatographie a été réalisée sur des plaques de verre type avec des dépôts de 20 µl de solution d'extraits et de 5 µl de la solution d'antifongique témoin.

Le système de solvants **BAW (60, 15, 25)** a été utilisé pour la migration des extraits polaires ; pour les extraits apolaires, les systèmes **Ether de pétrole: Acétate d'éthyle (4 : 1 et 5 :2)** ont été employés. Après élution, les plaques ont été séchées à l'air libre à la température du laboratoire afin d'éliminer les traces de solvants, puis observées à l'UV 254 et 366 nm.

Procédure du test

Le test se déroule en quatre jours :

Jour 1

(1) Nous avons repiqué une culture de *Candida albicans* sur le milieu de culture Sabouraud gélosé + chloramphénicol + actidione en boîte de Pétri et nous l'avons incubé à 30 °C pendant 24 heures ;

Jour 2

(2) Deux erlenmeyers contenant 50 ml de milieu de culture Sabouraud liquide ont été préparés et stérilisés à l'autoclave pendant 15 min à 121 °C.

(3) Nous avons ajouté à froid à l'aide d'une pointe de spatule une colonie issue de **(1)** dans l'un des milieux préparés en **(2)**.

(4) Le mélange a été laissé sous agitation pendant une nuit.

Jour 3

(5) Le matin de bonne heure, nous avons pris 0,5 ml du milieu précédent (trouble) et l'avons ajouté au second milieu préparé en (2) , soit une dilution de 100 fois.

(6) Nous l'avons laissé sous agitation pendant environ 7 heures. Ce temps est nécessaire pour atteindre la phase de croissance exponentielle de *Candida albicans*.

(7) Pendant ce temps, nous avons préparé les milieux de culture à base de malt agar qui sont la base de l'inoculum que nous avons versé sur les plaques CCM, et les répartir en erlenmeyers de 50 ml. La quantité du milieu de culture est fonction de la dimension de la plaque ; pour une plaque de 10 X 10 cm, la quantité de malt agar est de 10 ml.

(8) Le malt agar a été maintenu fondu au bain – marie à 48 °C car au-dessus de cette température, les levures ne survivent pas et en dessous de 43 °C, le milieu se solidifie.

(9) Nous avons ensuite ajouté 0.5 ml de la solution obtenue en (5) à chaque fraction de 50 ml de malt agar fondu, afin d'obtenir un inoculum contenant 10^5 cellules / ml.

(10) Cet inoculum a été laissé à nouveau au repos à 48 °C ;

(11) Puis nous l'avons versé sur les plaques à l'aide de pipettes stériles à raison de 10 ml par portion de 10 X 10 cm ;

(12) Le tout a été laissé en incubation à 30 °C pendant une nuit en atmosphère humide en utilisant des boîtes en plastique contenant un papier buvard trempé.

Jour 4

(13) Toujours en début de matinée, nous avons révélé les plaques à l'aide d'une solution aqueuse de bromure de méthylthiazoyltétrazolium (MTT) à 2,5 mg/ml. Les zones d'inhibition de croissance apparaissent sous forme de taches incolores sur fond violet, après une nouvelle incubation de 4 heures.

(14) De l'éthanol a été giclé sur les plaques afin de tuer les microorganismes.

(15) Puis nous avons recouvert les plaques de feuilles de plastiques transparentes afin de les conserver (laisser sécher préalablement).

1.4.1.3- Activité antibactérienne

La méthode de diffusion en Agar a été utilisée pour ce test (*Bauer et coll, 1994*).

➤ Principe

Pour ce test, nous avons utilisé la méthode de diffusion :

Elle consiste en l'identification d'une substance agissant sur un microorganisme et en la détermination de la concentration minimale inhibitrice de cette substance qui détruit le microorganisme.

Le dépôt des extraits se fait sur de petits cylindres de dimensions connues (en porcelaine, en acier inoxydable ou en papier), placés sur de la gélose en boîte de Pétri. Après incubation de 24 heures à l'étuve à 37 °C, les zones d'activité apparaissent circulaires sur le fond opaque de la gélose.

➤ Bactéries testées

Des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* et de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Streptococcus* β -hémolytique obtenues à partir des prélèvements pathologiques du laboratoire de biologie médicale de l'INRSP ont été utilisées pour la recherche de l'activité antibactérienne. La souche **ATCC 25922** pour *Escherichia coli* a été utilisée comme souche de référence.

➤ Matériels techniques

Etuve réglée à 37 °C ; réfrigérateur ; milieux de cultures ; boîtes de Pétri ; pipettes Pasteur stériles ; eau physiologique ; tubes stériles de 16 x 160 mm ; disques non imprégnés de 6 mm de diamètre ; microscope ; micropipettes de 20 μ l, gaz butane ; eau distillée ; flacons stériles ; balance de précision ; spatule.

➤ **Produits à tester** : extraits aqueux et organiques

➤ **Produits témoins**

Antibiotiques standards :

Pristinamycine (PR), Chloramphénicol (C), Kanamycine (K), Oxacilline (Ox) et Erythromycine (E) ont été testés sur *S. aureus* ;

Norfloxacin (NOR), Tétracycline (TE), Amikacine (AN), Ciprofloxacine (CIP) et Chloramphénicol sur *E. coli* ;

Ciprofloxacine, Amikacine, Chloramphénicol, Colistine (CL), Gentamicine (GM) et Amoxicilline (AMX) sur *K. pneumoniae* ;

Cefsulodine (CFS), Doxycycline (D), Nitroxoline (NI), Amikacine, Pefloxacine (PEF), Amoxicilline + Acide clavulanique = Augmentin (AMC) et Ceftriaxone (CRO) sur *Proteus mirabilis* ;

Streptomycine (S), Pénicilline (P), Ampicilline (AM), Erythromycine, Kanamycine, Pristinamycine et Lincomycine sur *Streptococcus* β -hémolytique ;

Les antibiotiques standard utilisés sur *Proteus mirabilis* ont été également testés sur la souche de référence d'*E. coli*.

➤ **Matériels biologiques**

Les germes ont été isolés à partir des prélèvements suivants : prélèvement vaginal, pus et prélèvement du liquide prostatique.

➤ **Mode opératoire**

Préparation des solutions d'extraits

Dix milligrammes de lyophilisat ont été dissous dans 1 ml de diméthylsulfoxyde (DMSO) ou d'eau distillée selon qu'il s'agit d'extraits organiques ou aqueux. Une

série de 50 μL , 100 μL et 150 μL de la solution correspondant à des quantités de 500 μg , 1000 μg et 1500 μg d'extraits a été utilisée pour imprégner des disques de papier de diamètre connue (6 mm).

Identification et isolement des souches pathogènes

L'observation microscopique des prélèvements a été effectuée après coloration par la méthode de Gram. Les prélèvements ont par la suite été ensemencés sur les milieux gélose ordinaire et EMB (Eosine Bleu de Méthylène) en vue d'une culture. Les colonies obtenues après 24 heures ont été identifiées (par Galerie API 20 E). *Staphylococcus aureus* a été identifié par le test à la catalase suivi du test au Staphylo-KIT. Les souches ainsi identifiées ont été repiquées sur une gélose nutritive en tube et gardées au réfrigérateur en vue de leur conservation.

Préparation des milieux de culture

Gélose EMB

Trente-cinq grammes de poudre ont été mis en suspension dans un litre d'eau distillée. Après un mélange soigneux, le mélange a été chauffé avec agitation jusqu'à ébullition en vue d'une complète dissolution. Nous avons stérilisé la préparation à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

Gélose de Mueller Hinton

Trente-huit grammes de poudre ont été introduits dans un litre d'eau puis nous avons chauffé jusqu'à dissolution complète. Ensuite nous avons procédé à une stérilisation de la solution obtenue à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Après refroidissement, la solution a été transférée dans des boîtes de Pétri.

Gélose de Drigalski

Quatre grammes de poudre ont été dissouts dans un litre d'eau. Après chauffage jusqu'à dissolution complète, nous avons procédé à la stérilisation de la solution obtenue à l'autoclave pendant 15 min à 121 °C ; après refroidissement la solution a été transférée dans des boîtes de Pétri.

Gélose de Chapman

Cent onze grammes de poudre ont été introduits dans un litre d'eau puis chauffé jusqu'à dissolution complète de la poudre. Après avoir été stérilisée, la solution obtenue a été placée à l'autoclave à 121 °C pendant 15 min ; Après refroidissement la solution a été transférée dans des boîtes de pétri.

Gélose au sang

Quarante grammes de la poudre du milieu soja ont été mis en suspension dans 1 L d'eau distillée. Le mélange porté à ébullition avec agitation jusqu'à dissolution complète de la poudre a été ensuite stérilisé à l'autoclave pendant 15 min à 121 °C ;

Après refroidissement, du sang frais de mouton (50 mL) a été ajouté à la solution qui a ensuite été répartie dans des boites de Pétri.

Test proprement dit (Technique de diffusion en Agar):

Jour 1

Les souches conservées sur la gélose nutritive ont été repiquées sur les milieux de cultures sélectifs. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ont été respectivement repiqués sur gélose Columbia et gélose EMB. Les milieux de culture ont été incubés à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

Jour 2

Des disques blancs de 6 mm de diamètre ont été confectionnés avec du papier buvard et stérilisés à l'autoclave.

Ces disques ont ensuite été imprégnés de 5 et 6 µl de la solution d'extrait et séchés dans des boîtes de Pétri, soit des dosages de 50 et 60 µg d'extraits par disque.

Préparation de la suspension bactérienne

Les suspensions bactériennes ont été préparées par rapport à une solution de référence (Mac Farland 0,5).

Mise en test

La suspension bactérienne a été coulée sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose de Mueller Hinton ou de Drigalski et de la gélose au sang. Ce dernier est utilisé pour *Streptococcus* β-hémolytique. Après inondation de toute la surface du milieu par la suspension bactérienne, le surnageant a été aspiré à l'aide d'une pipette de transfert.

Chacune des boîtes a reçu 5 à 6 disques reconnus par un numéro d'identification des extraits apposé à la face inférieure de la boîte. Des antibiotiques standard ont été testés dans les mêmes conditions. Les milieux ont été incubés à l'étuve à 37 °C pendant au moins 18 heures.

Jour3

Après 18 – 24 heures d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque ont été mesurés en vue d'apprécier l'activité inhibitrice des extraits et des antibiotiques testés.

1.4.1.4- Détermination de l'activité sur la fixation du complément

➤ Principe

Le test de la fixation du complément est un test *in vitro* qui consiste à déterminer l'interaction de l'extrait avec la réaction de cascade du complément. Ce test a été réalisé à l'université d'Oslo.

➤ Matériels

- Anticorps de lapin
- Buffer véronal (VB) : Tampon véronal
- Bovin Serum Albumine (BSA) 30 % : albumine du sérum de bœuf
- Hématies de mouton
- Chlorure de sodium (NaCl)
- Sérum humain
- Sodium azide (10 %)

➤ Mode opératoire

Les hématies de mouton sont lavées deux fois avec la solution de NaCl (9 mg/mL), une fois avec la solution de VB/BSA renfermant du véronal buffer à pH= 7,2 et 2 mg/mL d'albumine de sérum bovin (BSA 30 %) et 0,02 % d'une solution de sodium azide (10 %).

Ensuite les hématies sont sensibilisées avec les anticorps de lapin anti-érythrocytes de mouton.

Elles ont été incubées à 37 °C sous agitation pendant 30 min et lavées de nouveau avec les solutions précédentes. La suspension cellulaire (1 %) est mise dans le VB/BSA préparé et utilisé le même jour.

Le sérum humain contenant les protéines du complément est prétraité en éliminant les anticorps anti-érythrocytes de mouton, puis dilué dans le VB/BSA à une concentration qui entraîne 50 % d'hémolyse.

Les échantillons ont été dissouts dans le VB/BSA aux concentrations suivantes : 500 ; 250 ; 62,5 ; 31,3 et 15,6 µg/mL .

Cinquante microlitres de l'extrait dilué dans le VB/BSA et 50 µL de sérum humain prétraité sont introduit dans la microplaque portant 96 puits, puis incubés à 37 °C sous agitation pendant 30 min.

Nous avons ajouté à la solution incubée 50 µL d'hématies de mouton puis incubé de nouveau à 37 °C sous agitation pendant 30mn puis centrifuger pendant 5 min.

Nous avons transféré 100 µL de la couche surnageante des puits dans une nouvelle microplaque et déterminé l'absorbance à 405 nm.

100 % de lyse est obtenu avec de l'eau distillée plus les hématies de mouton (A eau). Le milieu de contrôle est le VB/BSA, le sérum humain et les hématies de mouton (A contrôle).

La fraction de pectine PMII de *Plantago major* L. (Samuel sen et al., 1996) a été utilisée comme le produit de référence.

Le pourcentage de lyse est donné par la formule :

$$\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}}$$

1.4.1.5- Détermination de l'activité hémolytique

Les chromatogrammes obtenus avec les extraits de *T. catappa* ont été émergés dans une cuve contenant le sang frais de mouton prélevé sur le citrate de sodium à 5 % pendant une heure de temps. Elles ont ensuite été retirées et lavées avec de l'eau distillée.

Les substances qui possèdent une propriété hémolytique, apparaissent sous forme de tâches blanches sous un fond rouge.

1.4.2- Activités biologiques *in vivo*

1.4.2.1- Effets du décocté aqueux de *T. catappa* sur certains paramètres hématologiques des souris

Avant de passer à l'étude de l'activité antianémique de nos extraits, nous avons voulu vérifier tout d'abord l'effet du décocté aqueux de *T. catappa* sur la croissance des souris, leur alimentation et sur certains de leurs paramètres sanguins.

Méthodologie

Nous avons utilisé 6 lots de 5 souris (mâles et femelles) et nous avons procédé de la manière suivante :

Dans un premier temps nous avons effectué un suivi des animaux avant de passer au test d'évaluation de l'effet du décocté aqueux de *T. catappa* sur les paramètres hématologiques des souris.

➤ Suivi des animaux

Les animaux ont été tout d'abord suivis pendant 2 semaines durant lesquelles le poids corporel, la quantité de nourriture et le volume hydrique de chaque lot ont été mesurés.

➤ Etude de l'effet sur les paramètres hématologiques des souris

Nous avons adopté le protocole suivant :

1. **Un lot témoin** : les souris du lot ont reçu par voie orale de l'eau distillée (25 mL/kg) pendant 8 jours.
2. **Un lot traité avec le décocté aqueux de *T. catappa*** : nous avons administré aux souris de ce lot, l'extrait de la plante par voie intra-gastrique à la dose de 100 mg/kg par jour pendant 8 jours.

3. **Un lot traité avec le décocté aqueux de *T. catappa* et intoxiqué par l'éthylène glycol (EG) :** nous avons administré l'extrait de la plante par voie intra-gastrique aux souris de ce lot, à la dose de 100 mg/kg par jour pendant 4 jours. Les souris ont ensuite été intoxiquées par administration orale de EG à la dose de 10 mL/kg correspondant à 1171 mg/kg chaque jour pendant 4 jours.


A la fin de ce temps, nous avons attendu 4 jours. Le 5^e jour après la dernière administration de l'agent hématotoxique, les animaux ont été pesés, sacrifiés afin de prélever le sang sur anticoagulant (EDTA) pour établir l'hémogramme. Les organes foie et rate de chaque souris, ont été prélevés et pesés.

4. **Un lot de témoin positif traité à l'eau et intoxiqué par l'éthylène glycol (EG) :** nous avons procédé de la même manière que le lot 3 seulement, à la place de l'extrait, les souris sont traitées avec de l'eau distillée (25 mL/kg).

5. **Un lot traité avec le décocté aqueux de *T. catappa* et intoxiqué par l'éthylène glycol méthyl éther (EGME) :** nous avons administré à ce lot le décocté de la plante par voie intra-gastrique à la dose de 100 mg/kg par jour pendant 4 jours. Les souris ont ensuite été intoxiquées par administration orale de EGME à la dose de 10mL/kg correspondant à 955 mg/kg chaque jour pendant 4 jours.

A la fin de ce temps, nous avons attendu 4 jours. Le 5^e jour après la dernière administration de l'agent hématotoxique, les animaux ont été pesés puis sacrifiés afin de prélever le sang sur anticoagulant (EDTA) pour établir l'hémogramme. Les organes foie et rate de chaque souris ont été prélevés et pesés.

6. **Un lot témoin positif traité à l'eau et intoxiqué par l'éthylène glycol méthyl éther :** nous avons procédé de la même manière que le groupe 5 seulement, à la place de l'extrait, les souris sont traitées avec de l'eau distillée (25 mL/kg).

A graphic of a white scroll with a black outline, featuring a small circle at the top right corner and a vertical bar on the left side. The word "RESULTATS" is written across the center of the scroll in a large, bubbly, blue-to-teal gradient font with a drop shadow.

RESULTATS



2- RESULTATS

2.1- ETUDE PHYTOCHIMIQUE

2.1.1- Matériel végétal

La poudre de *Terminalia catappa*, obtenue après pulvérisation des écorces de tronc, est de couleur marron.

Les feuilles pilées de *Kalanchoe crenata* ont une odeur forte contrairement à la poudre d'écorces de tronc de *T. catappa*.

2.1.2- Réactions de caractérisation

Tableau 5: Résultat des réactions de caractérisation

<u>Groupes chimiques</u>	TcET	KcF
Tanins	++++	-
Tanins (réaction avec HCl)	++++	-
Tanins catéchiques	++++	-
Tanins galliques	++++	-
Polyuronides (mucilages)	-	++
Stérols et triterpènes	++	-
Hétérosides cardiotoniques (Baljet)	++	++++
Hétérosides cardiotoniques (Kedde)	-	++
Hétérosides cardiotoniques (Raymond-Marthoud)	-	+++
Leucoanthocyanes	+++	+

TcET : Ecorces de tronc de *Terminalia catappa*

KcF : Feuilles fraîches de *Kalanchoe crenata*

Le screening phytochimique de nos deux plantes a révélé la présence de mucilages, de stérols et triterpènes, de leucoanthocyanes avec une prédominance des tanins et des hétérosides cardiotoniques respectivement pour *T. catappa* et pour *Kalanchoe crenata*. pour qui les leucoanthocyanes ont donné une réaction louche dont la présence n'a pas été confirmée par CCM.

Les hétérosides cyanogénétiques, les coumarines, les caroténoïdes, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponosides, les quinones et les anthracénosides étaient absents aussi bien dans les écorces de tronc de *T. catappa* que dans les feuilles fraîches de *Kalanchoe crenata*.

2.1.3- Dosages

Tableau 6: Pourcentage des substances dosées dans les différentes drogues

<i>Nature du dosage</i>	<i>TcET (%)</i>	<i>KcF (%)</i>
Teneur en eau (volumétrie)	12	84
Teneur en eau (gravimétrie)	7,8	92
Cendres totales	10	1,3
Cendres chlorhydriques	2,6	0,13
Cendres sulfuriques	14,6	2,1
Substances extractibles par l'eau	13,8	4
Substances extractibles par l'éthanol à 70 %	16	19

TcET : Ecorces de tronc de *Terminalia catappa*

KcF : Feuilles fraîches de *Kalanchoe crenata*

La teneur la plus élevée en cendres sulfuriques a été observée chez *T. catappa* avec 14,6 %. Le taux de cendres totales le moins élevé est celui de *K. crenata* avec 1,3 %.

2.1.4- Extractions

Tableau 7: Résultats des extractions aqueuses et éthanolique (70 %) de *Terminalia catappa* (Tc) et de *Kalanchoe crenata* (Kc)

<i>Extraits</i>	<i>Drogues</i>	<i>Rendement (%)</i>	<i>Aspect</i>	<i>Couleur</i>
Décocté (10 %), Tc	Ecorces	16,3	Cristallisé	Marron
Infusé (10 %), Tc	Ecorces	16,56	Cristallisé	Marron clair
Macéré aqueux (10 %), Tc	Ecorces	13,56	Cristallisé	Marron foncé
Macéré EtOH, Tc	Ecorces	7,77	Cristallisé	Marron
Digesté, Kc	Feuilles	15,75	Cailloux	Verdâtre

Le rendement le plus élevé (16,56 %) a été obtenu avec l'infusé et le plus faible (7,77 %) avec le macéré éthanolique de la poudre d'écorces de tronc de *T. catappa*.

Tableau 8: Résultats des extractions par les solvants à polarité croissante de la poudre d'écorces de *T. catappa*.

Extraits	Rendement (%)	Aspect	Couleur
Ether de pétrole	0,35	Pâteux	Jaune verdâtre
Dichlorométhane	0,35	Collant	Vert foncé
Méthanol	16,7	Cristallisé	Rouge foncé
Digestion	5,9	Poudre	Marron
Décoction	1,45	Poudre	Marron clair

Le meilleur rendement a été obtenu avec les solvants aqueux et hydroalcooliques. Par contre les faibles taux d'extraction ont été observés avec les solvants organiques. Les plus faibles rendements sont rapportés à l'Ether de pétrole et au Dichlorométhane avec 0,35 %.

2.1.5- Ionogramme

Tableau 9: Résultats de l'ionogramme pour les ions sodium (Na⁺) et potassium (K⁺) pour 100 g d'extraits aqueux des plantes

Extraits	Na ⁺ (g)	K ⁺ (g)
Poudre d'écorces, <i>Terminalia catappa</i>	0,21	0,35
Décocté, <i>T. catappa</i>	1,73	9,75
Infusé, <i>T. catappa</i>	0,23	1,37
Macéré, <i>T. catappa</i>	0,007	1,21
Digesté épuisé, <i>T. catappa</i>	0,7	5,32
Décocté épuisé, <i>T. catappa</i>	0,58	4,39
Digesté, <i>Kalanchoe crenata</i>	0,29	4,88

2.1.6- Chromatographie

2.1.5.6- Chromatographie sur couche mince

Tableau 10: Résultats de la CCM des extraits polaires de *Terminalia catappa* (Tc) et de *Kalanchoe crenata* (Kc) révélée au Godin

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	Godin
Décocté (10 %), Tc	0	Visible	-	Rose violacé
	0,22	Visible	-	-
	0,25	-	Jaune	-
	0,37	Visible	-	-
	0,6	-	Violet	-
	0,78	-	Blanc	-
	0,85	-	-	Rose
	0,9	-	Violet	-
Infusé (10 %), Tc	0	Visible	-	Rose violacé
	0,15	Visible	-	-
	0,2	Visible	-	-
	0,25	-	Jaune	-
	0,28	Visible	-	-
	0,63	-	Marron	-
	0,78	-	Violet	-
	0,85	-	-	Rose
Macéré (10 %), Tc	0	Visible	-	Rose violacé
	0,18	Visible	-	-
	0,25	-	Jaune	-
	0,27	Visible	-	-
	0,63	-	Violet	-

Tableau 10' : Suite des résultats de la CCM des extraits polaires de *Terminalia catappa* (Tc) et de *Kalanchoe crenata* (Kc) révélée au Godin

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	Godin
Macéré EtOH, Tc	0	Visible	-	Rose violacé
	0,02	-	Marron	-
	0,06	Visible	-	-
	0,15	-	-	Violet
	0,21	-	-	Violet
	0,22	Visible	Jaune	-
	0,37	Visible	Marron	-
	0,52	Visible	-	-
	0,58	-	Bleu	-
	0,75	Visible	-	Bleu
	0,85	-	Blanc	-
	Extrait MeOH, Tc	0	Visible	-
0,03		-	Marron	-
0,12		-	Jaune	-
0,17		Visible	-	-
0,25		-	Jaune	-
0,3		Visible	-	-
0,33		-	Marron	-
0,36		Visible	-	-
0,73		Visible	-	Bleu
0,85		-	Bleu	Bleu
Digesté, Kc	0,27	-	Blanc	-
	0,35	-	-	Jaune
	0,48	-	Blanc	-
	0,52	Visible	Marron	-
	0,57	-	Blanc	-
	0,58	Visible	-	Jaune
	0,62	Visible	-	-
	0,67	Visible	-	-
	0,76	-	Bleuâtre	-
	0,88	-	Rouge	-

L'extrait lyophilisé du digesté des feuilles fraîches de *Kalanchoe crenata* est l'extrait qui a montré le plus de fluorescence à 366 nm. Le macéré éthanolique est l'extrait qui

a le plus réagit avec le réactif de Godin avec une abondance de coloration violette qui pourrait bien représenter les composés terpéniques.

Tableau 11: Résultats de la CCM des extraits apolaires de *Terminalia catappa* révélée au Godin.

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	Godin
Extrait DCM	0	-	Violet vif	Marron
	0,03	Visible	-	Rouge
	0,05	-	Violet	-
	0,07	-	-	Bleu
	0,09	Visible	-	-
	0,12	-	-	Violet
	0,17	-	Violet	-
	0,2	-	-	Rose
	0,24	-	Rouge	-
	0,25	Visible	-	Violet
	0,3	-	Rouge	-
	0,32	-	-	Violet
	0,35	-	Bleu	-
	0,39	-	-	Rose
	0,42	-	-	Violet
	0,44	-	Rouge	-
	0,5	Visible	-	Violet foncé
	0,51	-	Rouge	-
	0,54	-	-	Violet foncé
	0,55	Visible	-	-
	0,64	-	Rouge	Vert
	0,66	Visible	-	-
	0,67	-	-	Rose
	0,71	-	Rouge	Violet
	0,74	-	Vert	-
	0,77	-	Bleu	-
	0,81	Visible	Rose vif	-
	0,85	-	Rouge	Violet
	0,91	-	Bleu	-
	0,95	-	Rouge	Violet foncé

Tableau 11' : Suite des résultats de la CCM des extraits apolaires de *Terminalia catappa* révélées au Godin

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	Godin
Extrait Ether de Pétrole	0	-	Violet	Marron
	0,04	-	Rouge	-
	0,06	-	Pourpre	-
	0,1	Visible	Rouge	Violet clair
	0,12	-	Bleu	-
	0,16	Visible	Rouge	-
	0,21	-	-	Violet clair
	0,24	-	-	Bleu ciel
	0,29	Visible	Rouge	-
	0,32	-	-	Bleu ciel
	0,39	Visible	Rouge	-
	0,41	-	-	Violet foncé
	0,5	-	Vert	-
	0,52	-	-	Violet
	0,55	Visible	-	Bleu foncé
	0,57	-	Bleu ciel	-
	0,64	Visible	-	-
	0,71	-	-	Violet
	0,74	Visible	-	-
	0,77	-	Rouge	Violet clair
	0,81	-	-	Bleu ciel
	0,9	-	-	Violet
	0,92	Visible	-	-
	0,95	Visible	-	Violet foncé
	0,97	-	Bleu	-

Comparativement aux extraits polaires, les extraits apolaires ont montré une forte fluorescence à 366 nm. Ces extraits ont fortement réagit avec le réactif de Godin présentant des colorations variées allant du rose au violet, en passant par le bleu et le vert.

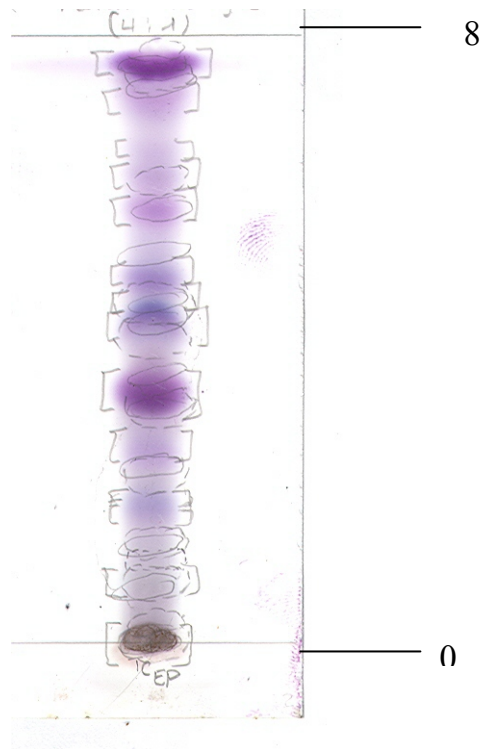


Figure 15: Chromatogramme de l'extrait éther de pétrole des écorces de tronc de *T. catappa* révélé au réactif de Godin

Front du solvant : 8 cm

Support : Plaque de silice G60 F₂₅₄ en aluminium

Dépôt : 8 μ L

Eluant : Ether de pétrole- Acétate d'éthyle (4 :1)

Révéléateur : Réactif de Godin

TcEP : Extrait éther de pétrole des écorces de tronc de *T. catappa*

Tableau 12: Résultats de la CCM des extraits polaires de *Terminalia catappa* et de *Kalanchoe crenata* révélée au FeCl₃.

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	FeCl₃
Décocté (10 %), Tc	0	Visible	-	Bleu noirâtre
	0,05	-	Marron	-
	0,1125	Visible	-	-
	0,1375	-	-	Bleu noirâtre
	0,1625	Visible	Jaune	-
	0,375	Visible	-	-
	0,6	-	Violet	-
	0,7875	-	Blanc	-
	0,9	-	Violet	-
Infusé (10 %), Tc	0	Visible	-	Bleu noirâtre
	0,05	-	Marron	-
	0,15	Visible	-	-
	0,175	-	Jaune	-
	0,2	Visible	-	-
	0,2875	Visible	-	-
	0,375	-	Marron	-
	0,6	-	Violet	-
	0,775	-	Bleu	-
Macéré (10 %), Tc	0	Visible	-	Bleu noirâtre
	0,0375	-	Marron	-
	0,15	-	Jaune	-
	0,1875	Visible	-	-
	0,25	-	Violet	-
	0,275	Visible	-	-
	0,5	-	Violet	-
	0,6125	-	Blanc	-
	0,69125	-	Blanc	-
Extrait MeOH, Tc	0	-	-	Bleu noirâtre
	0,0375	-	Marron	-
	0,125	-	Jaune	-
	0,225	-	-	Bleu noirâtre
	0,25	-	Jaune	-
	0,3375	-	Marron	-
	0,3625	-	-	Bleu noirâtre
	0,85	-	Bleu	-

Tableau 12' : Suite des résultats de la CCM des extraits polaires de *Terminalia catappa* et de *Kalanchoe crenata* révélée au FeCl₃.

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	FeCl ₃
Macéré EtOH, Tc	0	Visible	-	Bleu
	0,025	-	Marron	-
	0,0625	Visible	Jaune	-
	0,15	-	-	Bleu noirâtre
	0,2125	Visible	-	-
	0,225	Visible	-	-
	0,375	Visible	Marron	-
	0,3875	-	-	Bleu
	0,5875	-	Bleu	-
	0,85	-	Bleu	-
Digesté épuisé, Tc	0	-	-	Bleu noirâtre
	0,05	-	Marron	-
	0,1375	-	Jaune	-
	0,2	Visible	-	-
	0,225	-	Jaune	-
	0,375	Visible	Marron	-
	0,5875	-	Blanc	-
	0,7375	-	Blanc	-
Digesté, Kc	0,275	-	Blanc	-
	0,4875	-	Blanc	-
	0,525	Visible	Marron	Bleu noirâtre
	0,575	-	Blanc	-
	0,5875	Visible	-	-
	0,625	Visible	-	-
	0,675	Visible	-	-
	0,7625	-	Bleuâtre	-
	0,8875	-	Rouge	-

Tous les extraits polaires de nos deux plantes ont fortement réagit avec FeCl₃, ce qui souligne la forte présence de tanins dans ces extraits.

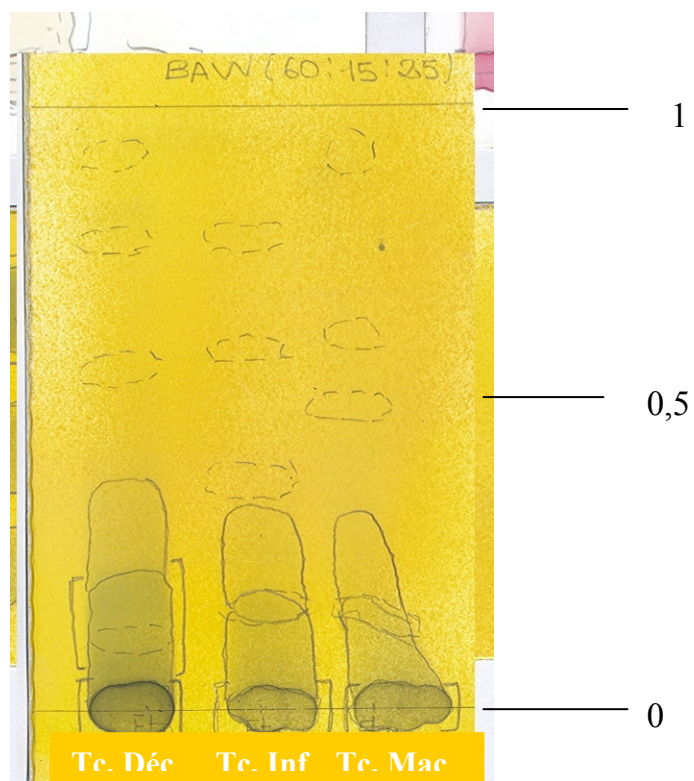


Figure 16: Chromatogramme du décocté, de l'infusé et du macéré de la poudre d'écorces de tronc de *T. catappa*.

Front du solvant : 8 cm

Support : Plaque de silice G60 F₂₅₄ en aluminium

Dépôt : 8 µL

Eluant : Butanol- Acide acétique- Eau (BAW) (60 :15 :25)

Révéléateur : FeCl₃

Tableau 13: Résultats de la CCM des extraits apolaires de *Terminalia catappa* révélée au FeCl₃.

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	FeCl ₃
Extrait DCM	0	Visible	Blanc	Bleu noirâtre
	0,0375	Visible	-	-
	0,1625	Visible	Bleuâtre	-
	0,3	Visible	Rouge	-
	0,35	-	Rouge	-
	0,4	-	Rouge	-
	0,4875	-	Rouge	-
	0,5375	Visible	Rouge	-
	0,5875	-	Rouge	-
	0,6	Visible	-	-
	0,625	-	Blanc	-
	0,6625	-	Jaune	-
	0,7125	Visible	Rouge	-
	0,75	-	Blanc	-
	0,7625	-	Rouge	Bleu noirâtre
	0,8	Visible	-	-
	0,8125	-	Violet vif	-
Extrait Ether de Pétrole	0	-	Blanc	Vert noirâtre
	0,0875	Visible	Marron	-
	0,125	-	Bleuâtre	-
	0,1625	Visible	-	-
	0,175	-	Rose violacé	-
	0,2875	-	Rouge vif	-
	0,3125	Visible	-	-
	0,375	Visible	-	-
	0,425	Visible	Rouge vif	-
	0,4375	-	-	Vert noirâtre
	0,4873	Visible	-	-
	0,5375	-	Vert	-
	0,5625	Visible	-	Bleu noirâtre
	0,625	Visible	Bleu vif	-
	0,6625	-	-	Bleu noirâtre
	0,6875	Visible	-	-
	0,8125	-	Rouge	-

La révélation au FeCl₃ des chromatogrammes des extraits apolaires a montré des colorations vertes et bleu-noirâtres qui pourraient représenter des tanins.

2.1.5.7- Chromatographie en phase gazeuse

Tableau 14: Composition en monosaccharides des polysaccharides de l'extrait aqueux lyophilisé du décocté, selon la recette du tradithérapeute, de la poudre d'écorces de *Terminalia catappa*

Sucres	Quantités (µg)	Pourcentage (%)
Arabinose	27,78	3,06
Rhamnose	4,75	0,52
Xylose	26,32	2,89
Mannose	43,35	4,76
Galactose	11,76	1,29
Glucose	796,06	87,48
Total	910,02	100
% sucre	45,50	

Nous constatons que 45,50 % de l'extrait aqueux lyophilisé du décocté, selon la préparation du tradithérapeute, est constitué de polysaccharides. Le plus abondant étant le glucose (87,48 %) avec des traces de rhamnose (0,52 %).

Tableau 15: Composition en monosaccharides des polysaccharides de l'infusé de la poudre d'écorces de tronc de *Terminalia catappa*

Sucres	Quantités (µg)	Pourcentage (%)
Arabinose	91,28	8,53
Rhamnose	3,92	0,37
Xylose	10,53	0,98
Mannose	76,47	7,14
Galactose	29,65	2,77
Glucose	858,82	80,21
Total	1070,67	100
% sucre	53,53	

L'infusé de la poudre d'écorces de tronc de *T. catappa* est constitué de 53,53 % de polysaccharides. Le monosaccharide le moins abondant est le rhamnose (0,37 %) et le plus abondant le glucose (80,21 %).

Tableau 16: Composition en monosaccharides des polysaccharides de l'extrait aqueux du macéré de la poudre d'écorces de tronc de *Terminalia catappa*

Sucres	Quantités (µg)	Pourcentage (%)
Arabinose	97,67	13,80
Rhamnose	109,66	15,14
Xylose	111,89	15,45
Galactose	48,18	6,65
Glucose	354,65	48,96
Total	724,38	100
% sucre	36,22	

L'extrait aqueux lyophilisé du macéré a comme monosaccharide le plus abondant le glucose (48,96 %) et comme monosaccharide le moins abondant le galactose (6,65 %).

Tableau 17: Composition en monosaccharides des polysaccharides du digesté de la poudre d'écorces de tronc de *Terminalia catappa*

Sucres	Quantités (µg)	Pourcentage (%)
Arabinose	100	9,23
Rhamnose	11,89	1,1
Xylose	33,58	3,1
Mannose	67,65	6,24
Galactose	23,53	2,17
Glucose	847,06	78,16
Total	1083,71	100
% sucre	57,61	

Nous constatons que 57,61 % du digesté de la poudre d'écorces de tronc de *T. catappa*. Le plus abondant des monosaccharides présent est le glucose avec 78,16 %. On note par contre des traces de rhamnose (1,1 %).

Tableau 18: Composition en monosaccharides des polysaccharides du digesté des feuilles de *Kalanchoe crenata*

Sucres	Quantités (µg)	Pourcentage (%)
Arabinose	3,11	0,44
Rhamnose	375,13	53,12
Xylose	116,42	16,48
Mannose	8,06	1,14
Galactose	5,41	0,77
Glucose	198,12	28,05
Total	706,25	100
% sucre	35,31	

35,31 % du digesté des feuilles fraîches de *Kalanchoe crenata* est constitué de sucres dont le plus abondant est le rhamnose avec 53,12 % et le moins abondant est l'arabinose avec 0,44 %. Le polysaccharide ici semble être de type rhamno-glucane.

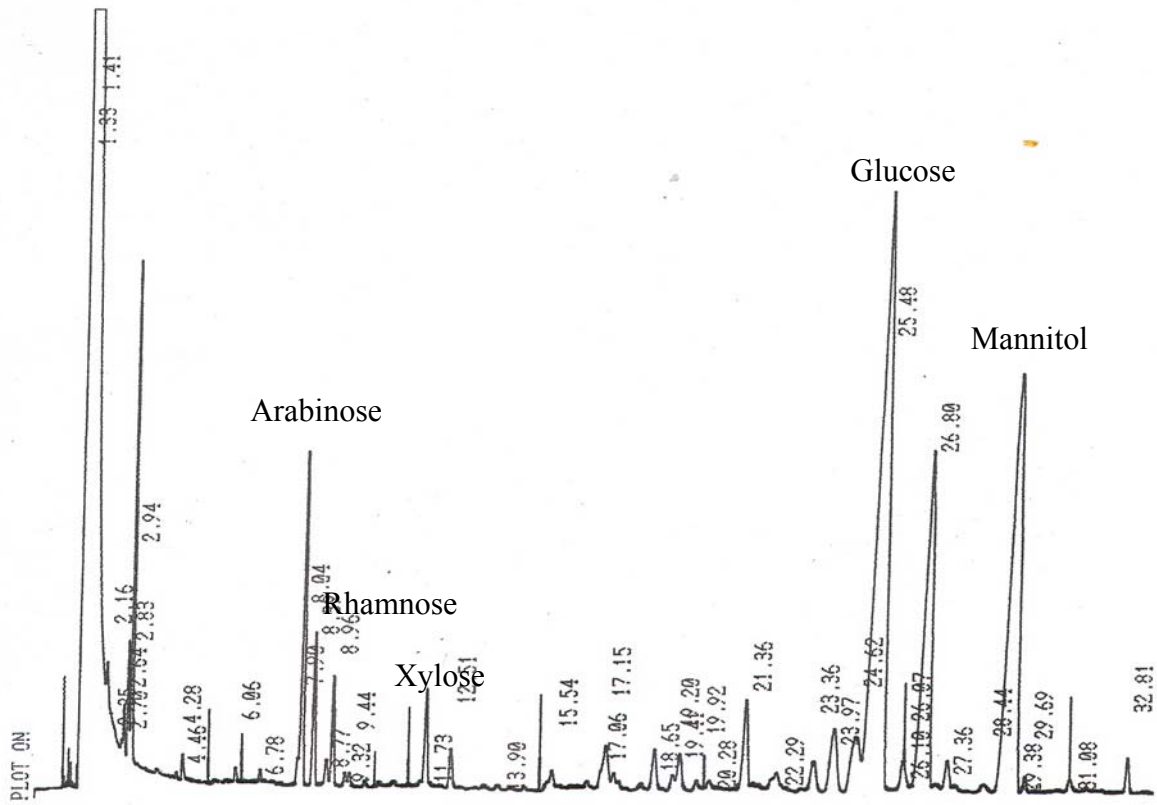


Figure 17: Chromatogramme représentant les monosaccharides présents dans le digeste des écorces de tronc de *Terminalia catappa*.

2.2- ACTIVITES BIOLOGIQUES

2.2.1- ACTIVITES BIOLOGIQUES IN VITRO

2.2.1.1- Activité antioxydante

Tableau 19: Résultats du test antioxydant sur les extraits aqueux et hydroalcooliques des écorces de tronc de *Terminalia catappa* et des feuilles de *Kalanchoe crenata* dans un système BAW (60 :15 :25) révélé avec le DPPH.

Extraits	Rf
Décocté (10%) des écorces de tronc de <i>T. catappa</i>	0
	0,25
	0,51
	0,57
	0,7
	0,8
Infusé (10%) des écorces de tronc de <i>T. catappa</i>	0
	0,162
	0,30
	0,36
	0,55
	0,79
	0,92
Macéré (10%) des écorces de troncs de <i>T. catappa</i>	0
	0,07
	0,2
	0,24
	0,31
	0,5
	0,86
Digesté épuisé des écorces de tronc de <i>T. catappa</i>	0,05
	0,14
Extrait MeOH des écorces de tronc de <i>T. catappa</i>	0,19
	0,67
Extrait EtOH des écorces de tronc de <i>T. catappa</i>	0,11
	0,32
	0,75
Digesté des feuilles de <i>K. crenata</i>	-

Tous les extraits des écorces de tronc de *T. catappa*, en particulier les extraits aqueux ont une forte activité antioxydante. Par contre le DPPH n'a révélé aucune activité antiradicalaire pour le digesté des feuilles de *Kalanchoe crenata*.

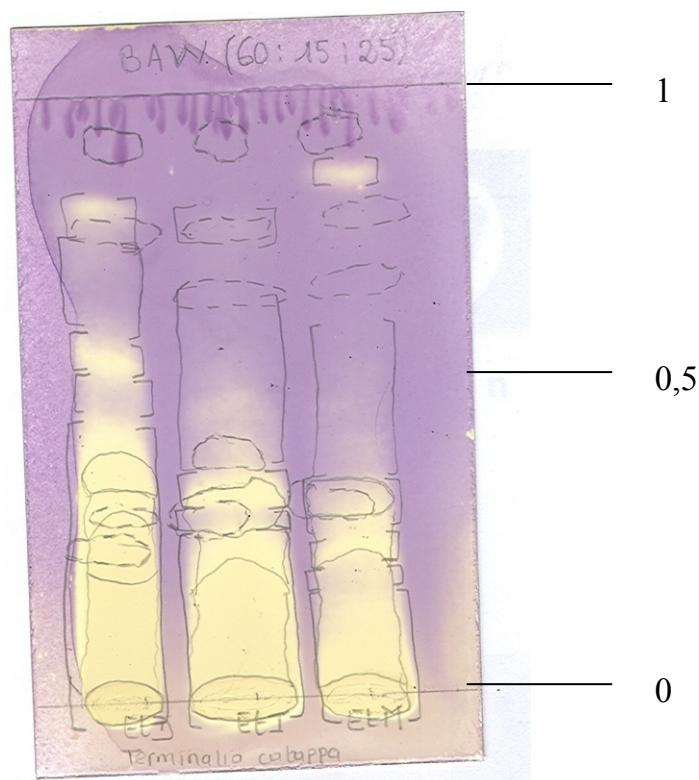


Figure 18: Chromatogramme représentant le décocté, l'infusé et le macéré aqueux des écorces de tronc de *T. catappa* révélés au DPPH

Front du solvant : 8 cm

Plaque de silice : G60 F₂₅₄ en aluminium

Dépôt : 8 μ L

Eluant : Butanol- Acide acétique- Eau (BAW) (60 :15 :25)

Révélateur : DPPH

Les résultats du test antioxydant réalisé sur les extraits apolaires des écorces de tronc de *Terminalia catappa* dans un système Ether de pétrole-Acétate d'Ethyle (4 :1 et 5 :2) après révélation par le DPPH ont montré des substances actives au point de dépôt.

En comparaison avec les extraits polaires, les extraits apolaires des écorces de tronc de *T. catappa* ont montré une faible activité antioxydante.

2.2.1.2- Activité antifongique

Tableau 20: Résultats du test antifongique de nos extraits

Extraits	Doses	Rf
Extrait DCM des écorces de tronc de <i>T. catappa</i>	100 µg	0,75
	300 µg	0,76
	600 µg	0,77
Extrait Ether de pétrole des écorces de tronc de <i>T. catappa</i>	600 µg	0,49
Nystatine	0,5 µg	0

Sur 11 extraits testés deux, l'extrait Dichlorométhane et l'extrait Ether de pétrole des écorces de tronc de *Terminalia catappa*, ont montré une activité sur *Candida albicans* comme l'indique le tableau n° 20.

2.2.1.3- Résultats des activités antibactériennes des extraits

Tableau 21: Diamètres d'inhibition des souches de *Staphylococcus aureus* par les extraits de plantes et les antibiotiques standards.

Extraits + Antibiotiques utilisés	Doses (µg)	Diamètres des zones d'inhibition (mm)
Décocté 10%, <i>Terminalia catappa</i>	500	13
	1000	7
Infusé 10%, <i>Terminalia catappa</i>	500	12
	1000	6
Macéré H ₂ O, <i>T. catappa</i>	500	12
Extrait Ether de pétrole, <i>T. catappa</i>	500	11
	1000	10
Extrait Dichlorométhane, <i>T. catappa</i>	500	10
	1000	8
Digesté, <i>K. crenata</i>	500	7
Chloramphénicol	30	25 (S)
Kanamycine	30 UI	20 (S)
Pristinamycine	15	30 (S)
Oxacilline	5	13 (R)
Erythromycine	15 UI	33 (S)

S= Sensible

R= Résistant

UI= Unité internationale

L'extrait le plus actif (13 mm) sur *Staphylococcus aureus* est le décocté 10 % à la dose de 500 µg. Par contre le moins actif est l'infusé à 1000 µg.

Tableau 22: Diamètres d'inhibition des souches de *Escherichia coli* par les extraits de plantes et les antibiotiques standards.

Extraits + Antibiotiques utilisés	Doses (µg)	Diamètres des zones d'inhibition (mm)	
		<i>E.coli</i> (souche clinique)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)
Décocté 10%, <i>Terminalia catappa</i>	1000	10	-
Macéré H ₂ O, <i>T. catappa</i>	500	7	-
	1000	9	-
Macéré EtOH, <i>T. catappa</i>	500	7	-
	1000	10	8
Extrait Ether de pétrole, <i>T. catappa</i>	500	8	-
Extrait Dichlorométhane, <i>T. catappa</i>	1000	10	-
Décoction épuisé, <i>T. catappa</i>	1000	-	8
Digesté, <i>Kalanchoe sp.</i>	500	8	-
	1000	-	8
Feuilles fraîches, <i>K. crenata</i>	1000	7	-
Norfloxacine			
	10	0	-
Tetracycline			
	30	0	-
Amikacine			
	30	15 (I)	22 (S)
Ciprofloxacine			
	5	0	-
Chloramphénicol			
	30	18 (I)	-
Cefsulodine			
	30	-	0
Doxycycline			
	30	-	22 (S)
Nitroxoline			
	20	-	20 (S)
Pefloxacine			
	5	-	30 (S)
Amoxicilline+Ac. clavulanique			
	20+10	-	17 (I)
Ceftriaxone			
	30	-	32 (S)

S= Sensible R= Résistant I= Intermédiaire -= Diamètre non déterminé

Les extraits décocté (10 mm), macéré éthanolique (10 mm) et dichlorométhane (10 mm) ont été les plus actifs sur *Escherichia coli*(souche clinique)avec des doses respectivement de 1000 µg pour les trois extraits.

Sur *Escherichia coli* (souche de référence), les extraits pour lesquels nous avons observés des zones d'inhibition sont l'extrait éther de pétrole (8 mm) et le décocté

épuisé (8 mm) pour *T. catappa* et le digesté (8 mm) pour *K. crenata* aux doses de 1000 µg.

Tableau 23: Diamètres d'inhibition des souches de *Streptococcus* β-hémolytique par les extraits des plantes et les antibiotiques standards.

Extraits + Antibiotiques utilisés	Doses (µg)	Diamètres des zones d'inhibition (mm)
Décocté 10%, <i>Terminalia catappa</i>	1000	8
Infusé 10%, <i>T. catappa</i>	1000	7
Macéré H ₂ O, <i>T. catappa</i>	1000	6
Extrait Ether de pétrole, <i>T. catappa</i>	1000	7
Extrait MeOH, <i>T. catappa</i>	1000	7
Feuilles fraîches, <i>K. crenata</i>	1000	8
Antibiotiques standards		
Streptomycine	10	17 (S)
Pénicilline	6	24 (I)
Ampicilline	10	26 (S)
Erythromycine	15 UI	26 (S)
Kanamycine	30 UI	30 (S)
Pristinamycine	15	24 (S)
Lincomycine	15	24 (S)

Le plus grand diamètre (8 mm) a été obtenu avec le décocté de *T. catappa* et les feuilles fraîches de *K. crenata*.

Tableau 24: Diamètres d'inhibition des souches de *Klebsiella pneumoniae* par les extraits des plantes et les antibiotiques standards.

Extraits + Antibiotiques utilisés	Doses (µg)	Diamètres des zones d'inhibition (mm)
Digesté, <i>K. crenata</i>	500	7
	1500	10
Ciprofloxacine	5	30 (S)
Amikacine	30	24 (S)
Chloramphénicol	30	8 (R)
Colistine	10	14 (S)
Gentamicine	10	21 (S)
Amoxicilline	25	0

Nous avons obtenu de faibles résultats avec le test antibactérien sur *Klebsiella pneumoniae*. Seul le digesté de *K. crenata* a montré de faibles zones d'inhibition avec 7 mm pour 500 µg et 10 mm pour 1500 µg.

Tableau 25: Diamètres d'inhibition des souches de *Proteus mirabilis* par les extraits des plantes et les antibiotiques standards.

Extraits + Antibiotiques utilisés	Doses (µg)	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)
Décoction 10%, <i>Terminalia catappa</i>	500	7
	1000	7
Macéré H ₂ O, <i>T. catappa</i>	1000	9
Digesté épuisé, <i>T. catappa</i>	500	6
	1000	7
Décocté épuisé, <i>T. catappa</i>	500	6
	1000	6
Macéré EtOH, <i>T. catappa</i>	500	7
Extrait Dichlorométhane, <i>T. catappa</i>	500	9
Extrait MeOH, <i>T. catappa</i>	500	9
Feuilles fraîches, <i>K. crenata</i>	500	8
Digesté, <i>K. crenata</i>	500	8
	1000	6
Cefsulodine	30	0
Doxycycline	30	15 (R)
Nitroxoline	20	11 (R)
Amikacine	30	17 (I)
Pefloxacin	5	21 (I)
Amoxicilline+Ac. clavulanique	20+10	20 (I)
Ceftriaxone	30	27 (S)

Les plus grands diamètres d'inhibition (9 mm) ont été obtenus avec le macéré aqueux, l'extrait dichlorométhane et l'extrait méthanolique de *T. catappa*.

2.2.1.4- Résultats de l'Activité sur la fixation du complément

Tableau 26 : Détermination de la concentration inhibitrice 50 des différents extraits de *T. catappa* et de *K. crenata*.

Extraits	ICH ₅₀ (µg/mL)
PM II	144,83
Décocté, Tc	44,83
Infusé, Tc	17,23
Macéré, Tc	17,24
Digesté, Kc	Inactif

Tc : *Terminalia catappa*

Kc : *Kalanchoe crenata*

ICH₅₀ : Concentration inhibitrice 50

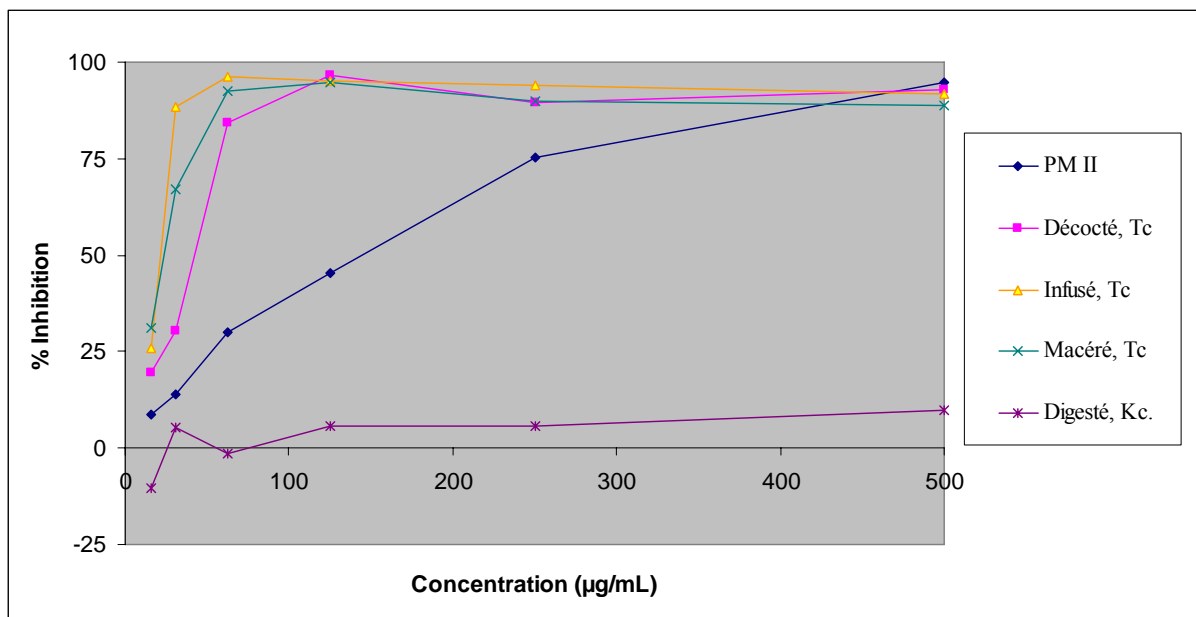


Figure 19 : Courbes représentant les résultats de l'activité sur la fixation du complément de nos différents extraits.

L'infusé et le macéré obtenus à partir des écorces de tronc de *T. catappa* ont montré une forte activité de fixation du complément avec des ICH_{50} de 17,23 et 17,24 $\mu\text{g/mL}$ comparativement au PMII qui inhibe 50 % de l'hémolyse à la dose de 144,83 $\mu\text{g/mL}$.

2.2.1.5- Résultat de l'activité hémolytique

Aucun constituant du chromatogramme des extraits aqueux de *Terminalia catappa* obtenu avec le système de solvant B.A.W., n'a provoqué l'hémolyse des hématies de sang de mouton.

2.2.2- ACTIVITE BIOLOGIQUE IN VIVO

2.2.2.1- Résultats du suivi des animaux

Tableau 27 : Variation de masse des souris

Lots souris	Moyenne de la masse initiale (g)	Moyenne de la masse après 2 semaines en g (Ecart type)
Lot I	27,36	27,31 (\pm 0,05)
Lot II	31,02	33,27 (\pm 2,25)
Lot III	33,77	34,31 (\pm 0,54)
Lot IV	25,70	26,48 (\pm 0,78)
Lot V	35,91	39,09 (\pm 3,18)
Lot VI	34,02	34,3 (\pm 0,28)

Besoin alimentaire des souris : environ 0,15 à 0,2g/g de poids corporel ; Besoin hydrique des souris environ 0,15 à 0,35g/g de poids corporel (*Hoffmann, 1963*).

Nous avons observé une diminution du poids corporel seulement chez le lot I au bout de deux semaines.

Les lots II et V ont eu la plus grande augmentation.

2.2.2.2- Effets du décocté aqueux de *T. catappa* sur le poids corporel, deux organes cibles (foie et rate) et sur les paramètres hématologiques des souris.

Tableau 28 : Valeurs du poids corporel, poids et de la rate et les poids relatifs du foie, de la rate des animaux traités avec le décocté aqueux de *T. catappa*.

Lots traités	PCI (g)	PCF (g)	P Foie (g)	PR Foie (%)	P Rate (g)	PR Rate (%)
(I) Eau	39,48	39,48	1,57	3,97	0,26	0,66
(II) Décocté	32,81	28,54	1,18	4,13	0,13	0,42
(III) Eau+EG	26,13	23,30	0,86	3,69	0,12	0,52
(IV) Décocté+EG	34,88	35,71	1,47	4,12	0,20	0,56
(V) Eau+EGME	34,28	32,28	1,31	4,06	0,12	0,37
(VI) Décocté+EGME	35,32	29,79	1,30	4,36	0,18	0,60

EG : Ethylène glycol ; **EGME** : Ethylène glycol méthyl éther

PCI : Poids corporel initial ; **PCF** : Poids corporel final ; **PR**: Poids relatif ; **P**: Poids

Selon la littérature, nous reportons les valeurs normales par rapport au poids des organes cibles (*Hoffmann, 1963*).

Valeurs normales du poids du foie, de la rate et leurs poids relatifs :

- Poids du foie compris entre 1,7 g et 3,58 g avec comme moyenne 2,80 g ; et le poids relatif du foie est entre 5,76 g et 7,89 g avec comme moyenne 6,90 g ;
- Poids de la rate compris entre 0,10 et 0,42 g avec comme moyenne 0,24 g ; son poids relatif est entre 0,26 et 1,00 g avec comme moyenne 0,60 g.

Nous avons noté une diminution de poids corporel chez 4 lots sur 6. Les poids relatifs du foie et de la rate n'ont pas changé par rapport aux valeurs normales.

Tableau 29 : Effets du décocté aqueux de *T. catappa* sur les paramètres hématologiques des souris

Paramètres	Eau	Décocté	Eau + EG	Décocté + EG	Eau + EGME	Décocté + EGME
GR (mm ³)×10 ⁶	8,36	8,8	9,10	9,4	9,9	8,08
HGB (g/dL)	15,6	15,4	15,2	15,9	14,4	13,4
HCT (%)	48,8	47,3	45,9	49,6	44,6	42,8
PLA (mm ³)×10 ³	307	811	777	257	486	496
VGM (µm ³)	49	51	47	48	47	49
CCMH (g/dL)	32,0	32,5	33,1	32,1	32,3	31,3
GB (mm ³) ×10 ³	5,9	6,1	11,3	6,5	8,0	4,5
Lym (%)	54,6	57,9	64,5	57,8	49,7	38,9
Mon (%)	17,9	17,8	16,7	14,8	20,0	19,7
Gra (%)	27,5	24,3	18,8	25,4	30,3	41,4
N (%)	27,51	23,3	18,8	25,4	30,3	41,4
E (%)	00	00	00	00	00	00
B (%)	00	00	00	00	00	00

EG : Ethylène glycol

EGME : Ethylène glycol méthyl éther

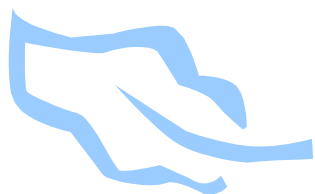
Selon la littérature, nous rapportons des paramètres biologiques des souris (*Mitruka et Rawnsley, 1977*) :

Globules rouges (GR) par $\text{mm}^3 = 8\text{-}9 \times 10^6$; Hémoglobine (HGB) en g/dL = 11,5-14,7 ;
Hématocrite (HCT) en % = 36,1-44,2 ; Plaquettes (PLA) par $\text{mm}^3 = 600\text{-}1200 \times 10^3$;
Volume corpusculaire moyen (VGM) en $\mu\text{m}^3 = 46,7\text{-}52,5$; Concentration
corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) en g/dL = 30,4-33,7 ; Globules
blancs (GB) par $\text{mm}^3 = 5,1\text{-}11,6 \times 10^3$

- Neutrophiles en % = 6,7 - 37,2
- Lymphocytes en % = 63 - 75
- Monocytes en % = 0,7 - 2,6
- Eosinophiles en % = 0,9 - 3,8
- Basophiles en % = 0 - 1,5



ANALYSES
ET
DISCUSSION

A graphic of a scroll with a black outline and rounded corners. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curving inward. The text "ANALYSES ET DISCUSSION" is written in a blue, bubbly, 3D-style font across the center of the scroll.

3- ANALYSES ET DISCUSSION

Notre travail a porté sur l'étude de la phytochimie et des activités biologiques de *Terminalia catappa* L. et de *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. qui sont deux plantes utilisées en médecine traditionnelle gabonaise et à qui on confère de grandes propriétés thérapeutiques.

Dans la littérature, ces deux plantes sont très largement utilisées en médecine traditionnelle. En effet la sève des feuilles de *K. crenata* est utilisée communément contre les otites. Le décocté des feuilles est utilisé contre l'asthme et le macéré sert à calmer les palpitations (*Burkill, 1985*). *T. catappa* communément appelé badamier, est une plante reconnue pour ses propriétés antibactériennes et antifongiques (*Burkill, 1985*). Le décocté des écorces est utilisé comme antidiarrhéique mais également pour soigner les plaies et les blennorragies (www.naturia.per.sg). L'indication de *T. catappa* dans le traitement de l'anémie a été notée mais aucune étude à ce propos n'a été rapportée dans la littérature à date . C'est pour mieux comprendre le mécanisme d'action de ces plantes et vérifier les propriétés thérapeutiques des écorces de tronc de *T. catappa* dans la prise en charge des anémies et vue la prévalence élevée de cette affection que cette étude a été effectuée.

Cependant il nous a été difficile de dresser une étude comparative de nos résultats avec ceux des travaux antérieurs vu qu'aucune étude n'a été faite sur *T. catappa* concernant le traitement de l'anémie et que c'est la première fois qu'un travail du genre est réalisée au DMT.

Le screening phytochimique de nos deux plantes a révélé la présence de mucilages, de stérols et triterpènes, de leucoanthocyanes avec une prédominance des tanins et des hétérosides cardiotoniques respectivement pour *T. catappa* et pour *K. crenata* pour qui

les leucoanthocyanes ont donné une réaction louche dont la présence n'a pas été confirmé par CCM.

Les hétérosides cyanogénétiques, les coumarines, les caroténoïdes, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponosides, les quinones et les anthracénosides étaient absents aussi bien dans les écorces de tronc de *T. catappa* que dans les feuilles fraîches de *K. crenata*.

Fofana en 2004, a trouvé dans les feuilles de *T. catappa* en Côte d'Ivoire, en plus des substances chimiques citées plus haut, des flavonoïdes, des saponosides et des quinones. Ses travaux lui ont aussi permis de trouver des protéines, des glycoprotéines et des polysaccharides.

Les CCM ont permis de confirmer la présence de certains groupes chimiques comme les tanins par l'apparition d'une coloration bleu noirâtre.

La présence de tanins dans nos écorces de tronc de *T. catappa* concorde avec Creté (Creté, 1975) à savoir que les *Combretaceae*, principalement le genre *Terminalia*, sont des plantes riches en tanins. Selon Burkill (Burkill, 1985), les écorces et les fruits de *T. catappa* contiendraient 6-20 % de tanins. Ceci pourrait expliquer les résultats biologiques de cette plante qui ont montré une forte activité antioxydante. Ce constat est intéressant vue l'importance accordée actuellement aux composés antioxydants. En effet, plusieurs études épidémiologiques ont mis en évidence le fait que les antioxydants protègent l'organisme contre les cancers et autres maladies cardiovasculaires (Pincemail et al., 1999).

Les polyphénols, en particulier les tanins, et plus précisément les tanins catéchiqes, grâce à leurs propriétés astringente et veinotrope, renforcent la résistance des vaisseaux et empêchent ainsi la fuite du sang. Cette propriété hémostatique pourrait être bénéfique dans le cas de la prise en charge des anémies.

L'abondance de ces antioxydants pourrait aussi indiquer notre plante dans le traitement ou la prévention de l'inflammation (Pincemail et al., 1999). En effet, les radicaux libres, que les antioxydants piègent, oxydent les phospholipides en prostaglandines qui sont les progéniteurs des médiateurs de l'inflammation.

D'autres constituants ont été mis en évidence par CCM suite à l'observation aux rayons UV. Nous avons noté la présence de constituants UV actifs à 254 nm et des fluorescences à 366 nm.

La révélation avec le réactif de Godin nous a permis de confirmer la présence de stérols et triterpènes dont l'intérêt thérapeutique en fait un groupe de métabolites secondaires de première importance vu ses potentialités thérapeutiques dans les domaines les plus variés : anti-inflammatoire, analgésique, molluscicide et cytostatique (*Bruneton, 1993*).

La majorité des constituants de ces plantes ont une affinité plus marquée pour les solvants polaires : 16 % des substances contenues dans les écorces de tronc de *T. catappa* et 19 % des substances contenues dans les feuilles fraîches de *K. crenata* sont extractibles par l'éthanol contre 13,8 et 4 % par l'eau respectivement pour *T. catappa* et *K. crenata*.

Les résultats de l'ionogramme de nos extraits montrent leur richesse en éléments minéraux. Le plus riche est le décocté des écorces de tronc de *T. catappa*. La présence du Na dans les écorces de cette plante, pourrait expliquer le fait qu'elle est utilisée traditionnellement contre la diarrhée. En effet le sodium est reconnu pour sa capacité de rétention hydrique ce qui permet de lutter contre un effet secondaire majeur de la diarrhée : la déshydratation. Cette propriété pourrait également être bénéfique dans le cas d'une hypovolémie sanguine rencontrée au cours d'une anémie.

Le décocté des écorces de *T. catappa* présente 45,50 % de polysaccharides constitués essentiellement de glucose (87,48 %). Une des indications du glucose est la réhydratation habituelle et la prévention des déshydratations (*Bruneton, 1993*) : propriété qui appuie celle du Na⁺.

De plus, il est scientifiquement reconnu que les tanins possèdent des propriétés anti diarrhéiques (*Bruneton, 1993*).

Tous les extraits de nos deux plantes possèdent plus 35 % de polysaccharides, ce qui est encourageant puisque les polysaccharides sont utilisés comme immunostimulants et donc renforcent le système immunitaire.

Cette propriété avait déjà été retrouvée chez les feuilles de *Terminalia catappa* par Fofana en 2004.

L'activité antifongique a été déterminée sur des souches cliniques de *Candida albicans*. L'extrait au dichlorométhane des écorces de tronc de *T. catappa* a été le plus actif à la dose de 100 µg. La zone d'inhibition est visible au Rf **0,75**. L'activité antifongique pourrait être due aux tanins et à la présence de stérols et triterpènes (Bruneton, 1993). Les tanins comme indiqué ci-dessus pourraient avoir une activité contre les champignons et les bactéries.

Plusieurs extraits se sont avérés actifs pour le test antibactérien sur cinq souches cliniques (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* β-hémolytique, *Proteus mirabilis* et *Klebsiella pneumoniae*) et une souche de référence (*Escherichia coli* ATCC 25922). Les diamètres des zones d'inhibition vont de 7 à 12 mm. L'extrait le plus actif a été le macéré aqueux de *T. catappa* à la dose de 500 µg avec une zone d'inhibition de 12 mm sur *Staphylococcus aureus* (Tableau 26). Sur *Streptococcus* β-hémolytique, les extraits les plus actifs ont été le décocté de *T. catappa* (8 mm) et le digesté de *K. crenata* (8 mm) à la dose de 1000 µg.

L'activité antibactérienne de ces plantes pourrait s'expliquer par la présence de substances polyphénoliques (tanins). Selon de nombreux auteurs (Bruneton, 1993 ; Ybert et al., 2001), les composés polyphénoliques possèdent des propriétés antibactériennes. 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 activités antibactériennes détectées pourraient être bénéfiques dans le traitement des hémolyses bactériennes.

Pour ce qui est du test de fixation du complément, le décocté, l'infusé et le macéré aqueux de *T. catappa* ont montré une très forte activité sur la fixation du complément avec des ICH_{50} , pour l'infusé et le macéré, de 17,24 $\mu\text{g/mL}$ comparativement au PMII qui inhibe 50 % de l'hémolyse à la dose de 144,83 $\mu\text{g/mL}$. Ceci montre le fort potentiel de ces extraits à empêcher les hémolyses provoquées par le complément.

Par contre le digesté de *Kalanchoe crenata* a présenté une faible activité.

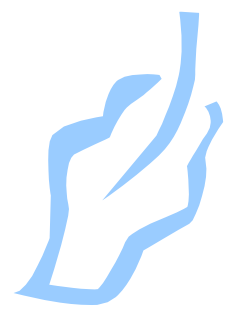
Pour ce qui est du test biologique *in vivo*, les produits hématotoxiques utilisés, n'ayant pas provoqué d'anémie, le test antianémique n'a pas pu être réalisé.

Cependant, nous constatons que le décocté aqueux de *T. catappa* à la dose de 100 mg/kg par jour pendant 8 jours n'affecte pas les paramètres hématologiques des souris par rapport au lot témoin et aux valeurs rapportées dans la littérature (Ghanayem, 1996). Ce résultat confirme l'absence de constituants pouvant provoquer l'hémolyse selon la révélation du chromatogramme des extraits de *T. catappa* avec le sang de mouton.

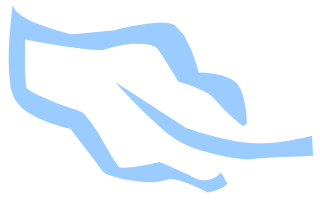
Dans l'ensemble, tous les lots ont eu une légère augmentation non significative par rapport au poids initial.

L'éthylène glycol et l'éthylène glycol méthyl éther (EGME), se manifeste chez les animaux par une hypoplasie cellulaire : diminution des progéniteurs, en particulier des granulocytes, avec comme conséquence, une leucopénie, une neutropénie et une déplétion lymphocytaire suite à l'effet immunosuppresseur du produit (Ghanayem, 1996).

Les souris du lot traité avec le décocté aqueux de *T. catappa* et l'EGME, présentent une diminution des globules blancs (leucopénie) et des lymphocytes, ce qui pourrait avoir comme conséquence, une diminution de la défense immunitaire.



**CONCLUSION
ET
RECOMMANDATIONS**



CONCLUSION

La médecine traditionnelle reste encore le 1^{er} recours pour plus de 80 % de la population africaine à cause de l'inaccessibilité des médicaments conventionnels et des concepts culturels.

Les études phytochimiques nous ont permis de connaître la composition chimique de nos deux plantes dont les principaux sont, pour *Terminalia catappa*, les tanins et pour *Kalanchoe crenata*, les hétérosides cardiotoniques.

Les résultats des études pharmacologiques qui ont consisté en la réduction du DPPH, à rechercher l'activité antibactérienne et antifongique, à tester la fixation de nos extraits sur le complément et les effets de nos extraits sur les souris ainsi que les propriétés pharmacologiques reportées dans la littérature pourraient confirmer l'utilisation médicinale traditionnelle de nos deux plantes.

Il serait cependant utile de mener des tests plus poussés sur *K. crenata* afin d'en déterminer les propriétés.

La plupart des extraits testés, pour leurs activités biologiques, ont montré une efficacité notable. *T. catappa* a montré un fort pouvoir antioxydant et une importante activité sur la fixation du complément, ce qui pourrait lui conférer des propriétés antianémiques. Cependant, l'activité antianémique *in vivo* des extraits de *T. catappa* n'a pas donné les résultats escomptés vu les difficultés rencontrées dans l'application du protocole de l'anémie provoquée.

Les activités confirmées de nos recherches, en plus de celles rapportées dans la littérature pourraient justifier l'utilisation de cette plante comme antianémique.

La triple propriété antianémique, anti inflammatoire et antibactérienne des extraits de *T. catappa* pourrait être un atout supplémentaire pour le traitement de l'anémie hémolytique, inflammatoire et des hémolyses bactériennes.

D'autres travaux sont donc nécessaires pour confirmer l'activité des extraits de *T. catappa* dans le traitement de l'anémie.

Au terme de notre étude nous espérons, avec nos résultats, avoir participé à la valorisation de la médecine traditionnelle pour parvenir à la disponibilité de médicaments à base de plantes médicinales efficaces et accessibles pour le traitement de l'anémie.

RECOMMANDATIONS

❖ Au D.M.T. :

de poursuivre les investigations sur Terminalia catappa dans la prise en charge de l'anémie en utilisant d'autres produits pouvant provoquer l'anémie et de mener des tests plus poussés sur Kalanchoe crenata afin d'en déterminer les propriétés ;

❖ Aux populations :

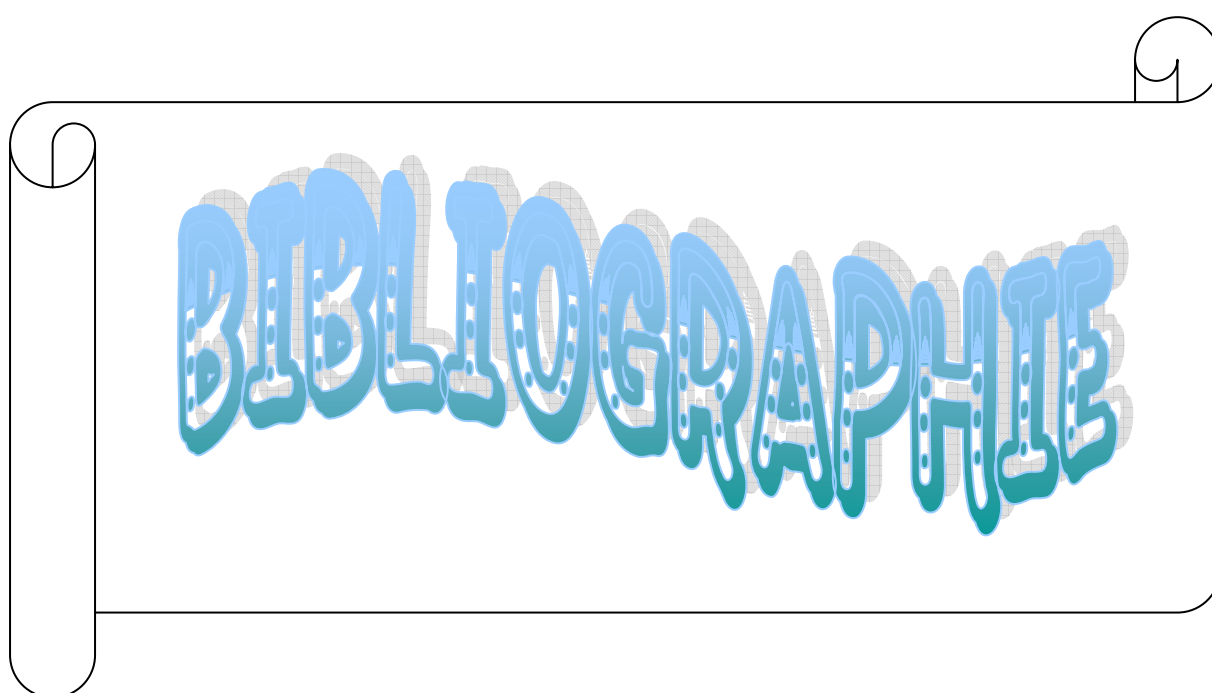
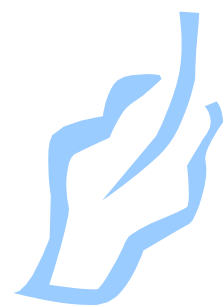
l'utilisation parcimonieuse de la flore afin d'éviter la disparition de certaines espèces ;

❖ Aux tradipraticiens de santé :

de développer la collaboration avec les structures spécialisées pour l'étude pharmacologique, phytochimique, toxicologique et clinique de leurs produits en vue d'en assurer l'efficacité, l'innocuité et la qualité ;

❖ Aux gouvernements des pays en voie de développement :

d'investir dans le secteur de la santé notamment celui de la médecine traditionnelle et, d'y développer des structures telles que le D.M.T. afin de réglementer la mise sur le marché des recettes traditionnelles.

A graphic of a scroll with a black outline and rounded corners. The scroll is unrolled, with the top and bottom edges showing the rolled-up part. The word "BIBLIOGRAPHIE" is written across the center of the scroll in a large, blue, bubbly, 3D-style font. The letters have a slight shadow and a grid-like texture on their surface.

BIBLIOGRAPHIE



BIBLIOGRAPHIE

1- ADJANOHOUN E., ALYI A. M., AKE ASSI L., BANIAKINA J., CHIBON P., CUSSET G. et Coll. : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Congo. ACCT éd., Paris, 1985 ; 97 p.

2- ADJANOHOUN E., ALYI A. M., AKE ASSI L., BANIAKINA J., CHIBON P., CUSSET G. et Coll. : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali., ACCT éd., Paris, 1985 ; 206 p.

3- AHMED M. S., AINLEY K., PARISH J. H. et HADI S. M. : Free radical-induced fragmentation of proteins by quercetin. Carcinogenesis. *Fitoterapia* ; 1992 ; P25-29.

4- ALLAIN P. : Les médicaments en pharmacologie. ESTEM, Paris, 1996 ; 413 p.

5- AMADOU B. S. : Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Combretum glutinosum* Per. DC. ; Thèse de Pharm., Bamako, 2005 ; 125 p.

6- ANDERSON C. M., HALLBERG A. et HOGBERG T. : Advances in the development of pharmaceutical antioxydants. *Adv. Drug. Res.*, 1996 ;28-65 ;180 p.

7- BAGAYOKO M. : Etude botanique et phytochimique de trois plantes médicinales en vue de la production d'un médicament amélioré (MTA). Thèse, Pharm., Bamako, Mali, 2001 ; 105 p.

8- BAUER S.W., SHERRIS J.C., THURCK M. : Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. *AmJ of Pathol*, 1996: 45: 493-496.

9- BEGUE P. : La maladie drépanocytaire. Sandos, Paris, 1984 ; 309 p.

10- BERNARD J., LEVY J.-P., VARET B., CLAUVEL J.-P., RAIN J. D., SULTAN Y. : Abrégé d'hématologie. Masson, Paris, 1996 ; P293-311.

11- BERNARDIN F. : Clinique et génétique de la drépanocytose ; Paris, Tome 125-08. 2003.

12- BESSIS M. : Cellules du sang : normales et pathologiques. Masson, Paris, 1972 ; P10-15.

13- BOSSOKPI I. P. L. : Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloïdes* Lam. (*Rutaceae*). Thèse de Pharm., Bamako, 2002.

14- BOULLARD B. : Dictionnaire des plantes médicinales du monde. Réalités et croyances. Editions ESTM, Paris, 2001 ; 573 p.

15- BRUNETON J. : Pharmacognosie : Phytochimie des plantes médicinales ; Technique et documentation – Lavoisier, Paris, 1993 ; 915 p.

16- BURKILL H. M. / Royal Botanic Gardens, Kew : The useful plants of west Africa; Volume 1; Families A-D. The White friars Press Limited, Great Britain, 1985; 960 p.

17- CAVIN A. : Investigation phytochimiques de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et radicalaires : *Tinospora crisp* (*Menispermaceae*), *Merrenia emarginata* (*Convolvulaceae*), *Orephera eneandra* (*Annonaceae*). Thèse de Doctorat, Lausanne, 1999 ; 243 p.

18- CHAMBERS R.E. and CLAMP J.R. : An assessment of methanolysis and other factors used in the analysis of carbohydrate – containing materials. *Biochemical Journal*, 25, 1009 – 1101.

19-CHETIMA N. M. : *Moringa oleifera* Lam. (*Moringaceae*) : Utilisations dans l'alimentation et la médecine; étude des activités antioxydantes et hypercholestérolémiantes. Thèse de Pharm., Bamako, 2004 ; 127 p.

20- CHEVALLEY I. : Contribution à l'étude phytochimique des saxifragaceae : Isolement d'antioxydants à partir des feuilles de *Saxifraga stellaris* L. et de *Saxifraga cuneifolia* L. et d'un composé antifongique de *Ribes rubrum* L. Thèse de Doctorat, Lausanne, 2000 ; 175 p.

21- CHEVALIER A. : Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse, Londres, 1996-2001.

22- CHYAU C. C., TSAI S. Y., KO P. T., MAU J. L. : Antioxydant properties of solvent extracts from *Terminalia catappa* leaves. Journal of Agricultural and Food chemistry; GBR; Vol-78; N°4; 2002; P483-488.

23- CRETE P. : Précis de botanique. Systématique des Angiospermes. Tome II, Edition 2 révisée, Faculté de Pharmacie, Masson, Paris, 1965 ; 429 p.

24- CUISINIER-RAYNAL J., FERRUS F., DUCORPS M. : Aspects actuels de la maladie drépanocytaire. Médecine et Armées. 1983 ; P11-121.

25- DEMBELE O. S. : Etude hématologique et épidémiologique des anémies en milieu hospitalier à Bamako ; Thèse de Méd., Bamako, 1980 ; P13.

26- DeMAYER E. et ADIELS-TEGMAN M. : La prévalence de l'anémie dans le Monde. Rapport trimestriel de statistiques sanitaires mondiales. 1985 ; 38 : 302-16.

27- DIALLO D., SIDIBE H., DIAKITE S., DOUMBIA S., YVART J., TCHERNIA G. : Prévalence de l'anémie du nouveau-né au Mali. Cahier Santé. 1994 ; 4 : 341-5.

28- DIALLO D. : Les anémies au Mali. Prévalence, groupes cibles, facteurs de risque, démarche du diagnostic, prise en charge du malade anémique. Mali Méd., 1999 ; XIV (1 et 2) : 17-9.

29- DIALLO D. : Drépanocytose au Mali en 2002. Mali Méd., 2002 ; Tome XVII, P37.

30- DICKO M. : Anémies par carence en fer, en vitamine B12, et en folâtes : Aspects diagnostics et thérapeutiques en médecine interne ; Thèse Méd., Bamako, 1997 ; P39.

31- Dictionnaire thérapeutique : Editions Afrique francophone. Médecine digest vidal. 2002.

32- DREYFUS B., BRETTON-GORRIUS J., ROCHANT H., REYES F., VERNANT J.-P. : Pathologie des globules rouges. Paris : Flammarion médecine – science ; P279.

33- FATTORUSSO V., RITTER O. : Vadémécum clinique : Du diagnostic au traitement ; 17^e édition. Masson, Paris, 2004. P480-589.

34- FOFANA S. : Exploration biochimique sur le pouvoir immunogène de 3 plantes en Côte d'Ivoire : *Alstonia boonei* (*Apocynaceae*), *Mitragyna ciliata* (*Rubiaceae*) et *Terminalia catappa* (*Combretaceae*). Thèse de Pharm., Bamako, 2004. 115 p.

35- FOURNIER E. et Coll. : Toxicologie- Biologie cellulaire appliquée à la sécurité des produits chimiques. 1993 ; 848 p.

36- GHANAYEM B. I. : An overview of the hematotoxicity of ethylene glycol monobutyl ethers. *Occup. Hyg.* 1996 ;2 :253 – 268.

37- GENTILLINI M. : Médecine tropicale. Flammarion, Paris, 1995 ; 928 p.

38- GUEDE-GUINA F. : Docteurs plantes mes amies. Collection EDUCI, 4^e trimestre. 2003 ; 45 p.

39- GUIGNARD J.-L. : Abrégé de botanique. Masson, Paris, 1996 ; 278 p.

40- HOFFMANN G. : Les animaux de laboratoire (Précis). Vigot Frères, Paris, 1963 ; 288 p.

41- HOSTETTMAN K. : Tout savoir sur le pouvoir des plantes, source de médicaments. Favre, Lausanne, 1997; 253 p.

42- INNGJERDINGEN K., COULIBALY A., DIALLO D., TERJE E. M. and BERIT SMESTAD P. : A complement Fixing Polysaccharides from *Biophytum petersianum* Klotzsch, a Medicinal Plant from Mali, West Africa. *Biomacromolécules*; 2006 ; 7(1): 48-53.

43- ISAACS-SODEYE W. A., SOFOWARA E. A., WILLIAMS A. O., MARQUIS V. O., ADEKUNLE A. and ANDERSON C. O. : Extract of *Fagara zanthoxyloïdes* root in sickle cell anaemia. Toxicology and preliminary clinical trials. *Acta Haematol.* 1975 ; 33,3,158 p.

44- ISERIN P. : Encyclopédie des plantes médicinales. Identification-Préparations- Soins. Paris, 2001 ; 335 p.

45- LEVALLOIS M.-P., Dr LEMAIRE V., BAT C., DELESALLE-FEAT T., CHASPOUL E. et Coll. : Larousse Médical. Larousse, Paris, 2004 ; 1919 p.

46- MERCK & Co, Inc : Encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals; The Merck Index, 12^e edition, New Jersey (USA), 1996; 360 p.

47- MITRUKA B. M. et RAWNSLEY H. M. : Clinical biochemical and haematological reference values in normal experimental animals. New York, Paris, Barcelona, Milan: Masson Publishing. USA Inc. 1977.

48- PINCEMAIL J., MEURISSE M., LIMET R., DEFRAIGNE J. O. : Méthode d'évaluation du stress antioxydant chez l'homme : importance en matière de prévention – Cancérologie – Ed Med 1 Sphère. 1999.

49- RAHALISON L., HAMBURGER M., HOSTETTMANN K., MONOD M., FRENK E. : A bioautographic agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants: *Phytochemical Analysis*, 1991: 2: 199-203.

50- SCHORDERET M. et Coll. : Pharmacologie : des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Frison Roche, Paris, Slatkine et Genève, 1989 ; 918 p.

51- SOUMANO C. : Connaissances et attitudes des mères face à la prise en charge de l'enfant drépanocytaire dans les ménages à Bamako. Thèse Méd., Bamako, 2004.

52- TAKAO T., KITATANI F., WATANABE N., YAGI A., SAKATA K. : A simple screening methode for antioxydants and isolation of several antioxydants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Bioscience. Biotechnology and Biochemistry*. 1994. 58 : 1780 – 83.

53- YBERT E., DE LAAGE DE MEUX A. : Encyclopédie des plantes médicinales :
identification, préparation, soins. Larousse / VUEF., Paris, 2001 ; 335 p.

www.calhortsociety.org

www.esculape.com/textes/antioxydant.html, 30/11/2003

www.hematologyatlas.com

www.leucémie-espoir.org

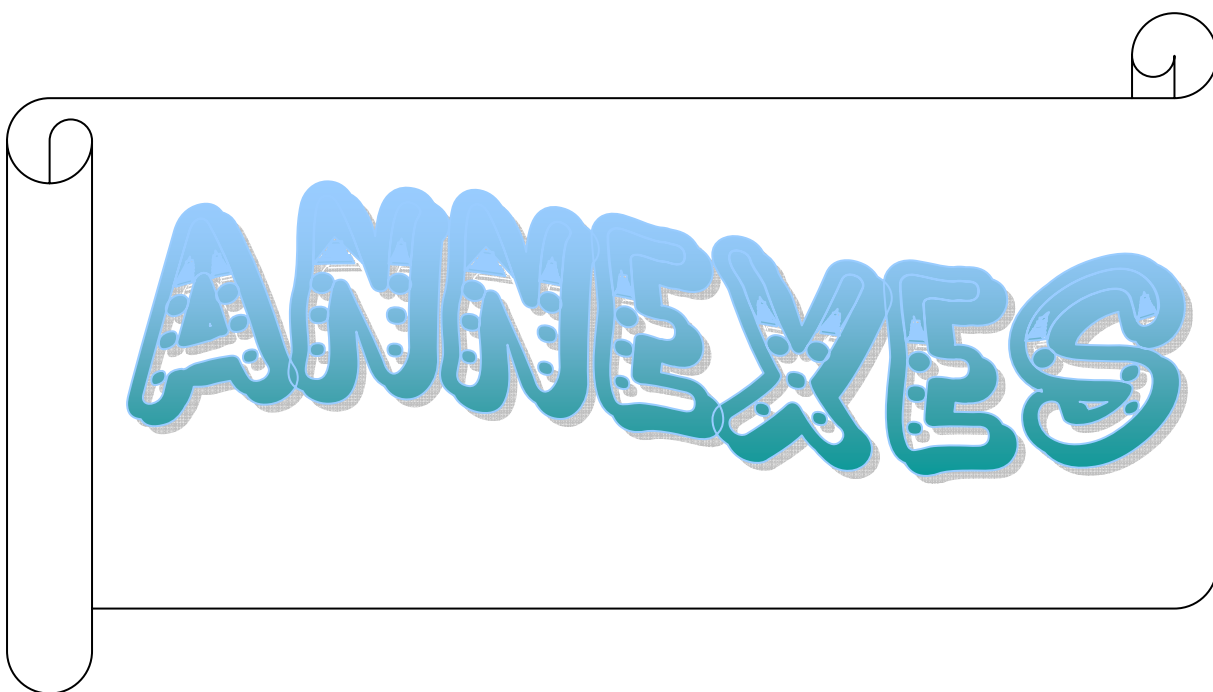
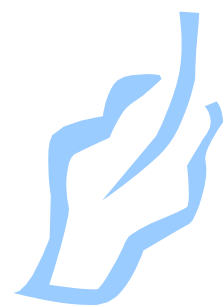
www.naturia.per.sg

www.prévention.ch

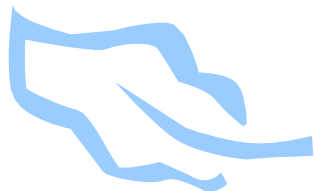
www.tropilab.com

http://www.who.int/topics/anaemia/who_unicef_anaemiastatement_fr.pdf,

Organisation mondiale de la santé, 2005

A graphic of a scroll with a black outline and rounded corners. The scroll is unrolled, showing the word "ANNEXES" in a large, bubbly, blue-to-teal gradient font. The scroll has small circular details on its left and right edges, suggesting binding or stitching.

ANNEXES



ANNEXES

I- COMPOSITION DES REACTIFS

❖ Réactif de BALJET

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

❖ Réactif de DRAGENDORFF

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 diphenyl 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

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 picrique.....1 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.....6,77 g
Eau distillée q s p.....50 ml

❖ **Réactif de RAYMOND MARTHOUD**

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

II- VALEURS DE LA CONSTANTE A SELON LES SUCRES

Arabinose	0,36
Rhamnose	0,53
Xylose	0,38
Mannose	0,34
Galactose	0,34
Glucose	0,34
Acide galacturonique 1	0,06
Acide galacturonique 3	0,19
Acide glucuronique 1	0,11
Acide glucuronique 3	0,18

III- ALIMENTATION DES SOURIS

La formule pour l'alimentation des souris a été la suivante :

- Farine de maïs.....	50 kg
- Pâte d'arachide.....	20 kg
- Son de mil	17,5 kg
- Lait en poudre	7,0 kg
- Farine de poisson.....	3,0 kg
- Feuilles de salade pilées	2,0 kg
- Sel (sel gemme).....	0,5 kg
- Eau q s p /100 kg.....	38 L

FICHE SIGNALÉTIQUE

- Auteur** : Lewise Nathalie CAESAR
- Titre** : **Etude de la phytochimie et des activités biologiques de deux plantes utilisées en médecine traditionnelle gabonaise : *Terminalia catappa* L. (*Combretaceae*) et *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. (*Crassulaceae*).**
- Année universitaire** : 2006-2007
- Pays d'origine** : Gabon
- Ville de soutenance** : Bamako (République du Mali)
- Lieu de dépôt** : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie de l'Université de Bamako
- Secteur d'intérêt** : Pharmacognosie ; Recherche en Médecine traditionnelle.

RÉSUMÉ

Notre travail a porté sur l'étude de la phytochimie et des activités biologiques de *Terminalia catappa* L. et de *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. qui sont deux plantes utilisées en médecine traditionnelle au Gabon.

Le screening phytochimique réalisé sur les échantillons récoltés (écorces de tronc de *T. catappa* et feuilles fraîches de *K. crenata*) a mis en évidence différents groupes chimiques dont certains ont une importance reconnue dans le domaine de la médecine. C'est le cas des tanins à qui l'on confère plusieurs propriétés dont la propriété antioxydante.

Cette activité antioxydante a été confirmée par chromatographie sur couche mince et révélation au DPPH. Tous les extraits de *T. catappa* ont montré une très forte activité antioxydante.

Les extraits de nos deux plantes ont montré une activité antibactérienne et antifongique détectable. Les extraits les plus actifs sont l'extrait dichlorométhane pour

l'activité antifongique sur *Candida albicans* et le macéré aqueux de *T. catappa* avec une zone d'inhibition de 12 mm sur *Staphylococcus aureus* pour l'activité antibactérienne.

L'activité de fixation du complément a montré d'excellents résultats, ce qui pourrait justifier l'utilisation traditionnelle de *T. catappa* comme antianémique. Le test antianémique proprement dit devra être confirmé *in vivo*, nos conditions expérimentales ne nous ayant pas permis d'obtenir des résultats significatifs.

Mots clés : *Terminalia catappa* L. ; *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. ; médecine traditionnelle ; antioxydant ; complément ; antibactérien ; antifongique, anémie.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique ma profession, avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !

**ÉTUDE DE LA PHYTOCHIMIE ET DES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DE DEUX
PLANTES UTILISÉES EN MÉDECINE TRADITIONNELLE GABONAISE :
Terminalia catappa L. (COMBRETACEAE) ET *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw.
(CRASSULACEAE)**



THÈSE DE PHARMACIE



RÉSUMÉ

Notre travail a porté sur l'étude de la phytochimie et des activités biologiques de *Terminalia catappa* L. et de *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. qui sont deux plantes utilisées en médecine traditionnelle au Gabon.

Le screening phytochimique réalisé sur les échantillons récoltés (écorces de tronc de *T. catappa* et feuilles fraîches de *K. crenata*) a mis en évidence différents groupes chimiques dont certains ont une importance reconnue dans le domaine de la médecine. C'est le cas des tanins à qui l'on confère plusieurs propriétés dont la propriété antioxydante.

Cette activité antioxydante a été confirmée par chromatographie sur couche mince et révélation au DPPH. Tous les extraits de *T. catappa* ont montré une très forte activité antioxydante.

Les extraits de nos deux plantes ont montré une activité antibactérienne et antifongique détectable. Les extraits les plus actifs sont l'extrait dichlorométhane pour l'activité antifongique sur *Candida albicans* et le macéré aqueux de *T. catappa* avec une zone d'inhibition de 12 mm sur *Staphylococcus aureus* pour l'activité antibactérienne.

L'activité de fixation du complément a montré d'excellents résultats, ce qui pourrait justifier l'utilisation traditionnelle de *T. catappa* comme antianémique. Le test antianémique proprement dit devra être confirmé *in vivo*, nos conditions expérimentales ne nous ayant pas permis d'obtenir des résultats significatifs.

MOTS CLÉS

Terminalia catappa L. ; *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. ; médecine traditionnelle ; antioxydant ; complément ; antibactérien ; antifongique, anémie.