



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



Année académique : 2005-2006

N°....

THESE DE PHARMACIE

ETUDE DE DEUX RECETTES UTILISEES DANS LE TRAITEMENT TRADITIONNEL DE LA DYSMENORRHEE AU MALI.



Présentée et soutenue publiquement le 24 février 2006

A la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par



MAHAMAN DADDY GAOH Saadatou

Pour obtenir le grade de **Docteur en Pharmacie**
(DIPLOME D'ETAT)



Jury :

Président :

Pr. Boubacar Sidiki CISSE

Membre :

Pr. Mamadou TRAORE

Codirectrice de Thèse :

Dr. Rokia SANOGO

Directeur de Thèse :

Pr. Drissa DIALLO



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



Année académique : 2005-2006

N°.....

THESE DE PHARMACIE

**ETUDE DE DEUX RECETTES UTILISEES DANS
LE TRAITEMENT TRADITIONNEL DE LA
DYSMENORRHEE AU MALI.**

Présentée et soutenue publiquement le _____

A la faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie

Par

MAHAMAN DADDY GAOH Saadatou

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(DIPLOME D'ÉTAT)

Jury :

Président :

Pr. Boubacar Sidiki CISSE

Membre :

Pr. Mamadou TRAORE

Codirectrice de Thèse :

Dr. Rokia SANOGO

Directeur de Thèse :

Pr. Drissa DIALLO

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2005 – 2006.

DOYEN : MOUSSA TRAORE - PROFESSEUR

1^{er} ASSESSEUR : MASSA SANOGO - MAITRE DE CONFERENCES

2^{ème} ASSESSEUR : GANGALY DIALLO - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

SECRETAIRE PRINCIPAL : YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - MAITRE DE
CONFERENCES AGREGE

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 OUTTARA	Urologie

Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie- Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie viscérale
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïda SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sekou SIDIBE	Orthopédie – Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie – Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophtalmologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale et Traumatologie
Mr Issa DIARRA	Gynéco-obstétrique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie -Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mme Diénéba DOUMBIA	Anesthésie-Réanimation
Mr Mamadou L. DIOBANA	Stomatologie
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie

Mr Adama SANGARE	Orthopédie-Traumatologie
Mr Sanoussi BAMANI	Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophtalmologie
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie- Traumatologie
Mr Lamine TRAORE	Ophtalmologie
Mr Mady MAKALOU	Orthopédie-Traumatologie
Mr Aly TEMBELY	Urologie
Mr Niani MOUNKORO	Gynécologie-Obstétrique
Mr Tiemoko D. COULIBALY	Odontologie
Mr Souleymane TOGORA	Odontologie
Mr Mohamed KEITA	ORL

D.E.R DES SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoemryologie
Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa ARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie- Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

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	Radiologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-Entérologie- Hépatologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mr Bah KEITA	Pneumo-phtisiologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Léprologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr. Daouda K. MINTA	Maladies Infectieuses

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIABATE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie

Mr Mahamadou B.CISSE	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme DIARRA Assétou SOUCKO	Médecine Interne
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie
Mr Mahamadou TOURE	Radiologie
Mr Idrissa A CISSE	Dermatologie
Mr Mamadou B DIARRA	Cardiologie
Mr Anselme KONATE	Hépto-Gastro -Entérologie
Mr Moussa T. DIARRA	Hépto-Gastro-Entérologie
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie
Mr Soungalo DAO	Maladies Infectieuses
Mr Cheick Oumar GUINTO	Néphrologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique, Chef de D.E.R

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique
Mr Drissa DIALLO	Médicales

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boulkassoum HAIDARA	Législation
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Ababacar I. MAIGA	Toxicologie
Mr Yaya KANE	Galénique
Mme Rokia SANOGO	Pharmacognosie

5. ASSISTANTS

Mr Saïbou MAIGA

Législation

Mr Ousmane KOITA

Parasitologie Moléculaire

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA

Santé Publique, **Chef de D.E.R**

2. MAITRE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A MAIGA

Santé Publique

3. MAITRE DE CONFERENCES

Mr Sanoussi KONATE

Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G.TOURE

Santé Publique

Mr Adama DIAWARA

Santé Publique

Mr Hamadoun SANGHO

Santé Publique

Mr Massambou SACKO

Santé Publique

Mr Alassane A. DICKO

Santé Publique

5. ASSISTANTS

Mr Samba DIOP

Anthropologie Médicale

Mr Seydou DOUMBIA

Epidémiologie

Mr Oumar THIERO

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

**Je rends grâce à Dieu, Le Tout Miséricordieux, Le Très
Miséricordieux.**

Mon Dieu, je Te demande de nous accorder le bien de ce travail.

Gloire à Toi qui nous a permis de l'accomplir.

DEDICACES

A ma mère, Rakia ABOUBACAR,

Il n'existe de mots pour exprimer mes sentiments pour toutes ces années de don de soi de ta part. Je te dédie ce travail qui est la récompense de tes prières, de tous tes sacrifices et du grand réconfort que tu apportes tous les jours à tes enfants. Si j'ai pu réussir aujourd'hui c'est grâce à ton courage et aux valeurs que tu nous as inculquées. Que Dieu te garde maman !

A mon père, Mahaman DADDY GAOH,

Je ne puis trouver les mots pour t'exprimer ma reconnaissance pour avoir accepté que ta fille s'éloigne à des milliers de kilomètres du cocon familial pour étudier. Que ce travail soit la récompense pour la confiance que tu as pu mettre en moi.

Un enfant ne saura jamais assez remercier ses parents ; vous avoir auprès de moi sera toujours mon plus grand réconfort. Longue vie papa !

A ma tante Mme CISSE Hadjia Fatchima DADDY GAOH,

Vous avez toujours été là quand j'ai eu besoin de vous. Vous avez manifesté à mon endroit une grande attention qui m'a facilitée la vie et l'a agréementée. Ce travail est la reconnaissance de toute votre générosité et de votre gentillesse à mon égard. Puisse Dieu vous le reconnaître et vous prêter longue vie auprès des vôtres. Amen !

A mes frères et sœurs Oumalhère, Moussa, Rakia, Abdraman, Hadiza, Chaaïbou, Ismaël, Ramatou, Moustapha, Hadjara, Ibrahim, Mahamidou, Yacouba, Abdoul-Madjid, Leila, Chafaâtou et Roumanatou,

Ne perdez jamais l'esprit de solidarité et du partage. Ce travail est le mien mais aussi le vôtre. Puisse Dieu nous accorder sa grâce et guider nos pas dans cette vie. Amen !

A ma marâtre et à mes autres oncles et tantes,

Permettez moi de vous présenter à travers cet ouvrage ma gratitude et ma reconnaissance pour votre grand soutien.

A mon tuteur Mr. Hamidou Traoré et à toute sa famille

Vous m'avez accueilli avec beaucoup d'amour, ce qui m'a facilité l'intégration. Grâce à la chaleur de votre famille, jamais je ne me suis sentie seule et jamais je ne me suis sentie en étrangère dans ce Pays.

J'aimerai à travers cet ouvrage vous manifester toute ma reconnaissance et ma gratitude.

Merci pour tout.

MENTION SPÉCIALE

A l'université d'Oslo (Norvège) pour sa contribution à l'élaboration de ce travail à travers le programme CNRST-NUFU sur les plantes médicinales.

A mes camarades thésards du laboratoire du DMT : Mariam Traoré, Oumar Sidibé, Halima M. Sambo, Siaka Guindo, Ami Niaré, Sira Bâ, Mamou Diabaté, Dominique Arama, Fati Souley, Abdoulaye Siabana , Yacouba Diarra.

A mes promotionnaires de la faculté de pharmacie.

A mes amis du pays, Bello Kassoum Bello Djibril, Dr. Amarma Aminatou, Boubé Eggo Hadiza, mme Aougui Halima Abdouramane, Sahadatou Adamou.

A ma cousine chérie, Karima Barmou pour les bons moments passés ensemble et notre grande complicité.

A mes cousins et cousines qui sont au Mali, Bassirou Boubacar, Hadiza S. Gaoh, Soumaïla T. Daddy, Habibou Gounabi, Souleymane Issa SARKI, Absatou et Rahina Faria, Saratou Boubacar, mme Kangalé Dr. Walou Bedah Katzelma.

A Maurice Assogba, Dr Ly Ousmane, Souleymane Djouldé, Houdou Seyni, Adama Sacko, Adiza Amadou, Halima Karadié, mme Razina Ali Ada.

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

J'aimerais remercier le Doyen de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'odontostomatologie de l'université de Bamako, pour m'avoir accepté dans sa faculté.

Tous mes remerciements vont au MRTC (Malarial Reseah Training Center) de Bamako pour m'avoir permis d'utiliser son matériel informatique tout au long de mon cursus universitaire.

Aux Professeur Yaya Touré, Dr. Cheick Traoré, Dr. Abdoulaye Touré (MRTC) pour leurs conseils.

Mes remerciements vont également à l'endroit du personnel du laboratoire du DMT, Famolo Diarra, Kassoum Coulibaly, Abdel-Karim Fofana, Fagnan Sanogo, Maïmouna, Nandi, Fatim, Mme MAÏGA pour leur aide.

A Monsieur S. Samaké, Chef du service informatique de l'hôpital national du Point G, pour son soutien et ses conseils.

J'aimerais remercier Mme Kossi Dr. Salamatou Alzouma Abdou, pour son accueil et sa contribution à l'amélioration de ce travail. Grand merci.

Mes remerciements vont également à l'endroit de Monsieur Abdellah (MRTC) pour sa disponibilité et ses conseils.

A Mme Rabiou Hadjia Balkissa Daddy Gaoh. Je ne saurai jamais assez vous remercier. Permettez moi tante de vous exprimer toute ma gratitude pour votre grand soutien et tous vos conseils et prières.

A Hadjia Rabi Daddy Gaoh. Vous êtes de ceux qui ont toujours cru en moi et m'ont soutenus tout au long de mes études. Tous mes remerciements tante.

A mes tante et tonton Mme et Mr. Faria Gaoh pour leur grand accueil et leur gentillesse.

**HOMMAGE AUX MEMBRES
DU JURY**

A NOS MAÎTRES ET JUGES

A NOTRE MAÎTRE ET PRESIDENT DU JURY

Professeur Boubacar Sidiki CISSÉ

Professeur en toxicologie, responsable des cours de toxicologie et de phytopharmacie à la faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie, ancien recteur de l'université de Bamako, conseiller technique du ministre de la santé.

Cher maître, vous nous faites honneur en acceptant de présider ce jury et ce malgré vos lourdes responsabilités. Veuillez agréer, cher maître, l'expression de notre haute considération.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Professeur Mamadou TRAORÉ

Professeur agrégé en gynécologie et obstétrique à la faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie, médecin chef du centre de référence de la commune V, responsable des cours de gynécologie et d'obstétrique à la faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie.

Nous vous remercions, cher maître, de l'intérêt que vous portez à ce travail en acceptant de le juger. Veuillez agréer, cher maître, l'expression de nos sentiments respectueux.

A NOTRE MAÎTRE ET CODIRECTEUR DE THÈSE

Docteur Rokia SANOGO

Maître assistant en pharmacognosie, chargée de cours de matière médicale à la faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie (FMPOS).

Cher maître, tout au long de cette étude, nous n'avons cessé d'apprécier vos qualités humaines et votre dévouement à la recherche. Recevez, cher maître, l'expression de nos meilleurs sentiments.

A NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THÈSE

Professeur Drissa DIALLO

Maître de conférence agrégé en pharmacognosie, responsable des cours de pharmacognosie et de phytothérapie à la faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie (FMPOS), chef du département de médecine traditionnelle (DMT) de l'institut national de recherche en santé publique (INRSP).

Au cours de toutes ces années, nous avons apprécié la qualité des cours que vous nous avez dispensés. Cela nous a d'ailleurs motivé à venir dans votre service pour approfondir nos connaissances en médecine traditionnelle.

Vous nous avez accepté avec spontanéité et encadré avec tant de patience et de rigueur. Soyez rassuré cher maître de notre grande admiration et de toute notre reconnaissance.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	I
ABREVIATIONS, SYMBOLES ET CONVENTIONS.....	III
1 INTRODUCTION	1
2 MOTIVATION.....	2
3 OBJECTIFS.....	3
3.1 OBJECTIF GENERAL.....	3
3.2 OBJECTIFS SPECIFIQUES	3
4 TRAVAUX ANTERIEURS	4
4.1 RAPPEL SUR LA MENSTRUATION.....	4
4.2 DYSMENORRHEE	5
4.3 INFLAMMATION.....	8
4.4 LA DOULEUR.....	13
4.5 TRAITEMENT DE LA DYSMENORRHEE	19
4.6 LES ANTIOXYDANTS.....	23
4.7 MONOGRAPHIE DES TROIS PLANTES DU "NEFARALIWONA"	30
4.7.1 ZANTHOXYLUM ZANTHOXYLOIDES WATERMANN	30
4.7.2 XIMENIA AMERICANA L.....	37
4.7.3 EUPHORBIA SUDANICA A. CHEVALIER.....	45
4.8 RECETTE A BASE DE ARISTOLOCHIA ALBIDA DUCHARTRE.....	50
4.8.1 MONOGRAPHIE DE ARISTOLOCHIA ALBIDA DC.....	50
5 TRAVAUX PERSONNELS.....	57
5.1 LI EU	57
5.2 MATERIELS.....	57
5.3 REACTIONS DE CARACTERISATION.....	58
5.3.5 CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (C.C.M.).....	73
5.4 TESTS BIOLOGIQUES.....	75
6 RESULTATS.....	82
6.1 RESULTAT DU CONTROLE DE QUALITE DE LA MATIERE VEGETALE.....	82

6.2	RESULTAT DE LA STANDARDISATION.....	82
6.3	RESULTAT DES REACTIONS DE CARACTERISATION.....	83
6.3.1	RESULTAT DES REACTIONS EN TUBE.....	83
6.3.2	RESULTAT DES DOSAGES.....	84
6.3.3	RESULTAT DES EXTRACTIONS.....	85
6.3.4	RESULTAT DE LA CHROMATOGRAPHIQUE MINCE (CCME SUR COU).....	87
6.4	RESULTAT DES TESTS BIOLOGIQUES.....	95
7	COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....	101
8	CONCLUSION.....	105
9	REFERENCES.....	107

ABREVIATIONS, SYMBOLES ET CONVENTIONS

λ_{max} .	Longueur d'onde maximale
%	Pourcentage
%Aug.	Pourcentage d'augmentation
%Inh.	Pourcentage d'inhibition
AcOEt	Acétate d'éthyle
AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
BAW	Butanol acide acétique eau
CCM	Chromatographie sur couche mince
CNAM	Centre National d'Appui à la lutte contre les Maladies
COX-1	Cyclo-oxygénase 1
COX-2	Cyclo-oxygénase 2
DCM	Dichlorométhane
Déc. H ₂ O	Décocté aqueux
DL ₅₀	Dose létale moyenne (ou 50)
DMT	Département de Médecine Traditionnelle
DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle
EMEA	The European Agency for the Evaluation for Medicinal Products.
EN	Echelle numérique
EtOH	Ethanol
EVA	Echelle visuelle analogique
EVS	Echelle verbale simple
Ext.	Extrait
Ext. DCM	Extrait au dichlorométhane
Ext. EtOH	Extrait éthanolique
Ext. MeOH	Extrait méthanolique
FAO	Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
h	Heure
IASP	Association internationale pour l'étude de la douleur
Ig	Immunoglobuline
Im	Indice de mousse
i.m.	Intramusculaire

i.p.	Intrapéritonéal
i.v.	Intraveineuse
LC/MS	Chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse
LC/UV	Chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie ultraviolet.
LTE	Leucotriène
MeOH	Méthanol
mn	minute
m.a.	Masse active
nm	Nanomètre
OF ₁	Oncins France Souche 1
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PAF	Facteur d'agrégation plaquettaire
PE	Prise d'essai
pds.c.	Poids corporel
<i>per os</i>	voie orale
PGD	Prostaglandine
PNUE	Programme des Nations Unies pour l'Environnement
Rf	Facteur de rétention
RMN	Résonance magnétique nucléaire
Spp.	Espèce
SOD	Superoxyde
TXB	Thromboxane
UV	Ultraviolet
UE	Union européenne

1 INTRODUCTION

L'ovaire est un organe dynamique qui change de taille et d'activités tout au long de la vie. Il est au centre des modifications physiologiques qu'une femme subit, avant, durant et après sa vie de reproduction. Certains cycles menstruels, élément clé de la reproduction, sont accompagnés de troubles dont la dysménorrhée. La dysménorrhée désigne les phénomènes douloureux qui précèdent ou accompagnent les règles. Il s'agit essentiellement de douleurs pelviennes qui peuvent s'accompagner de différents symptômes : troubles digestifs, céphalées, oedèmes et lipothymie.

Ces douleurs sont souvent invalidantes et isolantes ; elles revêtent une dimension sociale et économique évidente suite aux perturbations qu'elles engendrent dans la vie des femmes et l'absentéisme dont elles sont responsables tant à l'école qu'au travail (Hédon et *al.* (1998).

La pudeur ou les raisons culturelles peuvent empêcher certaines femmes à consulter. Certaines pensent qu'il n'y a rien à faire ou elles ont déjà essayé des médicaments sans succès. Par conséquent il est difficile d'estimer correctement la fréquence de cette affection. Selon Lansac et Lecomte (1994) un tiers des femmes souffrent au moment de leurs règles ce qui conduit à un absentéisme chez 10 à 15 % des jeunes filles ; 5 à 10 % de jeunes femmes et 2 à 5 % de jeunes mères (la plupart des dysménorrhées apparues chez la jeune femme disparaissent après sa première maternité).

La dysménorrhée est un réel problème de santé publique car en plus d'être invalidante, ces douleurs conduisent à une forte automédication chez certaines femmes qui utilisent des calmants de la douleur, à savoir des analgésiques. Malheureusement ces médicaments comportent d'énormes effets secondaires que ces femmes ignorent ou négligent.

Selon un rapport de l'OMS sur une enquête effectuée en 1991 par l'agence américaine pour le développement international, il a été constaté qu'en Afrique subsaharienne, les tradipraticiens sont plus nombreux que les agents de la santé à raison de 100 tradipraticiens pour un agent de la santé. Par ailleurs, ces derniers se trouvent principalement dans les villes ou autres zones urbaines. En conséquence, pour de nombreuses populations rurales, la médecine traditionnelle est la seule source de soins de santé disponible. Les plantes médicinales constituent alors des ressources précieuses pour la grande majorité de cette population mais aussi pour l'industrie pharmaceutique : 25% des médicaments modernes sont préparés à partir de plantes qui au départ ont été utilisées traditionnellement.

L'OMS est arrivé à la déduction suivante : L'accès à des thérapies traditionnelles sûres et efficaces pourrait être déterminant pour le développement des soins de santé et cela vu que plus d'un tiers (1/3) des habitants des pays en développement n'ont pas accès aux médicaments essentiels.

En réponse aux défis croissants dans le domaine de la médecine traditionnelle, en 2002 l'OMS a élaboré sa première stratégie de travail exhaustive en matière de médecine traditionnelle pour 2002-2005 qui aborde entre autre les problèmes relatifs à l'accès, l'innocuité, l'efficacité et l'usage rationnel de la médecine traditionnelle.

Dans le cadre de notre travail nous apporterons une contribution à l'étude de la racine de *Aristolochia albida* Dc. (duman douchi) (*Aristolochiaceae*) et du lot N° 405a de la recette "NEFARALIWONA" utilisées traditionnellement dans le traitement de la dysménorrhée.

Le "Néfaraliwona" est un mélange de poudres de la racine de *Ximenia americana* L. (*Olacaceae*), de la tige de *Euphorbia sudanica* (*Euphorbiaceae*) et des écorces de racine de *Zanthoxylum zanthoxyloides* Wat. (*Rutaceae*).

Pour cela notre travail sera développé selon le plan suivant :

Dans un premier temps nous ferons des rappels sur la dysménorrhée, l'inflammation, la douleur, les plantes constituant nos recettes et les différentes méthodes d'étude de certaines activités biologiques.

Dans un second temps, nous présenterons nos travaux personnels qui ont porté sur les études expérimentales à savoir la phytochimie et les tests biologiques.

2 MOTIVATION

- La forte prévalence de la dysménorrhée (une femme sur trois),
- Les perturbations qu'elle engendre dans la vie économique et sociale des femmes,
- La proximité des tradipraticiens voire leur accessibilité à la population africaine et la flore africaine riche et variée,
- Revalorisation de la médecine traditionnelle,
- Standardiser la posologie de la recette "Néfaraliwona" du tradipraticien.

3 OBJECTIFS

3.1 OBJECTIF GENERAL

Etudier deux recettes utilisées dans le traitement de la dysménorrhée.

3.2 OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Identifier les grands groupes chimiques présents dans les deux recettes.
- Déterminer l'activité antioxydante des extraits des deux recettes.
- Déterminer les activités antalgique et anti-inflammatoire du macéré aqueux du "Néfaraliwona",

4 TRAVAUX ANTERIEURS

4.1 RAPPEL SUR LA MENSTRUATION

Le terme menstruation vient du mot latin *mensis* «mois » (proche du Grec *mene*, la lune) qui évoque une parenté avec les cycles lunaires mensuels.

La menstruation que l'on appelle souvent les règles est le premier stade du cycle menstruel se produisant chez la femme non enceinte, de la période pubertaire à la ménopause, durant en moyenne 4 à 5 jours. Elle se caractérise par le clivage de l'endomètre entre la zone résiduelle profonde et la zone fonctionnelle qui s'élimine progressivement. Ceci se produit après la « privation hormonale » de la fin de cycle. La zone fonctionnelle qui avait subi l'imprégnation synergique œstrogéno-progestéronique est alors le siège de phénomènes de déshydratation et de contraction spasmodique des artérioles endométriales ; il s'ensuit des lésions d'ischémie avec activation des enzymes lysosomiales et des hémorragies interstitielles locales ; ces régions se nécrosent et s'éliminent successivement. Les règles correspondent à un écoulement par voie vaginale d'un mélange de sang rendu incoagulable, de débris endométriaux et de mucus, écoulement riche en prostaglandines ($PGF_{2\alpha}$ essentiellement) libérées par les cellules nécrosées (Dictionnaire médical Flammarion, 2001).

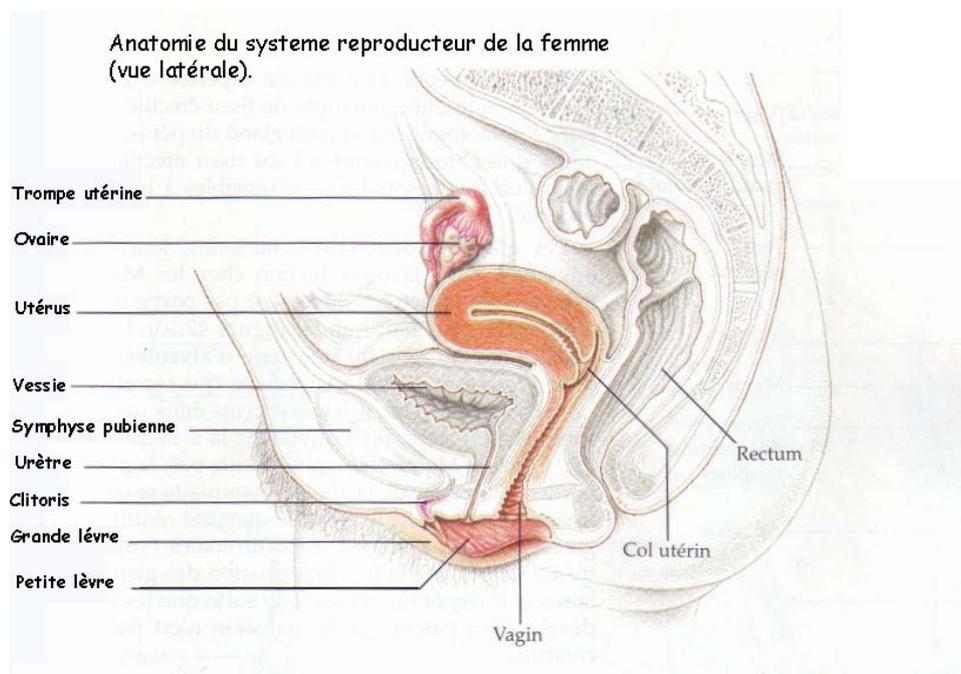


Figure 1: Schéma du système reproducteur de la femme coupe sagittale (Source : www.paramed-prepa.com).

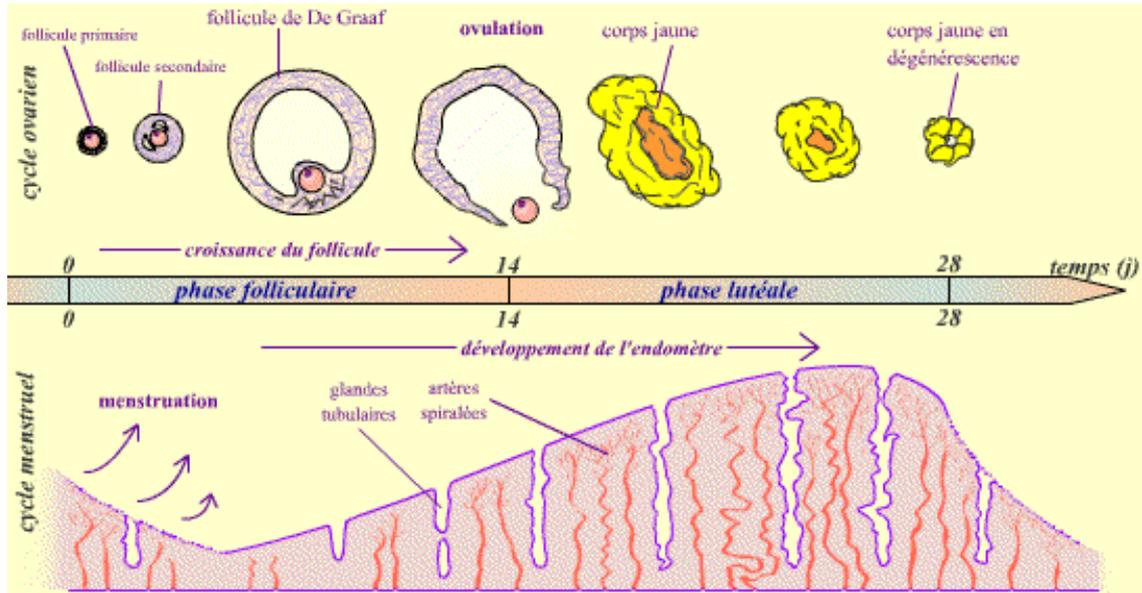


Figure 2: Schéma des cycles menstruel et ovarien de la femme (source : www.snv.jussieu.fr).

4.2 DYSMENORRHEE

(dys = difficulté ; méno = règles ; rrhée = écoulement)

La dysménorrhée au sens étymologique du terme signifie la difficulté de l'écoulement des règles mais l'usage l'a imposé pour désigner les règles douloureuses en sachant que le terme exact pour désigner les règles douloureuses est l'algoménorrhée (algo=douleur).

La dysménorrhée est essentielle ou organique, primaire ou secondaire.

La dysménorrhée essentielle est une pathologie propre caractérisée par sa physiopathologie originale où l'hypersécrétion de prostaglandines endométriales tient un rôle prépondérant.

La dysménorrhée organique est un symptôme qui n'est généralement pas isolé et témoigne d'une pathologie gynécologique sous-jacente, le plus souvent une endométriose externe ou interne (adénomyose). Elle est volontiers téléméniale, apparaissant ou s'aggravant le 2^e ou le 3^e jour des règles et de durée plus longue.

La dysménorrhée est dite primaire lorsqu'elle débute à l'adolescence dans les mois ou années suivant les premières règles. C'est une douleur potoméniale ou de précession, elle apparaît avec les règles ou les précède de quelques heures. Sa durée dépasse rarement 24h à 36h.

La dysménorrhée est dite secondaire (ou secondairement aggravée) lorsqu'elle apparaît (ou s'aggrave) à distance de la puberté, le plus souvent chez une femme âgée de plus de 30 ans.

En pratique ces deux classifications tendent à se superposer : une dysménorrhée primaire est presque toujours essentielle, une dysménorrhée secondaire est généralement organique.

4.2.1 Caractères de la douleur dysménorrhéique

La théorie spasmodique : Le tonus du sphincter cervico-isthmique suit les variations du taux de la progestérone, il est béant lors de l'ovulation, il est ferme au cours de la phase lutéale. Son ouverture coïncide avec la chute du taux de progestérone. Un retard à l'ouverture cervicale peut être la cause des douleurs, on retrouve ce retard chez de nombreuses femmes souffrant de dysménorrhée, sans que l'on puisse pour autant trouver une anomalie du cycle, en particulier hormonale.

La théorie congestive : Elle explique la douleur menstruelle chez les femmes souffrant de lésions infectieuses, de troubles de la statique pelvienne aggravés par la congestion prémenstruelle physiologique et les facteurs de stase pelvienne : constipation, station debout, musculature déficiente chez la multipare.

La théorie ischémique : Les contractions utérines lors des règles nécessitent un grand apport sanguin, un obstacle à cet accroissement réalise une ischémie relative responsable de dysménorrhée. Ces obstacles sont de deux sortes :

- Insuffisance du système vasculaire, associée à une hypoplasie utérine chez la jeune fille ou une malformation,
- Angiospasme par vasoconstriction du myomètre lors de la vasoconstriction de l'endomètre qui provoque les règles.

Selon une étude sur le stress et la dysménorrhée, effectuée aux USA et en Chine (en étroite collaboration), il existe un lien significatif entre le stress et l'incidence de la dysménorrhée. Ce risque est deux fois plus important chez les femmes stressées et ayant un vécu de la maladie que chez celles qui le sont moins et n'ayant aucun vécu de la maladie (Wang et al., 2004).

4.2.2 Mécanisme physiopathologique de la dysménorrhée

C'est un mécanisme qui fait appel à une hyper contractilité utérine avec hypoxie utérine par réduction du flux vasculaire utérin.

Au niveau du myomètre, on note les modifications suivantes :

- Elévation du tonus de base $>10\text{mmHg}$;
- Activité contractile utérine augmentée $>120\text{mmHg}$;
- Augmentation de la fréquence de ces contractions ;
- Dysrythmie.

Au décours d'un cycle obligatoirement ovulatoire, la chute du taux de progestérone stimule la synthèse de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique par un mécanisme enzymatique. L'activation enzymatique lysosomale de la cellule endométriale aboutit à la production de leucotriènes par la voie de la 5 lipoxygénase.

Il existe également une augmentation de la vasopressine circulante sans augmentation parallèle de l'ocytocine ; ce qui contribue à la dysharmonie contractile utérine.

Au niveau cellulaire, les prostaglandines augmentent le calcium libre intracellulaire, source d'hypercontraction.

La théorie cellulaire, les prostaglandines augmentent le calcium libre intracellulaire, source d'hypercontraction.

La théorie du spasme cervical a donc vécu.

La douleur menstruelle est utérine par hypercontractilité, hypoxie et action directe des prostaglandines sur les terminaisons nerveuses.

Les autres signes observés sont : nausées, vomissement, diarrhée, nervosité, céphalées, ...

Il reste enfin à signaler que toute douleur génitale comporte un retentissement psychologique qui peut être prédominant compte tenu de l'environnement en particulier familial de ces jeunes patientes (Leroy, 1993).

Il faut retenir enfin que les douleurs sont crispantes, aiguës, localisées dans la partie inférieure de l'abdomen et irradiante vers les cuisses.

4.2.3 Etiologie

Dysménorrhée primaire : Une dysménorrhée primaire est presque toujours essentielle. Deux exceptions à la règle.

- Une dysménorrhée primaire apparaît dès le premier cycle et d'intensité progressivement croissante doit faire redouter une malformation utero vaginale, héli vagin borgne notamment.

- L'endométriose juvénile est une entité rare mais la méconnaître pourrait être fâcheux pour la fertilité ultérieure. Il faut y penser si la dysménorrhée est rebelle aux différents essais thérapeutiques et si elle s'accompagne de douleurs pelviennes non cycliques, bien différentes de la dystrophie ovarienne macropolykistique.

Dysménorrhée secondaire : D'assez nombreuses situations pathologiques ont été rendues responsables de dysménorrhée secondaire organique chez la femme adulte :

- L'endométriose externe et l'adénomyose sont les plus fréquentes.

- Les sténoses cervicales après chirurgie du col ont une responsabilité réelle à condition que la sténose soit authentique et que la douleur soit apparue dans les mois suivant l'intervention.

- Le stérilet est parfois en cause ; c'est notamment le cas lorsqu'il est déplacé. Ailleurs certaines études ont rapporté chez ces patientes une hypersécrétion de prostaglandines endométriales en présence du stérilet. Cette hypothèse n'exclut pas la recherche des autres causes de dysménorrhée, et en particulier d'une adénomyose.

- Parmi les fibromes, seuls les myomes intra cavitaires ont parfois la dysménorrhée secondaire comme mode d'expression, souvent associée à des ménorragies.

- En revanche l'infection génitale subaiguë ou chronique et la rétroversion utérine ont une place très discutable dans ce chapitre. Leur responsabilité évoquée dans le passé ne paraît plus retenue à l'heure actuelle.

4.3 INFLAMMATION

4.3.1 Définition

L'inflammation est une réaction normale de défense et d'adaptation de l'organisme face à une agression, d'origine infectieuse, mécanique (telle que brûlure ou piqûre), traumatique, immunologique ou allergique. La réaction inflammatoire a un point de départ local vasculaire, puis s'étend aux tissus irrigués par les vaisseaux atteints, avec localement rougeur, chaleur, œdème et douleur consécutifs à la vasodilatation.

4.3.2 Mécanisme de la réaction inflammatoire

Le processus inflammatoire évolue en trois stades successifs :

- un stade caractérisé par les réactions vasculaires ;
- un stade caractérisé par les réactions cellulaires (phase productive) ;
- un stade de cicatrisation.

Les lésions inflammatoires sont le résultat d'une série de processus cellulaires (afflux de polynucléaires neutrophiles, plaquettes et macrophages) et biochimiques (libération de substances vasoactives (dérivés de l'acide arachidonique, PAF Acether, vasoamines) ou agressives et toxiques (hémoglobine, enzymes protéolytiques et ions superoxydes)). Les prostaglandines, sécrétées par tous les tissus en réponse à une agression de l'organisme, sont des substances biologiques douées de propriétés variées et puissantes. Ces prostaglandines

provoquent rougeurs, œdèmes, douleurs et fièvres. On peut résumer le schéma d'une inflammation par : corps étrangers, dilatation vasculaire, migration cellulaire (globules blancs entre autre), sécrétion de prostaglandine (pour accroître la mobilité de l'activité des cellules neutralisant les corps étrangers), douleur, fièvre et perturbation du processus jusqu'à la disparition de l'agent étranger.

4.3.3 Inflammations aiguës

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante.

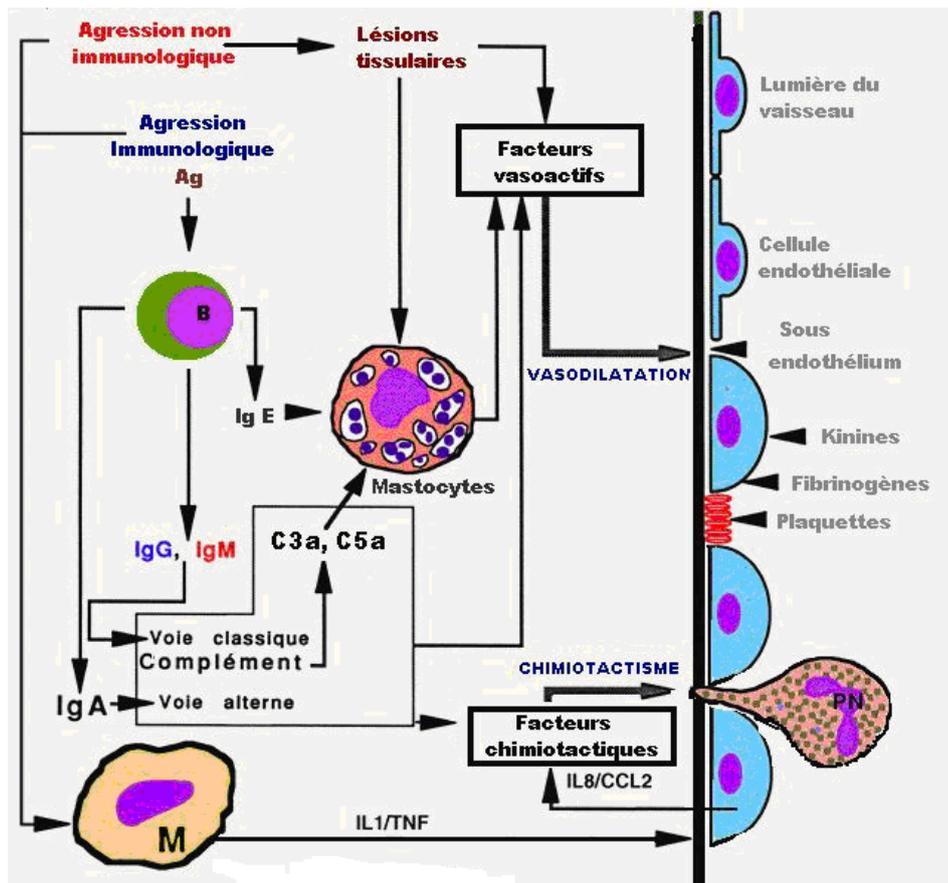


Figure 3: Schéma de l'inflammation aiguë (Source : www.nte-serveur.univ-lyon1.fr/immuno).

4.3.4 Inflammation chronique

Inflammations n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évoluent en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années. On peut distinguer deux types de circonstances de survenue des inflammations chroniques :

- Les inflammations aiguës évoluent en inflammations prolongées subaiguës et chroniques lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus (détersion incomplète) ou lorsqu'une inflammation aiguë récidive de façon répétée dans le même organe en entraînant à chaque épisode des destructions tissulaires de moins en moins bien réparées.
- Les inflammations peuvent parfois se manifester d'emblée sous une forme apparemment chronique. La phase aiguë vasculo-exsudative est passée inaperçue car brève ou asymptomatique. C'est souvent le cas de maladies auto-immunes, ou d'affections où les mécanismes dysimmunitaires sont prépondérants (exemple : hépatite chronique active secondaire à une infection par virus de l'hépatite B ou C).

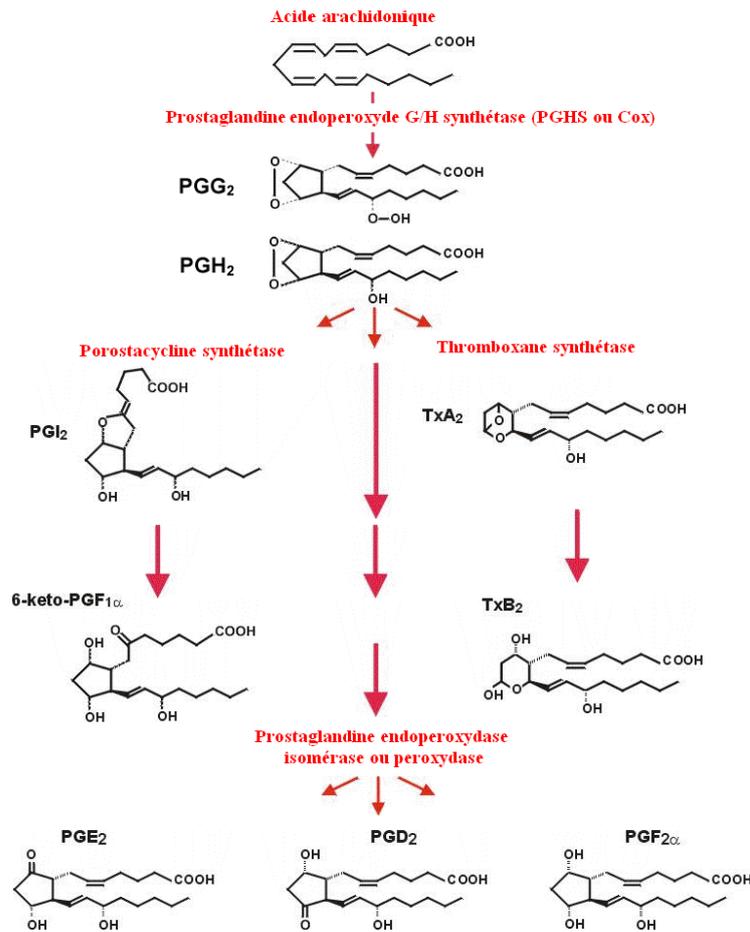


Figure 4: Schématisation de la synthèse des prostaglandines.

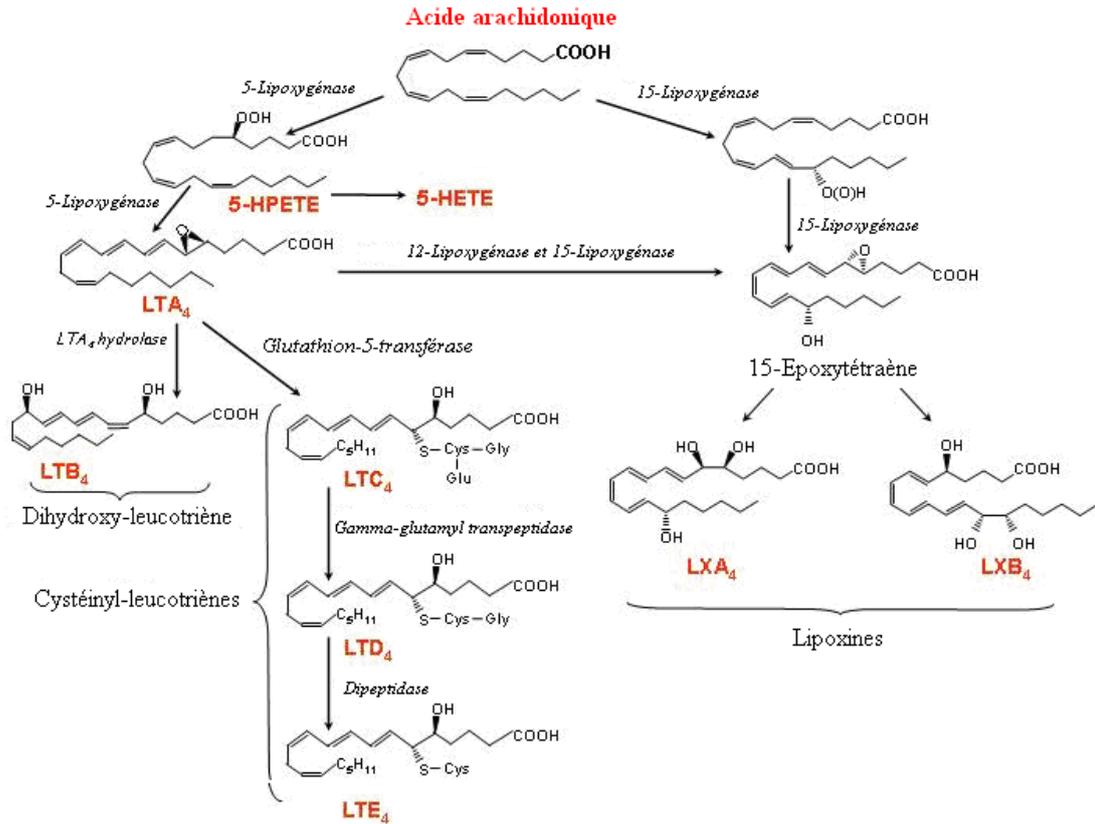


Figure 5: Schéma de la synthèse des leucotriènes.

4.3.5 Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments capables de diminuer ou de supprimer les réactions inflammatoires. On distingue deux grandes catégories d'anti-inflammatoires :

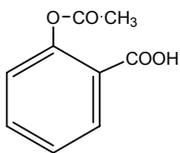
- Les glucocorticoïdes (ou corticostéroïdes ou corticoïdes) naturels ou synthétiques, qui perturbent les métabolismes glucidique, protéique, lipidique, et sont immunodépresseurs.
- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), qui perturbent peu les métabolismes et le processus immunitaires fondamentaux, et dont le chef de file est l'acide acétyl salicylique, l'aspirine.

Tableau I: Classe des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Famille chimique	Dénomination commune internationale	Posologie usuelle journalière pour l'adulte et nombre de prises	
Salicylés	Acide acétylsalicylique (Aspirine)	6000 mg	3
Pyrazolés	Phénylbutazone	300 mg	3
Indolés	Indométacine	75 mg	3
Arylacétate	Diclofénac	150 mg	3
Dérivés propioniques	Kétoprofène	150 mg	2
	Ibuprofène	1200 mg	3
	Naproxène	275 à 750 mg	1 à 2
	Flurbiprofène	200 mg	2
Anthraniliques	Acide niflumique	750 mg	3
	Acide méfénamique	1000 mg	3
Oxicams	Piroxicam	20 mg	2
	Ténoxycam	20 mg	1

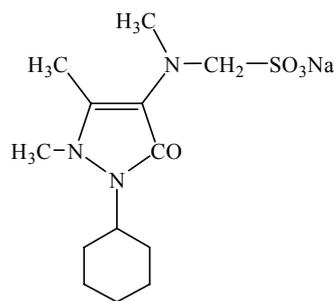
4.3.6 Structures chimiques des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Salicylés

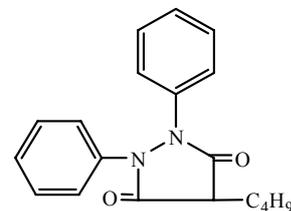


Acide acétylsalicylique

Pyrazolés

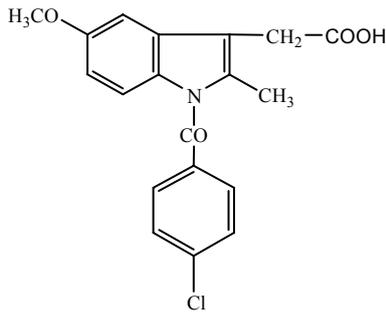


Noramidopyrine



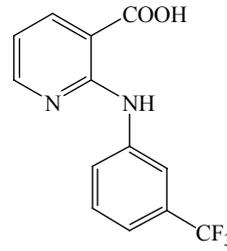
Phénylbutazone

Indolés



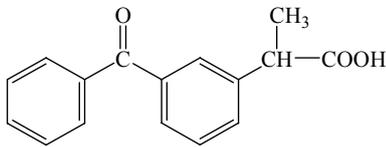
Indométacine

Anthraniliques

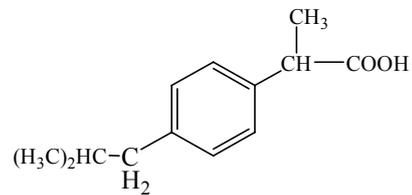


Acide niflumique

Dérivés propioniques



Kétoprofène



Ibuprofène

4.4 LA DOULEUR

4.4.1 Généralités

Pour souligner la difficulté à donner une définition à la douleur, il suffit de demander à chaque personne de faire l'effort de se souvenir de la dernière douleur qu'elle a endurée. En plus, à l'évidence, si tous les hommes sont forcément un jour ou l'autre confrontés à la douleur, tous ne la sentent pas, ne la ressentent pas et n'en parlent pas de la même manière. Cependant la définition donnée par l'Association Internationale pour l'Etude de la Douleur dont l'acronyme anglais est IASP (International Association for the Study of Pain) souligne sa nature multidimensionnelle à savoir l'aspect sensoriel, l'aspect émotionnel, l'aspect individuel du vécu antérieur et enfin l'aspect comportemental par la description qu'en fait le patient.

Selon l'IASP : " La douleur est une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à une lésion tissulaire potentielle ou réelle, ou décrite en les termes d'une telle lésion". (Association Internationale pour l'Etude de la Douleur, 1979).

4.4.2 Les différents types de douleur

On distingue schématiquement 3 types de douleurs.

4.4.2.1 Douleurs nociceptives

Elles sont dues à une stimulation excessive des nocicepteurs périphériques ce qui entraîne une douleur intense liée à des phénomènes mécaniques, inflammatoires, thermiques et chimiques. Ces douleurs sont continues ou intermittentes et varient en intensité et peuvent provoquer des réveils nocturnes.

Le seul moyen de stopper ces douleurs est de diminuer ou d'arrêter la transmission des messages allant vers les centres supra-spinaux.

Au plan thérapeutique, les douleurs nociceptives réagissent favorablement aux antalgiques, majeurs et/ou mineurs, pourvu qu'ils soient adaptés à leur intensité.

4.4.2.2 Douleurs neurogènes

Ce sont les douleurs par lésions/agression des voies nerveuses.

Un grand classique sont des algies post-zostériennes ou post-amputation et les polynévrites diabétiques. Ces douleurs peuvent également persister une fois la douleur nociceptive contrôlée (ou guérie) ou même apparaître après un intervalle libre.

La frontière avec les douleurs psychogènes est parfois étroite car on peut parfois suspecter "une boucle nociceptive auto-entretenu" localement (contracture des SPID) ou au niveau du cerveau.

4.4.2.3 Douleurs psychogènes

Ce sont des douleurs qui n'ont aucune cause somatique. Quelquefois le somatique et le psychogène peuvent être intriqués mais la majorité du temps les douleurs proviennent d'un retentissement psychologique (conversion hystérique, somatique d'un désordre émotionnel, hypochondrie ...). Ce qui rend difficile l'évaluation de ces douleurs, c'est leur description souvent luxuriante, imprécise, variable et de sémiologie atypique.

4.4.3 Evaluation de la douleur

- Echelles unidimensionnelles : Ces échelles dites d'auto-évaluation permettent au malade de situer le niveau de sa douleur sur une échelle nominale (EVS) ou d'intervalle (EN, EVA).
 - Echelle Verbale Simple (EVS) à 5 points : il suffit de demander au patient d'évaluer sa douleur selon 4 à 5 catégories desquelles résultera un score

- 0 → douleur absente
- 1 → faible
- 2 → modérée
- 3 → intense
- 4 → extrêmement intense

- Echelle Numérique (EN) : elle permet au patient de noter la douleur en sachant que la note minimale est 0 et que la note maximale est 10.
 - Echelle Visuelle Analogique (EVA) : c'est une réglette qui présente d'un côté une ligne subjective et de l'autre côté une réglette de 100 mm. Le patient tracera ou avancera le curseur en fonction de l'intensité de la douleur allant de "pas de douleur" à "douleur imaginable". Le soignant devra en fonction du déplacement du curseur de la réglette faire correspondre avec la notation se trouvant à l'arrière. Ceci permettra de donner un traitement adapté, elle doit donc être renouvelée toutes les 24 à 48 heures.
- Echelle pluridimensionnelle : Une autre approche est de tenter une appréciation des manifestations observables (visibles, audibles) du comportement douloureux. Bourshis et al.
- Questionnaire : ils sont souvent établis en fonction du service et du type de pathologie.
 - Echelle Comportementale : La douleur n'étant pas forcément verbalisée, une étude du comportement peut s'avérer nécessaire pour une bonne prise en charge de la douleur. Par contre, il faut adapter cette échelle en fonction des personnes soignées.

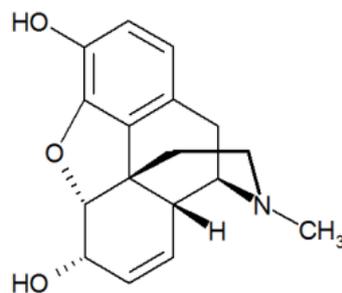
4.4.4 Les antidouleurs

En 1984, l'OMS a proposé un protocole de prise en charge de la douleur, plus particulièrement du cancer, en définissant 3 paliers :

- le palier 1 correspond à des douleurs d'intensité faible (entre 0 et 4 sur une EVA) et doit être traité avec des médicaments non morphiniques : paracétamol, aspirine et AINS ;

- le palier 2 correspond à des douleurs d'intensité modérée (entre 4 et 6 sur une EVA) et doit être traité avec des morphiniques faibles ou "mineurs", qui comprennent la codéine, le dextropropoxyphène, administrés seuls ou en association avec les médicaments du palier 1 ;
- le palier 3 correspond à des douleurs d'intensité forte (entre 6 et 10 sur une EVA) et doit être traité avec des morphiniques forts ou "majeurs" : morphine, hydromorphone, fentanyl...

- **La morphine**



Structure chimique de la morphine

La morphine est un alcaloïde extrait de l'opium du pavot, *Papaver somniferum* L. (*Papaveraceae*). Pour recueillir l'opium, on pratique en général des incisions superficielles dans les capsules des pavots pour que s'écoule un suc laiteux qui se dessèche, s'oxyde à l'air et prend alors une couleur brunâtre.

Après malaxage, cette substance devient l'opium qui contient environ 10% de morphine. Elle constitue le plus vieux remède connu par l'homme pour lutter contre la douleur.

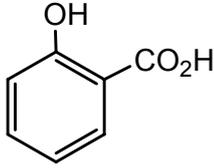
Malgré une utilisation depuis de nombreux siècles, les mécanismes d'action de cette substance sur la modulation de message douloureux, au niveau cérébral, n'ont été découverts qu'au cours de la deuxième moitié du XX^{ème} siècle.

A partir de 1952, la synthèse chimique de morphine et de dérivés morphiniques est possible. La construction de molécules énantiomères (isomères optiques) permet d'obtenir des substances dont la structure tridimensionnelle est proche mais dont les effets pharmacologiques sont différentes :

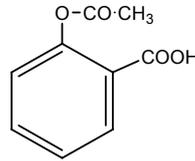
- le lévorphénol, puissant analgésique,
- l'étorphine, puissant analgésique
- le dextrophan qui est dépourvu d'effet analgésique.

Le principe actif de l'opium fut découvert par F. Sertuner (1805) et baptisé morphine en référence à Morphine le dieu grec des rêves.

- **L'Aspirine**



Acide salicylique



Acide acétylsalicylique

✓ **Origine de l'aspirine** (acide acétylsalicylique)

Son histoire remonte à 2400 ans, au temps d'Hypocrate où l'on utilisait des décoctions de feuilles de saule (*Salix alba*), réputées pour leurs vertus contre la fièvre et les douleurs.

En 1763, un révérend britannique Edward Stone, fait une déclaration devant la « Royal Society », et confirme ainsi les propriétés fébrifuges de l'infusion de feuilles de saule.

En 1829, Leroux, pharmacien à Vitry le François, isole le principe actif de l'écorce de saule : la SALICINE. Cette dernière sera ensuite extraite des fleurs de la "reine des prés" (*Spirea ulmaria* L.).

Ensuite, plusieurs chimistes (en Suisse, France, USA) transforment la salicine en aldéhyde, puis en acide salicylique.

En 1853, transformation à Strasbourg en acide acétylsalicylique par Von Gerhardt.

L'aspirine est née, mais ce travail est sans suite.

1875, utilisation de salicylate de sodium contre les rhumatismes articulaires.

En 1897, Hoffmann reprend les travaux de Gerhardt et met au point un nouveau procédé de fabrication de l'acide acétylsalicylique donnant un produit sûr et stable.

Le 1er février 1899, l'aspirine était lancée sur le marché.

Origine du nom ASPIRINE :

- A pour Acétyl
- SPIR pour *Spirea*, nom scientifique de la « Reine des pré »
- INE, suffixe classique en chimie industrielle (idem morphine, digitaline...).

4.4.5 Méthodes d'étude de l'activité antalgique

➤ **Test de Haffner**

Il consiste à provoquer un stimulus mécanique en pinçant la base de la queue d'une souris qui se retourne et se mord. Mais sous l'effet de l'analgésique la réaction n'apparaît pas.

➤ **Test de Randall et Selitto**

La patte du rat est soumise à une pression mesurée et ce dernier réagit par un cri. L'animal analgésié ne réagit pas.

➤ **Test de woolf et Mc Donald**

La souris est placée sur une plaque à la température de 56° C. Si elle n'est pas analgésiée, elle se lèche les pattes en moins de 8 secondes. Les réactions sont comparées à celles des souris naïves.

➤ **Test de l'Amour et Smith**

Un rayon lumineux calorique est focalisé sur la queue de la souris qu'elle déplace en moins de 6 secondes. L'analgésiée ne réagit pas en moins de 16 secondes.

➤ **Test de Kollet Refert**

La stimulation, électrique de la pulpe dentaire du lapin entraîne chez ce dernier un frémissement des babines ou un mâchonnement ou encore un recul de la tête selon l'intensité du stimulus. Après administration de l'analgésique, il faut rechercher l'intensité de courant qui ramène le réflexe de mâchonnement pour apprécier la durée de l'action analgésique.

➤ **Test de Siegmund**

Une solution de phénylbenzoquinone ou d'acide acétique à 3 % est injectée par voie intrapéritonéale à la souris ou au rat. L'animal présente des phénomènes de torsion du corps. La paroi abdominale est parcourue de contractures : c'est le "Writing test". La dose empêchant le phénomène de torsion est recherché sur des groupes d'animaux.

➤ **Test de Linn**

La bradykinine est injectée par voie intraveineuse au chien ; ce dernier réagit par aboiement. La dose d'analgésique abolit le réflexe d'aboiement.

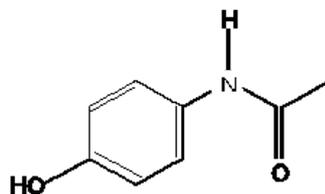
4.5 TRAITEMENT DE LA DYSMENORRHEE

Il correspond à la prise en charge des différents mécanismes envisagés :

- contrôle de l'hyper-contraction utérine,
- obtention d'une anovulation par la contraception orale,
- utilisation des inhibiteurs de la synthèse des prostaglandines
- utilisation des tocolytiques (antispasmodique, bêtamimétique et anticalcique)
- utilisation des antagonistes de la vasopressine,
- prise en charge des pathologies sous-jacentes (*traitement physique* : la stimulation nerveuse électrique transcutanée, manipulation vertébrale ; *traitements chirurgicaux* : technique de dénervation utérine, dilatations cervicales ; *traitement des infections*).

➤ **Les médicaments les plus couramment utilisés dans le traitement de la dysménorrhée :**

- **Les antalgiques usuels:** le paracétamol



Propriétés: Antalgique périphérique et antipyrétique.

Indications : Traitement symptomatique des douleurs d'intensité légère à modérée et/ou des états fébriles.

Contre-indication : Allergie au paracétamol, insuffisance hépatocellulaire, pour la grossesse et l'allaitement, il faut une autorisation du médecin.

Précaution d'emploi : En cas d'insuffisance rénale sévère, les prises doivent être espacées de 8 h.; en cas de régime désodé, tenir compte de l'apport de sel dans les comprimés effervescent (environ 400 mg de Na/cp.) ; en cas de régime hydroglucidique, tenir compte de la présence de saccharose dans certains sachets de poudre.

Effet secondaires : Rares cas d'accidents allergiques : rashes cutanés avec érythème ou urticaire, nécessitant l'arrêt du traitement. Rares cas d'anomalies biologiques hépatiques, hépatites exceptionnelles (surdosage). Exceptionnels cas de thrombopénie.

Interactions médicamenteuses : La prise de paracétamol peut fausser le dosage de l'acide urique sanguin par la méthode à l'acide phosphotungstique et le dosage de la glycémie par la méthode à la gluco-oxydase peroxydase.

- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens :

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont devenus le traitement de référence. Selon Christian Quereux (CHU Reims. Source www.infogyn.com), l'aspirine n'a pas d'efficacité démontrée dans cette indication, alors que les AINS permettent 80 à 90 % de bons résultats sans que la supériorité de l'un d'entre eux ait pu être démontrée.

Indication : Tous les syndromes comportant une inflammation, localisée ou généralisée :

- aiguë : la prescription sera alors relativement brève ;
- chronique : ils sont alors souvent utilisés à dose minimale active, associés ou non à un traitement « de fond » de l'inflammation.

Ils ont souvent aussi une action antalgique propre, une action inhibitrice sur l'agrégation plaquettaire.

Mode d'action : L'inhibition des prostaglandines et des leucotriènes est à la base de leur action anti-inflammatoire, mais aussi de certains de leurs effets indésirables. L'effet anti-inflammatoire des AINS « classique » s'explique par le blocage de la cyclo-oxygénase 2 (COX 2) qui s'oppose à l'action pro-inflammatoire des prostaglandines. Malheureusement, ils inhibent en même temps la cyclo-oxygénase 1 (COX 1) qui elle a une action cytoprotectrice digestive en favorisant la synthèse des prostaglandines.

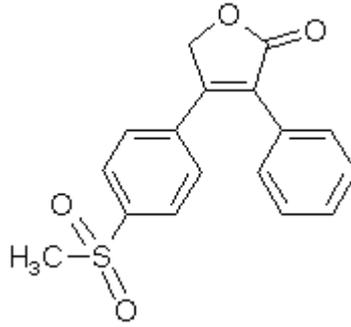
La nouvelle famille d'AINS (dits « coxibs ») agit sélectivement sur la cyclo-oxygénase 2, ne bloquant que l'action pro-inflammatoire des prostaglandines.

Effets indésirables : Certains sont particuliers à chaque famille, d'autres sont communs à toutes les familles chimiques.

C'est le cas de la toxicité gastrique, d'autant plus grande que l'action anti-inflammatoire est importante et peut justifier l'emploi de protecteurs gastriques ; la toxicité gastrique est augmentée chez le sujet âgé, les sujets tabagiques, et le risque hémorragique doit être constamment présent à l'esprit.

La toxicité existe quelle que soit la voie d'introduction dans l'organisme.

- Les coxibs



Rofécoxib

Le rofécoxib, anti-inflammatoire, par effet inhibiteur sélectif de la cyclo-oxygénase 2, est utilisé dans le traitement de la dysménorrhée primaire (Morrisson et *al.* 1999)

Alors que les AINS classiques en inhibant la cyclo-oxygénase 1 bloquent l'action cytoprotectrice des prostaglandines, ce qui explique leur effet délétère sur la muqueuse gastrique, les coxibs (nouvelle famille d'AINS) agissent sélectivement sur la cyclo-oxygénase 2, ne bloquant que l'action pro-inflammatoire des prostaglandines.

Ces produits, dont l'action anti-inflammatoire reste équivalente à celle des autres AINS, semblent être mieux tolérés sur le plan digestif et d'autre part n'allonge pas le temps de saignement.

Selon les dernières actualités, "Le rapport bénéfice/risque des coxibs demeure positif, mais leur utilisation est contre-indiquée non seulement chez les patients présentant une maladie cardiaque ou cérébrovasculaire mais aussi dorénavant chez les patients atteints d'une maladie artériel périphérique. Telles sont les conclusions de l'EMA (Agence européenne d'évaluation des médicaments) suite à la réévaluation du risque cardiovasculaire des coxibs.

Lors d'un essai clinique dont le but était de savoir si le rofécoxib pouvait réduire le risque de cancer chez des personnes ayant eu des polypes intestinaux, on a observé qu'il y avait environ 2 fois plus d'accidents cardiovasculaires (infarctus du myocarde et accidents vasculaires cérébraux) chez les patients recevant du rofécoxib que chez ceux qui n'en recevaient pas. Ce risque faible au demeurant, n'est apparu qu'après 18 mois de traitement.

Le 30 septembre 2004, les laboratoires Merck et Dohme-Chibret, le fabricant annonce l'arrêt de la commercialisation de ce produit à l'échelle mondiale.

➤ **Quelques plantes utilisées dans le traitement de la dysménorrhée**

Tableau II: Plantes utilisées dans le traitement de la dysménorrhée

Nom scientifique	Nom commun	Partie utilisée	Propriété
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L. (<i>Fabaceae</i>)	Réglisse	Racines	Anti-inflammatoire
<i>Mentha piperita</i> L. (<i>Lamiaceae</i>)	Menthe poivrée	Feuilles	Anti-inflammatoire
<i>Spirea ulmaria</i> L. (<i>Rosaceae</i>)	Reine des Prés	Sommités fleuries (Acide salicylique)	Anti-inflammatoire
<i>Achillea millefolium</i> L. (<i>Astéraceae</i>)	Achillée, Millefeuille, herbe de saint-Jean	Sommités fleuries	Antispasmodique et anti-inflammatoire
<i>Salvia pratensis</i> L. (<i>Lamiaceae</i>)	Sauge des prés	Feuilles	Antispasmodique
<i>Lamium album</i> L. (<i>Lamiaceae</i>)	Lamier blanc	Sommités fleuries	Adoussissant de la cavité pelvienne
<i>Eucalyptus globulus</i> Labille. (<i>Myrtaceae</i>)	Eucalyptus	Feuilles	Antioxydant (activité draineuse)
<i>Adansonia digitata</i> L. (<i>Bombacacées</i>)	Baobab, pain de singe	Feuilles	Anti-inflammatoire
<i>Papaver somniferum</i> L. (<i>Papaveraceae</i>)	Pavot officinal	Feuilles	Anti-douleur
<i>Actea racemosa</i> L. (<i>Renunculaceae</i>)	Actée à grappe	Feuilles	Antispasmodique
<i>Discorea villosa</i> L. (<i>Discoriaceae</i>)	Igname sauvage, Yam	Bulbes	Antispasmodique
<i>Camellia sinensis</i> L. Kuntze (<i>Teaceae</i>)	Thé vert	Feuilles	Antioxydante et anti- inflammatoire

4.6 LES ANTIOXYDANTS

4.6.1 Généralités :

Les êtres vivants ont besoin de l'oxygène dans leur environnement pour se développer et pour vivre. Le métabolisme de l'oxygène est indispensable à la respiration cellulaire, c'est aussi un mécanisme impliqué dans le contrôle de nombreux systèmes de défense tissulaire.

Cependant, l'oxygène essentiel à la vie favorise aussi la formation dans notre corps de composés oxygénés réactifs communément appelés radicaux libres ou oxydants. Utiles à plusieurs égards, ces radicaux libres, s'ils sont trop concentrés dans notre corps, peuvent cependant causer certaines maladies chroniques.

Dans les conditions dites normales, le taux et la persistance des radicaux libres produits, sont considérés comme des signaux nécessaires à la bonne réponse des cellules. Leur production est alors contrôlée par une succession de réactions d'oxydoréduction (redox) faisant intervenir soit des piègeurs de radicaux libres, soit des enzymes antioxydantes.

Cependant, dans des conditions dites anormales, le taux et la persistance des radicaux libres produits aboutissent à une situation d'excès qui, à long terme et en l'absence d'un système de régulation efficace, peuvent contribuer au développement de processus pathologiques (stress oxydatif) : réactions inflammatoires, action de toxiques, athérogenèse, vieillissement.

4.6.2 Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont des atomes, ou des molécules ayant un électron célibataire sur leur orbite externe. Ceci entraîne une aptitude accrue à réagir avec des molécules voisines et à les détruire (Dictionnaire de médecine Flammarion, 2001).

Les radicaux libres sont : le radical anionique superoxyde (O_2^-), formé dans la mitochondrie lors de la respiration cellulaire ; le radical hydroxyle (OH^-), un des plus réactifs ; les radicaux peroxyde (ROO^-), alcoxyle (RO^-) et l'oxygène singulet (1O_2). Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) produit dans la cellule peut être aussi considéré comme un radical libre car il permet la formation du radical hydroxyle en présence de métaux de transition par la réaction de Fenton et d'Haber-Weiss.

Les radicaux libres sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme de l'oxygène. L'exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, la fumée de cigarette s'est aussi avérée augmenter la formation des radicaux libres.

Les radicaux libres oxydent non seulement les lipides mais aussi les protéines, les acides nucléiques et autres macromolécules conduisant à la mort des cellules et à la destruction des tissus.

4.6.3 Quelques antioxydants

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées. Etant donné que les antioxydants sont la plupart du temps d'énormes molécules, ils ne deviennent pas dommageables, ne pouvant être aussi vifs et puissants que les petits radicaux libres comme le OH^\cdot . Egalement, la structure des antioxydants permet la résonance (les atomes de la structure se déplacent et transforment leurs liens entre eux pour que la molécule ne soit plus radicalaire) et/ou l'encombrement stérique (c'est lorsque par exemple un hydrogène est arraché au centre d'un antioxydant ; il devient par conséquent radicalaire en son centre. Ce dernier est isolé et est difficile d'accès loin des deux extrémités de la molécule ; la molécule est alors très peu dommageable).

In vivo, pour limiter la formation des radicaux libres, plusieurs moyens de défense existent.

Les enzymes antioxydantes intracellulaires (superoxyde dismutase (SOD), catalase et glutathion peroxydase) freinent la production des radicaux libres.

Différents minéraux, à des degrés divers, ou en tant que composants d'enzymes oxydantes (Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Se-glutathion peroxydase, Mg, ...) peuvent contribuer à freiner les oxydations.

En fin, il existe aussi des antioxydants « casseurs de chaîne » comme la vitamine E (tocophérol), la vitamine C (acide ascorbique), vitamine A mais aussi les caroténoïdes (comme la β -carotène), les flavonoïdes, les folates, les phytoestrogènes, l'ubiquinone des mitochondries, des thiols (acide lipoïque, glutathion), voire des amines, des polyamines (putrescine) ou des nucléotides (acide urique) dont le rôle est moins clairement établi.

Chaque molécule antioxydante ne peut agir qu'avec un seul radical libre, et par conséquent, il faut constamment refaire le plein de ressources antioxydantes.

✓ La superoxyde dismutase

La superoxyde dismutase est une enzyme synthétisée par l'organisme, capable d'éliminer l'anion superoxyde (O_2^\cdot) par une action de dismutation (c'est une réaction dans laquelle le même composé chimique est à la fois oxydant et réducteur).

Cette réaction aboutit, à partir de deux superoxydes, à la formation d'une molécule d'oxygène et d'une molécule de peroxyde d'hydrogène.

Le superoxyde dismutase lecthinisée communément appelée PC-SOD, est une version synthétique du composé naturel.

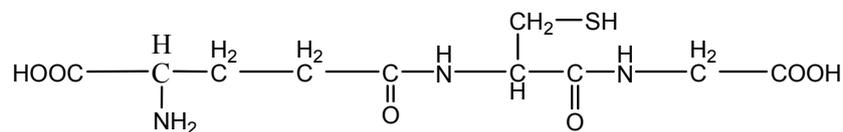
Des scientifiques japonais ont répertorié une quantité d'études sur le PC-SOD, et l'ont décrit comme une prodrogue de la SOD, selon les deux études effectuées par Rie Igarashi et ses *al.* Aux université Kagoshima et St Marriana au Japon, le PC-SOD augmente l'activité antioxydante de la SOD, en rehaussant à la fois ses qualités et en augmentant son activité.

✓ Le glutathion peroxydase

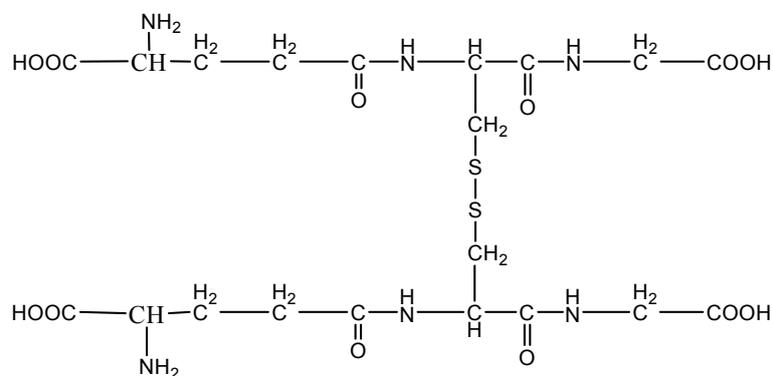
Substance de l'organisme de structure peptidique (constituée d'acide aminés) et servant au transport de l'hydrogène.

Le glutathion, présent dans tous les tissus de l'organisme, est synthétisé par une enzyme, le glutathion synthétase, à partir de trois acides aminés, l'acide glutamique, la cystéine et la glycine. Il existe alors sous une forme oxydée, sur laquelle une autre enzyme, le glutathion réductase, peut fixer l'hydrogène pour donner la forme réduite.

Le glutathion réduit protège les cellules contre l'oxydation, par exemple contre l'action toxique des radicaux libres tels que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Larousse médical, 1998).



Glutathion : forme réduite



Glutathion forme oxydée

✓ **La catalase**

C'est une enzyme ferriporphyrinique catalysant dans les peroxysomes la libération d'oxygène moléculaire à partir de l'eau oxygénée [dictionnaire de médecine Flammarion, 2001].

✓ **La Vitamine C ou Acide ascorbique**

La vitamine C est une vitamine hydrosoluble ; une carence en cette vitamine entraîne le scorbut, maladie commune chez les marins et les personnes qui ne consommaient pas de fruits frais et de légumes pendant de longues périodes.

Cette vitamine aide notre système immunitaire à repousser les envahisseurs. Elle renforce et protège le système immunitaire en stimulant l'activité des cellules du système immunitaire et des anticorps. Ainsi, la vitamine C se bat non seulement avec les virus, mais aussi avec les cellules cancéreuses.

La vitamine C semble réduire la formation des prostaglandines responsables de la réponse inflammatoire et de la douleur.

C'est un antioxydant puissant. En collaboration avec la vitamine E et l'enzyme glutathion peroxydase, la vitamine C lutte contre les radicaux libres.

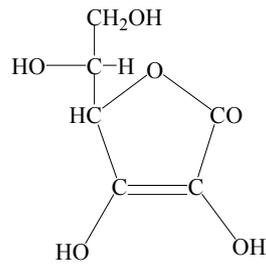
Le corps a des systèmes de défense mais notre mode de vie actuel (infections, fumées, exposition solaire intensive, stress...) augmente la formation de radicaux libres dans notre corps et incite le vieillissement prématuré et le développement de certains acides aminés en neurotransmetteurs.

Les grands fumeurs, les consommateurs d'alcool et les femmes qui utilisent des contraceptifs oraux ont des besoins plus élevés en vitamine C.

Sources alimentaires végétariennes : les fruits frais et légumes sont riches en vitamine C. Un régime riche en ces vitamines fournit plus que les apports quotidiens recommandés en cette vitamine. Les légumes fournissent environ 10 à 20 mg en vitamine C par 100 g avec quelques exceptions. Les choux et les légumes verts sont encore plus riches ; mangés crus, les choux fournissent 50 à 100 mg de vitamine C par 100 g. Pour les légumes verts plus ils ont une couleur vive ou foncée et plus ils sont riches en vitamine C. Par exemple les poivrons fournissent 120 mg de vitamine C par 100 g.

Quelques fruits sont d'excellentes sources telles que le citron, le kiwi, l'orange, le pamplemousse, la mandarine, la papaye, le melon, la fraise, le cassis, ...

Il faut retenir que la chaleur et l'air détruisent cette vitamine. De plus elle est perdue dans l'eau de cuisson des aliments. Le mieux est de préférer les cuissons douces et brèves et de cuire les aliments dans très peu d'eau.



Vitamine C

✓ Vitamine E ou Alpha-tocophérol

La vitamine E (synonyme de tocophérol) est une vitamine liposoluble qui existe sous différentes formes chimiques. Il existe plusieurs tocophérols de structure voisine dont les plus répandus sont les formes α , β et γ ; le plus actif biologiquement étant l'Alpha-tocophérol.

Elle se trouve dans tous nos tissus. Cependant l'hypophyse et la surrénale en contiennent deux cent fois plus que les autres organes.

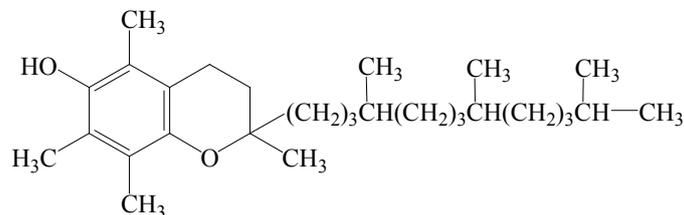
C'est un antioxydant ; elle empêche les radicaux libres d'endommager nos cellules et tissus.

Elle joue alors un rôle préventif dans le développement des cancers et sur le vieillissement.

Elle aurait un effet bénéfique sur les maladies cardiovasculaires en limitant les effets néfastes du cholestérol et en intervenant sur le processus d'agrégation plaquettaire.

Elle fonctionne de paire avec les vitamines C et A et le sélénium.

Sources alimentaires végétariennes : la vitamine E se trouve dans les huiles végétales, principalement l'huile de tournesol et de germe de blé, mais aussi dans les huiles d'olive, d'arachide, de carthame, de sésame, de maïs et de soja. Les légumes verts sont sources aussi de vitamine E mais en plus petite quantité ; par contre la mangue et la pomme de terre douce en sont riches.



Vitamine E

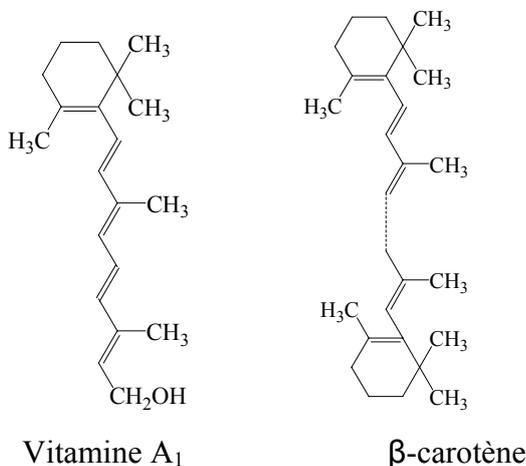
✓ La vitamine A ou rétinol et le bêta-carotène

La vitamine A est une vitamine liposoluble qui se présente sous deux formes chimiques différentes : la vitamine A1 prédominant chez les animaux supérieurs et la vitamine A2 (Shantz, 1948) abondante dans le foie de divers poissons.

Elle se trouve aussi dans le règne végétal sous la forme de bêta-carotène ou provitamine A, précurseur de la vitamine A.

Elément de la famille des caroténoïdes, le bêta-carotène est un pigment trouvé dans les plantes et les micro-organismes et a une activité antioxydante.

Sources alimentaires végétariennes : les produits animaux sont de bonnes sources de vitamine A. Le bêta-carotène se trouve en abondance dans les fruits et légumes de couleurs jaune, orange, rouge et vert foncé.



✓ Les composés phénoliques ou polyphénols

• Flavonoïdes

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation.

Sources alimentaires : légumes, fruits, thé vert, cerises, raisins, agrumes...

• Tanins

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Les tanins ont des potentialités dans l'inhibition de la peroxydase des

lipides. Ce sont des piègeurs des radicaux libres, des inhibiteurs de la formation de l'ion superoxyde (Bruneton, 1993).

Sources alimentaires : haricots, thé, raisin...

✓ **Terpènes : caroténoïdes**

Les caroténoïdes exercent une action préventive à l'égard des affections dégénératives. Ceux qui possèdent une moitié β -carotène non substituée sont dégradés au niveau de la muqueuse intestinale de l'homme en rétinol.

On notera par ailleurs que les caroténoïdes peuvent, dans la mesure où ils interfèrent avec le processus de photo-oxydation, présenter un intérêt en cas de photosensibilisation liée aux porphyries mais aussi en cas de photodermatose (photosensibilité médicamenteuse, urticaire solaire...).

Sources alimentaires : carottes, mangues, pêches, papaye, légumes et feuilles...

4.6.4 Méthode d'étude des antioxydants

➤ **Test de réduction du DPPH**

Le 1,1-diphényl 2-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical stable et présente une absorption spécifique à 517 nm qui confère une couleur violette. Lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux, sa couleur disparaît.

L'activité de substances anti-radicalaires est mise en évidence par la révélation sur des chromatogrammes de tâches décolorées sur un fond violet à l'aide du DPPH (Takao et *al.*, 1994).

➤ **Test mesurant l'activité oxydante au moyen de caroténoïdes**

Les plaques CCM sont préparées de la même manière que pour le test du DPPH, puis giclées avec une solution chloroformique de β -carotène. La plaque CCM est en suite exposée sous une lampe UV à 254 nm jusqu'à décoloration de celle-ci. Les zones antioxydantes apparaissent en jaune sur fond blanc. Il faut faire particulièrement attention aux substances colorées en jaune car elles peuvent donner des faux positifs (Cavin, 1999).

➤ **Test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosome**

Il consiste en l'oxydation des lysosomes par le 2,2-azobis, 2-amidinopropène (Salvi, 1998).

4.7 MONOGRAPHIE DES TROIS PLANTES DE LA RECETTE

"NEFARALIWONA"

4.7.1 *ZANTHOXYLUM ZANTHOXYLOIDES* WATERMANN

4.7.1.1 Synonymes

(Kerharo et Adams, 1974, Arbonnier, 2000)

Fagara zanthoxyloides Lam.

Fagara senegalensis (DC.) A Chev.

Zanthoxylum senegalense (DC.) A Chev.

Zanthoxylum polyganum Schumach.

4.7.1.2 Les différents noms locaux de la plante

(Burkill, 1997)

Bambara: won, wo, gozo ngua

Malinké: wuò

Sénoufo: nkologo, nkorogo (ngmongo)

Wolof: génégidek,

Peuhl: barkeley, bulébarkelé

Toucouleur: dori

Hausa: fasa kuwari

Anglais: candlewood

Français: fagara jaune (bailleul).

4.7.1.3 Classification botanique

Ce classement se réfère à la classification classique (Cronquist, 1881 et 1988). C'est une classification des Angiospermes basée essentiellement sur des critères morphologiques et anatomiques.

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones

- Sous-classe : Rosidae
- Ordre : Sapindales
- Sous-ordre : *Rutineae*
- Famille : *Rutaceae*
- Genre : *Zanthoxylum* (*Fagara*)
- Espèce : *zanthoxyloides* Wat.

4.7.1.4 Historique du genre

Le terme *Zanthoxylum* est une modification du mot *Xanthoxylum* qui vient du grecque : *xanthon xylon* "bois jaune" et de l'allemand : *Gelbholzbaum* "yellow-wood tree" (D'après le petit Robert), d'où l'utilisation par certains auteurs du terme *Zanthoxylum* ou *Xanthoxylum*.

Le genre *Zanthoxylum* a été créé par Linné en 1757 et confondu avec le genre *Fagara*. En 1896, Engler a fait la distinction entre les deux genres par les caractères suivants : les espèces appartenant au genre *Zanthoxylum* présentent un périanthe simple, alors que celui des espèces appartenant au genre *Fagara* est double. Les travaux de Brizicky en 1962, grâce à la découverte d'espèces présentant un périanthe intermédiaire entre celui de *Zanthoxylum* et celui de *Fagara*, ont démontré que le périanthe simple de *Zanthoxylum* dérivait de celui de *Fagara* par avortement de quelques sépales, voire tous les sépales. De là, il a conclu que le genre *Fagara* était un sous-genre de *Zanthoxylum*. Ce n'est qu'en 1966 que Hartley regroupa *Zanthoxylum* et *Fagara* sous le nom de *Zanthoxylum* (Fish et Waterman, 1973), ce qui a été confirmé par Zepernick et Timler en 1981 et c'est sous cette dernière appellation que ce genre est répertorié dans « *International Index of Plant Name* ». Néanmoins, certains auteurs continuent d'utiliser le terme *Fagara*. (Chaaib, 2004).

4.7.1.5 Caractéristiques botaniques

Les représentants du genre *Zanthoxylum* sont estimés à 250 espèces dont plus de 80 espèces africaines (Schatz, 2001). Ils sont répartis dans les régions tropicales et tempérées chaudes du globe (Chaaib, 2004).

Pousset (1989) et Malgras (1992) citent cet arbuste d'Afrique Tropicale, très rameux et très épineux (à épines recourbées le long des rameaux), assez commun dans les bosquets de certaines formations maliennes notamment.

Arbre ou arbuste épineux et plus ou moins sarmenteux, de 6-8 (-12) m de haut, à fût droit et souvent court, à cime arrondie et assez dense.

L'écorce est grise à beige, rugueuse, finement fissurée verticalement, portant souvent des protubérances coniques liégeuses correspondant à la base liégeuse des épines, à branche odorante jaune et jaune marbré d'orange dessous.

Le rameau est glabre, gris, parfois plus ou moins lenticellé, épineux. Les épines sont solitaires, disposées à intervalles irréguliers tout le long des branches, des rameaux (voir figure 7:3) et sous les pétioles (et parfois sous les nervures principales des feuilles), en crochet orienté vers le bas, à base robuste, brunes plus ou moins striées de beige, de 0,1 cm de long sur les feuilles, à 1,2 cm sur les branches.

Les feuilles sont alternes, imparipennées, glabres, à (5)-7-11 folioles opposées ou alternes, obovales ou elliptiques, de 5-10 × 2-4 cm, à sommet obtus (voir figure 7:2) ou arrondi (voir figure 7:1) et plus ou moins apiculé, ou émarginé, à la base en coin ou arrondie. Le limbe, souvent coriace, est plus ou moins nettement criblé de points translucides et dégage une odeur poivrée et citronnée au froissement.

Le pétiole est glabre, de 10-15 cm de long, épineux dessous. Pétiolules de 2-5 mm de long.

La nervure est pennée ; la nervure principale porte parfois des épines dessous (voir figure 7:2), avec 10-14 paires de nervures secondaires peu saillantes, irrégulières se raccordant près du bord. Nervilles réticulées peu visibles.

Inflorescence : panicule lâche, terminale ou disposée à la base des feuilles, à ramifications courtes, glabre, de 5-25 cm de long.

L'arbuste est toujours feuillé, fleurit d'octobre à mars, les fruits sont mûrs de février en avril.

Ses feuilles, imparipennées à 5 à 9 folioles oblongues – ovoïdes, persistante, se singularisent par la présence fréquente d'épines sur les limbes.

Fleur, blanche ou verdâtre (jaune-crème selon Boulhard, 2000), avec une corolle à 5 pétales qui s'ouvrent peu et d'où dépassent un peu les étamines.

Les fruits de ce *Zanthoxylum* sont des capsules globuleuses de 5-6 mm de diamètre, brunes à maturité (voir figure 6), qui s'ouvre en deux valves et laisse apparaître une graine brillante, noire ou bleutée persistant longtemps sur l'arbre.

Floraison : souvent deux fois par an, en première partie de la saison sèche et en saison des pluies.

Habitat : Bosquets et galeries forestières des zones soudano-guinéennes et savanes guinéennes, sur sols drainés, termitières.

Répartition : du Sénégal au Nigéria. Peu commune en savane, localement grégaire.

4.7.1.6 Toxicité

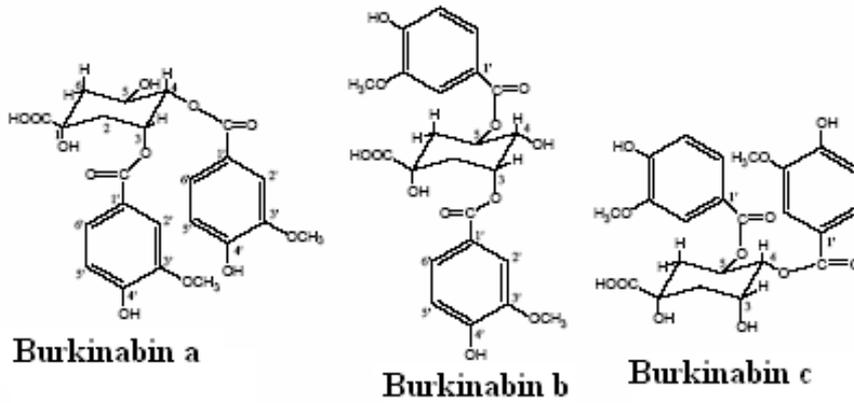
La toxicité du genre *Zanthoxylum* a été établie aussi bien chez l'homme que chez l'animal. En effet, en 1930 en Indiana (Etats-Unis), la toxicité de ce genre a été suspectée suite au décès d'ovins et de bovins qui ont ingéré l'écorce de *Zanthoxylum americanum* Miller. Ceci a été confirmé après l'accident survenu en Georgie où huit bovins ont trouvé la mort suite à l'ingestion de l'écorce de *Zanthoxylum clava-herculis* L. Il semblerait que les substances responsables de cette toxicité soient des alcaloïdes et qu'ils agiraient au niveau de la transmission neuromusculaire.

D'autres espèces, à savoir *Zanthoxylum zanthoxyloides* Lam. Zepernick et timler, *Zanthoxylum macrophyllum* Oliv. et *Zanthoxylum madagascariensis* Baker sont connues pour leur toxicité (par voie s.c., i.m. et i.v.), qui est utilisée à profit en Afrique de l'Ouest pour fabriquer des poisons de chasses efficaces à partir de l'écorce des racines et des tiges (Chaaib, 2004).

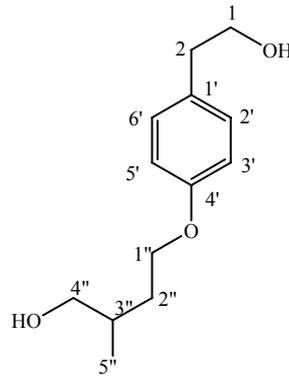
Toutefois, une étude effectuée en 2003 en Uganda par Jasper W. Ogwal-Okeng et ses collaborateurs sur la toxicité aiguë d'une administration orale de l'extrait méthanolique de l'écorce de racine, a conclu que ce dernier est pratiquement sans danger. Les résultats ont donné une DL50 d'environ 5 g/Kg de poids corporel.

4.7.1.7 Structures de quelques substances isolées de la plante

Trois isomères dérivés de l'acide divanilloylquinique (acide vanillique + acide quinique) ont été isolés de *Fagara zanthoxyloides* Lam., espèce récolté au Burkina-Faso. Il s'agit de : l'acide 3,4-*O*-divanilloylquinique ; l'acide 3,5-*O*-divanilloylquinique et l'acide 4,5-*O*-divanoylquinique, qui ont pris les noms de burkinabin a, b et c. B. Ouattara et ses collaborateurs ont permis cette isolation par les techniques analytiques couplées LC/MS et LC/RMN, (B. Ouattara et al., 2004). Ces mêmes espèces ont été retrouvées dans l'extrait méthanolique de l'écorce de racine de la variété récoltée au Mali, (Chaaib et al., 2004).

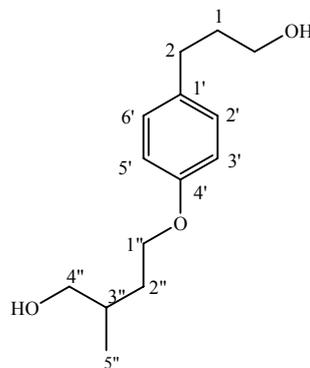


Le 4'-(4''-hydroxy-3''-méthylbutyloxy)-2-phényléthanol, un composé qui n'avait jamais été cité jusqu'à ce jour dans la littérature. Il s'agit donc d'un nouveau produit naturel (Chaaib et *al.*, 2003). Ce composé a été isolé par des techniques analytiques couplées LC/UV, LC/MS et LC/MSⁿ.

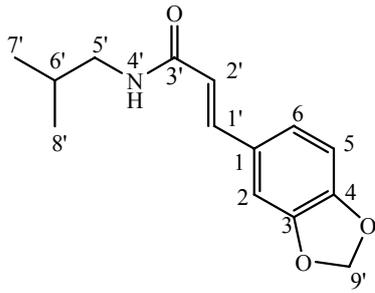


4'-(4''-hydroxy-3''-méthylbutyloxy)-2-phényléthanol

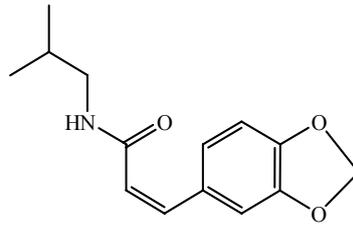
Le cuspidol, 4'-O-(4''-hydroxy-3''-méthylbut-2''-enyloxy)-3-phénylpropanol un dérivé du phénylpropane isolé de l'écorce de *F. cuspidata* Engl. (Ishii et *al.*, 1982) a été isolé de l'écorce de racine *Z. zanthoxylum* Lam. Zepernick et Timler (Chaaib et *al.*, 2004).



4'-O-(4''-hydroxy-3''-méthylbut-2''-enyloxy)-3-phénylpropanol



Trans-Fagaramide



Cis-Fagaramide

4.7.1.8 Quelques utilisations de la plante

- **Racines :** cure dents et contre la douleur dentaire (Malgras, 1992), diaphorétiques, ulcères phagédénique, enflure, hémorroïdes, rhumatismes, drépanocytose, abcès, morsure de serpent, fièvre, écorces de racine : œdème, fièvre, angine, carie dentaire (Charbonnier, 2000), parasiticide interne et externe (Chaaib, 2004), contre la malaria (Ogwal-Okeng, 2003).
- **Ecorces :** séchées et réduites en poudre pour le soin des plaies, contre les douleurs d'estomac (dans la bouillie et en potion). Bouillies contre l'onchocercose, la gingivite, les caries dentaires (en bain de bouche). Décoction contre les urticaires, la conjonctivite, le larmolement des yeux (en instillation) (Kerharo et Adams, 1974).
- **Racines et écorces :** vermifuge (Arbonnier, 2000).
- **Racines et feuilles :** coliques, dysenterie, urétrite, plaie, drépanocytose (Arbonnier, 2000).
- **Ecorces et feuilles :** migraine, névralgie, carie dentaire, gingivite (Arbonnier, 2000).
- **Feuilles :** leucorrhée, lèpre, chancre syphilitique (Arbonnier, 2000).



Figure 6: Rameaux avec fruits à maturité de *Zanthoxylum zanthoxyloides* Wat. (photo, Diallo)

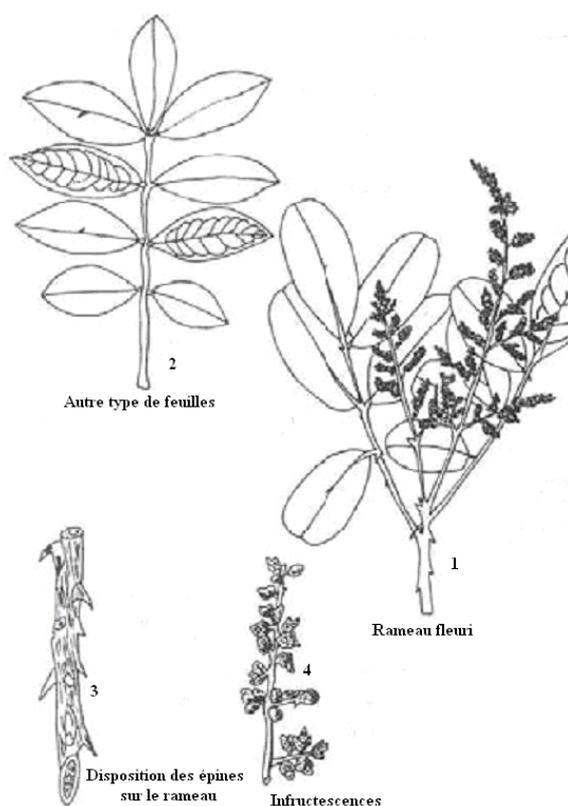


Figure 7: *Zanthoxylum zanthoxyloides* Wat. (Photo Malgras, 1992)

Nous avons en figure 6, l'image de la partie aérienne portant feuilles et fruits de *Zanthoxylum zanthoxyloides* Wat. Sur la figure 7, 1 : un rameau fleuri, 2 : les feuilles, 3 : disposition des épines sur le rameau et 4 : l'inflorescence.

4.7.2 XIMENIA AMERICANA L.

4.7.2.1 Les différents noms de la plante

(Burkill, 1997 ; Assogba, 1984)

Français: Pommier de cithère, Citron de mer

Anglais: Wild olive, wild lime, tallow nut, seaside plum, Spiny plum, mountain plum, false sandwood, tallow wood

Hausa: tswada, s'wàada, tsada, tsuada, tsâdâ, tsáádáá

Zarma: moray, moraï, kumhu

Kanuri : dàdin

Yoruba-igo : bottle

Fon : klivovoe

Mandingue ou Malinké : séno, séné, tónkain, dúngué

Peul : tiapouli, tiaburli, tiabulé, téné, tabulil, sarniana, tiábuli

Sonrhāi : marale, bider

Bambara : ntonké, nôgbé, ntôngé, tôkê, ngongbe, n'tongue, tonkain

Diola : furipinâ

Manding-Djula : bendéguara

Maninka : ngbani, guani

Bassari: ngmam

Nawdm: momologo

Mooré et Mossi: léga, léangha, leenga

Vulgare : ngologne (ngoloí)

Wolof: â-déon

Fula-Pulaar : tiabuli

4.7.2.2 Classification botanique

Selon la classification classique publiée par Arthur Cronquist en 1981 et 1988 dans les ouvrages suivants : An Integrated System of Classification of Flowering Plants (1981) et The Evolution and Classification of Flowering Plants (1988).

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes

- Classe : Dicotylédones
- Sous-classe : Rosidae
- Ordre : Santalales
- Famille : *Olacaceae*
- Genre : *Ximenia*
- Espèce : *americana* L.

4.7.2.3 Historique du genre

La ximénie tient son nom de Ximénès, nom d'un missionnaire espagnol (1765). Le mot *Ximenia* est employé comme masculin de ximenie (Petit Larousse, 1997).

L'espèce *Ximenia americana* L. a été créée en 1753 par Linné.

4.7.2.4 Caractéristiques botaniques

La famille des *Olacaceae* est une famille de plantes dicotylédones qui comprend 250 espèces réparties en 26 genres.

La classification phylogénétique distingue 3 sous-familles (Watson et Dallwitz, 1992).

- les *olacoideae*,
- les *anacalosoideae*,
- les *ximenioideae*.

Cette famille est représentée au Sénégal par trois genres : *Ximenia*, *Heisteria*, *Olax* (Kerharo et Adams, 1974).

Arbuste buissonnant et épineux ou petit arbre de 4-5 m de haut à cime étalée ; écorces crevassées gris brun et plus ou moins écailleuses ; épines solitaires droites, rigides et très aiguës, en général à l'aisselle des feuilles, de 1-1,5 cm de long.

Les feuilles sont alternes, de 5 sur 3 cm, ovales étroitement elliptiques, cunées à la base, arrondies ou émarginées au sommet, glabres ; 4 à 5 paires de nervures latérales peu marquées ; pétiole court de 6 à 7 mm (Kerharo et Adams, 1974 ; Arbonnier, 2000).

Inflorescence : petites grappes axillaires pendantes de fleurs blanches crème à jaune verdâtre de 0,8 cm de diamètre (fasciculée aux aisselles des feuilles) à 4 sépales triangulaires, à 4 pétales très densément et longuement poilus à l'intérieur ; poils dressés ; corolle de 1 cm ;

pédicelles de 5 mm (Kerharo et Adams, 1974 ; Arbonnier, 2000). Leur parfum rappelle celui de la prune (Boulhard, 2001).

Les fruits, drupes ellipsoïdes, de 2-3 × 1-2 cm, au sommet surmonté du reste du style, jaune d'or à maturité, à peau fine, à pulpe sucrée et contenant un noyau dur (Arbonnier, 2000). Les fruits sont charnus, lisses, à chair molle, très acidulée, à odeur d'ananas (Boulhard, 2001).

La graine (2,5 cm sur 1,2 cm) contient 5-9 % de matière grasse (Burkill, 1997).

La plante perd ses feuilles en février-mars, fleurit de janvier en mai et fructifie de février à juin (Malgras, 1992).

Habitat : savanes et sous-bois de forêts sèches soudaniennes à guinéennes, sur sols gravillonnaires, en terrain nu ou argileux près des mares.

Répartition : espèce pantropicale, du Sénégal au Cameroun.

4.7.2.5 Chimie

D'après le bulletin of the Imperial Institute, 1907, l'écorce contient 16 à 17 % de tanins (Kerharo et Adams, 1974).

Les feuilles contiennent des tanins et résines ; elles contiennent également une forte quantité de substances cyanogénétiques (Acide hydrocyanique) dont le pic est atteint en décembre.

La matière végétale africaine contient 380 à 460 mg d'hétérosides cyanogénétiques (sambunigrósíde) pour 100 g de poudre (Burkill, 1997).

La plante entière, les fruits et les graines renferment aussi des composés cyanogénétiques.

En 1938, en Australie, Finnemore et *al.* ont isolés des feuilles, un hétérosíde cyanogénétique, le mandelonitrile glucosíde ou sambunigrine C₁₄H₁₇O₆N.

L'enzyme mandelonitrile lyase qui catalyse la dissociation du mandelonitrile en benzaldehyde et hydrogène cyanide a aussi été isolée des feuilles par Gary et Eric en 1989. La même année, une étude mensuelle a été effectuée par les services de l'Agriculture de Brisbane pour la recherche et le dosage de l'acide cyanogénétique. Les résultats ont montrée que les jeunes feuilles contiennent 200 à 450 mg et les feuilles arrivées à maturité 160 à 380 mg pour 100 g de matière sèche.

Selon Dalziel, (1948), les fruits sont riches en acide prussique (38 % après purification répétée 122 fois).

L'amande des fruits renferme 60 à 70 % d'une huile non siccative, très visqueuse, de couleur jaune pâle.

Outre les acides gras habituels, oléique, linoléique, stéarique, on y trouve des acides gras non saturés particuliers. Il s'agit de deux acides éthyléniques, les acides ximénique $C_{26}H_{50}O_2$ représentant 15 à 25 % des acides totaux de l'huile et lumoléique $C_{30}H_{58}O_2$ représentant 3 à 5 % des acides totaux de l'huile, avec un acide à fonctions éthylénique et acéthylénique, l'acide ximéninique ou santalbinique $C_{18}H_{30}O_2$ représentant 25 % des acides totaux de l'huile.

Il a été isolé des racines, le proanthocyanidine polymérique (92,27 %), l'épicatchine (major flavan-3-ol), le procyanidine B-2 (0,016 %) et le procyanidine B-5 (0,003 %), le 13-trans 9-octadecène, le 11-acide diynoïque, le 11-trans 9-octadecène acide ynoïque (acide ximéninique) et le 11-trans,13-trans,9-octadecadien acide ynoïque. Des saponines de l'acide oleanolique, le 3- β -O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2) - β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3) - β -D-acide glucopyranosyl uronique] (Keïta A., 2004).

La racine de l'espèce tchadienne, utilisée pour l'obtention d'un colorant rouge, contient un complexe pigmentaire qui correspondrait à un ou plusieurs caroténoïdes hydrolysés (Kerharo et Adams, 1974).

4.7.2.6 Pharmacologie

La poudre de l'écorce est supposée avoir des propriétés antiseptiques ; l'écorce serait aussi astringente (elle contient des tanins) (Burkill, 1997).

Ximenia americana L. qui est renommé poison de pêche est reconnu avoir des propriétés molluscicides (Kela et al., 1989).

Les feuilles ont une activité antimicrobienne qui a été évaluée sur *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* (Ogunleye et Ibitoye, 2003).

Selon une étude sur l'activité antivirale contre les virus immunodéficient de types 1 (HIV-1) et 2 (HIV-2), de certaines plantes médicinales éthiopiennes, *Ximenia americana* L. a montré une activité antivirale à des concentrations non toxiques pour les cellules MT-4 (Asres et al., 2001).

4.7.2.7 Quelques utilisations de la plante

Connu pour ses vertus médicales, la médecine populaire africaine réserve à *Ximenia americana* L. une place considérable et ce, dans pratiquement tous les pays de la zone tropicale. Pour son utilisation, toutes les parties de la plante sont utilisées.

➤ **Racines** : la poudre de la racine est supposée avoir des propriétés antiseptiques.

Elles sont utilisées contre les vers de Guinée, la lèpre et l'impuissance sexuelle au Sénégal (Burkill, 1997). Raclées et réduites en poudre, ces racines sont utilisées contre les affections

gastro-intestinales, la myalgie et le kwashiorkor (Malgras, 1992). Elles sont aussi utilisées au Mali en macération contre la lèpre et l'impuissance sexuelle (Malgras, 1992).

Les écorces de racine sont utilisées au Sénégal (en Casamance) pour ses propriétés fébrifuges (Burkill, 1997) ; elles (écorces bouillies) sont aussi utilisées contre les eczémas au Mali (Malgras, 1997).

- **Feuilles** : les feuilles fraîches, hémostatiques, sont utilisées en application pour le soin des blessures (Malgras, 1997) ; les sont fébrifuges et sont aussi utilisées au Sénégal contre les angines de poitrine, les colites et helminthiases (Burkill, 1997). Les feuilles sont utilisées au Niger contre les ballonnements (Adjanooum et al., 1980). Au Nigeria, les feuilles sont utilisées contre le malaria, la lèpre et toutes autres infections de la peau (Ogunleye et Ibitoye, 2003). Les feuilles quelques fois associées aux racines sont utilisées au Sénégal contre les céphalées (Burkill, 1997).
- **Pulpe des fruits** : utilisée aux Antilles contre les dysentéries, les embarras gastriques et le rhumatisme (Boulhard, 2001).
- **Rameaux feuillés** : ils sont considérés comme antitussifs, laxatifs et sont indiqués en lotions oculaires et comme cures dents (Boulhard, 2001).
- **Ecorces** : elles sont utilisées au Soudan pour leur activité tannante (Burkill, 1997).

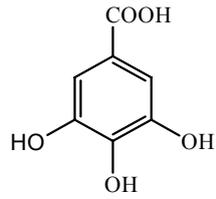
4.7.2.8 Toxicité

Les feuilles ont été suspectées avoir des effets toxiques en Queensland (Australie). Elles contiennent une forte quantité de substances cyanogénétiques (Acide hydrocyanique) dont le pic est atteint en décembre. Cependant, ces substances sont présentes en quantité toxique toute l'année (Burkill, 1997).

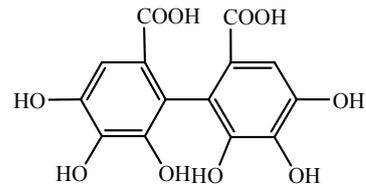
L'amande des graines est toxique, elle contient de l'acide cyanhydrique (Arbonnier, 2000).

4.7.2.9 Structures de quelques substances isolées de *Ximenia americana*

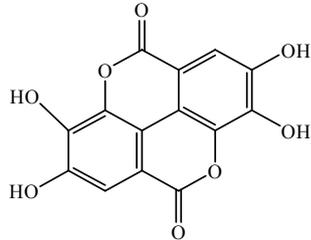
Des tanins, l'acide gallique, l'acide hexahydroxydiphénique et ses dérivés d'oxydation : déshydro-hexahydroxy-phénique et l'acide chébulique (tanins ellagiques ou ellagitanins), retrouvés dans les écorces de racine (Keïta A., 2004).



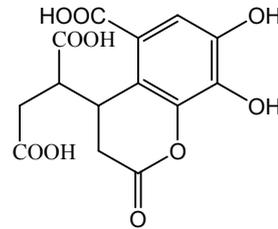
Acide gallique



Acide (S)-hexahydroxydiphénique

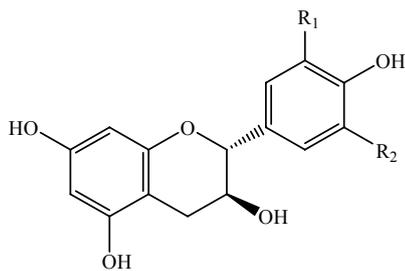


Acide ellagique

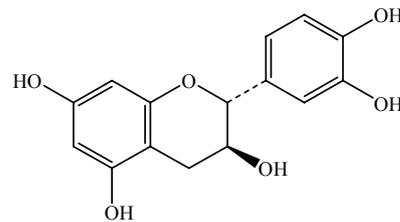


Acide chebulique

Il a été isolé des racines, le proanthocyanide polymérique, l'épicatéchine, la catéchine, l'acide gallique, le 3-O-galloylcatéchine et l'acide ximénynique.



Série 2-R, 3-S

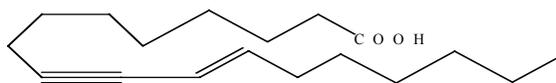


Catéchine

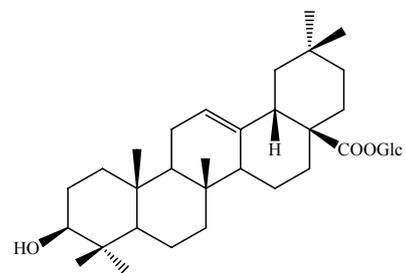
$R_1 = R_2 = H$: Afzeléchol

$R_1 = OH, R_2 = H$: Catéchol

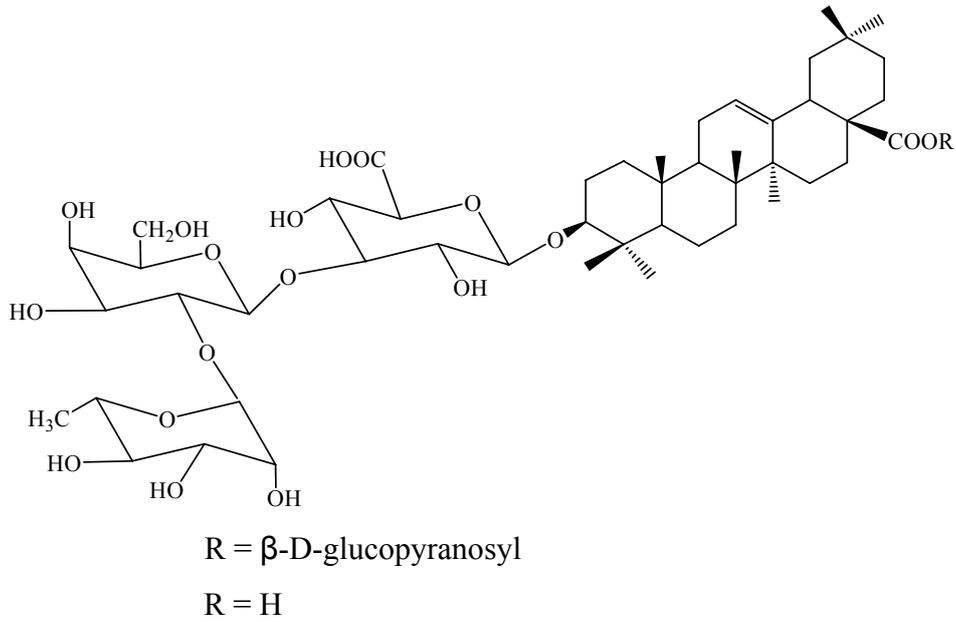
$R_1 = R_2 = OH$: Gallocatéchol



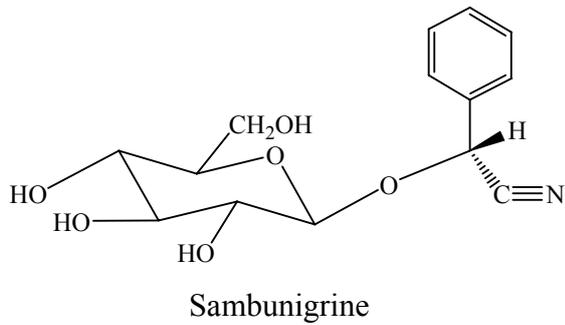
Acide ximénynique



Acide oleanolique 28-O-β-D-glucopyranoside



Les feuilles contiennent du sambunigrine



Les graines contiennent des acides oléique, linoléique, stéarique, ximeninique ou santalbinique, ximénique, lumoléique, arachidonique, linolenique, serotique.

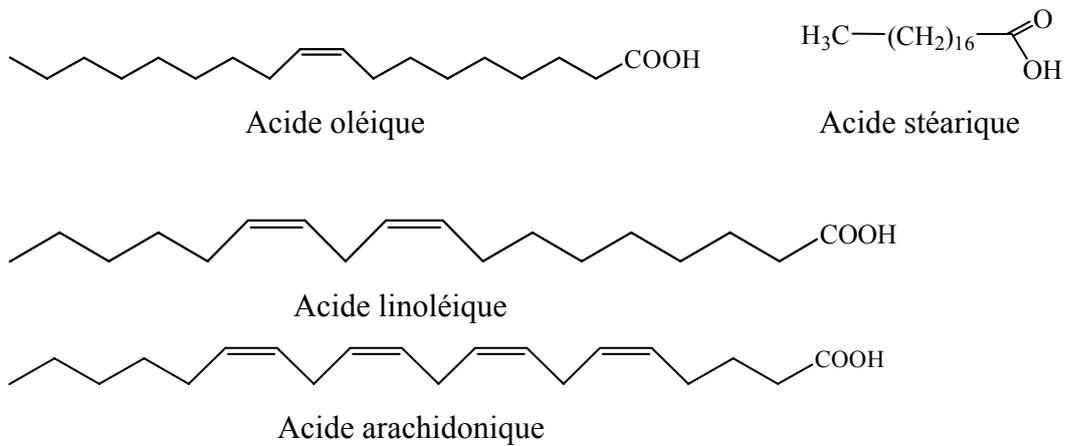




Figure 8: Branche (Fruits et fleurs)

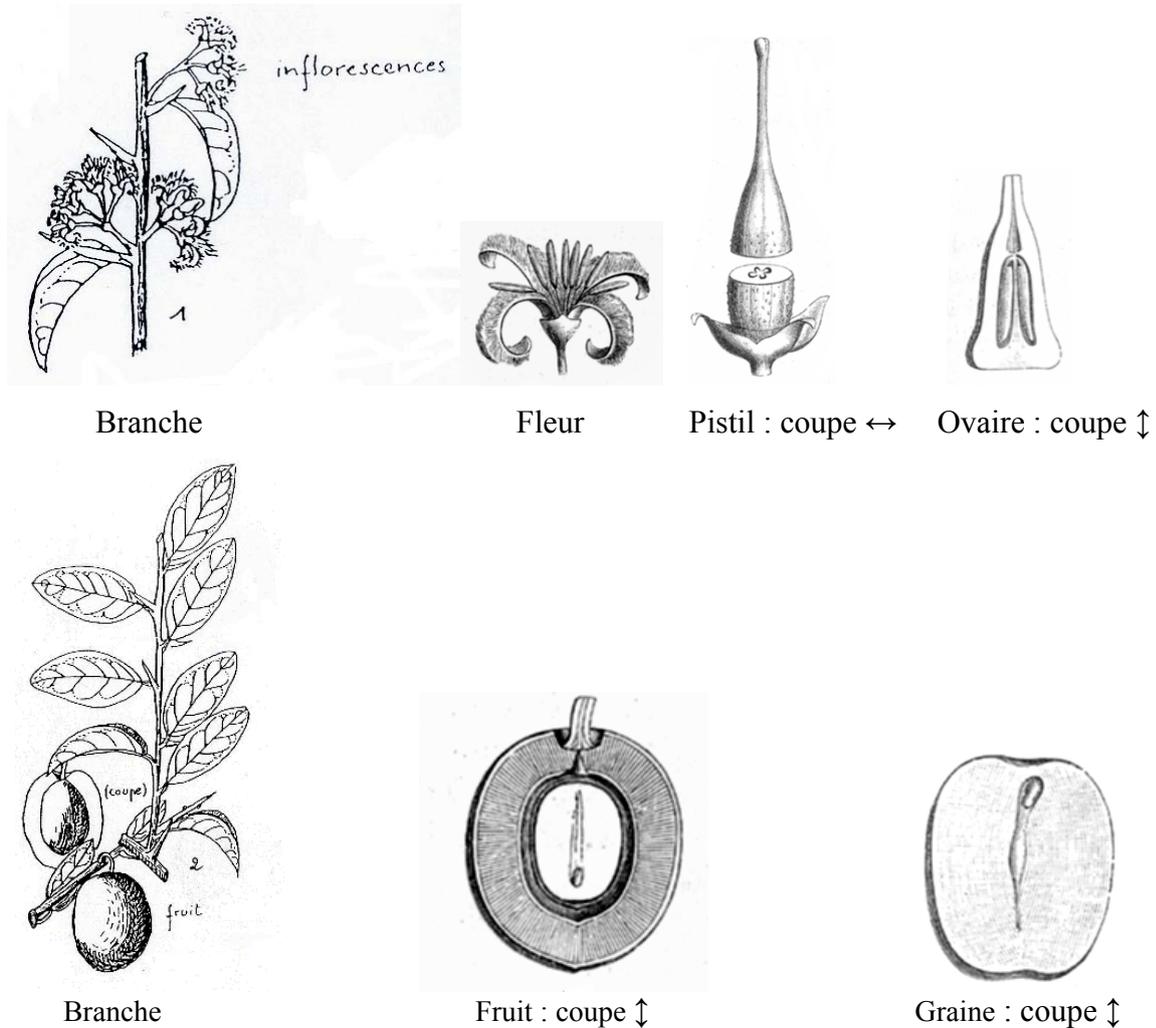


Figure 9: Fleurs



Figure 10: Branches feuillues

(Figures 8 et 9, source www.botany.hawaii.edu/faculty/carr/olac.htm, figure 10, source www.metafro.be/prelude/view).



Coupe ↑ : coupe longitudinale

Coupe ↔ : coupe transversale

Figure 11: *Ximenia americana* L (1 et 2 Malgras, (1992), autres : www.google_image.com).

4.7.3 EUPHORBIA SUDANICA A. CHEVALIER

4.7.3.1 Synonymes

(Arbonnier, 2000)

Euphorbia tellieri A. Chev.

Euphorbia trapaeifolia A. Chev.

4.7.3.2 Les différents noms locaux de la plante

(Arbonnier, 2000)

Bambara : ngwana

Sarakolé : fama

Bassari: a ñidin

Malinké: homō-homō, hamo, pamo, bamo

Peul: guō no

Français : Euphorbe du Soudan

4.7.3.3 Classification botanique

Selon la classification classique (Cronquist, 1981 et 1988).

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Euphorbiales

Famille : *Euphorbiaceae*

Genre : *Euphorbia*

Espèce : *sudanica* A. Chev.

4.7.3.4 Historique du genre

Le genre *Euphorbia* vient du nom Euphorbe, un médecin de Juba, roi de Numidie (dictionnaire Petit Larousse, 1987).

L'espèce *Euphorbia sudanica* A. Chev. est une plante rencontrée d'abord au Soudan (Mali) par le Professeur A. Chevalier en 1932 (Berhaut, 1975).

4.7.3.5 Caractéristiques botaniques

La vaste famille des *Euphorbiaceae* comprend environ 5000 espèces réparties en 300 genres. Elle est de distribution cosmopolite excepté les régions polaires.

Cette famille contient des plantes importantes comme le ricin (*Ricinus communis* L.), le manioc (*Manihot utilissima* Pohl. = *Jatropha manihot* L.) le caoutchouc (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.).

Le genre *Euphorbia* L. comporte d'importantes espèces ; environ 2000. Il est retrouvé principalement dans les régions tempérées subtropicales et chaudes.

Un certain nombre ressemble au cactus (famille des *Cactaceae*) à cause de leurs épines et de leur aspect succulent xérophytique. Cependant, ils sont aisément distingués des cactus par leur latex laiteux qui est souvent irritant et caustique. Mais comme chez les cactus, les épines de ces espèces peuvent causer des dommages physiques.

L'espèce *Euphorbia sudanica* A. Chev. est souvent confondue avec *E. paganorum* A. Chev., dont les rameaux sont grisâtres et plus épais, avec les épines insérées sur une protugérance plus ou moins noirâtre (Arbonnier, 2000).

Euphorbia sudanica A. Chev. est un arbuste succulent et épineux, de 1-2 voire 3 m de haut, au port plus ou moins en candélabre, à fût très court, à nombreuses branches ramifiées et dressées crème ou beige clair, gorgées de latex blanc. Ecorce verte à gris clair sur les vieux sujets, lisse, glabre. Rameau vert glauque à vert rougeâtre, charnu et plus ou moins cylindrique, de 1-2 cm de diamètre, couvert de protubérances plus ou moins triangulaires, disposées en spirale et faisant saillie de 5-10 mm. Epines par paires, disposées sur la partie supérieure de chaque protubérance (voir figures 11 et 12), de 5-10 mm de long, caduques. Les rameaux âgés sont sans épines.

Les feuilles alternes, sont disposées en spirale ou en fascicule au sommet des rameaux (voir figure 10) ; elles sont sessiles, glabres, charnues, oblongues spatulées ou obtriangulaires, de 2-8 × 1-5 cm, à sommet tronqué, finement denté, avec une pointe centrale, à base atténuée, vertes et plus ou moins glauques. Nervure pennée, en éventail, seule la nervure centrale est nettement visible.

Pour ce qui est de l'inflorescence, généralement 3 fleurs au bout d'un même pédoncule d'environ 1 cm de long et placé sur le bord supérieur de la cicatrice d'une feuille (voir figure 13).

La fleur est verte, le bouton plus ou moins trigone, orné de 5 glandes jaunes. Habituellement, les deux fleurs latérales avortent.

Le fruit est une capsule plus ou moins globuleuse trilobée, grise à beige à maturité, glabre de 3-7 mm de diamètre, disposée au bout d'un pédicelle coudé de 5-7 mm de long.

La feuillaison a lieu pendant les 2-3 mois de la saison des pluies.

La floraison a lieu en fin de saison sèche, avant la feuillaison

Habitat : *E. sudanica* A. Chev. est un arbuste des savanes soudaniennes, sur sols arides ou rocheux. Il est retrouvé dans les zones allant du Sénégal au Niger (Nigeria, Bénin, Côte d'Ivoire, Sénégal, Gambie, Mali, Burkina Faso, Niger. Arbonnier, (2000)). Cette répartition est localement commune, souvent grégaire.

4.7.3.6 Quelques utilisations de *Euphorbia sudanica* A. Chev.

Le latex est très caustique (il est répulsif). Il est utilisé dans certaines régions du Sénégal pour le traitement des semences d'arachide pour empêcher les singes et les chacals de les manger.

C'est un médicament de la lèpre : les rameaux sont coupés et brûlés jusqu'à obtention de cendres. Ces cendres sont bouillies dans de l'eau avec des feuilles de *Nauclea latifolia*. Et le décocté ainsi obtenu sert en lavage du corps entier, le visage compris. Cette plante servirait aussi dans les pneumonies. L'infusion, prise avec du lait, serait dépurative (Berhaut, 1975).

La racine est utilisée comme telle sous forme de deux recettes dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée : concassée grossièrement en infusion (à boire tiède avec le l'alun) ou sous forme de poudre dans la bouillie ou autre liquide pouvant masquer l'amertume.

4.7.3.7 Toxicité

D'après Behl et al. 1966, le latex laiteux est fortement irritant pour la peau et les yeux ; et est employé par des villageois indiens comme gommage et pour enlever les verrues.

L'application du latex, de la poudre et des extraits produit une irritation, des brûlures ou même des gangrènes (London, 1855 ; Van Hasselt, 1882).

L'effet irritant du genre *Euphorbia* L. a été rapporté par Lewis (1922), Touton (1932), Roig y Mesa (1945), Williams (1949), Heyne (1950), Lipparoni (1951), Brown (1954), Morton (1958), Watt et Breyer-Brandwijk (1962), North (1967) et tant d'autres auteurs.

Environ 50 espèces d'*Euphorbia* L. ont été énumérées comme étant irritantes par Pammel en 1911. Le latex de *Euphorbia sudanica* A. Chev. est très caustique selon Dalziel, 1937, Berhaut, 1975 et Arbonnier, 2000. Il est par ailleurs utilisé en Afrique comme ingrédient de poisons de flèche (Dalziel, 1937 ; Raymond, 1939 ; Uphof, 1959, Watt et Breyer-Bradwijk, 1962).

Outre *E. sudanica* A. Chev., d'autres espèces d'*Euphorbia* sont aussi recensées comme étant toxiques. Il s'agit entre autre de l'espèce *E. antiquorum* L. dont le latex est irritant pour la peau (Pammel 1911, Burkill 1935, Chopra et Badhwar 1940, Behl et al. 1966, Nadkarni 1976). Kinghorn et Evans (1975) ont démontré l'irritabilité du latex sur les oreilles de souris. La sève de cette espèce irrite les yeux des humains (Santos Fernandez 1892, Lampe et Fagerström 1968, Grant 1).



Figure 12: Partie aérienne d' *Euphorbia sudanica* A. Chev. (Photo D. Diallo).



Figure 13: Branche portant des feuilles.



Figure 14: Branche épineuse ayant perdu ses feuilles.



Figure 15: Branche à boutons floraux.



Figure 16: Branche portant des fruits.

Les figures 13-16 ont été obtenues sur le site www.euphorbia.de/e_sudanica.htm.

4.8 RECETTE A BASE DE ARISTOLOCHIA ALBIDA DUCHARTRE

4.8.1 Monographie de *Aristolochia albida* Dc.

4.8.1.1 Les différents noms de la plante

Français : Aristoloche blanrâtre

Anglais : Dutchman's pipe

Hausa (Nigeria) : Dúmàn duútseè, Mádaàcin kàsà

Hausa (Niger) : Duman doutchi

Haoussa (Cameroun) : Gadakuka

4.8.1.2 Classification botanique

Selon la classification classique (Cronquist, 1981 et 1988).

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Magnoliideae

Ordre : Aristolochiales

Famille : *Aristolochiaceae*

Genre : *Aristolochia*

Espèce : *albida* Dc.

4.8.1.3 Historique

Plante d'utilisation ancienne. Du Grec aristos, excellent et lochia ou lochies, accouchement.

Les anciens croyaient à un pouvoir spécial de cette plante pour l'expulsion des humeurs après l'accouchement (Berhaut, 1971).

4.8.1.4 Caractéristiques botaniques

Famille des dicotylédones, les *Aristolochiaceae* comprennent environ 625 espèces réparties en 7 genres des régions tropicales et tempérées.

Aristolochia albida Duch est une plante ligneuse des zones sahéliennes (zones regroupant Sénégal, Mali, Nord et Sud du Nigeria, Tchad, Angola (Burkill, 1985), Nord-Ouest du Niger (région de l'Ader).

Les feuilles sont alternes, simples, cordiformes, pétiolées (pétiole long de 1 à 5 cm), à nervation palmée. La base est trinervée, les 2 nervures latérales montant presque au sommet ; 2 ou 3 autres nervures vers le haut, et d'autres nervures plus courtes sur l'extérieur des nervures latérales. Sous le limbe se trouve un réseau très fin de nervilles saillantes. La base du limbe est assez profondément cordée ; le sommet est en coin arrondi.

L'inflorescence est en grappe avec des fleurs solitaires de couleur jaune-pale.

Le fruit est une gousse obovale longue de 5 à 6 cm, large de 2 à 3 cm, s'ouvrant en 6 pans retenus par les filaments qui en sont l'armature. A l'intérieur, les graines sont plates et très nombreuses.

La racine est amère.

Une autre espèce d'*Aristolochia* (*A. bracteolata* Linn.) est retrouvée dans la zone sahélienne. C'est un arbuste glabre présent dans les zones du Mali, le nord du Nigeria, l'Afrique de l'est tropicale, l'Arabie et l'Inde.

Ces deux espèces ont pratiquement les mêmes noms vernaculaires ; en médecine locale, les racines de *Aristolochia albida* Dc. semblent être interchangeables avec celles de *Aristolochia bracteolata* L. (Burkill, 1985).

4.8.1.5 Quelques utilisations de la plante

L'utilisation des espèces du genre *Aristolochia* est interdite dans plusieurs pays en raison de la néphrotoxicité de l'acide aristolochique. Cependant certains pays incluant quelques Etats membres de l'UE permettent l'utilisation d'espèces d'*Aristolochia* dans la médecine homéopathique à condition que de hautes dilutions qui sont pratiquement sans risque soient employées (EMEA, 2000).

Quelques espèces du genre *Aristolochia* sont utilisées un peu partout dans le monde par la médecine des herbes comme anti-inflammatoire dans le traitement de la goutte, de l'arthrite et de l'inflammation chronique des maladies de la peau. Quelques espèces de l'Amérique du Nord (Exemple : *A. serpentaria*) sont utilisées dans le traitement des morsures de serpents (EMEA, 2000).

La racine est amère, et on en obtient une infusion froide, amère, stomachique et tonique, en versant de l'eau sur les racines dans un tamis et en répétant plusieurs fois l'opération (Berhaut, 1975).

L'infusion des feuilles sèches ou quelques fois associées à des racines sèches, d'*A. albida* Dc. est utilisée au Nigeria par les Hausa et les Peulh comme antihelminthiques. Les feuilles sont aussi appliquées au Nigeria contre certaines maladies de la peau ; écrasées et mélangées à l'huile de ricin en application locale contre les acnés. Elles sont aussi utilisées en application locale pour retirer les vers de Guinée (Burkill, 1985, Berhaut, 1971). On peut aussi faire un cataplasme avec les racines pilées et mélangées avec du nation indigène (carbonate naturel de sodium). On boit aussi une infusion de cette mixture (Berhaut, 1971).

En médecine locale les racines sont très souvent confondues avec celles de *Cissampels* (*Memispermaceae*) et semblent être interchangeables avec celles de *A. bracteolata* Lam. (aussi appelée gadakuka (Haoussa), Burkill, 1985).

Les racines de *A. bracteolata* L., mélangées à l'huile de ricin (*Ricinus communis* L.) sont utilisées comme antidote des morsures de serpent et des piqûres de scorpion au Nigeria et à l'Est du Tchad (Burkill, 1985).

4.8.1.6 Chimie

Les espèces des genres *Aristolochia* et *Asarum* de la famille des *Aristolochiaceae* contiennent des composés toxiques (néphrotoxiques), les acides aristolochiques. Il s'agit de deux isomères de l'acide nitrophénanthrène carboxylique : le 3,4-méthylènedioxy-8-méthoxy-10-nitrophénanthrène-1-acide carboxylique (= acide aristolochique I) et son dérivé déméthoxylé, l'acide aristolochique II. Ces acides semblent être présents dans toute la plante. Ils ont en effet été retrouvés dans la racine, la tige, la feuille et le fruit. Les espèces du genre *Aristolochia* contiennent également des aristolactames (amides cyclo- phénanthrènes) (EMEA, 2000). En 2000, Haruna A. K. et Ilyas M. ont isolé de l'extrait méthanolique de la racine de *Aristolochia albida* Dc., l'acide aristolochique I et un aristoloside, l'acide *O*-glucoside aristolochique.

Les racines fraîches de *A. bracteolata* L. contiennent deux composés cristallins, acides. L'un avec un éclat jaune brillant qui est identique à l'acide aristolochique ; et le second est jaune orangé.

Les graines contiennent aussi ces deux substances et un autre composé vert sombre d'aspect huileux (Burkill, 1985).

4.8.1.7 Pharmacologie

La racine est un antidote des venins de serpents (Haruna et Choudhury, 1996).

Un composé d'une espèce africaine de *A. albida* Duch, columbine (diterpène) isolé de la racine, a inhibé totalement une enzyme (nonhemorrhagic proteinase B-20) provenant du venin d'un serpent dangereux (Nok, 2001).

Une étude effectuée au Nigeria a mis en évidence l'effet antispasmodique des extraits aqueux de la partie souterraine de la plante (Haruna et Choudhury, 1997).

L'acide aristolochique stimule le mécanisme de défense de l'organisme contre les infections et l'inflammation chez plusieurs espèces de mammifères incluant l'homme. Il a stimulé l'activité phagocytaire des granulocytes périphériques chez des volontaires sains à la dose de 0,3 mg en 3 prises journalière pour un traitement de 10 jours. L'effet anti-inflammatoire a été attribué à l'acide aristolochique et a été démontré sur des animaux (EMEA, 2000).

Les activités pharmacocinétiques de l'administration *per os* des acides aristolochiques I et II ont été étudiées sur les rats, souris, cochons d'Inde, chiens et l'homme. Les doses étudiées vont de 0,6-85 mg/Kg de poids corporel. L'acide aristolochique I a été aisément absorbé par la muqueuse gastro-intestinale. Chez les rats environ 91 % de la dose ingérée ont été retrouvés dans les déchets (autant dans les urines que dans les excréments) ; une absence de métabolites a été observée dans ces déchets.

4.8.1.8 Toxicité

Les plantes médicinales contenant les espèces du genre *Aristolochia* sont d'une toxicité évidente aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Les acides aristolochiques, constituants de ces espèces, sont dotés d'une sévère néphrotoxicité à des doses infinitésimales (de l'ordre du $\mu\text{g/Kg}$) chez l'homme.

De nombreux rapports internationaux de décès et d'insuffisance rénale en phase terminale ont été faits à cet effet.

Depuis 1993 plus de 100 cas de néphropathie irréversible ont été annoncés en Belgique chez des jeunes femmes ayant suivi un traitement clinique d'amaigrissement. Cette néphropathie a été le résultat d'un usage imprudent d'*A. fangchi* comme substitut de l'espèce *Stephania tetrandra*, un constituant de la préparation amaigrissante. Un tiers de ces femmes ont été contraintes de recevoir une greffe rénale. Les doses quotidiennes ingérées étaient de l'ordre du $\mu\text{g/Kg}$ de poids corporel.

Un groupe d'investigateurs (Nortier et *al.*) ont signalé avoir détecté de l'ADN remanié (provenant du complexe déoxyadénosine-acide aristolochique) dans les tissus rénaux des patientes greffées. Il a été aussi découvert chez quelques unes des patientes transplantées, la présence de métastases dans le pelvis rénal (uretère et vessie).

Chez 39 des patientes qui ont consenti à subir la chirurgie prophylactique il y avait 18 cas de carcinome de l'épithélium rénal et 17 cas de carcinome d'un ou des deux uretères et un papillome de la vessie. 19 des patientes restantes avaient une dysplasie épithéliale rénale moyenne à modérée et les deux autres avaient un épithélium normal. Tous les échantillons analysés contenaient le complexe acide aristolochique-ADN remanié.

Un total de 17 cas a été annoncé en France en 1994 chez des patients qui ont pris une préparation contenant de l'*A. fangchi* à la place de *S. tetrandra*.

En 1999, 2 cas d'insuffisance rénale terminale ont été annoncés au Royaume Uni chez des femmes prenant des remèdes chinois n'ayant reçu aucune licence autorisant la mise sur le marché, contre l'eczéma.

L'une des patientes a subi une greffe rénale et l'autre est en attente. Ces patientes ont été exposées à l'acide aristolochique suite à l'ingestion d'*A. manshuriensis* Kom. (un type de Mu tong = non chinois de plante) à la place des espèces de *Clematitis* L. ou d'*Akebia* qui sont aussi des Mu tong dans la formulation du médicament.

Un cas a été annoncé en Espagne. Le patient était atteint d'une insuffisance rénale en phase terminale suite à une consommation chronique d'infusion faite d'un mélange d'herbes contenant *A. pistolochia*, une espèce indigène de la Catalogne.

Les rapports de la Chine incluent 17 cas d'insuffisance rénale liés à l'utilisation de *A. manshuriensis* Kom. (un Mu tong) dans les tisanes. 12 de ces 17 patients sont mort d'insuffisance rénale.

Au Japon 10 cas de néphropathie ont été annoncés en 1995 dont 5 de ces cas ont été attribués à la médecine chinoise des plantes. Dans ces 5 cas *Akebia quinata* a été substitué par *A. manshuriensis* Kom.

Cette toxicité a été évaluée par la DL₅₀ de la solution aqueuse des substances actives en acide aristolochique administrée par voie orale à des rats et souris. Cette DL₅₀ chez le rat a été de 203,4 mg/Kg de poids corporel pour les mâles et 183,9 mg/Kg de poids corporel pour les femelles. Celle de l'administration en intraveineuse a été de 82,5 mg/Kg de poids corporel chez les mâles pour 74 mg/Kg de poids corporel chez les femelles.

Chez les souris, le DL₅₀ de l'administration *per os* a été de 55,9 mg/Kg de poids corporel chez les mâles pour 106,1 mg/Kg chez les femelles. Celle de l'administration intraveineuse a été de 38,4 mg/Kg pds. c. chez les mâles pour 70,1 mg/Kg de poids corporel chez les femelles.

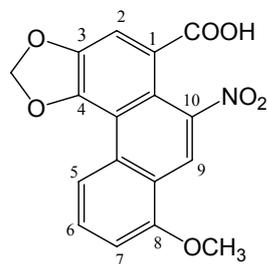
Les lapines sont très sensibles à l'effet toxique de l'acide aristolochique. La mort a été observée après une administration unique en intraveineuse de dose comprise entre 1-5 mg/Kg de poids corporel.

Suite au rapports annonçant la néphrotoxicité du genre *Aristolochia*, la plupart des Etats membres de l'Union Européenne (UE) ont pris des mesures réglementaires afin de protéger le public contre les médicaments non autorisés contenant les espèces toxiques du genre *Aristolochia*. Dans plusieurs Etats membres l'utilisation des espèces de *Stephania* a été restreinte pour éviter les risques de substitution.

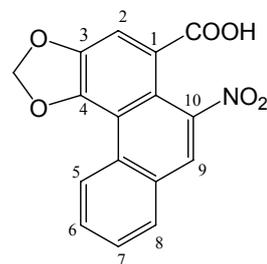
Selon le professeur Lu Guangshen, de l'Institut chinois de la médecine traditionnelle chinoise, lors d'un séminaire sur la sécurité d'emploi des médicaments chinois, les médecines chinoise et occidentale ont des concepts différents de diagnostic et de traitement. Les plantes médicinales chinoises contenant de l'acide aristolochique sont bénéfiques lorsqu'elles sont employées selon les théories de la médecine chinoise. Sinon, elles sont probablement toxiques.

L'EMA a recensé les espèces d'*Aristolochia* L. incluent dans la pharmacopée chinoise. Il s'agit de *A. fangchi* Y.C. Wu ex L.D. Chou et S.M. Hwang (racine), *A. manshuriensis* Kom. (tige), *A. contorta* Bge. (fruit, partie aérienne), *A. debilis* Sieb. et Zucc. (fruit, partie aérienne, racine).

4.8.1.9 Structures de quelques substances isolées de la plante



Acide aristolochique I



Acide aristolochique II



Figure 17: *Aristolochia albida* Duch.(Aristolochiaceae).

5 TRAVAUX PERSONNELS

5.1 LIEU

Les travaux ont été menés au laboratoire de phytochimie et de pharmacodynamie du Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de Bamako (Mali).

Ces travaux ont porté sur des réactions de caractérisation des grands groupes chimiques, des extractions avec des solvants polaires et apolaires et les tests biologiques sur les effets antioxydant des deux recettes ; mais aussi sur l'évaluation des effets antalgique et anti-inflammatoire de l'extrait aqueux selon la méthode de préparation du tradipraticien.

5.2 MATERIELS

5.2.1 Matériel végétal

5.2.1.1 La recette à base de la racine de *Aristolochia albida* Dc.

La recette est constituée de la partie souterraine de la plante (les racines) dont l'identification a été faite par le Professeur N'golo DIARRA (botaniste).

Un échantillon de la drogue sèche a été rapporté du Niger mais la drogue qui servi à notre étude nous a été fournie au DMT (elle a été récoltée à Douentza en novembre 2003. Un spécimen, le N° 1477 est disponible au DMT).

Après triage nous avons dépoussiéré notre drogue.

Les racines ont été préalablement concassées au mortier traditionnel avant la pulvérisation au moulin de marque Resh SM 2000 du DMT.

5.2.1.2 La recette "Néfaraliwona"

Pour notre étude, nous avons utilisé le lot N° 405a de la recette "Néfaraliwona".

Le "Néfaraliwona" est un mélange de poudre de parties de trois plantes à savoir , la racine de *Ximenia americana* L. (*Olacaceae*), la tige *Euphorbia sudanica* A. Chev. (*Euphorbiaceae*) et les écorces de racine de *Zanthoxylum zanthoxyloides* Wat. (*Rutaceae*).

Il nous a été fourni par Mr. Mambi TRAORE, thérapeute traditionnel à Bamako.

➤ Standardisation de dose du tradipraticien

Nous avons fait faire à dix adultes la mesure de trois cuillérées à café (posologie du tradipraticien).

Nous avons déterminé la moyenne. La masse obtenu a subit une macération aqueuse (40 ml d'eau distillée) de 30 mn sous agitation. Nous avons filtré puis concentré. Le macéré a été lyophilisé. Nous avons déterminé le rendement d'extraction.

5.2.2 Matériel animal

Pour toute étude expérimentale, il est préconisé d'utiliser les deux sexes ; c'est-à-dire appliquer le protocole sur des mâles et des femelles avec des lots uniformes (c'est-à-dire de même sexe et de poids compris dans une fourchette de ± 2 g).

Pour les différents tests à effectuer les études expérimentales antérieures n'ont pas montré de différences significatives par rapport aux résultats en fonction du sexe.

Compte tenu de certaines difficultés financières, nous avons travaillé sur des souris mâles de poids compris entre 21 et 31 g selon les lots. C'est une souche non consanguine sélectionnée à partir d'une lignée de souris présentant des caractéristiques de vigueur, de reproductivité et exempte de pathogènes, appelée CF1 (Crarworth Farms Souche 1) et qui a pris le nom de OF1 (Oncins France Souche 1). Ces souris ont été fournies par l'animalerie du centre national d'appui à la lutte contre la maladie (C.N.A.M.).

5.3 REACTIONS DE CARACTERISATION

5.3.1 Matériel

- Becher, ballons, fioles, erlenmeyer, éprouvettes graduées, spatule, entonnoir, pipettes graduées, ampoules à décanter, verre de montre, creusets en silice, baguettes, tubes à essai, fioles,
- Coton, papier filtre,
- Mortier,
- Agitateurs et baguettes magnétiques,
- Balance analytique de type sartorius,
- Bain-marie Büchi 461 Water Bath,
- Rotavapor de type Büchi R-200,

- Dessiccateur,
- Four électrique réglé à 800°C et étuve réglée à 110°C,
- Lyophilisateur type Heto Drywinner,
- Spatule métallique,
- Poire,
- Pincés,
- Flacons stériles.

5.3.2 Les réactions en tubes

Les essais chimiques de caractérisation ont porté sur la recherche dans la poudre de la racine de duman douchi et celle de la recette « Néfaraliwona », des principaux groupes chimiques. Ces recherches ont été portées exclusivement sur des réactions en tubes.

Les résultats sont interprétés comme suit :

- Réactions franchement positives : + + + +
- Réactions positives : + + +
- Réactions moyennement positives : + +
- Réactions louches : +
- Réactions négatives : 0

5.3.2.1 Alcaloïdes

Principe :

Ce sont des réactions de précipitation : les alcaloïdes sont des substances azotées d'origine végétale, à caractère alcalin ; ainsi, en présence d'acide, vont donner des sels d'alcaloïdes.

Ces réactions de précipitation sont fondées sur la capacité qu'ont les alcaloïdes de se combiner avec des métaux et des métalloïdes (dans la pratique, il s'agit des composés iodés) pour donner des précipités caractéristiques.

On obtient avec :

- le réactif de Bouchardad → un précipité brun
- le réactif de Dragendorff → un précipité rouge-orangé
- le réactif de Valser-Mayer → un précipité blanc-jaunâtre

Mode opératoire :

A la poudre (10 g) est additionné de l'acide sulfurique dilué au 1/10 (50 ml). Après agitation, l'ensemble est laissé en macération pendant 24 heures à la température du laboratoire puis filtré.

Dans deux tubes à essai, introduire du filtrat (1 ml) et ajouter le réactif de Mayer (le tétraiodomercurate de potassium) (5 gouttes) dans le premier tube et le réactif de Dragendorff (le tétraiodobismuthate de potassium) (5 gouttes) dans le second tube. S'il y a apparition d'un précipité, la présence d'alcaloïdes est confirmée par leur extraction.

Confirmation et détermination du pourcentage des alcaloïdes

Mettre en agitation la poudre de la drogue (3 g) (PE), de l'acide sulfurique à 10 % (25 ml) et de l'eau distillée. Filtrer et compléter à 50 ml avec de l'eau distillée. Alcaliniser le filtrat avec du NH₄OH dilué au ½ jusqu'à pH 8-9 puis faire une extraction avec du chloroforme (50 ml). Le filtrat séché sur sulfate de sodium anhydre est évaporé au bain-marie dans deux capsules préalablement pesées (M). La capsule M est encore pesée avec le résidu (M') pour la détermination du pourcentage des alcaloïdes ; le résidu de la deuxième capsule est repris avec de l'acide sulfurique dilué au 1/10 pour la détermination des alcaloïdes avec les réactifs de Mayer et de Dragendorff.

La masse d'alcaloïdes (MA) est déterminée par la formule suivante :

$$MA = M' - M$$

Le pourcentage d'alcaloïdes (PA) :

$$PA = \frac{MA}{PE} \times 100$$

PE= Prise d'Essai (en g)

5.3.2.2 Substances polyphénoliques

La solution à analyser est un infusé aqueux à 5 % préparé à partir de la poudre de drogue (5 g) dans de l'eau distillée bouillante (100 ml) pendant 15 mn.

5.3.2.2.1 Tanins

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

- Tanins catéchiques : Ajouter à l'infusé (5 ml), de l'éthanol chlorhydrique (1 ml) [éthanol à 95° alcoolique (5 ml), eau distillée (5 ml), HCl concentré (5ml) et porter le tout à ébullition pendant 15 minutes. En présence de tanins catéchiques, il y a formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique.
- Tanins galliques : Ajouter à l'infusé (30 ml), le réactif de Stiany (10 ml de formol à 40 %, 15 ml d'acide chlorhydrique concentré) (15 ml). Chauffer au bain-marie à 90°C pendant 15 minutes. Filtrer et saturer le filtrat avec 5 g d'acétate de sodium pulvérisé. Ajouter goutte à goutte une solution de FeCl_3 à 1 % (1 ml). L'obtention de précipité montre la présence de tanins galliques.

Filtrer et saturer le filtrat (1 ml) d'acétate de sodium. Ajouter quelques gouttes de FeCl_3 à 1 %. Le développement d'une teinte bleu-noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiany.

5.3.2.2.2 Flavonoïdes

A l'infusé à 5 % (5ml) 5ml de présentant une coloration de départ plus ou moins foncée, ajouter un acide (5 ml de H_2SO_4) puis une base (5ml de NH_4OH). Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut conclure à la présence d'anthocyanes.

Réaction à la cyanidine

Principe : En solution alcoolique et en présence d'hydrogène naissant par action de l'acide chlorhydrique sur du magnésium, les flavonoïdes donnent une coloration rouge-orangée allant au violet.

Mode opératoire : Introduire dans un tube à essai l'infuser (5 ml), ajouter de l'éthanol chlorhydrique 5 ml (éthanol à 95 %, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes), l'alcool isoamylique (1 ml), puis quelques copeaux de magnésium.

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

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

5.3.2.2.3 Leucoanthocyanes

Effectuer la réaction à la cyanidine sans ajouter les copeaux de magnésium et chauffer pendant 15 mn au bain-marie.

En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée.

Les catéchols donnent une teinte brun rouge.

5.3.2.3 Dérivés anthracéniques

5.3.2.3.1 Anthracéniques libres : les quinones

A la poudre de drogue (1 g), ajouter du chloroforme (10 ml) et chauffer pendant 3 minutes. Filtrer à chaud et compléter à 10 ml si nécessaire. A l'extrait chloroformique obtenu (1ml) ajouter du NH₄OH dilué (1 ml) et agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

Différentiation des quinones

A 1 g de poudre humectée avec H₂SO₄ 10 % sont ajoutés un mélange à volume égal d'éther et de chloroforme (20 ml). Après une macération de 24 heures, 5 ml du filtrat obtenu sont évaporés à l'air, puis le résidu est repris par quelques gouttes d'éthanol à 95 %. Ajouter goutte à goutte une solution aqueuse d'acétate de nickel à 5 %. La réaction positive se caractérise par une coloration rouge.

5.3.2.3.2 Anthracéniques combinés

Les *O*-hétérosides : Sur le résidu de la poudre épuisée par le chloroforme ajouter de l'eau distillée (10 ml) et du HCl concentré (1 ml). Placer le tube à essai dans un bain-marie bouillant pendant 15 minutes. Refroidir le tube à essai sous un courant d'eau froide et filtrer. Prélever 5 ml de ce filtrat et ajouter 5 ml de chloroforme ; soutirer la phase organique après agitation. A la phase organique, ajouter du NH₄OH dilué (1 ml). Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines *O*-hétérosides. La réaction négative ou faiblement positive conduit à la recherche de :

- *O*-hétérosides à génines réduites : Au filtrat précédent (5 ml), ajouter du FeCl₃ à 10 % (4 à 5 gouttes). Chauffer au bain-marie pendant 5 mn. Refroidir sous un courant d'eau. Extraire avec 5 ml de chloroforme. A la phase organique ajouter du NH₄OH dilué (1 ml). En présence des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment.
- *C*-hétérosides : La solution à analyser est la phase aqueuse obtenue avec la solution à analyser des *O*-hétérosides. A cette solution ajouter de l'eau (10 ml) et du FeCl₃ (1 ml). Chauffer au bain-marie pendant 30 mn. Refroidir sous un courant d'eau. Agiter avec du CHCl₃ (5 ml). Soutirer la phase chloroformique et y ajouter 1 ml de NH₄OH dilué. L'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de *C*-hétérosides.

5.3.2.4 Stérols et triterpènes

Cet extrait obtenu à partir d'une macération de 24 h de la poudre de drogue (1 g) et 20 ml dans de l'éther servira en plus à la recherche de coumarines et de caroténoïdes. Après filtration compléter le macéré à 20 ml.

Prélever 10 ml de ce macéré à évaporer jusqu'à sec dans une capsule, puis dissoudre le résidu dans de l'anhydride acétique (1 ml) et du chloroforme (1 ml). Partager cette solution dans deux tubes à essai. Mettre dans le fond d'un des tubes à l'aide d'une pipette de l'acide sulfurique concentré (1-2 ml); l'autre servira de témoin. A la zone de contact des deux liquides la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet avec la couche surnageante (verte ou violette), révèle la présence de stérols et triterpènes.

5.3.2.5 Caroténoïdes

Prélever de l'extrait (5 ml) et évaporer jusqu'à sec ; ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine ($SbCl_3$) dans le chloroforme ($CHCl_3$). Il se développe en présence de caroténoïdes une coloration bleue devenant rouge par la suite.

5.3.2.6 Coumarines (composé polyphénolique)

De l'extrait étheré (5 ml) est évaporé à l'air libre, puis repris avec de l'eau chaude (2 ml). Partager la solution entre deux tubes à essai. L'un des tubes servira de témoin ; ajouter dans l'autre tube du NH_4OH (0,5 ml) à 25 %, mélanger et observer de la fluorescence sous UV à 366 nm. Une fluorescence bleue, intense dans ce dernier indique la présence de coumarines.

5.3.2.7 Hétérosides cardiotoniques

A la poudre de drogue (1g), ajouter de l'éthanol à 60 % (10 ml) et une solution d'acétate neutre de plomb à 10 % (5 ml); porter au bain-marie bouillant pendant 10 minutes. Ajouter du chloroforme (10 ml) et après agitation, soutirer la phase organique et la partager entre 3 tubes à essais. Faire évaporer ces derniers au bain-marie bouillant jusqu'à sec et reprendre le résidu de chaque tube avec de l'isopropanol (0,4 ml). Ajouter dans le 1^{er} tube 1 ml de réactif de Baljet, dans le second tube 1 ml de réactif de Kedde et 1 ml de réactif de Raymond-Marthou dans le troisième. Introduire dans chaque tube 5 gouttes de KOH à 5 % dans l'éthanol et observer après 10 minutes environ. En présence de cardénolides, il se développe dans le tube au réactif de Baljet une coloration orangée ; une coloration rouge violacée dans le tube au réactif de Kedde et enfin une coloration violet-fugace dans celui au réactif de Raymond.

5.3.2.8 Saponosides

Faire une décoction à 1% de 15 mn. Introduire dans 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10 successivement 1, 2, 3, jusqu'à 10 ml du filtrat et compléter à 10 ml avec de l'eau distillée le contenu des 9 premiers tubes. Agiter chaque tube pendant 15 secondes dans le sens de la longueur à raison de deux agitations par seconde puis laisser au repos pendant 15 minutes. Mesurer au bout de ce temps la hauteur de la mousse.

L'indice de mousse (Im) se calcule à partir du numéro du tube (N) dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm.

$$Im = \frac{1000}{N}$$

5.3.2.9 Composés réducteurs

Préparer une décoction aqueuse à 10 % pendant 15 mn, évaporer le filtrat à sec (5ml) au bain-marie. Ajouter au résidu obtenu le réactif de Fehling (0,5 ml réactif A + 0,5 ml réactif B, mélange extemporané).

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

5.3.2.10 Oses et holosides

Evaporer à sec au bain-marie le décocté obtenu dans réaction précédente (5 ml). Ajouter de l'acide sulfurique concentré (2-3 gouttes), puis au bout de 5 minutes de l'éthanol saturé avec du thymol (3-4 gouttes).

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

5.3.2.11 Mucilages

Au décocté aqueux à 10 % (5 ml), ajouter de l'éthanol absolu (5 ml). L'obtention d'un précipité floconneux, par mélange, indique la présence de mucilages.

5.3.2.12 Hétérosides cyanogénétiques

Un mélange à volume égal d'eau et de toluène (5 ml) est ajouté à la poudre de drogue (1 ml). Agiter et bien nettoyer la partie supérieure du tube à essai afin d'y fixer à l'aide d'un bouchon le papier picrosodé fraîchement préparé. La présence d'hétérosides cyanogénétiques est indiquée par la coloration rouge plus ou moins rapide de ce papier.

5.3.3 Dosages

5.3.3.1 Dosage de l'eau

Une teneur en eau trop importante (> 10) dans la matière végétale favorise l'hydrolyse enzymatique de certains constituants qui peut conduire à leur détérioration.

Deux méthodes nous ont permises d'apprécier la teneur en eau de nos matières végétales.

Il s'agit des méthodes azéotropique et gravimétrique.

5.3.3.1.1 Méthode azéotropique (volumétrique)

Principe : Elle consiste à entraîner l'eau contenue dans une prise d'essai de la drogue par distillation avec un solvant non miscible.

Mode opératoire : Dans un ballon sec, introduire du toluène (100 ml) et de l'eau distillée (1ml). Après une distillation d'une heure sous réfrigérant, laisser refroidir 30 mn.

Le dispositif est muni d'un tube conique gradué dans lequel l'eau se condense ; lire le niveau de l'eau (volume initial V_1).

Introduire dans le ballon la prise d'essai (PE) de poudre de matière végétale (5 mg) et laisser distiller pendant 1 heure.

Au bout de ce temps laisser refroidir 30 mn et lire à nouveau le volume d'eau (V_2)

La quantité d'eau (volume V) contenue dans la prise d'essai se calcule comme suit :

$$V = V_2 - V_1$$

Le pourcentage d'eau (P_e) est :

$$P_e = \frac{V_2 - V_1}{PE} \times 100$$

5.3.3.1.2 Méthode gravimétrique (pondérale)

Principe : Elle consiste à doser la quantité d'eau contenue dans une drogue par dessiccation

Mode opératoire : Dans 5 verres de montre préalablement pesés (P_1, P_2, \dots), introduire la poudre végétale (environ 3g). Peser (P'_1, P'_2, \dots) pour déterminer la prise d'essai.

Porter le tout à environ 103°C dans un dessiccateur pendant 24 heures. Après refroidissement, peser à nouveaux les verres à montre (P''_1, P''_2, \dots).

Détermination de la prise d'essai et de la masse d'eau :

$$PE = P'_1 - P_1$$

$$Me = P''_1 - P'_1$$

Le pourcentage d'eau est :

$$P_e = \frac{Me}{PE} \times 100$$

PE

5.3.3.2 Substances extractibles par l'eau

Faire une décoction d'une prise d'essai (PE) de la poudre végétale (1 g) dans de l'eau distillée (20 ml) pendant 15mn. Evaporer à sec le filtrat dans une capsule préalablement pesée (M_1) et peser à nouveau la capsule après refroidissement (M_2).

Le pourcentage des substances extractibles par l'eau (P_s) est : $P_s = (M_2 - M_1) \times 100$

5.3.3.3 Substances extractibles par l'éthanol

Faire une macération de 24 heure d'une prise d'essai (PE) de la poudre végétale (1 g) dans de l'éthanol (20 ml). Evaporer à sec le filtrat dans une capsule préalablement pesée (M_1) et peser à nouveau la capsule après refroidissement (M_2).

Le pourcentage des substances extractibles par l'éthanol se calcule comme précédemment.

5.3.3.4 Détermination de la teneur en cendres

5.3.3.4.1 Dosage des cendres totales

Les cendres proviennent des tissus de la plante ou des éléments étrangers (sable, terre, ...) qui souillent la drogue.

Principe : La détermination des cendres est une méthode utilisée pour mesurer la quantité de substances résiduelles non volatiles contenues dans la drogue lorsqu'un échantillon est incéré.

Mode opératoire : Dans 5 verres de montre de tare T_1, T_2, T_3, T_4 et T_5 , introduire 5 prises d'essai (matière végétale) d'environ 2g de poids P_1, P_2, P_3, P_4 et P_5 .

Porter le tout dans un four à 800°C pendant 6 heures ; au bout de temps, laisser refroidir sous dessiccateur et peser à nouveau pour déterminer les poids P'_1, P'_2, P'_3, P'_4 et P'_5 .

La masse moyenne en cendres totales (M_{CT}) est :

$$M_{CT} = \frac{(P'_1 - T_1) + (P'_2 - T_2) + (P'_3 - T_3) + (P'_4 - T_4) + (P'_5 - T_5)}{5}$$

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

$$PE = \frac{P1 + P2 + P3 + P4 + P5}{5}$$

La teneur en cendres totales (C_T)

$$C_T = \frac{M_{CT}}{PE} \times 100$$

5.3.3.4.2 Dosage des cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique

Principe : Il consiste en un dosage pondéral du résidu en faisant bouillir les cendres totales dans l'acide chlorhydrique à 10%. C'est une évaluation du contenu de la matière végétale en éléments siliceux.

Mode opératoire : Sur les cendres totales nous avons ajouté du HCl (20 ml). L'ensemble est chauffé au bain-marie pendant 15mn. Après refroidissement, la solution est filtrée sur papier filtre. Le papier filtre plus son contenu sont lavés avec de l'eau distillée chaude. Le filtre est ensuite recueilli dans un creuset sec préalablement taré de masse (M).

L'ensemble de masse (M') est incinéré et pesé à nouveau (M'').

Le pourcentage de cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique (P_{CI}) est déterminé par la formule suivante :

$$P_{CI} = \frac{M_{CI}}{PE} \times 100$$

La masse de cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique (M_{CI}) : $M_{CI} = M'' - M'$

PE = prise d'essai de la matière végétale = somme des prises d'essai ayant servi pour le dosage de l'eau.

5.3.3.4.3 Détermination de la teneur en cendres sulfuriques

Principe : Ces cendres sont des substances résiduelles non volatilisées recueillies lorsque l'échantillon de drogue est brûlé avec de l'acide sulfurique concentré. C'est une méthode d'évaluation des substances inorganiques de la drogue végétale.

Leur teneur est déterminée par dosage pondéral des sulfates non volatils obtenus par calcination de la matière végétale préalablement mouillée avec de l'acide sulfurique dilué au 1/2. Les sulfates résultent de la conversion des sels organiques.

Mode opératoire : dans un creuset en silice sec et taré de masse (M) nous avons introduit une prise d'essai de la poudre et pesé l'ensemble (M'). La poudre a été ensuite humectée avec une quantité suffisante de H₂SO₄ dilué au 1/2, triturée avec une baguette. Mettre le tout à l'étuve pendant 24 heures jusqu'à évaporation à sec puis au four pendant 6 heures jusqu'à obtention de cendres blanches. Laisser refroidir dans un dessiccateur et déterminer sa masse M''.

La masse de cendres sulfuriques (M_{CS}) :

$$M_{CS} = M'' - M$$

La masse de la prise d'essai :

$$PE = M' - M$$

Le pourcentage de cendres sulfuriques :

$$P_{CS} = \frac{M_{CS}}{PE} \times 100$$

5.3.4 Extractions

Les extractions ont été effectuées avec des solvants polaires et apolaires ; et chaque extrait est caractérisé par sa masse, sa couleur et son aspect.

5.3.4.1 Extraction avec de l'eau

5.3.4.1.1 Décoction à 10 %

A la poudre végétale (200 g) nous avons ajouté de l'eau distillée (2 l). Le tout a été porté à ébullition pendant 60 mn. Nous avons filtré sur de la compresse stérile.

Le filtrat a été concentré au Rotavapor à la température de 55°C puis lyophilisé. Le lyophilisat a été conservé dans des flacons en verre secs et stériles.

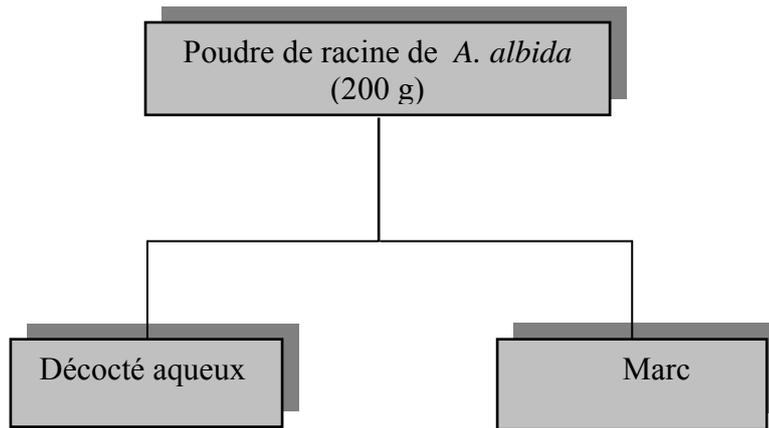


Figure 18 : Schéma de la décoction de la recette à base de la racine de *Aristolochia albida* Dc dans de l'eau distillée.

5.3.4.1.2 Macération à 10 %

Nous avons pesé de la poudre végétale (50 g). Nous y avons ajouté de l'eau distillée (500 ml) dans un erlenmeyer. Le mélange a été laissé sous agitation pendant 24 heures à la température du laboratoire (18°C). A la fin de l'agitation nous avons filtré à l'aide d'un papier filtre puis concentré et lyophilisé. L'opération a été répétée trois fois. Le lyophilisat a été conservé dans des flacons secs et stériles.

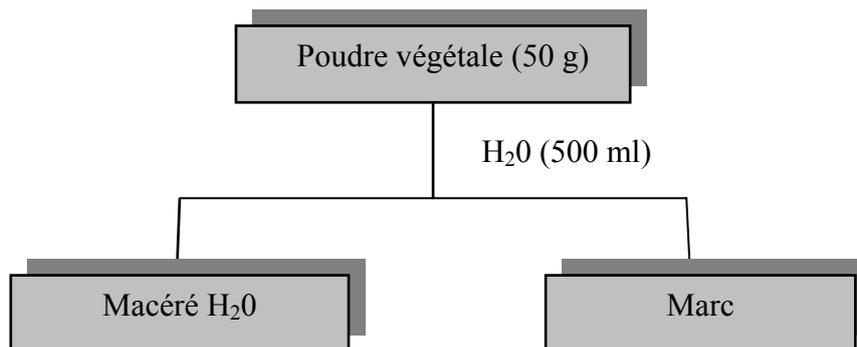


Figure 19: Schéma de la macération aqueuse de la poudre végétale.

5.3.4.1.3 Infusion à 10 %

Introduire de la poudre végétale (50 g) dans de l'eau distillée (500 ml), après ébullition et laisser infuser pendant 1 heure. Au bout de ce temps, filtrer sur compresse stérile et

lyophiliser. Le lyophilisat a été conservé dans un flacon sec et stérile.

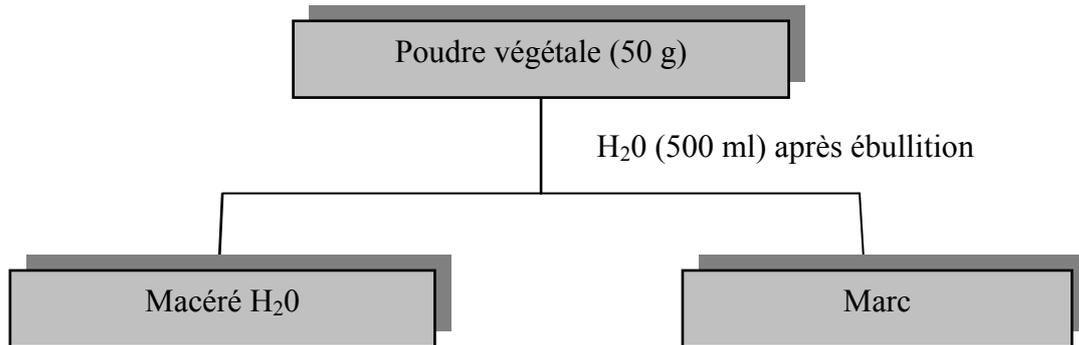


Figure 20: Schéma de l'infusion de la recette à base de la racine de *Aristolochia albida* Dc. dans de l'eau distillée.

5.3.4.2 Macération à l'éthanol 80%

A la poudre végétale (50 g) nous avons ajouté de l'éthanol à 80 % (500 ml) dans un erlenmeyer et laissé sous agitation pendant 24 heures à la température du laboratoire. A la fin de l'agitation nous avons filtré à l'aide d'un papier filtre puis concentré au Rotavapor et lyophilisé. L'opération a été répétée trois fois. Le lyophilisat a été conservé dans des flacons stériles et secs.

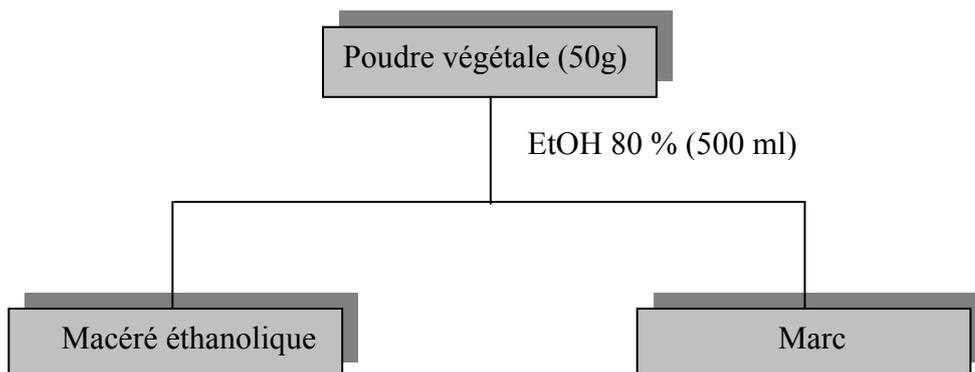


Figure 21: Schéma de la macération éthanolique du "Néfaraliwona" et de la recette à base de la racine de *Aristolochia albida* Dc.

5.3.4.3 Extractions avec des solvants à polarité croissante

Les extractions ont été faites au Soxhlet à une température maintenue stable pour l'ensemble des extractions. 20 g de poudre de la plante ont subi des extractions successives avec 100ml de solvants à polarité croissante (solvants organiques) à savoir respectivement, éther de pétrole, dichlorométhane et méthanol à raison de 100 ml de solvant par extraction.

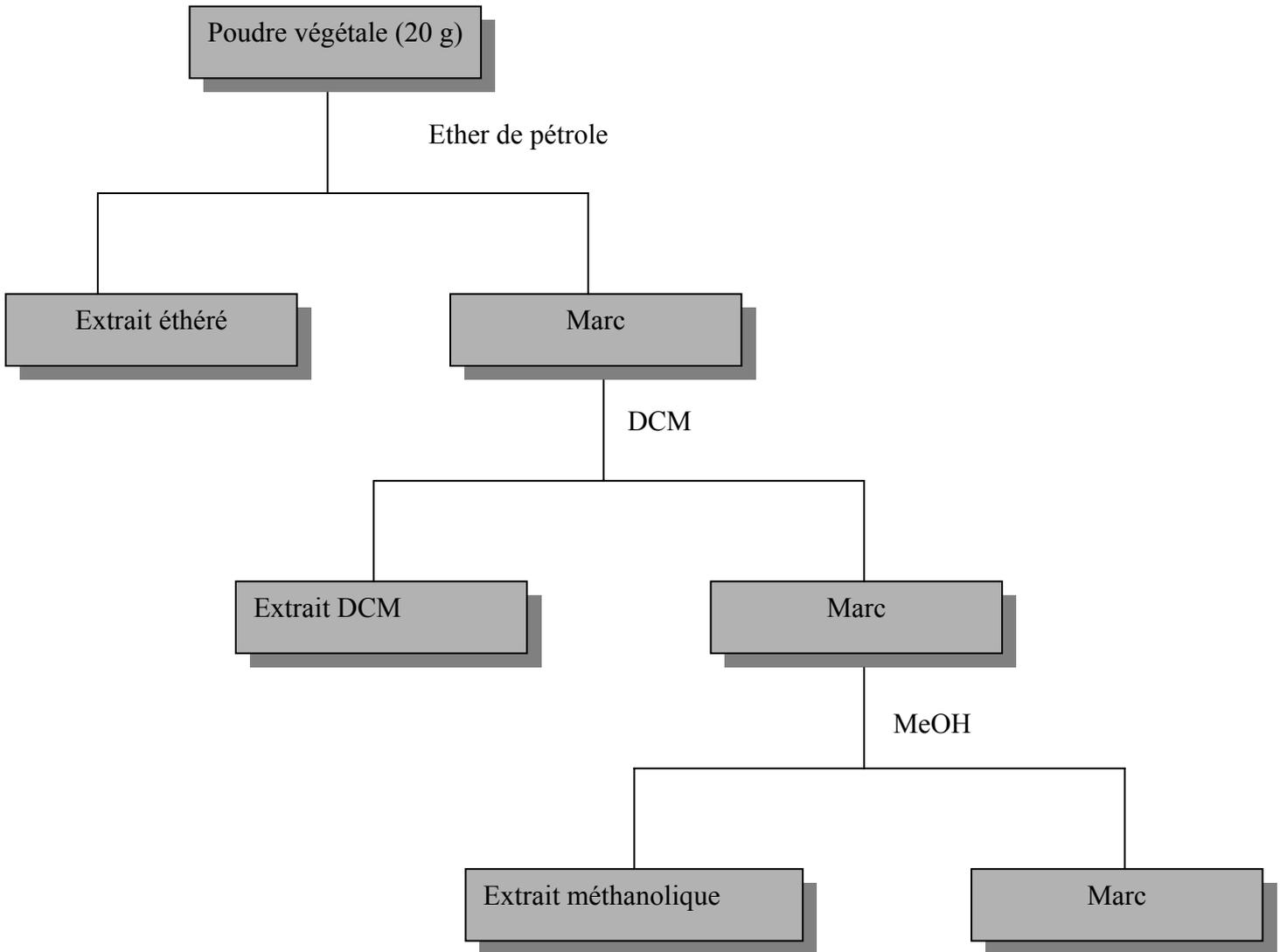


Figure 22: Schéma de l'extraction par les solvants à polarité croissante du "Néfaraliwona" et de la recette à base de la racine de *Aristolochia albida* Dc.

5.3.4.4 Digestion et décoction

Après l'extraction avec les solvants organiques, le marc a été séché. Les extractions à polarité croissante ont continué par une digestion (H_2O à $50^{\circ}C$) et une décoction (H_2O à $100^{\circ}C$) de 3 heures de temps chacune.

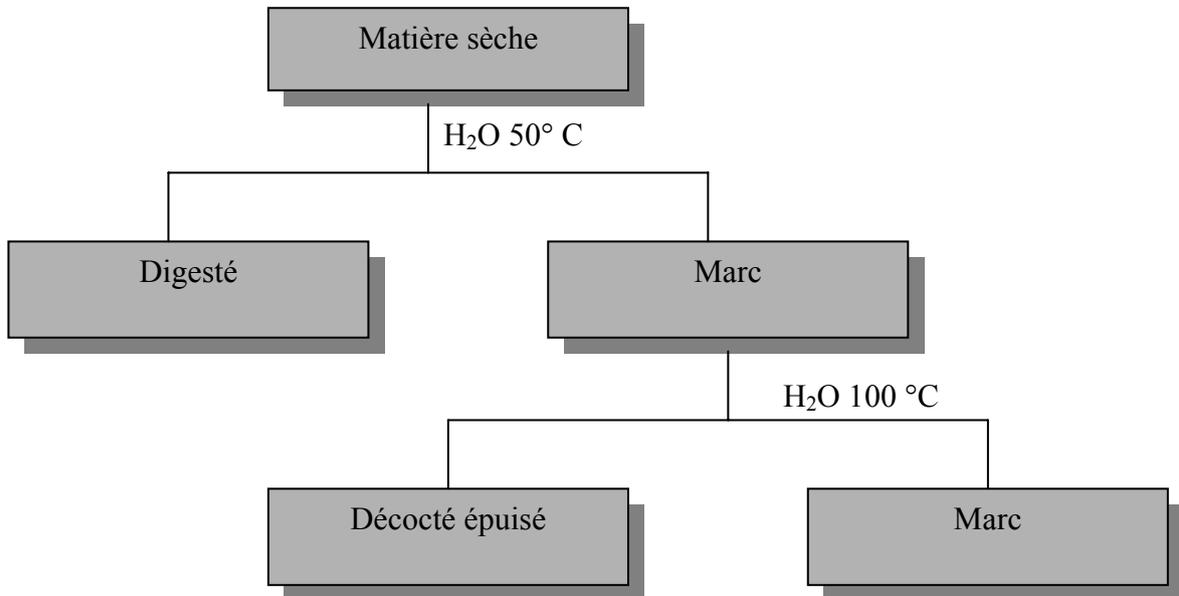


Figure 23: Schéma de l'extraction par digestion et décoction des matières végétales étudiées.

5.3.5 CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (C.C.M.)

5.3.5.1 Définition et appareillage

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant.

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont :

- La cuve chromatographique : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
- La phase stationnaire : une plaque d'environ 0,25 mm de Silicagel 60 F254 (gel de silice avec indicateur de fluorescence) fixée sur une feuille d'aluminium (Merck).

- L'échantillon : environ dix microlitres (10 µl) de solution de l'extrait à analyser (10mg d'extrait/ 1ml de solvant de dilution), déposé en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant ; à 1cm du bord inférieur de la plaque.
- L'éluant : un solvant pur ou un mélange de solvant : il migre lentement le long de la plaque en entraînant les constituants de l'échantillon.

Nous avons utilisé comme solvant de dilution un mélange MeOH/H₂O (1 : 1) pour les extraits aqueux et éthanolique ; MeOH pour l'extrait méthanolique ; AcEt pour les extraits DCM et éthéré. Et comme éluant, nous avons utilisé le BAW (60 : 15 : 25) pour les extraits aqueux, éthanolique et méthanolique et du ligroïne Acétate d'éthyle (1 : 1) pour les extraits éthéré et DCM.

5.3.5.2 Principe de la technique

Lorsque la plaque sur laquelle nous avons déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque constituant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption. Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires.

Applications de la C.C.M.

Lorsque les conditions opératoires sont connues, elle permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé organique. Si l'analyse, réalisée avec divers solvants et différents adsorbants, révèle la présence d'une seule substance, on peut alors considérer que cet échantillon est probablement pur.

De plus, étant donné que la chromatographie sur couche mince indique le nombre de constituants d'un mélange, on peut l'employer pour suivre la progression d'une réaction en tube.

La chromatographie sur couche mince est également la technique habituellement employée pour rechercher le meilleur solvant, avant d'entreprendre une séparation par chromatographie sur colonne.

5.3.5.3 Révélation

L'identification des substances isolées se fait selon différentes méthodes : directement si les substances sont colorées ou à l'aide de révélateurs si elles sont incolores afin de les transformer en taches colorées ; les produits sont souvent décelés par leurs réactions fonctionnelles classiques. Avant révélation, toutes les substances sont identifiées sous U.V. à ondes courtes ($\lambda_{\max} = 254 \text{ nm}$) et à ondes longues ($\lambda_{\max} = 366 \text{ nm}$) par suite de la fluorescence propre des composés. Les positions des taches colorées sont notées juste à la fin de la chromatographie en les cerclant car certains produits disparaissent avec le temps.

Nous avons utilisé des traits pleins pour $\lambda = 254 \text{ nm}$, des points tillés pour $\lambda = 366 \text{ nm}$ et des crochets pour les taches colorées après révélation.

5.3.5.4 Calcul de R_f (retarding factor ou front de rétention)

d_i : distance parcourue par le composé (mesure au centre de la tache)

d_s : distance parcourue par le front du solvant.

$$R_f = \frac{d_i}{d_s}$$

5.4 TESTS BIOLOGIQUES

5.4.1 Détermination de l'activité antioxydante : test par réaction chimique au DPPH sur CCM

Pour la détermination de l'activité antioxydante sur CCM des extraits, le test chimique employé est basé sur la technique de Takao et *al.* (1994).

La détection de composés antioxydants est basée sur le principe de la capture des radicaux libres fournis par le DPPH (le 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyle). Lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux libres, sa couleur (le violet) disparaît.

Le processus est le suivant :

Sur une plaque de silicagel 60F₂₅₄ à support en aluminium (Merck), 10 μ l de nos extraits bruts à la concentration de 10 mg/ml ont été déposés selon la technique décrite au 5.4.2 (principe de la technique).

Les CCM ont été séchées puis révélées avec une solution méthanolique de DPPH à la concentration de 2 mg/ml. Les zones d'activités anti-radicalaires apparaissent colorées en jaune blanc sur fond violet ; nous avons retenu ceux observées autour de 30 mn.

5.4.2 Les tests *in vivo*

Avant chaque opération nous avons mis les souris à jeun pendant 16 heures.

Nos tests ont porté sur le macéré aqueux du "Néfaraliwona" à la dose du tradipraticien, 112 mg/Kg et à la dose double, 224 mg/Kg pour la recherche d'activités anti-dysménorrhéiques et aux doses de 500 et 1000 mg/Kg de poids corporel pour le test de toxicité.

Pour chaque test, nous avons utilisé 4 lots de 6 souris males excepté le test de toxicité où nous avons utilisé 2 lots de 6 souris.

➤ Les appareils et accessoires utilisés:

- Sonde de gavage de 1 ml
- Balance analytique
- Marqueur, cages
- Paires de gants
- Seringue de 2 ml
- Plaque chauffante (réglée à $50 \pm 1^\circ\text{C}$)
- Plétismomètre

5.4.2.1 Recherche de la toxicité par évaluation de la DL₅₀

Principe

La recherche de la toxicité a porté sur le "Néfaraliwona".

Classiquement, en présence d'une substance inconnue la première étape dans la recherche d'une activité pharmacologique débute par l'étude de la toxicité et en particulier par l'évaluation de la dose létale 50 (DL₅₀), c'est-à-dire la dose qui provoque la mortalité de 50% des animaux de l'expérience. On administre ainsi aux animaux de laboratoires, rats ou souris non rongeurs... des doses croissantes d'extraits jusqu'à obtention de la mortalité.

Mode opératoire

Nous avons travaillé sur les souris males de poids moyen entre 23 ± 2 g.

Les souris sont mises en diète hydrique pour le test. Elles sont marquées et pesées la veille. Le jour du test, nous les avons repesées et administrées par voie orale à l'aide de la sonde gastrique les différents traitements par lot.

- Eau distillée à la dose de 25 μ l/g de poids corporel pour le lot témoin,
- 500 mg/Kg d'extrait aqueux,
- 1000 mg/kg d'extrait aqueux.

Nous avons administré 500 et 1000 mg d'extrait aqueux et nous avons observé les symptômes de la toxicité dans les premières heures de l'administration, puis 24, 48 et 72 heures après les différents traitements.

5.4.2.2 Déterminations des activités antalgiques

5.4.2.2.1 Test de torsion

Protocole

Le jour du test, les souris sont repesées puis nous avons administrées par voie orale à l'aide de la sonde gastrique les différentes doses par lot.

- Eau distillée (25 μ l/Kg de poids corporel) pour le lot témoin
- Paracétamol (100 mg/Kg de poids corporel) pour le lot de référence
- Extrait aqueux à la dose du tradipraticien (112 mg/Kg de poids corporel)
- Extrait aqueux à la dose de 224 mg/Kg de poids

Une heure de temps après les différentes administrations, nous avons provoqué une douleur aux souris par injection intra péritonéal de la solution d'acide acétique selon la méthode de Siegmund (Siegmund, 1957).

Le syndrome douloureux se caractérise par des mouvements d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale.

Après un temps de latence de 5 mn, nous avons compté pour chaque souris le nombre de torsions pour les 20 mn suivantes.

Evaluation de l'activité analgésique périphérique

Le taux d'inhibition de la douleur se détermine par comparaison du nombre de torsions des différents lots traités à celui du lot témoin.

Nous avons calculé pour les différents lots la moyenne (M) du nombre de torsions et la déviation standard (SD).

La signification statistique a été déterminée au moyen du test *t* student.

Le pourcentage d'inhibition de la douleur est calculé selon la méthode suivante :

$$\% \text{Inhibition} = \frac{M_t \text{ témoin} - M_t \text{ lot traité}}{M_t \text{ témoin}} \times 100 \quad M_t = \text{moyenne du nombre de torsions}$$

5.4.2.2.2 Test de la plaque chauffante

Protocole

Nous avons administrées par voie orale à l'aide de la sonde gastrique les différentes préparations à 4 lots de 6 souris.

- Eau distillée (25 µl/g de poids corporel)
- Doses d'extrait aqueux
 - ✓ 112 mg/Kg de poids corporel
 - ✓ 224 mg/Kg de poids corporel
- Chlorhydrate de tramadol à la dose de 5 mg/Kg de poids corporel

Le principe consiste à laisser tomber les souris sur la plaque chauffante (à $50 \pm 1^\circ \text{C}$) et à déterminer le temps au bout duquel les souris réagissent (réflexe de se lécher la patte ou de sauter). Déterminer pour chaque lot le temps de réaction à deux reprises avec un intervalle de 10 mn avant traitement avec les extraits à tester.

Administrer les extraits et attendre 1 heure et évaluer à nouveau le temps de réaction.

L'effet est considéré positif si le temps de réaction est de 8 secondes plus long que la moyenne des deux temps de réaction avant traitement.

Le temps limite sur la plaque en cas d'effet positif pour éviter d'endommager les tissus des souris est de 30 secondes.

Evaluation de l'activité analgésique centrale

Nous avons déterminé le temps de réaction en secondes, exprimé en moyenne (M) plus ou moins déviation standard (DS) pour chaque lot.

La signification statistique a été exprimée selon le test *t* de student. Le pourcentage d'augmentation du temps de réaction a été calculé selon la formule suivante :

$$\%Augmentation = \frac{M_{TR2} - M_{TR1}}{M_{TR1}} \times 100$$

M_{TR1} = moyenne de temps de réaction avant administration

M_{TR2} = moyenne de temps de réaction après administration

5.4.2.3 Détermination de l'activité anti-inflammatoire

Nous avons administrées par voie orale à l'aide de la sonde gastrique les différentes préparations à 4 lots de 6 souris.

- Solution de carrhagénine à 1 % dans du NaCl à 0,9 %
- Solution d'indométacine à la dose de 10 mg/Kg de poids corporel
- Solution aqueuse de l'extrait à tester
 - 112 mg/Kg de poids corporel
 - 224 mg/Kg de poids corporel
- Solution aqueuse de NaCl à 0,9 %

✓ Description du pléthysmomètre

C'est un appareil de mesure de volume spécialement conçu pour des mesures précises de grossissement de la patte de la souris par comparaison avec la patte non traitée.

L'appareil est composé d'une cellule de marque perspex contenant de l'eau dans laquelle la patte de la souris est plongée. La différence du niveau de l'eau après immersion de cette

dernière est mesurée par un transducteur de conception originale et est affichée sur un appareil numérique. La lecture numérique indique la valeur exacte du grossissement en ml lorsque le zéro de l'instrument est fait avant chaque immersion.

L'appareil permet ainsi :

- une lecture numérique précise,
- une mise en évidence de petites variations de volume,
- un screening rapide d'un grand nombre souris.



Figure 24: Photo du pléthysmomètre Ugo Basile 7140 (Photo Dr. Sanogo, R.).

Méthode d'étude biologique : Principe de l'œdème de la patte à la carragénine

Mesurer pour chaque souris le volume initial (V_0) de la patte arrière droite puis administrer les différents traitements avec la sonde gastrique. La solution aqueuse d'indométacine à la dose de 10 mg/Kg de poids corporel pour le lot de référence, l'eau distillée à la dose de 25 μ l/Kg de poids corporel pour le lot témoin et les solutions aqueuses de l'extrait à tester pour les deux autres lots (112 et 224 mg/Kg de poids corporel).

1 heure de temps après le gavage nous avons injecté à un temps T, 0,1 ml de la solution de carragénine dans la patte mesurée des souris (sous le coussinet plantaire). Les souris sont ensuite remises en cage en attendant les différentes mesures effectuées chaque heure pendant 5 heures.

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Pour cette évaluation de l'activité anti-inflammatoire, nous avons exprimé le volume de la patte dans le temps.

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème de chaque patte a été déterminé par rapport au lot témoin selon la formule ci-après :

$$\% \text{ Inh} = \frac{\% \text{ Aug. témoin} - \% \text{ Aug. traité}}{\% \text{ Aug. Témoin}}$$

Ce pourcentage d'inhibition de l'œdème exprime l'activité anti-inflammatoire des extraits traités.

6 RESULTATS

6.1 RESULTAT DU CONTROLE DE QUALITE DE LA MATIERE VEGETALE

➤ Recette à base de *Aristolochia albida* Dc.

✓ Caractères morphologiques

Racine coupée transversalement, ce qui nous offre de petits cylindres ; racine rugueuse ; de couleur jaune clair.

✓ Caractères organoleptiques

Poudre de racine de couleur jaune clair, d'odeur faible et de saveur très amère.

➤ La recette "Néfaraliwona"

✓ Caractère organoleptique

Poudre de couleur rouge latérite, d'odeur légère et de saveur piquante.

6.2 RESULTAT DE LA STANDARDISATION

La dose du tradipraticien standardisée correspond à 15,69 g de poudre de matière végétale soit après macération, 3,72 g d'extrait (avec un rendement d'extraction de 35,76 %).

6.3 RESULTATS DES REACTIONS DE CARACTERISATION

6.3.1 Résultat des réactions en tube

Tableau III: Résultat des réactions en tube de la recette à base de la racine de *A. albida* Dc.

RECHERCHE	RESULTAT
Coumarines (Fluorescence U. V. 366)	+ + fluorescence bleu
Alcaloïdes : Base (Bouchardad-Mayer-Dragendorff)	+
Alcaloïdes sel (Bouchardad-Mayer-Dragendorff)	+
Saponosides : Mousse	+ + +
Oses et holosides	+ rouge bleuâtre
Polyuronides (mucilage)	+ + + +
Stérols et triterpènes : hétérosides triterpéniques	+ + + rouge bleuâtre
Hétérosides cardiotoniques (Baljet)	+ + +
Amidon : (réactif iodo-ioduré)	+ + + + coloration bleu foncé

Les réactions des mucilages et de l'amidon ont été franchement positives ; celles des hétérosides triterpéniques, des hétérosides cardiotoniques et des saponosides ont été positives. Par contre les anthocyanes, les tanins, les flavonoïdes, les hétérosides cyanogénétiques, les caroténoïdes et les anthracénosides ont été absents dans notre échantillon. Les alcaloïdes ont donné une réaction louche dont la présence n'a pas été confirmée par CCM.

Tableau IV: Résultat des réactions en tube du "Néfaraliwona"

RECHERCHE	RESULTAT
Coumarines (fluorescence U.V. 366)	+ + + +
Caroténoïdes (Carr et Price)	+
Flavonoïdes : génines flavoniques (Shibata)	+ + +
Saponosides : Mousse	+ +
Tanins : Réaction avec FeCl ₃	+ + + +
Tanins catéchiques : Réaction de Stiasny	+ + + +
Tanins galliques : Réaction de Stiasny	+ + + +
Composés réducteurs	+

Oses et holosides	++
Polyuronides (mucilages)	++
Stérols et triterpènes : Stéroïdes (Lieberman)	++++
Leucoanthocyanes	++++
Amidon	+++

La présence des coumarines, les tanins, les stérols et triterpènes et les leucoanthocyanes a été franchement positive ; quant à celle des génines flavoniques et de l'amidon a été moyennement positive et enfin celle des mucilages, des oses et holosides et des saponosides a été faiblement positive. Par contre les hétérosides cyanogénétiques, les anthracénosides, les alcaloïdes, les composés réducteurs, les hétérosides cardiotoniques et les anthocyanes ont été absents par les méthodes et l'échantillon que nous avons utilisés.

6.3.2 RESULTAT DES DOSAGES

Tableau V: Résultat des différents dosages effectués sur la recette à base de *A. albida* Dc.

Dosages		Résultats (%)
Substances extractibles par l'eau		33%
Substances extractibles par l' EtOH 80%		29%
Saponosides : indice de mousse		200
Eau	Méthode pondérale	5,05%
	Méthode azéotropique	6%
Cendres totales		4,17%
Cendres sulfuriques		5,96%
Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique		0,97%

Les taux d'eau étant inférieur à 10% par les deux méthodes, ceci montre que notre drogue peut être bien conservée.

Le taux de cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique est inférieur à 1% bien que notre drogue soit des racines.

Tableau VI: Résultat des différents dosages effectués sur la recette "Néfaraliwona".

Dosages		Résultats
Substances extractibles par l'eau		34 %
Substances extractibles par l'EtOH 80%		31 %
Saponosides : indice de mousse		< 100
Eau	Méthode pondérale	4,41 %
	Méthode azéotropique	2 %
Cendres totales		9,74 %
Cendres sulfuriques		13,18 %
Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique		3,56 %

Nous avons trouvé 4,41 % d'eau dans la recette par la méthode pondérale pour 2 % par méthode azéotropique. Ces taux sont nettement inférieurs à 10 % ; cela favoriserait alors une bonne conservation de notre recette.

6.3.3 RESULTAT DES EXTRACTIONS

Tableau VII: Résultat des différentes extractions effectuées sur la recette à base de la racine de *Aristolochia albida* Dc.

Extraits	% Rendement	Aspect	Couleur
Macéré H ₂ O à 10 %	17,2	Poudre	jaune clair
Décocté H ₂ O à 10%	38,22	floconneux	ocre jaune clair
Macéré EtOH 80%	41,36	Palettes	jaune clair
Infusé H ₂ O à 10%	14,40	ocre clair	Poudre
Extrait Ethéré	0,15	Huileux	Beige
Extrait DCM	1,65	Cristallin	jaune citron
Extrait MeOH	2,2	Collant	rouge foncé

Digested	4,05	grains de sable	carmin foncé
Décocté épuisé	25	grains de sable	jaune blanchâtre

L'eau et l'éthanol à 80% ont donné les meilleurs rendements d'extractions.

Tableau VIII: Résultat des différentes extractions effectuées sur le "Néfaraliwona"

Extraits	%Rendement	Aspect	Couleur
Macéré H ₂ O	32,44	poudre	rouge latérite
Macéré EtOH 80%	25,42	palettes	sienne brûlée
Extrait éthéré	1,46	huileux	couleur chaire lumineuse orangée
Extrait DCM	0,90	collant	ocre rouge
Extrait MeOH	2,97	collant	rouge caramel
Digested	12	floconneux	Chocolat
Décocté épuisé	11,78	floconneux	Brun

Nous avons remarqué que les solvants aqueux et hydro-alcooliques ont donné les meilleurs rendements. Par contre, les faibles taux d'extraction ont été observés avec les solvants organiques.

6.3.4 RESULTAT DE LA CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM)

Tableau IX: Résultats de la CCM effectuée sur les extraits polaires de la recette à base de la racine de *Aristolochia albida* Dc.

Extrait	Rf	254 nm	366 nm	Godin
Infusé	0	visible	beige	Jaune
	0,12	-	violet	-
	0,26	-	violet	-
	0,3	-	violet	-
	0,36	-	violet	-
	0,42	-	jaune clair	-
	0,47	-	veige	-
	0,72	-	beige	-
	0,81	-	-	violet
	Macéré H₂O 10%	0	-	beige
0,16		-	violet	-
0,25		-	violet	-
0,3		-	violet	-
0,33		-	violet	-
0,41		-	jaune-clair	-
0,45		-	beige	-
0,78		-	violet	violet
0,85		-		rose
Décocté H₂O 10%		0	-	beige
	0,17	-	violet	-
	0,28	-	violet	-
	0,33	-	violet	-
	0,41	-	jaune clair	-
	0,45	-	beige	-
	0,78	-	violet	-
	Acide aristolochique	0	-	beige
0,78		-	marron	violet

Extrait EtOH	0	-	beige	jaune	
	0,18	-	violet	-	
	0,25	-	violet	-	
	0,3	-	violet	-	
	0,33	-	violet	-	
	0,4	-	jaune clair	-	
	0,43	-	beige	-	
	0,48	-	violet	-	
	0,52	-	violet	-	
	0,78	-	-	violet	
	0,85	-	-	rose	
	Extrait MeOH	0	visible	beige	jaune
		0,22	visible	bleu	-
0,27		visible	beige	-	
0,32		visible	beige	-	
0,4		visible	jaune vif	-	
0,45		visible	beige	-	
0,5		visible	rose	-	
0,55		-	rose	-	
0,58		visible	beige	rose	
0,66		visible	-	-	
0,78		visible	jaune vif	violet	
0,85		-	-	violet	
Digesté		0	-	beige	jaune
	0,08	-	violet	jaune	
	0,23	-	violet	-	
	0,27	-	violet	-	
	0,32	-	beige	-	
	0,38	-	violet	-	
	0,43	-	violet	-	
	0,81	-	-	gris	
Décocté épuisé	0	-	violet	jaune	
	0,76	-	-	rose	

0,83 - - violet

Les différents composants des extraits polaires de la racine sont presque tous visibles à 366 nm. Pratiquement seuls les constituants de l'extrait MeOH ont été visibles à 254 nm.

Tableau X: Résultat de la CCM des extraits apolaires de la recette à base de la racine de *Aristolochia albida* Dc. selon le système de solvant Ligoïne - Acétate d'éthyle (2 :1).

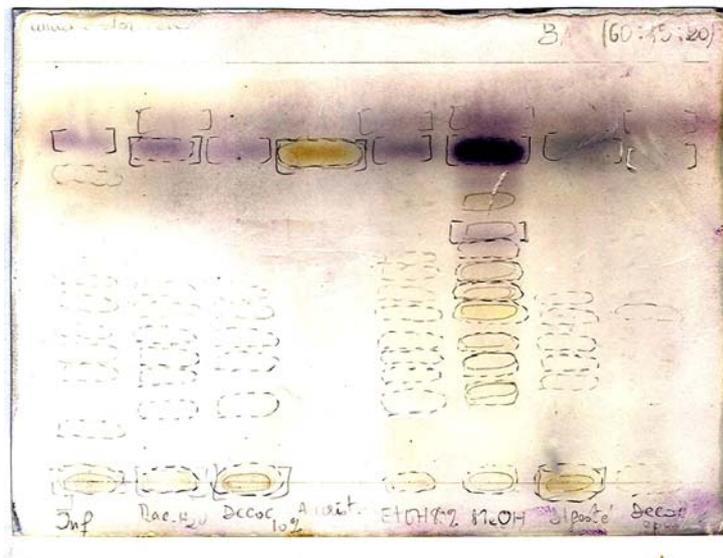
Extrait	Rf	254nm	366nm	Godin
Extrait étheré	0	visible	violet	-
	0,71	visible	-	beige
	0,77	-	rose	-
	0,84	visible	-	-
	0,96	-	bleu	violet
Acide aristolochique	0	visible	violet	-
	0,1	visible	marron	-
Extrait DCM	0	visible	jaune	brun
	0,04	visible	-	-
	0,09	-	rose	-
	0,2	-	rose	-
	0,29	-	-	rose
	0,37	visible	beige	gris bleuté
	0,69	visible	-	brun
	0,77	-	violet	-
	0,81	visible	-	-
	0,96	-	rose	rose violacé

La majorité des composants des extraits étheré et DCM ont été visibles à 254 et 366nm.

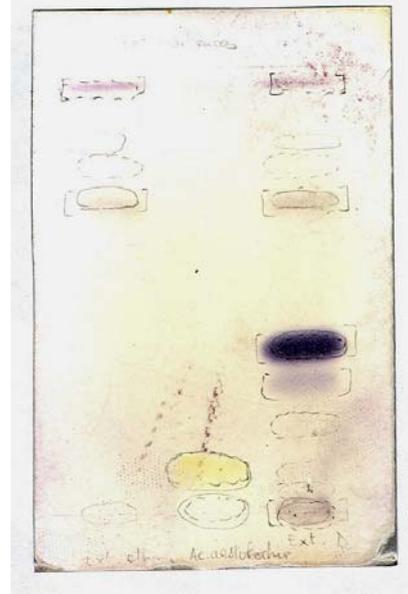
L'acide aristolochique n'a pas bien migré dans ce système de solvant ; la révélation avec le réactif de Godin n'a pas donné de résultat.

Butanol-Acide acétique-Eau BAW (65 : 15 : 25)

Ligroïne-Acétate d'éthyle (2 : 1)



Inf. Mac. H₂O Déc. H₂O Ac. ar. EtOH 80% MeOH Dig. Déc. ép.



Ext. étheré Ac. ar Ext. DCM

Figure 25: Chromatographie des différents extraits de la rectte à base de la racine de *Aristolochia albida* Dc. après révélation au réactif de Godin.

Tableau XI: Résultats de la CCM des extraits apolaires du "Néfaraliwona" selon le système de solvant Ligroïne – Acétate d'éthyle (1 : 1)

Extraits	Rf	254nm	366nm	Godin
Extrait DCM	0	visible	jaune	marron
	0,06	visible	brun	rose
	0,13	visible	brun	-
	0,18	-	brun	-
	0,23	visible	bleu-clair	-
	0,28	-	blanc	-
	0,33	-	bleu	-
	0,43	-	violet	-
	0,44	visible	-	-
	0,46	-	brun	-
	0,51	-	brun	-
	0,56	visible	-	-
	0,61	visible	brun	-
	0,63	-	-	violet

	0,68	-	-	rose
	0,7	-	rose	-
	0,76	-	-	violet
	0,81	-	marron	-
	0,95	visible	-	rose-violacé
Extrait étheré	0	visible	jaune	r
	0,24	-	violet	-
	0,29	-	bleu-ciel	-
	0,34	-	violet	-
	0,44	-	violet	-
	0,49	-	violacé	-
	0,5	visible	-	-
	0,55	-	violet	-
	0,56	visible	-	-
	0,63	-	jaune	rose
	0,68	visible	-	-
	0,7	-	violet	-
	0,76	-	bleu	-
	0,8	-	-	violet
	0,84	-	rosâtre	-
	0,9	-	rosâtre	rose
	0,95	visible	-	rose-violacé

Nos extraits apolaires sont presque tous visibles à 366nm.

Quelques uns des composants de ces extraits sont visibles à 254nm.

Après révélation au Godin nous avons obtenu des colorations allant du rose au Violet.

Tableau XII: Résultat de la CCM des extraits polaires du "Néfaraliwona" selon le système de solvant Butanol-Acide acétique-Eau BAW (65 :15 : 25).

Extraits	Rf	254nm	366nm	Godin
Macéré H₂O	0	visible	-	pourpre
	0,11	visible	-	rose violacé
	0,18	visible	-	-
	0,23	visible	-	rose violacé
	0,37	visible	-	-
	0,48	-	vert	-
	0,51	visible	-	-
	0,54	-	orange	-
	0,57	-	bleu	-
	0,61	visible	-	jaune blanchâtre
	0,71	-	vert	jaune
	0,9	visible	-	-
	Décocté épuisé	0	visible	-
0,22		visible	-	jaune
0,56		-	brun	-
0,61		-	brun	-
Extrait EtOH	0	visible	marron	pourpre
	0,11	visible	-	rose
	0,25	visible	-	marron
	0,31	-	-	rose
	0,38	-	brun	-
	0,43	-	brun	-
	0,48	-	-	rose
	0,51	-	vert	-
	0,53	visible	-	-
	0,57	-	orange	-
	0,58	visible	-	-
	0,62	visible	-	-
	0,8	-	bleu	marron
	0,91	visible	-	violet

Extrait MeOH	0	visible	-	pourpre
	0,08	visible	-	pourpre
	0,23	visible	-	pourpre
	0,32	-	-	rose
	0,38	visible	-	-
	0,48	-	vert	-
	0,51	visible	-	-
	0,56	visible	jaune	-
	0,6	-	vert	-
	0,62	-	brun	-
	0,63	visible	-	-
	0,71	-	brun	-
	0,74	-	-	beige
	0,8	-	brun	orange
	0,9	-	brun	pourpre
	0,91	visible	-	-
	Digesté	0	visible	brun
0,16		visible	-	-
0,28		visible	-	-
0,42		visible	-	-
0,56		visible	-	-
0,6		-	brun	-
0,65		visible	-	-
0,71		-	-	rose
0,8		-	-	rose
0,9		visible	-	-

Les composants de nos extraits étaient presque tous visible à 254nm.

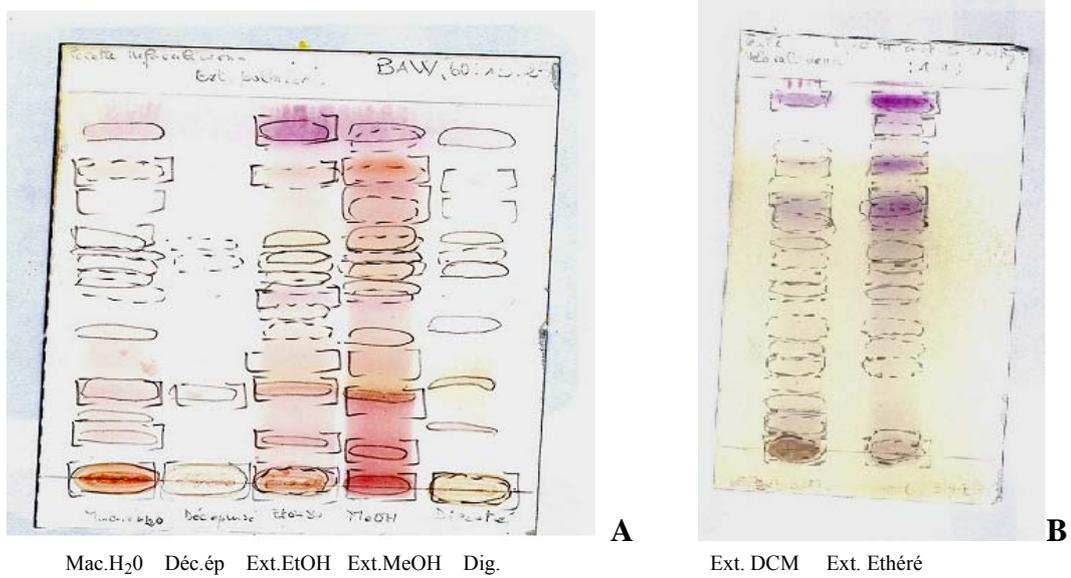


Figure 26 : Chromatographie des différents extraits du "Néfaraliwona" après révélation au Godin.

Les extraits polaires ont migré dans le système : Butanol-Acide acétique-Eau BAW (60 : 15 :25). La figure A illustre le résultat de cette CCM. Les extraits suivants ont été analysés : macéré aqueux, décocté épuisé, extrait éthanolique, extrait méthanolique et le digéré respectivement de gauche à droite.

La figure B illustre le résultat de la CCM des extraits éthéré et DCM. Ces extraits ont migré dans le système : ligroïne-acéthate d'éthyle (1 : 1).

6.4 RESULTAT DES TESTS BIOLOGIQUES

6.4.1 Résultat des tests antioxydants

➤ La recette à base de la racine de *Aristolochia albida* Dc.

Le test anti-radicalaire au DPPH des extraits de la racine de *A. albida* a été négatif.

➤ Le "Néfaraliwona"

Les constituants de l'extrait MeOH ont démontré des activités anti-radicalaires.

Tableau XIII: Résultat du test antioxydant par la méthode de la réaction chimique au DPPH sur CCM dans le système de solvant BAW (65 :15 :25).

Extrait	Rf	Couleur
MeOH	0	jaune
	0,18	jaune
	0,85	jaune
	0,9	jaune

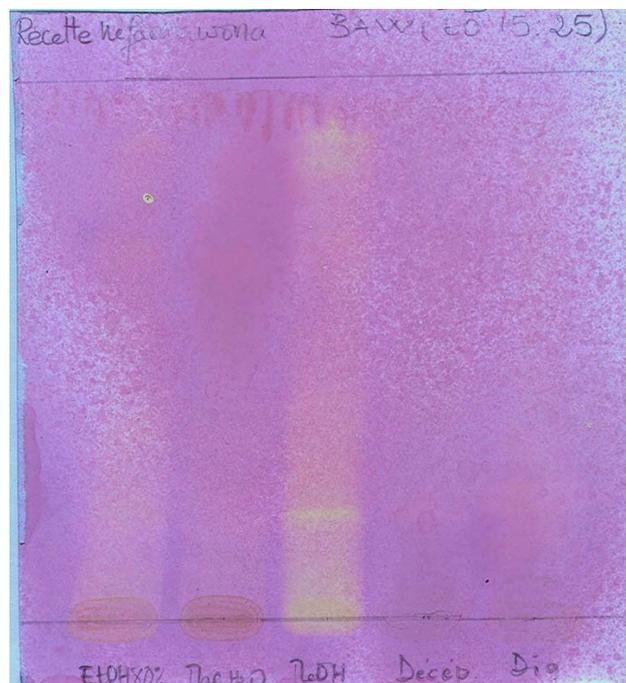


Figure 27: Résultat du test anti-radicalaire au DPPH des extraits polaires du "Néfaraliwona".

6.4.2 Résultat de la toxicité par la détermination de la DL₅₀

La détermination de la DL₅₀ par voie orale chez les animaux de laboratoire permet une classification de la substance suivant sa dangerosité en quatre classes :

- Ia extrêmement dangereux
- Ib très dangereux
- II modérément dangereux
- III peu dangereux

Tableau XIV: Classement des dangers selon l'OMS : classification fondée sur la toxicité par voie orale ou cutanée.

		Classification des formulations			
		Toxicité par voie orale		Toxicité par voie cutanée	
Formulation		DL ₅₀ : 14 mg/Kg pds c.		DL ₅₀ : 112 mg/Kg pds. c.	
		m.a. (%)	Classe de risques	m.a. (%)	Classe de risques
OMS	Liquide	> 70	Ia	> 25	Ib
		> 5	Ib	> 1	II
		> 1	II		
	Solide	> 30	Ib	> 90	Ib
		> 3	II	> 10	II

Dans la première heure de l'administration de l'extrait aqueux du "Néfaraliwona" aux doses de 112 et 224 mg/Kg de poids corporel, les souris des deux lots ont eu des réactions de toilettage complet, surtout du museau. Nous avons observé aussi une envie de manger chez les souris. 1 heure 30 mn après les administrations, nous avons remarqué une inactivité chez la plupart des souris (souris calmes).

Tout au long des 2 heures de temps nous avons aussi remarqué une agressivité chez environ 1/3 des souris.

Au bout des 2 premières heures, aucune mort subite n'a été observée et dans les 72 heures (temps de notre étude), 1/10 de nos souris avaient perdu du poids, plus de la moitié avaient un poids stationnaire et environ le tiers avait évolué normalement. Au terme de cette étude, nous pouvons dire que la DL 50 est supérieure à 5 fois la dose journalière du thérapeute, c'est-à-dire 112 mg/Kg de poids corporel ; le "Néfaraliwona" est par conséquent peu dangereux.

6.4.3 Résultat de l'activité anti-inflammatoire

Tableau XV: Activité anti-inflammatoire du macéré aqueux de la recette "Néfara)liwona" sur l'œdème à la carrhagénine dans la patte de la souris : Moyennes et variations des volumes dans le temps.

Traitements	Moyenne des volumes ± Déviations standards (M±DS)					
Doses	(V _n - V ₀ = Variation volume de la patte par rapport au volume initial à T ₀)					
	valeurs en ml					
	V ₀ (0h)	V ₁ (1h)	V ₂ (2h)	V ₃ (3h)	V ₄ (4h)	V ₅ (5h)
Eau distillée	0,12 ± 0,02	0,23 ± 0,03	0,24 ± 0,03	0,25 ± 0,04	0,26 ± 0,02	0,25 ± 0,02
25 µl/g	--	(0,11)	(0,12)	(0,13)	(0,13)	(0,13)
Macé. "Néfara)liwona"	0,13 ± 0,01	0,19 ± 0,03	0,22 ± 0,04	0,17 ± 0,02	0,19 ± 0,03	0,18 ± 0,03
112 mg/Kg	--	(0,06)	(0,09)	(0,04)	(0,06)	(0,05)
Macé. "Néfara)liwona"	0,13 ± 0,01	0,21 ± 0,03	0,17 ± 0,04	0,20 ± 0,05	0,20 ± 0,05	0,17 ± 0,02
224 mg/Kg	--	(0,08)	(0,04)	(0,08)	(0,07)	(0,04)
Indométacine	0,13 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,02
8 mg/Kg	--	(0,06)	(0,04)	(0,02)	(0,01)	(0,02)

Résultat exprimé en M ± DS : M = moyenne de 6 souris ; DS = Déviation Standard (ou écart type) ; (V_n-V₀) = variation de volume dans le temps ; les groupes traités (macéré du "Néfara)liwona" et indométacine) présentent une activité anti-inflammatoire significative par rapport au groupe témoin (eau distillée) avec P<0,05 (t student).

Le macéré aqueux du "Néfara)liwona" aux doses de 112 et 224 mg/Kg, présente une activité avec le test de l'œdème à la carrhagénine chez les souris. La plus petite moyenne a été observée à la 2^{ème} heure avec 224 mg/Kg, à la 3^{ème} heure avec 112 mg/Kg. Ces moyennes étaient supérieures à la plus petite moyenne observée avec l'indométacine (4^{ème} et 5^{ème} heures).

Tableau XVI: Activité anti-inflammatoire du macéré aqueux du "Néfaraliwona" sur l'œdème à la carrhagénine dans la patte de la souris : Pourcentages d'inhibition des volumes dans le temps.

Traitements Doses/kg	% d'inhibition des volumes de la patte dans le temps				
	1h	2h	3h	4h	5h
Eau distillée 25 ml	--	--	--	--	--
Macé. "Néfaraliwona" 112 mg	48,25	30,88	73,79	55,57	64,58
Macé. "Néfaraliwona" 224 mg	30,11	65,68	43,10	48,91	67,97
Indométacine 8mg	47,58	67,05	82,30	93,92	88,47

La dose de 112 mg/Kg a donné la meilleure inhibition à la 3^{ème} heure. Le produit de référence (indométacine) a donné à la même heure une inhibition de 82,30 %. La dose de 224 mg/Kg a donné sa meilleure inhibition à la 5^{ème} heure et était inférieure à celle de la faible dose.

L'activité n'est pas dose dépendante.

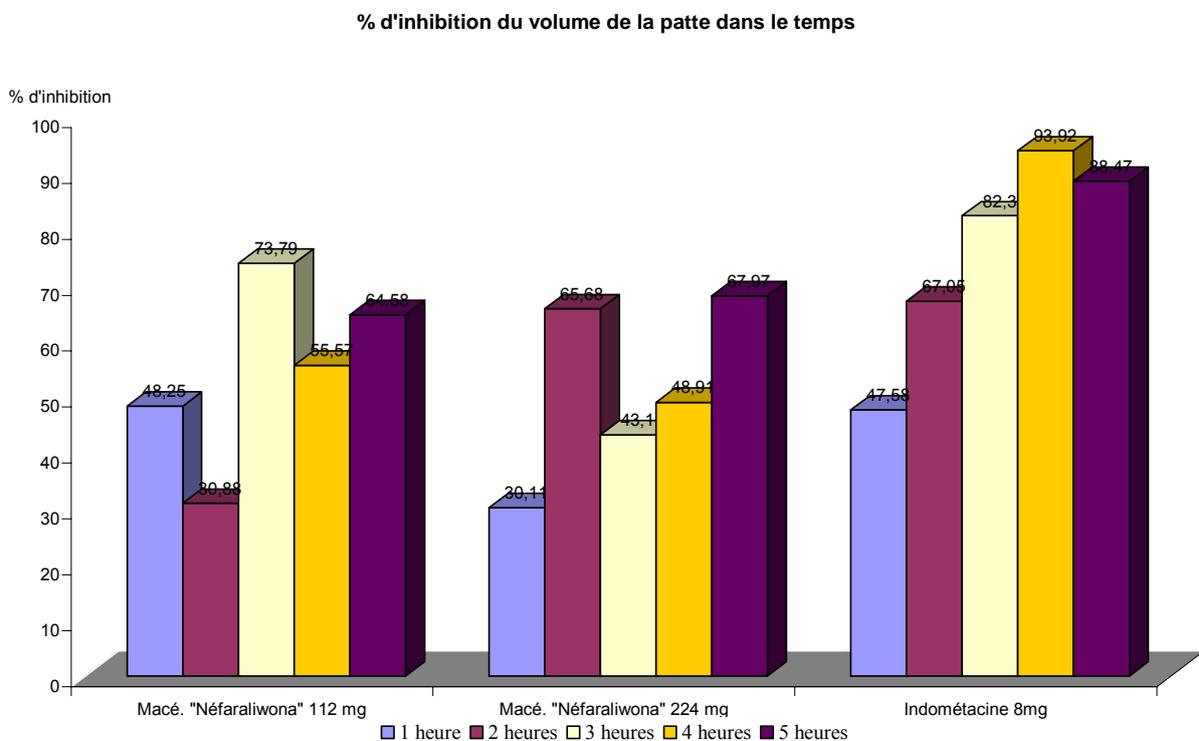


Figure 28: Histogramme de l'inhibition du volume de la patte dans le temps.

6.4.4 Résultat de l'activité antalgique

6.4.4.1 Activité antalgique par la méthode de la plaque chauffante (Hot plate)

La recherche de l'effet analgésique par la méthode de la plaque chauffante, validée par l'activité centrale du médicament de référence, le chlorhydrate de tramadol à la dose de 5 mg/kg, a été négative avec le macéré aqueux du "Néfaraliwona" aux doses de 112 et 224 mg/Kg.

6.4.4.2 Activité antalgique par la méthode de la douleur chimique provoquée par l'acide acétique : test de torsion ("Writhing test")

Tableau XVII: Activité antalgique du macéré aqueux du "Néfaraliwona" sur la douleur provoquée par l'acide acétique.

Traitements	Doses/kg	Nombre torsions M±DS	Test <i>t</i> Student <i>P</i> significatif	% Variation
Macé. "Néfaraliwona"	112 mg	46,66 ± 07,81*	---	27,84
Macé. "Néfaraliwona"	224 mg	38,00 ± 03,34**	<i>P</i> <0,05	41,24
Paracétamol	100 mg	33,50 ± 07,25**	<i>P</i> <0,05	48,20
Eau distillée (véhicule)	25 ml	64,66 ± 23,42	---	---

Résultats exprimés en M±DS : M= Moyenne de 6 souris ; DS = Déviation Standard (ou Ecart type) ; **P* non significatif et ***P* <0,05 (test *t* Student) expriment la signification des résultats des groupes traités comparés au groupe témoin qui a reçu le véhicule.

L'effet analgésique à la dose du tradipraticien (112 mg/Kg) n'a pas été significatif. La dose double (224 mg/Kg) a donné un effet analgésique aussi significatif que le paracétamol à la dose de 100 mg/Kg. L'effet analgésique est dose dépendant.

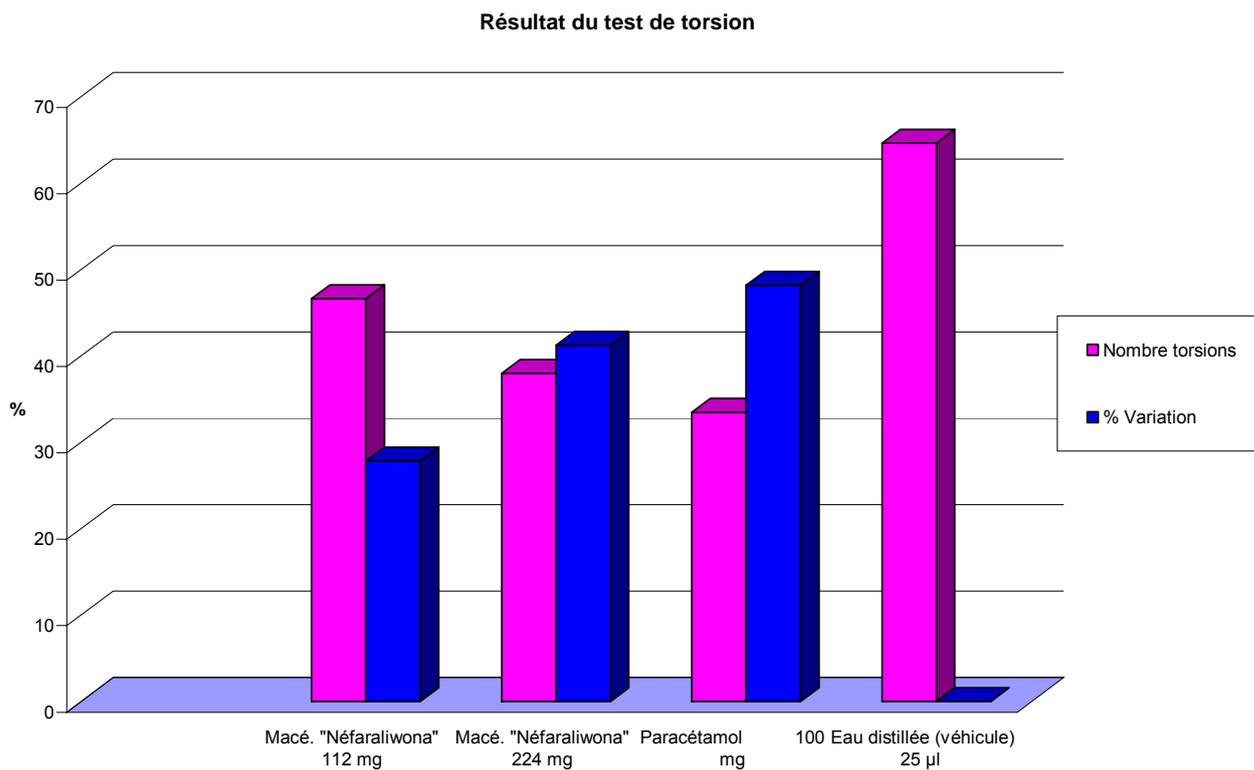


Figure 29 : Histogrammes du résultat de l'activité antalgique du macéré aqueux du "Néfariwona" sur la douleur provoquée par l'acide acétique.

7 COMMENTAIRE ET DISCUSSION

Le but de ce travail était d'étudier deux recettes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée afin d'élargir la gamme de médicaments anti-dysménorrhéiques.

Le "Néfaraliwona" est un mélange de poudres de racine de *Ximenia americana* L. (*Olivaceae*), des écorces de racine de *Zanthoxylum zanthoxyloides* Lam. (*Rutaceae*) et de la tige d'*Euphorbia sudanica* A. Chev. (*Euphorbiaceae*). La racine de *Aristolochia albida* Dc. (*Aristolochiaceae*) est quant à elle utilisée comme telle par les tradipraticiens.

Les travaux que nous avons effectués ont porté sur l'étude de la phytochimie de certaines activités biologiques de ces recettes (les activités anti-radicalaires des deux recettes et les activités antalgique et anti-inflammatoire du "Néfaraliwona").

La recherche des grands groupes chimiques dans le "Néfaraliwona" dont les résultats sont regroupés dans le tableau II, nous a amenée à considérer les études antérieures de la racine de *Ximenia americana* L. et des écorces de racine de *Zanthoxylum zanthoxyloides* Lam., afin de pouvoir apprécier l'effet du mélange sur ces drogues.

Les réactions de caractérisation du "Néfaraliwona" nous ont permis de retrouver une forte présence de coumarines, de tanins, de flavonoïdes, de stérols et triterpènes, de leucoanthocyanes et d'amidon ; mais aussi des traces de caroténoïdes, de saponosides de composés réducteurs, de mucilages, d'oses et holosides. Ces mêmes constituants ont été retrouvés dans l'écorce de racine de *Zanthoxylum zanthoxyloides* Lam. en 2001 par M. Bakayoko exceptés les saponosides qui étaient absents. Ces saponosides pourraient provenir alors soit des autres constituants ; soit de la zone de récolte. Ces écorces de racines contiennent aussi des alcaloïdes selon les travaux de Zepernick et Timler, Odebiyi et Sofowora (1979), les travaux de Bakayoko (2001) et les travaux de Zaaib (2004), mais ceux-ci sont absents dans le "Néfaraliwona".

Les travaux de Keita A. en 2004 sur la racine de *Ximenia americana* L. ont permis d'identifier la présence de ces différents groupes chimiques excepté les coumarines, les composés réducteurs et les caroténoïdes. Selon Keita A., la racine serait aussi riche en hétérosides cardiotoniques.

La présence des coumarines, des composés réducteurs et des caroténoïdes dans le "Néfaraliwona" pourrait alors provenir des autres composants de cette recette. L'absence d'hétérosides cardiotoniques pourrait être liée à la quantité de la drogue utilisée ou à l'effet du mélange.

La présence d'eau en quantité ≥ 10 % est un facteur de développement de moisissures qui rendraient alors le produit impropre à la consommation.

Le pourcentage d'eau dans le "Néfaraliwona", évalué par les méthodes pondérales et azéotropiques étant respectivement de 4,41 % et 2 % (taux < 10 %), le "Néfaraliwona" peut donc avoir une bonne conservation.

Les différentes extractions effectuées sur le "Néfaraliwona" ont donné comme rendements, 32,44 % pour le macéré aqueux, 25,42 % pour le macéré éthonolique, 1,46 % pour l'extrait éthéré, 0,90 % l'extrait DCM, 2,97 % pour l'extrait méthanolique, 12 % pour le digesté et 11,78 % pour le décocté épuisé.

Les meilleurs rendements ont été obtenus par les solvants aqueux ou hydro-alcoolique ; cela laisse croire que la majorité de ces constituants sont solubles dans l'eau.

Lors de son utilisation traditionnelle contre la dysménorrhée, le "Néfaraliwona" est délayé dans un aliment liquide (une bouillie de préférence), selon les résultats de notre étude, cette pratique permet une bonne dissolution de ses constituants.

Les résultats de la CCM nous ont permis de confirmer la présence des différents groupes chimiques identifiés par les réactions en tube mais aussi d'identifier d'autres. Les coumarines donnent en effet à 366 nm des fluorescences bleue, jaune ou pourpre. La présence de l'inflorescence bleue au Rf 0,8 pour le macéré EtOH 80 % et 0,56 pour l'extrait MeOH (les coumarines étant solubles dans les alcools) pourrait caractériser leur présence.

La fluorescence bleue observée à 366 nm aux Rf 0,23 et 0,33 (extraits DCM), Rf 0,29 et 0,76 (extrait éthéré), Rf 0,57 (macéré aqueux) et Rf 0,8 (extrait EtOH) pourrait indiquer la présence de triterpènes.

Les saponosides et les triterpènes donnent une coloration violette franche au réactif de Godin. Cette coloration a été observée aux Rf 0,63 et 0,76 (extrait DCM), Rf 0,8 (extrait éthéré), Rf 0,91 (extrait EtOH).

La coloration pourpre au réactif de Godin observée aux Rf 0 (macéré aqueux), Rf 0 (extrait éthéré) et Rf 0 ; 0,08 ; 0,23 et 0,9 (extrait MeOH) pourraient indiquer la présence des anthocyanes qui sont solubles dans les solvants polaires. Ils sont d'ailleurs généralement extraits avec du MeOH.

Les réactions en tube effectuées sur la racine de *A. albida* Dc. dont les résultats sont regroupés dans le tableau III nous ont permis de retrouver la présence de saponosides, coumarines,

stéroïdes et triterpènes, hétérosides cardiotoniques; une forte présence de mucilages et d'amidon ; des traces d'oses et holosides et celles des alcaloïdes ont été aussi observées. Cependant la réaction de mise en évidence des alcaloïdes par CCM au Dragendorff a été négative.

Les extractions effectuées sur la racine de *A. albida* Dc. ont donné les rendements suivants : 17,2 % pour le macéré aqueux, 38,22 % pour le décocté, 41,36 % pour le macéré EtOH 80 %, 14,4 % pour l'infusé, 0,15 % pour l'extrait étheré, 1,65 % pour l'extrait DCM, 2,2 % pour l'extrait MeOH, 4,05 % pour le digesté et 25 % pour le décocté épuisé.

La majorité des constituants de la racine sont hydrosolubles, les solvants aqueux et hydrosolubles ont donné les meilleurs rendements d'extraction.

Les dosages réalisés ont donné un indice de mousse de 200.

Un taux d'eau inférieur à 10 % dénote du bon séchage ; dans nos travaux, le taux d'eau évalué par les méthodes gravimétrique et volumétrique a donné respectivement 5,05 % et 6 %. Donc nous pouvons affirmer que notre drogue a été bien séchée.

Les résultats des CCM ont permis de confirmer la présence de certains constituants identifiés par les réactions en tubes mais aussi de caractériser d'autres groupes chimiques qui étaient absents dans les réactions en tube. En effet les taches jaunes observées aux Rf 0 de tous nos extraits et au Rf 0,78 de l'extrait MeOH pourraient caractériser les flavonoïdes.

La recherche de l'acide aristolochique nous a donné des taches violettes au Rf 0,78 de notre produit de référence et de tous les extraits aqueux testés excepté l'infusé pour lequel la tache a été observée au Rf 0,81 et le décocté épuisé dont la tache la plus proche de l'acide était au Rf 0,76 et de couleur rose.

Etant donné que le "Néfaraliwona" n'a pas encore fait objet d'étude pharmacologique, nous avons d'abord étudié la toxicité par l'évaluation de la DL_{50} . Cette DL_{50} évaluée était > 5 fois la dose journalière (112 mg/Kg de poids corporel) ; par conséquent nous pouvons déduire que le "Néfaraliwona" peut être classé dans le groupe III, celui des produits peu dangereux.

La DL_{50} de la recette à base de la racine de *Aristolochia albida* Dc. n'a pas été évaluée ; la toxicité de cette racine a déjà fait l'objet de nombreuses études. Chez les souris, la DL_{50} de l'administration *per os* a été de 55,9 mg/Kg de poids corporel chez les mâles pour 106,1 mg/Kg chez les femelles (EMEA, 2000).

Le test anti-radicalaire a été positif avec l'extrait méthanolique du "Néfaraliwona". Ceci pourrait s'expliquer par la présence de composés phénoliques dans cet extrait. Les flavonoïdes sont réputés pour avoir un rôle important dans le système de défense comme antioxydant (Bruneton 1993). Les tanins sont des inhibiteurs de la peroxydase, ce sont des piègeurs des radicaux libres, des inhibiteurs de la formation de l'ion superoxyde (Bruneton 1993).

Le mécanisme physiopathologique de la dysménorrhée fait intervenir la libération de l'acide arachidonique dont les dérivés (obtenus par oxydation) sont des médiateurs lipidiques de l'inflammation. La présence d'anti-oxydant pourrait être bénéfique pour l'utilisation du "Néfaraliwona" contre la dysménorrhée.

La recherche des activités antalgiques centrale et périphérique nous a amenée à utiliser respectivement le test de la plaque chauffante et le test de torsions.

Le chlorhydrate de tramadol, produit de référence à la dose de 5 mg/Kg a confirmé la validité de la méthode de la plaque chauffante qui évalue l'activité centrale. Cette activité a été négative chez nos extraits aux doses de 112 mg/Kg et 224 mg/Kg, traités dans les mêmes conditions expérimentales.

L'activité antalgique évaluée par la méthode de la douleur chimique provoquée par l'acide acétique (ou test de torsion) n'a pas été significative à la dose de 112 mg/Kg. La dose double (224 mg/Kg) a donné un effet analgésique aussi significatif que le paracétamol à la dose de 100 mg/Kg. L'effet analgésique du "Néfaraliwona" est dose dépendant.

L'activité anti-inflammatoire évaluée, la dose de 112 mg/Kg a donné la meilleure inhibition à la 3^{ème} heure avec un pourcentage d'inhibition de l'inflammation de 73,79. Le produit de référence (indométacine) a donné à la même heure une inhibition de 82,30 %. La dose de 224 mg/Kg a donné sa meilleure inhibition à la 5^{ème} heure et était inférieure à celle de la faible dose (67,97 %). L'activité n'est pas dose dépendante.

Ce pouvoir d'inhibition de l'inflammation du "Néfaraliwona" pourrait s'expliquer par la présence de certains groupes chimiques dans la recette. Les flavonoïdes qui sont des inhibiteurs enzymatiques. Ce sont des inhibiteurs de la 5- cyclo-oxygénase, donc de la production des leucotriènes médiateurs de l'inflammation (Bruneton, 1993). Leurs métabolites secondaires sont aussi connus pour leur activité anti-inflammatoire (Anderson et al., 1996). Les coumarines connus pour leur propriété anti-œdémateuse et immunostimulante (Bruneton, 1993). Les tanins sont des inhibiteurs de la 5-lipooxygénase (Bruneton, 1993). Les Stéroïdes et triterpènes dotés d'activité anti-inflammatoire.

8 CONCLUSION

La dysménorrhée par sa fréquence, son intensité et son impact sur la santé publique (absentéisme, énormes effets secondaires des AINS,...), mérite une prise en charge de qualité.

Notre travail avait pour objectif principal d'étudier deux recettes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée. Quatre aspects sur les activités biologiques ont été développés : la toxicité, l'activité anti-radicalaire, l'activité antalgique et l'activité anti-inflammatoire.

Au terme de ce travail de recherche qui s'est réalisé au DMT (Département de Médecine Traditionnelle) de l'INRS (Institut de National de Recherche en Santé Publique), il ressort que la recette à base de la racine de *Aristolochia albida* Dc. (*Aristolochiaceae*) contient des saponosides, des mucilages, des stérols et triterpènes, des hétérosides cardiotoniques et de l'amidon ; le "Néfaraliwona" contient des coumarines, des flavonoïdes, des saponosides, des tanins, des composés réducteurs, des oses et holosides, des mucilages, des stérols et triterpènes, des leucoanthocyanes et de l'amidon.

Il ressort également que le "Néfaraliwona" possède des activités anti-radicalaire, antalgique et anti-inflammatoire, qui pourraient justifier son utilisation en médecine traditionnelle.

Le "Néfaraliwona" pourrait donc être utilisé par conséquent dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée.

Recommandations

Au DMT nous recommandons une étroite collaboration avec les spécialistes médicaux pour une meilleure exploitation de la médecine traditionnelle et des plantes médicinales.

Nous recommandons la poursuite des investigations sur *Aristolochia albida* Dc. qui est reconnu internationalement pour être toxique, mais qui est utilisé dans nos localités.

La théorie du spasme serait aussi une cause de la douleur dysménorrhéique. Pour compléter ce travail, nous recommandons la poursuite de l'étude du "Néfaraliwona" sur l'activité anti-spasmodique qui pourrait être utile dans la prise en charge de la dysménorrhée. Nous

recommandons également la poursuite des investigations sur les autres maladies traitées avec le "Néfaraliwona" par le tradipraticien. Enfin, une étude clinique pour la mise au point d'un médicament amélioré.

Au ministère de santé, nous recommandons davantage d'investissements pour la revalorisation de la médecine traditionnelle, l'un de nos patrimoines culturels.

Pour finir nous recommandons au ministère de la santé et aux médiats publiques, une campagne perpétuelle d'information, d'éducation et de sensibilisation de la population pour une utilisation rationnelle de notre environnement.

Nous osons espérer avoir apporté notre contribution à la valorisation de la médecine traditionnelle, que l'étude du "Néfaraliwona" soit à cet effet un point de départ dans la mise au point d'un médicament traditionnel amélioré.

9 REFERENCES

Adjanohoum, E., M.R.A. Ahyli, Ake Assi L., Dan Dicko L., Daouda H., Delmas M., Souza De S., Garba M., Guinko S., Kayonga A., N'Golo D., Raynal J.L., Saadou M. (1980). Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger. Médecine traditionnelle et pharmacopée. Agence de coopération culturelle et technique (A.C.C.T.) éd., 250p.

Albert Lespagnol, André Cœur, Josette Alary, Charles Lespagnol et Daniel Lesieur. (1974). Chimie des médicaments. Entreprise moderne éd., Paris, pp 237-281.

André MULLER Physiopathologie et traitement de la douleur.

http://www.samu.asso.ne/Cours_douleur/seminaire_1/Physiopath%20DL.htm.

Arbonnier Michel. (2000). Arbres, arbustes et lianes des zones sèches de l'Afrique de l'Ouest. Editions CIRAD-MNHN-UICN, pp. 297, 430, 474.

Asres K., Bucar F., De Clercq E., Kartnig T., Pannecouque C., Witvrouw M. (2001). Antiviral activity against immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) of ethnobotanically selected Ethiopian medicinal plants. *Phytotherapy Research*, John Wiley & Sons, Ltd, pp. 62-69.

Assogba, M.N. (1984). Quelques enquêtes sur la pharmacopée traditionnelle vétérinaire en République du Bénin. 13^{ème} Conférence de la Société ouest africaine de pharmacologie, 23-24-25 février à Cotonou. Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique. Collège polytechnique universitaire.-

Badioré Ouattara, Luc Angent, Pierre Guissou, Pierre Fondu, Jacques Dubois, Michel Frédérick, Olivia Jasen, Jean-Claude Van Heugen, Jean-Noël Wauters and Monique Tits, (2004). LC/NMR analysis of isomeric divanilloylquinic acids from the root bark of *Fagara zanthoxyloides* Lam. Science direct. *Phytochemistry*. <http://www.sciencedirect.com>

Bakayoko Mama Tograba, 2001. Etude botanique et phytochimique de trois plantes médicinales en vue de la production d'un médicament traditionnel amélioré (MTA). F

Boulhard B., (2001). Dictionnaire des plantes médicinales du monde. Croyance et réalités. Editions ESTEM, Paris, pp. 54-55, 565-566, 570-571.

Burkill H.M., (1985); The Useful Plants of West Tropical Africa. Editions Royal Botanic Gardens, Kew, pp 214-215.

Burkill H.M., (1997). The Useful Plants of West Tropical Africa. Printed by BPC Wheatons Ltd., both members of the British Printing Compagny Ltd., pp. 294-297.

Cavin, A. (1999). Investigations phytochimiques de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires. *Tinospora crisp* (Menispermaceae), *Merremia emarginata* (Convolvulaceae) et *Orophea enneandra* (Annonaceae). Thèse, doctorat, Lausanne, 11-19.

Chaaib Fatima Kouri, Emerson F. Queroz, Karine Ndjoko, Drissa Diallo, Kurt Hostettmann, (2003).

Antifungal and Antioxidant Compounds from the Root Bark of *Fagara zanthoxyloides*. *Planta med*; **69**: 316-320.

Chaaib Fatima Kouri, (2004). Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine : *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler (Syn. *Fagara zanthoxyloides* L.) (Rutaceae). Université de Lausanne

Christian QUERUX- CHU Reims. Dysménorrhées primaires et secondaires: diagnostique et traitement. <http://www.infogyn.com/detail/fiches/0109020202.asp>.

Cronquist, A., (1988). The Evolution and Classification of Flowering Plants. The New York Botanical Garden, New York, éd. 2.

D. S. Ogunleye and S. F. Ibitoye, (2003). Studies of antimicrobial activity and chemical constituents of *Ximenia Americana* L. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, pp. 239-241.

Ekoumou C. (2004). Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite.

EMEA, (2000). *Evaluation of Medicines for Human Use*. Working Party on Herbal Medicinal Products. Position Paper on the Risks Associated with the Use of Herbal Products Containing *Aristolochia albida* species. EMEA/HMPWP/23/00/Rev 3.

Famille des *Euphorbiaceae*.

<http://archive.uwcm.ac.uk/uwcm/dm/BoDD/BotDermFolder/BotDermE/EUPH.html>

<http://www.plantamed.com.br/GEN/Euphorbia.html>.

Famille des *Olaceae*. <http://www.plantamed.com.br/GEN/Ximenia.html>.

FAO, PNUE, (1991). Documents d'orientation des décisions, HCH (ensemble des stéréoisomères). Programme conjoint FAO/PNUE pour l'application de la procédure d'information et de consentement préalables pour les produits chimiques interdits ou strictement réglementés qui font l'objet du commerce international. Rome-Genève.

Fish, F., Waterman, P.G. (1973). Chemosystematics in the Rutaceae II. The Chemosystematics of the *Zanthoxylum/Fagara* complex. *Taxon* 22, 177-203.

Flammarion, (2001). Dictionnaire de MEDECINE. Edition I.S.B.N., France.

Gary W. Kuroki & Eric E. Conn, (1989). Mandelonitrile Lyase from *Ximenia Americana* L.: stereospecificity and lack of flavin prosthetic Group. *PNAS (Proc Natl Acad Sci U S A)* **86**(18): 6978-6981.

H.-G. Robert, R. Palmer, C. Boury-Heyler, J. Cohen, (1978). Précis de gynécologie. Edition Masson, France, pp. 170-174.

Haruna, A. K., Choudhury, M. K. (1995). In vivo antsnake venom activity of a furanoid diterpene from *Aristolochia albida* Duch. (*Aristolochiaceae*). *Phytotherapy Research. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 57(5), 222-4.

Haruna, A. K., Choudhury, M. K. (1997). Antispasmodic property of the aqueous extract of *Aristolochia albida* Duch. *Phytotherapy Research. Volume 11, issue 7*. Copyright John Wiley & Sons, Ltd. pp. 527-528.

Haruna, A. K., Ilyas, M. (2000). Aristolochic acid-1 and Aristolosite from rhizome of *Aristolochia albida* Duch. Department of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 62(5): 351-5.

Hédon B., Dargent D., Frydman S., Madelénat P. (1998). *Gynécologie*. Editions Ellipses, Paris, pp. 602.

International Association for the Study of Pain. *Pains terms: a list with definitions and notes on usage*. *Pains* (1979), 6:249-252.

Ishii, H., Ishikawa, T., Tohojoh, T., Murakami, K., Kawanabe, E., Lu, S.T., Chen, I.S. (1982). Studies on the chemical constituents of Rutaceous plants. Part 45. Novel phenyl propanoids: cuspidiol, boninal and methyl boninalate. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I*, 2051-2058.

Jasper W. Ogwal-Okeng, Celestino Obua, William W. Anokbonggo, (2003). Acute toxicity effects of the methanolic extract of *Fagara zanthoxyloides* bark. *African Health Sciences*. *Fagara zanthoxyloides*, medicinal plant, toxicity, Uganda, pp 124-126.

J.L. Leroy, (1993). *Les Traitements Médicaux en gynécologie*. XII èmes journée Aquitaines de Perfectionnement en Reproduction humaine. Bordeaux.

<http://www.gyneweb.fr/Sources/gynene/gynendoc/doul/ttdysmen.html>.

J. Lansac & P. Lecomte (1994) *Gynécologie pour le praticien* 4^e édition, Simep, Paris, P.554, pp331.

Jean Berhaut, (1971). *Flore illustrée du SENEGAL*. Dicotylédones. Acanthacées à avicenniacees. Edition Maisonneuve S.A., France, pp 471-472.

Keïta Aminata, (2004). Etude de trois plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère gastroduodéal dans le district de Bamako : *Borassus aethiopum* Mart (*Palmeae*), *Sclerocarya birrea* (A. Rich.). Hochst. (*Anacardiaceae*) et *Ximenia americana* L. (*Olacaceae*).

Kela SL, Ogunsusi RA, Ogbogu VC, Nwude N. (1989). Screening of some Nigerian plants for molluscicidal activity. *Rev Elev Med Vet Pays Trop*, 42(2): 195-202.

Kerharo, J., Adam, J.G. (1974). La pharmacopée Sénégalaise traditionnelle: plantes médicinales et toxiques. Edition Vigot et Frères, Paris, pp. 402, 615-617, 708, 713-715.

Leroy, J.L. (1993). Les traitements médicaux en gynécologie. XII^{èmes} journées Aquitaines de Perfectionnement et de Reproduction humaine, Bordeaux.

<http://www.gynweb.fr/Sources/gyngene/gynedoc/doul/ttdysmen.html>.

Malgras, D. (1992). Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. Editions Karthala, Paris, pp. 302-305, 315-316.

Nok, Andrew J., (2001). A novel nonhemorrhagic protease from the African puff adder (*Bitis arietans*) venom. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicity*. CODEN:JBMTFQ ISSN:1095-6670. CAN 135:367877 CAPLUS.

Kristiina Pelli et Marika Lyly, (2000). VTT Biotechnology Finlande : Les antioxydants dans l'alimentation. *Flair Flow Europe* 4. <http://www.flair-flow.com>.

Léon Perlemuter et Gabriel Perlemuter, (2003). Guide de thérapeutique. Bonne pratiques cliniques. Prescription et surveillance. Médicaments référents et génériques. Editions Masson, France, pp. 1635-1683.

Michel Bourin, Michel Lièvre, Hervé Allain, 1993. Cours de pharmacologie. Edition Ellipses, Paris, pp. 133-142

Morrisson B.W., Daniels S.E., Kotey P., Cantu N., Seidenberg B. (1999). Rofecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, in primary dysmenorrhea: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*. 94:504-8.

Ogunleye D. S. et Ibitoye S. F. (2003). Studies of antimicrobial activity and chemical constituents of *Ximenia americana* L. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, Vol. 2, No. 2, p. 239-241.

OMS, 2002. Stratégie de L'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005, Genève. P. 63, pp 13.

OMS, 2003. Aide-mémoire N°134.

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/fr/print.html> 12/08/2004

Photo de *Ximenia americana* L. <http://www.botany.hawaii.edu/faculty/carr/olac.htm> .

Photo d'*Euphorbia sudanica* A. Chev. http://www.euphorbia.de/e_sudanica.htm .

Renner M. (2000). Les oxydations lipidiques dans la viande. Station de recherche sur la viande, INRA 63122 st Genès-Champanelle.

S. Schück et H. Allain, (1997). La douleur : moyens et stratégies thérapeutiques. La Revue du Praticien ; 47 : 555-69.

Takao, T., Kitatani, F., Watanabe, N., Yagi, A., Sakata, K. (1994). A simple Screening methode for antioxydants and isolation of several antioxydants produced by marine bacteria from fish and shellfish. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 58, 1780-1783.

Wang L., Wang X., Wang W., Chen C., Ronnennberg A. G., Guang W., Huang A., Fang Z., Zang T., Wang L., Xu X. (2004). Stress and dysmenorrhoea: population based prspective study. Occupational and Environnemental Medecine; 61:1021-1026.

Watson L. and Dallwitz M.J. (1992). The families of flowering plants: Descriptions, Illustrations, Identification and Information Retrieval.

<http://www.encyclopedie.snyke.com/articles/olacaceae.html>.

<http://www.herbarium.literal.si/images?item=50745>.

<http://www.infogyn.com/detail/fiches/0109020202.asp>

<http://medidacte.timone.univ-mrs.fr/webcours/umvf/anapath/disciplines/niveaudiscipline/niveaumodule/chapitre3/esp.1.1.htm>

http://www.caducee.net/Communiqués/30092004/3009200418faq_vioox.asp#4

<http://www.ac-nancy-metz.fr/enseign/physique/CHIM/Chromato01/chromato1.htm>

ANNEXES

Annexe 1 : composition des réactifs

Réactif de Mayer

Iodure de potassium.....	25 g
Chlorure mercurique.....	6,77 g
Eau distillée qsp.....	50 ml

Réactif de Dragendorff

Nitrate de bismuth pulvérisé.....	20,80 g
Iode.....	38,10 g
Iodure de sodium anhydre.....	200 g
Eau distillée qsq.....	100 ml

Agiter pendant 30 mn

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 ml avec de l'eau distillée

Solution B

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

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

Réactif de Godin

Solution A

Vanilline.....	1 g
Ethanol à 95 %.....	100 ml

Solution B

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

Solution C

H ₂ SO ₄ concentré.....	10ml
Ethanol 95°.....	90ml

Mélanger les solutions A et B pour une première pulvériser de la plaque, ensuite pulvériser avec la solution C.

Réactif de Guignard (papier picrosodé)

Acide picrique.....	1 g
Carbonate de sodium.....	10 g
Eau distillée qsp ...	100 ml

Réactif de Raymond Marthoud

1,3 dinitrobenzène.....	1 g
Ethanol à 96 % qsp.....	100 ml

Réactif de Keede

Acide dinitro 3,5-benzoïque.....1 g
Ethanol à 95 % qsp.....100 ml

Réactif de Baljet

Acide picrique.....1 g
Ethanol à 50 % qsp.....100 ml

Annexes 2 : Formule nutritionnelle des souris ayant servi à l'étude pharmacodynamique selon Traoré et *al.*, 1983.

Farine de maïs.....	50 Kg
Pâte d'arachide.....	20 Kg
Son de mil.....	17,5 Kg
Lait en poudre.....	7 Kg
Poudre de poisson.....	3 Kg
Feuilles de salade pilées.....	2 Kg
Sel gemme.....	0,5 Kg
Eau distillée pour 100 Kg	38 l

FICHE SIGNALÉTIQUE

Auteur : Mahaman Daddy Gaoh Saadatou

Titre : Etude de deux plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au Mali.

Année Universitaire : 2005 – 2006

Pays d'origine : République du Niger

Ville de soutenance : Bamako (République du Mali)

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie de l'Université de Bamako.

Secteurs d'intérêt : Pharmacognosie, médecine traditionnelle.

Email : saadatou@yahoo.com

RESUME

Ce document a porté sur la détermination des effets de la préparation du tradipraticien de la recette "Néfaraliwona" dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée et sur l'étude de la phytochimie de la racine de *Aristolochia albida* Dc. (*Aristolochiaceae*) de nom hausa "Duman douchi" utilisée aussi dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée.

La recette "Néfaraliwona" est un mélange de poudres de la racine de *Ximenia americana* L. (*Olacaceae*), de la tige de *Euphorbia sudanica* A. Chev. (*Euphorbiaceae*) et des écorces de racine de *Zanthoxylum zanthoxyloides* Lam (*Rutaceae*).

L'étude phytochimique de "Duman douchi" a permis d'identifier la présence de saponosides, de mucilages, de stérols et triterpènes, d'hétérosides cardiotoniques et d'amidon.

Celle de "Néfaraliwona" a donné des coumarines, des flavonoïdes, des saponosides, des tanins, des composés réducteurs, des oses et holosides, des mucilages, des stérols et triterpènes, des leucoanthocyanes et de l'amidon.

Le test antioxydant a été positif avec l'extrait méthanolique de la recette "Néfaraliwona".

La préparation du tradipraticien nous a donné la meilleure inhibition de l'inflammation de l'ordre de 73,79 % à la 3^{ème} heure, pour 43,10 % à la dose double à la même heure. L'indométacine, le produit de référence a donné à la même heure une inhibition de 82,30 % de l'œdème. L'effet anti-inflammatoire de la recette n'est donc pas dose dépendant.

L'effet de la préparation du tradipraticien n'a pas été significatif sur la douleur ; par contre la dose double nous a donné une inhibition de la douleur de 41,24 %. Le paracétamol, produit de référence a quant à lui a donné une inhibition de 48,20 % de la douleur.

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 !