

MINISTERE DE L'EDUCATION

UNIVERSITE DE BAMAKO

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple - Un But - Une Foi

Faculté de Médecine de Pharmacie
et d'Odonto-Stomatologie
(F.M.P.O.S)

Année académique : 2001 - 2002

N°.....

ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES ET DE LA
TOXICITE AIGUE DE L'EXTRAIT AQUEUX DES
FEUILLES DE *MANGIFERA INDICA* L.
(ANACARDIACEAE)

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement le

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

par

AOUISSA Itiann Wen - Rehaba

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(DIPLOME D'ETAT)

Jury

Président : Professeur Boubacar Sidiki CISSE
Membres : Docteur Elimane MARIKO
Co-Directeur de thèse : Docteur Drissa DIALLO
Directeur de Thèse : Docteur Rokia SANOGO

DEDICACES

JE DEDIE CE TRAVAIL

A DIEU NOTRE PERE TOUT PUISSANT

A Mon père et à ma mère AOUISSA Sama et Tina Rema

Vous n'avez ménagé aucun effort pour nous pour nous donner une meilleure éducation. Vous avez su créer en nous l'amour du travail bien fait. Vous nous avez guidé avec rigueur mais aussi avec amour. Vous avez été toujours là quand nous avons besoin de vous et sans vous, nous ne serions pas devenu ce que nous sommes aujourd'hui.

Je t'aime papa, Je t'aime maman.

Puisse l'Eternel vous récompenser et vous garder longtemps parmi nous.

A mes frères et soeurs : Geneviève, Said, Mireille et Elodie

Merci de m'avoir soutenu et témoigné votre affection durant tout ce temps. J'ai toujours pu compter sur vous quelque soit le moment. Restons unis et soyons à la hauteur de nos parents.

Que DIEU vous benisse.

A feu Père LITABA

"Je voulais que le Seigneur soit mon seul trésor "

Tu nous a été arraché au moment où nous nous y attendions le moins. Tu nous as vu grandir et tu nous as guidé dans la voie du seigneur et dans la voie de la réussite.

Tu resteras à jamais gravé dans nos coeurs. Paix à ton âme.

A Monsieur et Madame SOUSSOU Brice

Vous m'avez guidé, conseillé, et soutenu. Vous avez tout simplement cru en moi. Trouvez ici toute ma reconnaissance.

Que Dieu vous bénisse

A mes tantes Jacqueline et Marthe

A Assetina SINGO

A Nicolas Kambia

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

A la famille AOUISSA

A la famille REMA

A la famille SOUSSOU

A la famille SINGO

A la famille Paul AMESSIAMENOU

A la famille Anatole TOUNKARA

A Annick BANGANA

A Sadik DJOBO

Aux étudiants togolais au Mali

A la villa rouge au point - G

A Abah MAIGA, Alhousseini GUINDO, ainsi qu'aux autres

Vous avez été une vraie famille pour moi. Merci pour votre soutien et la joie que vous nous avez toujours communiqué.

A Marianne AMEHOUNE, Fatou FOFANA, Hamsatou DJERMAKOYE, et Ina OUOLOGUEM.

A mes amis Aissata DIARRA, Maducha DIARRA, Kader, Hama RHISSA, Youssouf FOFANA pour les bon moments que nous avons passe ensembles.

A Monsieur Raphaël EKLU

Merci pour tes encouragements et ta confiance.

A Cathy ADAM

A tout mes amis du MALI

MENTION SPECIALE

A l'Université d'Oslo (NORVEGE) pour son soutien matériel et financier à travers le projet CNRST-NUFU Plantes médicinales.

Au Docteur Fofana Mamadou Yassine du centre de recherche et de Fabrication de médicaments, pour son soutien moral et matériel à la réalisation de ce travail.

Au Professeur KOUMAGLO de l'Université du TOGO

A mes camarades Igor BOSSOKPI, Hamsatou YANSAMBOU, Ramata KEITA, Adiaratou TOGOLA, Fadibi SIDIBE, FANE, Makan DIARRA, Daouda TOLO, et Boubakar Richard.

Au Docteur Boubacar MAIGA du Département de Médecine Traditionnelle

Vous avez été présent pendant les moments difficiles. Merci pour vos encouragements et votre disponibilité.

Au personnel du Département de Médecine Traditionnelle

A FAGNA du Département de Médecine Traditionnelle

Merci pour ta disponibilité. Que Dieu te bénisse.

A mes promotionnaires de la faculté de Pharmacie du Mali.

AUX MEMBRES DU JURY

A Notre Maître et Président du Jury

Professeur Boubacar CISSE

Ancien Recteur de l'Université du MALI

Professeur Titulaire en Toxicologie et en Phytopharmacie à la F.M.P.O.S.

Nous sommes comblés de l'immense honneur que vous nous faites en acceptant de présider le Jury de notre thèse malgré vos nombreuses occupations. Votre courtoisie, votre brillant esprit de chercheur, et votre rigueur scientifique font de vous les grands maîtres de notre faculté.

Veillez trouver ici cher Maître, l'expression de notre plus grand respect.

A Notre Maître et Juge

Pharmaïen Colonel ELimane MARIKO

Directeur adjoint du service de santé des armées

Chef du D.E.R. des Sciences Pharmaceutiques

Maître de conférence en Pharmacologie

Chargé de l'enseignement de pharmacologie à la F.M.P.O.S.

C'est pour nous un plaisir de vous voir siéger dans notre jury de thèse. Nous avons eu le privilège de bénéficier de votre enseignement précis et clair. Votre rigueur scientifique, l'amour du travail bien fait et votre grande disponibilité n'ont d'égal que votre générosité et votre modestie.

Nous vous remercions pour le grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

***A Notre Maître et Codirecteur de thèse
Docteur Drissa DIALLO
Maître Assistant en Pharmacognosie
Chef du Département de Médecine Traditionnelle
Chargé de l'enseignement de la matière médicale à la F.M.P.O.S.***

Etre votre élève a été une chance que nous avons su saisir.

Nous avons été comblé par les enseignements de qualité dont nous avons bénéficié à vos côtés. Votre disponibilité, votre rigueur et vos qualités intellectuelles forcent notre admiration.

Veillez trouver ici cher Maître le témoignage de notre sincère reconnaissance.

A Notre Maître et Directrice de thèse

Docteur Rokia SANOGO

PhD en Pharmacognosie

Chargée de cours de pharmacognosie à la F.M.P.O.S.

Nous avons été satisfaits de vos qualités exceptionnelles de bon pédagogue. Votre simplicité et votre amour du travail bien fait font de vous un Maître admirable dont l'exemple est à suivre.

Recevez ici cher Maître, notre sentiment de respect et de gratitude.

Lexique des abréviations

ACCT	: Agence de coopération culturelle et technique
ADP	: Adénosine Diphosphate
BuOH	: Buthanol
CCM	: Chromatographie sur couche mince
cm	: Centimètre
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
CNAM	: Centre National D'appui á la Maladie
DL50	: Dose létale 50
DMSO	: Diméthyle Sulfoxyde
DMT	: Département de Médecine Traditionnelle
DPPH	: 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle
DCM	: Dichlorométhane
EtOAc	: Acétate d'éthyle
g	: gramme
h	: heure
INRSP	: Institut National de Recherche en Santé Publique
Kg	: Kilogramme
µl	: Microlitre
M	: Masse molaire
MeOH	: Méthanol
mg	: milligramme
MI	: <i>Mangifera indica</i>
ml	: millilitre
mn	: minute
nbr	: nombre
N°	: Numero
nm	: nanomètre
Obs	: Observation
%	: Pourcentage
UV	: Ultra violet
V	: Volume

SOMMAIRE

SOMMAIRE

INTRODUCTION	
1	
MOTIVATIONS	2
OBJECTIFS	3
PREMIERE PARTIE : <i>Travaux antérieurs</i>	4
1. Rappels sur les activités biologiques.	4
1.1 Les antioxydants	5
1.2 L'activité antifongique	15
1.3 L'activité hémostatique	20
1.4 Les essais de toxicité	30
1.5 L'activité analgésique	31
1.6 L'activité anti-inflammatoire	37
2. La plante : <i>Mangifera indica</i> L.	45
2.1. Données botaniques	45
2.1.1. Nom scientifique	45
2.1.2. Synonymes	45
2.1.3. Description de la plante	47
2.1.4. Description de la drogue	47
2.1.5. Origine et répartition géographique	47
2.2. Utilisations en Médecine Traditionnelle	48
2.3. Données phytochimiques	49
2.4. Données toxicologiques	52
2.5. Données pharmacologiques	53
2.6. Essais cliniques	59
DEUXIEME PARTIE : <i>Travaux personnels</i>	60
1. Méthodologie	61
1.1. Matériel végétal	61
1.2. Matériel animal	61
1.3. Préparation des extraits	61
1.3.1. Extraction avec des solvants à polarité croissante	61
1.3.2. Décoction	64
1.3.3. Séparation liquide-liquide	64

1.4. Etudes phytochimiques	65
1.4.1. Chromatographie sur couche mince	65
1.4.2. Dosage des polyphénols	66
1.5. Etudes des activités biologiques	69
1.5.1. Les tests biologiques <i>in vitro</i>	69
1.5.1.1. Activité anti-oxydante des extraits de <i>Mangifera indica</i>	69
1.5.1.2. Activité antifongique des extraits de <i>Mangifera indica</i>	70
1.5.1.3. Activité hémostatique de l'extrait aqueux de <i>Mangifera indica</i>	71
1.5.2. Les tests biologiques <i>in vivo</i>	74
1.5.2.1. Toxicité aiguë (DL ₅₀) de l'extrait aqueux de <i>Mangifera indica</i>	74
1.5.2.2. Activité analgésique de l'extrait aqueux de <i>Mangifera indica</i>	77
1.5.2.3. Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de <i>Mangifera indica</i>	81
2. Résultats	83
2.1. Matériel végétal	83
2.2. Les extractions	83
2.3. Données phytochimiques	85
2.3.1. Chromatographie sur couche mince	85
2.3.2. Dosage des polyphénols	98
2.4. Les tests d'activités biologiques	99
2.4.1. Les tests biologiques <i>in vitro</i>	99
2.4.1.1. Activité antioxydante des extraits de <i>Mangifera indica</i>	99
2.4.1.2. Activité antifongique des extraits de <i>Mangifera indica</i>	101
2.4.1.3. Activité hémostatique de l'extrait aqueux de <i>Mangifera indica</i>	101
2.4.2. Les tests biologiques <i>in vivo</i>	103
2.4.2.1. Toxicité aiguë (DL ₅₀) de l'extrait aqueux de <i>Mangifera indica</i>	103
2.4.2.2. Activité analgésique de l'extrait aqueux de <i>Mangifera indica</i>	105
2.4.2.3. Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de <i>Mangifera indica</i>	107
COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS	108
CONCLUSION	117
BIBLIOGRAPHIE	119
ANNEXE	128

INTRODUCTION

En 1978, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) s'est résolument engagée à la recherche et à la valorisation de la Pharmacopée traditionnelle afin de pouvoir satisfaire aux besoins de soins de santé primaires et de médicaments des populations africaines.

Les plantes médicinales constituent une alternative idéale aux médicaments chimiques ou spécialités trop chers à fabriquer ou à acheter pour les pays en voie de développement.

Aujourd'hui, au Mali comme partout en Afrique nous constatons que les populations face au problème des coûts et/ou d'accessibilité des spécialités en zone rurale, se retournent de plus en plus vers les pharmacies traditionnelles et les tradipraticiens.

Pour une utilisation rationnelle de la pharmacopée traditionnelle, de nombreuses recherches s'effectuent sur les recettes traditionnelles afin d'obtenir des médicaments traditionnels améliorés (MTA).

Le Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), centre collaborateur de l'OMS, travaille avec les détenteurs des savoirs locaux, afin de mettre à la disposition de la population des MTA à base de plantes.

Notre travail est une contribution à l'évaluation de l'activité d'une recette traditionnelle à base de trois plantes : *Fagara zanthoxyloides*, *Mangifera indica* et *Securidaca longepedunculata* utilisée dans le traitement des affections bucco-dentaires.

Notre thèse porte sur l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Mangifera indica* : détermination de la toxicité aiguë et des activités anti-oxydante, antifongique, hémostatique, antalgique et anti-inflammatoire.

Ce travail que nous allons vous présenter comporte les résultats de nos recherches bibliographiques sur la plante, nos études expérimentales sur les extraits de *Mangifera* et enfin nos commentaires, discussions et une conclusion.

MOTIVATIONS

* Les populations africaines restent très attachées aux ressources de la médecine traditionnelle.

* Au Mali, selon les chiffres du MSSPA la pauvreté était une réalité quotidienne 71,6% de la population malienne (MSSPA ,1998). Ce qui se traduit par une inaccessibilité aux services de base pour 60% de la population.

* La prise en charge de ces affections par la médecine conventionnelle est relativement onéreuse et n'est pas toujours accessible à la majorité de la population malienne.

* Les informations recueillies auprès des guérisseurs indiquent l'utilisation de plusieurs plantes médicinales dont de *Mangifera indica* dans le traitement des affections buccodentaires.

* Le DMT, effectue des recherches toxicologiques, pharmacologiques et chimiques sur les extraits de plantes qui composent les recettes traditionnelles afin de mettre à la disposition de la population des MTA efficaces, sûrs et à moindre coût.

Les MTA mis sur le marché, issus de recettes de la médecine traditionnelle, sont fabriqués à partir des matières premières africaines. Cela comporte des atouts économiques et socio-culturels.

OBJECTIFS :

OBJECTIF GENERAL

Evaluer les activités pharmacodynamiques et la toxicité aiguë des extraits aqueux et organiques des feuilles de *Mangifera indica*. L. (Anacardiaceae)

OBJECTIFS SPECIFIQUES

Déterminer l'activité anti-oxydante des extraits de *Mangifera indica* contre le DPPH par CCM.

Déterminer l'activité antifongique des extraits de *Mangifera indica* contre *Candida albicans* par la méthode bio-autographique sur plaque de CCM.

Déterminer l'activité hémostatique de l'extrait aqueux par la mesure du temps de coagulation sur le sang total et le temps de recalcification du plasma.

Déterminer la DL₅₀ de l'extrait aqueux de *Mangifera indica* par voie orale et par voie intrapéritonéale.

Déterminer l'activité antalgique de l'extrait aqueux par la méthode de la plaque chauffante (Hot Plate) et la méthode de l'acide acétique (Writhing test).

Déterminer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Mangifera* sur l'œdème de carragénine chez la souris.

PREMIERE PARTIE :

TRAVAUX ANTERIEURS

1. RAPPELS SUR LES ACTIVITES BIOLOGIQUES

1.1 LES ANTIOXYDANTS

1.1.1. GENERALITES

Les antioxydants se définissent comme étant des produits chimiques qui, plus spécifiquement, retardent la détérioration, la rancidité ou la décoloration causée par l'oxydation. Il existe deux catégories d'antioxydants: les séquestrants de métaux et les phagocytes de radical libre. Les séquestrants de métaux précipitent un métal ou suppriment sa réactivité en occupant tous les sites de coordination. Les phagocytes de radical libre comprennent l'hydroxytoluène butylaté (BHT), l'hydroxyanisole butylaté (BHA), les tocophérols (vit E) et l'acide ascorbique (vit C).

L'oxydation quant à elle constitue la portion d'une réaction d'oxydoréduction qui se caractérise par une perte d'électrons ou par l'augmentation algébrique du nombre d'électrons dans l'élément oxydé. En d'autres termes, l'oxydation est perceptible sous forme de rouille sur le fer, de rancidité des graisses et huiles et même de vieillissement humain. L'oxydation du corps perçue comme un processus de vieillissement peut toutefois entraîner l'apparition de maladies dégénératives (Müller, 1992, Harman, 1992). Les aliments s'oxydent lorsqu'on ajoute de l'oxygène à des sites non saturés de molécules organiques.

L'oxygène, élément actif de l'air est une substance indispensable aux organismes aérobies pour son rôle essentiel : la respiration cellulaire.

En effet, sous l'action des rayons UV, de radiations ionisantes, de métaux de transition et au cours de diverses réactions enzymatiques, des formes hautement réactives de l'oxygène apparaissent telles que l'oxygène singulet O_2 , le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le radical superoxyde O_2^{\cdot} , Les peroxydes alkyles $ROOH$ et les radicaux hydroxyles HO^{\cdot} , peroxydes ROO^{\cdot} et alkoxydes RO^{\cdot} . On les désigne souvent comme les espèces réactives de l'oxygène. Ces dernières sont utilisées par les cellules phagocytaires de l'organisme (macrophage) pour combattre les agents infectieux tels que les bactéries ou les virus. Toutefois, les bienfaits de ces composés hautement toxiques ne restent pas sans conséquence, principalement pour les structures biologiques des cellules.

Ces radicaux sont des molécules indépendantes contenant un ou plusieurs électrons non appariés. Ils s'attaquent à la membrane cellulaire, aux protéines ou à l'ADN de la cellule (Calvin, 2001).

Bien que le terme de radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant, il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres (Harman, 1992).

L'organisme se défend contre les radicaux en produisant des enzymes qui les neutralisent: la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, la catalase et aussi des molécules de faibles

masses moléculaires comme le tripeptide glutathion ou l'acide urique (Michiels *et coll.*, 1994)

Cependant, lorsque la quantité de radicaux libres est trop importante, les cellules n'arrivent pas toujours à produire suffisamment d'antioxydants. Ces métabolites s'associent alors aux molécules disposant de liaisons libres et les transforment en radicaux libres hautement réactifs. Leur métabolisme est modifié. Ils sont désormais incapables d'assumer leurs rôles physiologiques et acquièrent ainsi des capacités assassines. Cela se vérifie pour de très nombreuses substances dont les acides gras essentiels constitutifs des membranes cellulaires. Une fois oxydés ces acides gras perdent leurs propriétés de filtres sélectifs et la cellule à laquelle ils appartiennent peut soit devenir poreuse, soit le plus souvent perdre ses capacités de communication avec son environnement nourricier. Dans ce cas, ne recevant plus ni oxygène, ni nutriments, elle adopte un métabolisme anaérobie; première étape de la cancérisation.

Une sorte de réaction en chaîne se produit et gagne les molécules voisines de la première atteinte. Des secteurs entiers de tissus sont ainsi soustraits du métabolisme normal. Ces régions constituent des entraves aux échanges métaboliques qui sont ralentis voire stoppés. Au niveau de la peau, cela se traduit par l'apparition de rides et de zones de peau mal hydratées et distendues. De la même manière, les tissus profonds vieillissent d'une manière anormale, les tissus cérébraux en premier lieu d'où l'augmentation des cas de sénilité précoce ou maladie d'ALZHEIMER. IL semble ainsi que les formes réactives de l'O₂ soient en partie à l'origine de nombreuses maladies comme ALZHEIMER, PARKINSON, l'arthérosclérose, la polyarthrite chronique, le mongolisme ou encore le cancer (Müller, 1992 ; Harman, 1992). A cette situation dont les origines sont multiples (pollution, cigarettes ...) la seule réponse de la nature sont les antioxydants: les vitamines C et E et les caroténoïdes auxquelles s'ajoutent les oligoéléments, le sélénium.

Pendant longtemps en effet seules les substances de synthèse étaient disponibles et rien ne paraissait les distinguer des formes naturelles. Des chercheurs de plus en plus nombreux ont constaté après études comparatives que les vitamines naturelles étaient plus efficaces.

1.1.2. LES SOURCES D'ANTIOXYDANTS

Outre les antioxydants produits par l'organisme pour sa défense, les sources sont diverses: médicamenteuses, alimentaires...

LES MEDICAMENTS

Utilisé pour lutter contre un taux sanguin de cholestérol élevé, le Probucol® agirait comme un antioxydant en supprimant l'oxydation des lipoprotéines de basse densité.

La N-acétylcystéine agirait de manière significative dans la régénération d'un antioxydant connu: le glutathion (Calvin, 2001).

Des chercheurs se sont rendu compte que le Captopril, L'hydralazine, et le Terazosin médicaments utilisés contre l'hypertension artérielle, favoriseraient dans certaines conditions la production d'enzymes antioxydantes (cyberscience.com)

En somme, plusieurs agents thérapeutiques notamment les antihypertensifs, les bêta bloquants, les antiinflammatoires non stéroïdiens, ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes.

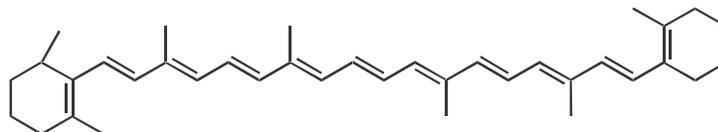
LA SOURCE ALIMENTAIRE

Notre nourriture contient beaucoup d'antioxydants que l'organisme utilise. Il s'agit notamment de la vitamine E, des caroténoïdes, de la vitamine C. Ils contribueraient de manière très significative à la prévention des maladies comme le cancer et les maladies cardiaques.

- Le **sélénium** est un antioxydant essentiel. Il agirait comme une coenzyme pour la glutathion peroxydase, enzyme antioxydante capable de réduire les lipides oxydés des membranes cellulaires. On le retrouve dans la viande, le poisson, et les céréales. Il a été montré qu'un apport quotidien en sélénium de 200microgrammes faisait baisser de moitié le risque du cancer de la prostate. Le sélénium diminue également la fréquence des maladies cardiaques, sans toutefois faire baisser la tension artérielle et a un effet positif sur le cholestérol. Des études ont aussi montré son efficacité dans le traitement de l'arthrose (Darguere, 2001) .

- La **vitamine E** (tocophérol) prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxytes. Elle est retrouvée dans les huiles végétales, dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les oeufs et les légumes à feuilles vertes.

- Le **β carotène** possède, outre l'activité provitaminique A, la capacité de capter l'oxygène singulet. Il est présent dans les légumes verts, les épinards, les carottes, la papaye et d'autres fruits jaunes.



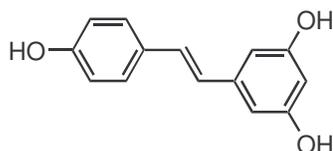
β carotène

- La **vitamine C** est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (Sies et Stahl, 1995). Elle est présente dans les légumes, le chou, le persil, les agrumes, le kiwi.

Aujourd'hui, les spécialistes en nutrition recommandent aux consommateurs d'inclure dans leur diète, des aliments ayant une "puissance d'absorption des radicaux libres" élevée afin d'augmenter leur apport en antioxydants pour mieux se protéger.

Le thé vert contient une proportion importante de procyanidine, agent antioxydant de référence (Weisburger, 1997)

Le vin rouge contient du Resvératrol, molécule antioxydante (Jang et Pezzeto, 1997).



Resvératrol

UNE SOURCE PARTICULIERE D'ANTIOXYDANTS NATURELS : LA PLANTE

La plante constitue une source importante d'antioxydants. Les chercheurs s'intéressent en effet très particulièrement aux composés naturels aux propriétés antioxydantes (Potterat, 1997). Les mécanismes d'action sont divers: captage de l'oxygène singulet, désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, réduction des radicaux ou peroxydes, complexation d'ions et de métaux de transition (Larson, 1995).

Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les plantes supérieures et dans toutes les parties de la plante. Les flavonoïdes constituent la classe la plus étudiée.

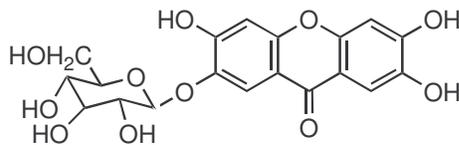
❖ Les flavonoïdes

Ils sont largement représentés dans les légumes, le vin et le thé. En plus de leur activité antioxydante, les flavonoïdes présentent des activités antiinflammatoires, antihypertensives, antibactériennes, antiallergiques (Anderson et *coll.*, 1996).

Le mécanisme d'action antioxydant des flavonoïdes est variable. La quercétine et la catéchine sont chélateurs de métaux et le kaempférol par exemple est capteur de radicaux (Madhavi et *coll.*, 1996). Cependant les flavonoïdes peuvent avoir des effets prooxydants sur la peroxydation des lipides et sur l'ADN (Laughton et *coll.*, 1989).

❖ Les xanthones

Les xanthones, en plus de leur propriété antimicrobienne, de leur cytotoxicité et de leur propriété inhibitrice de la monoaminoxydase (Hostettmann et Hostettmann, 1989) présente des activités antioxydantes. C'est l'exemple de la mangiférine (Sato et *coll.*, 1992). Il a été ainsi démontré que ces polyphénols possèdent également de très intéressantes propriétés d'inhibition envers la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés capteurs de radicaux libres contre les anions superoxydes (Anderson et *coll.*, 1996).



Mangiférine

❖ Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles constituant membranaires des chloroplastes. On les retrouve souvent dans les plantes alimentaires.

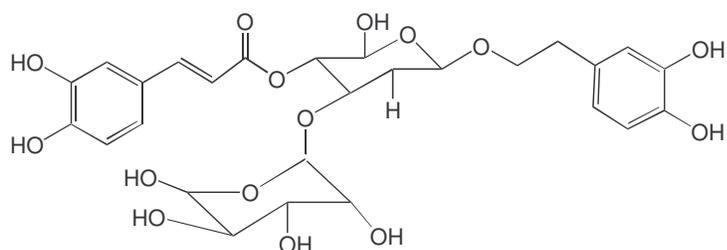
Le β carotène, caroténoïde la plus représentée dans la nourriture, serait susceptible de diminuer les risques de certains cancers (Peto et *coll.*, 1981). Ce sont des capteurs de radicaux libres (Krinsky, 1989).

❖ Les dérivés d'acides phénoliques et composés phénoliques

Ces dérivés sont présents dans de nombreux fruits et légumes. Ils représentent 4 % dans le café; 0,2 % dans le raisin; 0,1 % dans les pommes (Huang et Ferraro, 1991).

Parmi ces composés citons comme exemple l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide chlorogénique qui captent les radicaux superoxydes produits par le système NADPH / Methosulfate de phénazine et présentent de fortes propriétés antioxydantes et antiradicalaire envers le radical DPPH (Ohnishi et *coll.*, 1994).

Le verbascoside, molécule comportant une partie catéchol a montré une forte activité antioxydante. Il inhibe l'autooxydation de l'acide linoléique et la peroxydation lipidique microsomale. Il présente aussi une forte inhibition de la peroxydation lipidique dépendante du fer dans les mitochondries et possède une forte capacité de capteur du radical DPPH (Potterat, 1997).

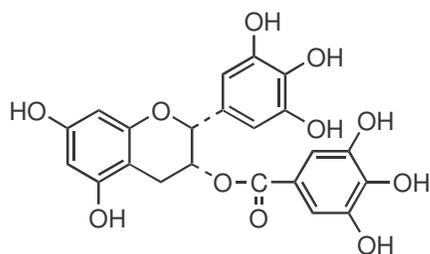


Verbascoside

❖ Les tanins

Les tanins hydrolysables et procyanidines présentent des propriétés antioxydantes remarquables. Ils inhibent également l'autooxydation de l'acide ascorbique et du linoléate; et la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes. Ces tanins sont de très bons capteurs de radicaux libres. Ils sont donneurs de protons aux radicaux lipidiques produits lors de la peroxydation d'où la formation de radicaux tanniques plus stables. Les réactions en chaîne de l'autooxydation lipidique est ainsi stoppée. C'est précisément le cas du thé vert (*Camellia sinensis* O.Kenzte, théaceae). Les substances actives dans cette plante sont les gallocatéchines. En effet le thé vert contient 9 à 13 % de gallate d'(-)-épigallocalatéchine, 3 à 6 % d'(-)-épigallocalatéchine et 3 à 6 % de gallate d'épicatéchine et 1 à 2 % d'(-)-d'épicatéchine. L'intérêt que présente le thé vert réside dans le fait que le gallate d'(-)-épigallocalatéchine est un antioxydant potentiel capteur de radicaux libres. A ces polyphénols du thé vert sont attribuées des propriétés anticancéreuses (Gutman et Ryu, 1996) et antimutagènes (Weissburger,1997).

Le vin est une boisson tannique, ce qui lui confère un potentiel antioxydant puissant.



Gallate d'(-)-épigallocatechine

1.1.3. LES TESTS ANTIOXYDANTS

1.1.3.1. Réduction du DPPH

❖ Test sur CCM

Les extraits à tester sont déposés sur des plaques CCM de gel de silice GF254 en aluminium et développés dans des systèmes appropriés.

Après le séchage, les CCM sont giclées avec une solution méthanolique à 2 mg/ml de DPPH. Les activités antiradicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-blanc sur fond violet (Calvin, 2001).

❖ Test en solution

Pour le test en solution, le travail s'effectue à l'aide de microplaques 96-well (Rainin) et d'un lecteur de microplaques spectro-Rainbow (SLT Labinstruments).

On mélange 50 µl d'une solution à 0.022 % de DPPH dans le méthanol avec 230 µl des composés à tester en solutions méthanoliques à différentes concentrations (80 , 40 , 20 , 10 , 5 et 2.5 µM). Après 30 mn, les valeurs sont mesurées à 517 nm avec le spectrophotomètre (Calvin, 2001).

1.1.3.2. Test mesurant l'activité antioxydante au moyen de caroténoïdes

❖ Test sur CCM

Les plaques CCM sont préparées de la même manière que pour le test du DPPH, puis giclées avec une solution chloroformique à 0.5 mg/ml de β carotène. La plaque CCM est ensuite

exposée sous une lampe UV à 254 nm jusqu'à décoloration de la plaque. Les zones antioxydantes apparaissent en jaune sur fond blanc. Il faut faire particulièrement attention aux substances déjà colorées en jaune, car elles peuvent donner de faux positifs (Calvin, 2001).

❖ *Test en solution*

Pour ce test, la méthode décrite par Bors et coll.(1984) nécessite la crocine. Celle-ci fut isolée du safran (*Crocus sativus* L. Iridaceae) selon Friend et Meyer (1960) et son identité fut confirmée par ses données 1H et 13C-RMN. Les solutions sont préparées contenant 10 µM de t-BuOH; 0,5 µM de t-BuOH, ainsi que les composés à tester à différentes concentrations. Ces solutions sont placées sous la lumière à 254 nm et la décoloration de la crocine est mesurée en suivant la diminution de l'absorbance à 440 nm au cours du temps à l'aide d'un spectrophotomètre du type UV Lambda20 (Calvin, 2001).

1.1.3.3. Test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosyme

Un mélange du lysosyme (1 mg/ml) et du composé à tester à des concentrations diverses est incubé pendant 20mn à 40°C dans un tampon phosphate (10 mM, PH 7.4). Les composés à tester sont dissous dans du MeOH et 5 µl de cette solution sont ajoutées à la solution protéinique, ceci afin de limiter à 1 % (v/v) la quantité de solvant organique dans l'échantillon (volume total de 0.5 ml). L'oxydation est initiée par l'addition d'hydrochlorure de 2,2'-azobis(2-amino-propane)(AAPH) dissoud dans le tampon phosphate.

L'oxydation des protéines s'effectue en présence de 10 mM d'AAPH, avec ou sans antioxydant pendant 60 mn. Les mesures se font ensuite par électrophorèse capillaire (Calvin., 2001).

1.2. L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE

1.2.1. GENERALITES

Les champignons sont des végétaux dépourvus de chlorophylle, devant trouver leur carbone dans les composés organiques, ce qui conditionne souvent les circonstances de leur vie saprophytique ou parasitaire .

Le champignon est défini par sa structure filamenteuse ou sa forme levure. Il possède une paroi peptidopolysidique épaisse de composition variable selon les groupes: cellulose, chitine, mannanes, glucanes, protéines, phospholipides et une membrane riche en stérols qui se décolore d'une façon spécifique par le P.A.S (acide périodique schiff) et par une imprégnation argentique. La partie constitutive des champignons est désignée sous le nom de thalle ou mycélium.

❖ Habitat

En fonction de leur habitat, les champignons sont répartis en 2 groupes : les endogènes et les exogènes.

Les champignons endogènes sont représentés essentiellement par *Candida albicans*. Cette levure vit normalement et de façon exclusive dans le tube digestif de l'homme et de certains animaux. La peau contrairement aux muqueuses, n'est porteuse de *Candida albicans* que dans les conditions pathologiques.

Les champignons exogènes sont souvent retrouvés dans le sol (*Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans*...). Ils sont potentiellement pathogènes.

❖ **Mode de transmission**

Selon le mode de transmission, on distingue :

- Les champignons antropophiles à transmission interhumaine. C'est le cas de *Trychophyton soudanense*; *Trychophyton violaceum*.
- Les champignons zoophiles transmis à l'homme par les animaux. C'est le cas de *Microsporum canis*.
- Les champignons telluriques avec lesquels la contamination se fait par le sol, l'eau. C'est l'exemple de *Microsporum gypseum*.

La contamination peut être directe par le contact direct avec la source d'infection ou de façon indirecte par l'intermédiaire d'objets souillés.

1.2.2. LES CANDIDOSES CUTANEO-MUQUEUSES

Les candidoses sont principalement dues à une levure saprophyte des muqueuses: *Candida albicans*. Sur la peau il représente un germe opportuniste. De nombreux facteurs vont faire passer la levure à l'état pathogène. IL s'agit de

Facteurs locaux comme l'humidité, l'irritation chronique, le pH acide, la sécheresse buccale (muguet), certaines professions tels les pâtisseries, les pêcheurs (onyxis).

Facteurs liés au terrain : l'immunosuppression, le diabète, l'obésité, les menstruations.

Facteurs iatrogènes : les antibiotiques, les corticoïdes au long cours, les immunosupresseurs.

1.5.2.1. Les candidoses cutanées

Au niveau de la peau glabre, l'atteinte siège au niveau des grands ou des petits plis.

Elle débute au fond du plis par un érythème suintant et fissuré que va recouvrir ensuite un enduit blanchâtre. Les lésions peuvent être sèches avec une collerette desquamative périphérique que caractérise la présence de papulopustules. Des brûlures et/ou prurit peuvent être associés.

Au niveau des ongles, l'atteinte candidosique est suspectée par l'existence d'un périonyxis. C'est une tuméfaction inflammatoire, parfois purulente de la zone juxtamatrice et du repli sus-unguéal. L'ongle peut prendre par poussées une teinte verdâtre ou marron. Les doigts sont beaucoup plus atteints que les orteils.

Au niveau du poils, des éruptions pustuleuses diffuses peuvent survenir (cuir chevelu, barbe parfois). Elles ont été rapportées chez des toxicomanes (héroïne) et des patients immunodéprimés.

Au niveau des commissures labiales, la perleche provoque des lésions érythématosquameuses, irritées et fissurées. Cette mycose s'observe chez les patients édentés ou porteurs de prothèses dentaires inadaptées. Souvent la lèvre supérieure s'affaisse, accentuant les commissures.

Chez le nourrisson, la localisation génito-fessière, favorisée par une antibiothérapie générale et les couches, débute autour de l'anus. La candidose s'étend ensuite aux plis inguinaux et peut recouvrir tout le siège.

La forme néonatale, très diffuse, guérit sous traitement sans séquelles. La peau du fœtus est contaminée par le liquide amniotique.

1.2.2.2. Les candidoses muqueuses

Dans la stomatite candidosique ou muguet, un enduit blanchâtre se dépose sur la muqueuse buccale érythémateuse. Banal chez le nouveau né, le muguet entraîne une gêne à l'alimentation.

Chez les adultes, l'affection survient couramment chez les immunodéprimés et chez les personnes négligeant leur hygiène dentaire.

La vulvovaginite est fréquente chez la femme. Elle se manifeste par des leucorrhées épaisses en lait caillé associées à un érythème et un oedème vaginal. La candidose occasionne un prurit et des brûlures.

La balanite, contractée lors d'un rapport sexuel, entraîne un érythème et un oedème du gland recouvert de pustules jaunâtres. Les signes peuvent être très discrets.

Les candidoses non traitées évoluent vers une chronicité. L'aggravation et les rechutes sont très fréquentes. Les formes disséminées granulomateuses ont un pronostic sévère.

Le diagnostic est confirmé par le prélèvement mycologique. La culture sur Sabouraud en 24 à 48 heures montre des colonies crémeuses blanc brillant, porteuses de spores caractéristiques (les chlamydospores) et précise le nombre important de colonies signant leur caractère pathogène.

1.5.3. LES ANTIFONGIQUES

Les antifongiques constituent un groupe de médicaments destinés à traiter les mycoses provoquées par certaines espèces de champignons:

-*Candida*, *Dermatophytes*, *Pityriasis versicolor* responsables de mycoses superficielles.

-*Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus* à l'origine des mycoses profondes.

L'activité antimycosique *in vivo* est étroitement liée à la perméabilité du champignon et de la cellule hôte à l'égard des agents antifongiques.

Les médicaments antifongiques se repartissent en 2 groupes: les antifongiques systémiques et les antifongiques locaux.

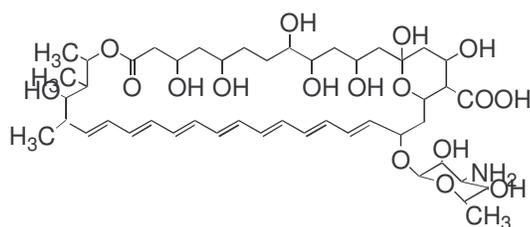
1.2.3.1. Exemples d'antifongiques systémiques

Ils sont destinés aux traitements des mycoses profondes.

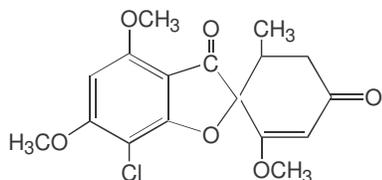
L'AMPHOTERICINE B (Fungizone) a une activité fongistatique et fongicide. Elle est indiquée dans les mycoses viscérales profondes, les mycoses sous cutanées et cutanées et dans le muguet buccal.

La GRISEOFULVINE (Griséofuline , fulcine forte)

Le FLUCONAZOL (Triflucan)



Amphotéricine B (Fungizone®)



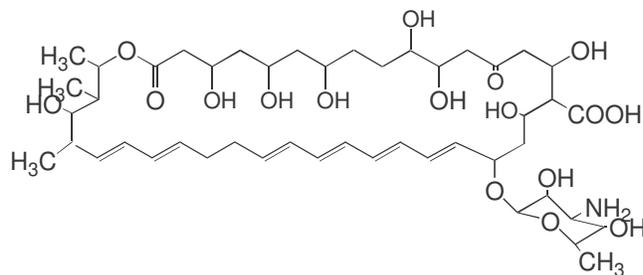
Griséofulvine (Griséofuline®)

1.2.3.2. Exemples d'antifongiques locaux

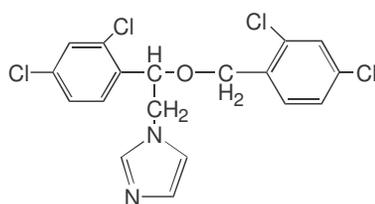
Il s'agit de médicaments dont la structure est voisine des précédentes, employés dans le traitement des mycoses digestives, buccales, vaginales, et cutanées.

La NYSTATINE (Mycostatine) a une action remarquable sur les infections généralisées ou localisées à *Candida albicans*

Le MICONAZOLE (Daktarin) est un antifongique systémique et local indiqué dans les candidoses digestives, urinaires, pulmonaires (Pieri et Kirkiacharan, 1992).



Nystatine (Mycostatine®)



Miconazole (Daktarin®)

1.2.4. QUELQUES PLANTES A ACTIVITE ANTIFONGIQUE

Capparis decidua (Capparidacées) : En 1969 Gaind et Juneja ont montré l'activité antifongique des extraits alcooliques des fleurs, des graines et des fruits. (Kerharo et Adam, 1974).

L'écorce de *Psorospermum guineensis*, les feuilles d'*Anogeissus leiocarpus*, les parties aériennes de *Mitracarpus scaber* possèdent également des propriétés antibactériennes (Kerharo et Adam, 1974 ; Konipo, 2001).

1.3. L'ACTIVITE HEMOSTATIQUE

1.3.1. LA PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE

L'hémostase est un ensemble de mécanismes que l'organisme met en jeu pour la prévention des saignements spontanés ou pour arrêter les hémorragies par rupture vasculaire. Ce processus comporte schématiquement 3 grandes étapes à savoir :

- l'hémostase primaire
- la coagulation
- la fibrinolyse

La survenue d'une plaie vasculaire entraîne un mécanisme de défense qui lutte contre l'issue du sang hors du système vasculaire. Ce mécanisme est d'ampleur variable selon l'importance des dégâts.

S'il s'agit de la plaie de vaisseaux capillaires: l'hémostase primaire sera suffisante pour arrêter l'hémorragie.

S'il s'agit de la plaie d'un vaisseau de plus gros calibre, l'hémostase primaire sera renforcée par la coagulation plasmatique qui est nécessaire pour former un caillot de fibrine insoluble et solide.

Lorsque la cicatrisation du vaisseau sera terminée, les mécanismes de la fibrinolyse permettront la dissolution du caillot qui constitue un obstacle à la libre circulation vasculaire.

Si la plaie est trop importante: Section d'une artère ou d'une veine fémorale, sous clavière ou humérale, l'hémostase et la coagulation sont inefficaces et la suture du vaisseau peut seule arrêter l'hémorragie (Touitou, 1993).

1.3.1.1. L'HEMOSTASE PRIMAIRE

► La physiologie de l'hémostase primaire

L'hémostase primaire assure la formation du clou plaquettaire ou caillot blanc. Ce processus fait intervenir les plaquettes, les vaisseaux, le facteur de Von Willebrand (VWF) et le fibrinogène. Il se déroule en deux temps: le temps vasculaire et le temps plaquettaire.

Au niveau du vaisseau on peut distinguer une surface thromborésistante représentée par l'endothélium et une surface thrombogène représentée par le sous endothélium. Après rupture du vaisseau une vasoconstriction instantanée réduit le diamètre de celui-ci et réduit également

le flux sanguin local. C'est le temps vasculaire. La mise à nue du sous endothélium initie le temps plaquettaire qui englobe l'adhésion, l'activation, et l'agrégation plaquettaire.

L'accrolement des plaquettes aux cellules du sous endothélium vasculaire fait intervenir une glycoprotéine Ib, le facteur VWB, le collagène, et les microfibrilles. Un changement de forme des plaquettes va caractériser l'activation plaquettaire. Elle survient rapidement après l'adhésion de la plaquette qui va émettre des pseudopodes et des invaginations. Une sécrétion plaquettaire succède à ce changement de forme et équivaut à une exocytose qui va conduire à une excrétion du contenu des granules plaquettaires. Au cours de cette activation, les prostaglandines dont la thromboxane A, puissant agrégant et puissant vasoconstricteur est synthétisé. En dernière étape, sous l'action d'agents agrégants comme l'ADP et la Thromboxane A2, il se produit un accrolement de plaquettes les unes contre les autres. C'est l'agrégation plaquettaire conduisant à la formation du clou plaquettaire.

► **Les pathologies de l'hémostase primaire**

Les troubles de l'hémostase primaire se traduisent par un saignement de type purpura qui s'exprime cliniquement par des épistaxies à répétition, une gingivorragie, des saignements répétés et prolongés.

Au rang de ces pathologies on distingue des thrombopathies où la fonction de la plaquette est altérée et les thrombopénies.

❖ LES THROMBOPATHIES

La maladie de Jean Bernard Soulier est une affection autosomale récessive caractérisée par un déficit en récepteur du facteur Willebrand GpIb: C'est une altération de l'adhésion plaquettaire. Au cours de cette affection, les plaquettes sont de grande taille: on parle de dystrophie thrombocytaire.

La maladie de Willebrand est caractérisée par un déficit en facteur Willebrand.

La maladie du pool vide est une affection autosomale dominante. Elle est caractérisée par l'inexistence de granule dense à l'intérieur des plaquettes. On assiste ainsi à une altération de l'agrégation des plaquettes.

Ces maladies sont des formes constitutionnelles de thrombopathies.

Les formes acquises sont rencontrées au cours des traitements par les anti-inflammatoires non stéroïdiens, la pénicilline à forte dose, les tranquillisants. Elles sont également rencontrées au cours de certaines pathologies comme la cryoglobulinémie, le syndrome myéloprolifératif, le syndrome myélodysplasique et au cours d'une insuffisance rénale.

❖ LES THROMBOPENIES

On parle de thrombopénie quand le taux de plaquettes est inférieur à $150.10^9/l$. Cependant elle n'est expressive que pour des taux inférieurs à $30.10^9/l$

Cette baisse du taux de plaquettes peut être due à une destruction anormale (mécanisme périphérique) au cours des viroses, des états septiques sévères par exemple; à un défaut de production par amégacaryocytose ou par envahissement médullaire. Ces thrombopénies peuvent s'observer en cas d'aplasie médullaire globale ou de fibrose médullaire.

► **Le temps de saignement**

Il exprime la quantité de sang perdue lors d'une plaie capillaire. L'arrêt du saignement traduit la formation du clou plaquettaire.

Ce temps peut être mesuré par trois techniques.

❖ La technique de Duke

Il s'agit de pratiquer une incision de 1cm de large sur 20 mm de profondeur au niveau du lobe de l'oreille et mesurer la durée du saignement. Le temps chez le sujet normal se situe entre 2 et 4 min. Il est pathologique si le temps est supérieur ou égal à 5 min.

❖ La technique d'Ivy incision

Elle consiste à faire une incision de 1cm sur 1mm sous pression constante de 40mmHg au niveau de la face antérieure de l'avant bras puis à mesurer la durée du saignement. Selon cette technique le temps normal de saignement est de 4 - 8 min. Le cas est pathologique si supérieur ou égal à 10 min.

❖ La technique d'Ivy 3 points

Elle consiste à mesurer le temps selon le même principe que précédemment mais en procédant par pratique de 3 points de ponctions. Le temps normal est de 2-5 min et pathologique s'il est supérieur à 6 min.

1.3.1.2. LA COAGULATION

Elle représente la deuxième étape et aboutit à la formation du caillot de fibrine assurant ainsi l'hémostase définitive. Elle s'effectue en 3 phases intriquées: la génération de la prothrombinase, la thrombinofomation et la fibrinofomation.

La génération de la prothrombinase s'effectue selon une voie endogène qui implique la prékalicreine, le facteur Hageman, la PTA (plasma thromboplastin antecedent), le facteur antihémophilique B, le facteur antihémophilique A, le facteur Stuart, la proaccélélerine, le facteur 3 plaquettaire et le Ca⁺⁺. La voie extrinsèque ou tissulaire implique quant à elle la proconvertine, la thromboplastine tissulaire, le facteur Stuart, la proaccélélerine et le Ca⁺⁺. Une dernière voie dite cellulaire fait intervenir les monocytes et les macrophages.

Cette prothrombinase ainsi générée va catalyser la formation de la thrombine à partir de la prothrombine. La thrombine va participer à l'hydrolyse partielle du fibrinogène conduisant à la formation de monomères de fibrine et de fibrinopeptides A et B. Ces monomères de fibrines se polymérisent alors et conduisent à la formation de "fibrines" ou de fibrine soluble.

Un facteur stabilisant la fibrine FSF intervient et transforme les liaisons hydrogènes en liaisons covalentes. Il renforce la cohésion du réseau de polymères de fibrine: c'est la formation de fibrine insoluble.

La retraction du caillot est directement liée à une fonction vitale de la plaquette, mais influencée par l'hématocrite et la concentration du plasma en fibrinogène.

Il est important de souligner que l'organisme dispose d'un système de régulation grâce à l'activité d'inhibiteurs de la coagulation parmi lesquels on a les antithrombines physiologiques: l'antithrombine III, l' α 1 antitripsine, l' α 2macroglobuline; les inhibiteurs de la C1- estérase, le système Protéine S-Protéine C, et l'inhibiteur de la voie extrinsèque (EPI : extrinseque pathway inhibitor).

1.3.1.3. LA FIBRINOLYSE

Dernière étape de l'hémostase, elle assure la dissolution du caillot sanguin permettant une perméabilisation. Elle met en jeu un système fibrinolytique et un système d'inhibiteur de la fibrinolyse. La fibrinolyse physiologique se déroule selon un schéma analogue à celui de la coagulation et elle est toujours localisée.

Le système fibrinolytique met en jeu les activateurs du plasminogène qui sont essentiellement la Kallitreine et l'urokinase qui a la capacité de transformer le plasminogène en plasmine.

Le plasminogène est une glycoprotéine plasmatique existant sous forme de proenzyme. Il est synthétisé au niveau du foie. Sa protéolyse aboutit à la formation de plasmine dont le spectre

d'action inclu la fibrine, le fibrinogène, et même l'hémoglobine. L'action de cette plasmine aboutit à la formation de produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène. Ces produits sont éliminés par le système réticulo-endothéliale.

Le système inhibiteur de la fibrinolyse regroupe des inhibiteurs de l'activation du plasminogène, des inhibiteurs de l'activation de la plasmine (α_2 antiplasmine, α_2 macroglobuline, α_2 antitrypsine) et des inhibiteurs utilisés en thérapeutique. C'est le cas de l'Apolinine extrait du poumon de boeuf, de l'acide tranexaminique. Ce système inhibiteur constitue un régulateur de la fibrinolyse (Bernard et *coll.*, 1996).

1.3.2. L'HEMORRAGIE

Une hémorragie est un écoulement de sang hors des vaisseaux sanguins. Elle est dite externe si le sang s'écoule directement à l'extérieur, interne si elle se produit dans une cavité (thorax, abdomen) ou dans un viscère. Quand le sang sort par les voies naturelles (bouche, anus, urètre) l'hémorragie est dite secondairement extériorisée.

Une hémorragie a pour cause un traumatisme, la lésion d'un organe (inflammation, ulcère, tumeur) ou une anomalie des vaisseaux (fragilité par hypertension artérielle) (Larousse, 1995).

1.3.3. LES HEMOSTATIQUES

Les hémostatiques sont des médicaments qui ont pour but d'arrêter un écoulement sanguin.

En pratique courante, on distingue les hémostatiques pris par voie générale et ceux à usage local.

► Les hémostatiques généraux sont administrés oralement, par injection ou par perfusion, selon le produit utilisé et le degré d'urgence. Il existe de nombreux produits ayant chacun une spécificité bien précise.

La vitamine K sert à traiter et à prévenir des hémorragies par carence en vitamine K ou à pallier un surdosage en antivitamine K.

On distingue trois vitamines K dont deux sont naturelles :

La vitamine K1, d'origine végétale est retrouvée dans les légumes verts, les tomates, les choux.

La vitamine K2 synthétisée par les germes saprophytes qui vivent normalement dans l'intestin.

La vitamine K3 ou ménadione est préparée par synthèse.

Les vitamines K interviennent dans la synthèse au niveau du foie de facteurs nécessaires à la coagulation dont la prothrombine.

L'hémostatique Ercé, est une préparation stérile de thromboplastine administrée localement ou *per os* (5 à 10 ml), dans toutes les hémorragies de pratique courante .

L'Adrenoxyl est utilisé *per os* et en injection intramusculaire ou sous-cutané

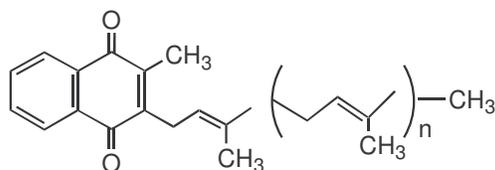
Le **bleu de toluidine** utilisé surtout en gynécologie dans les hémorragies utérines (Touitou, 1993).

La **protamine** est un inhibiteur de la fibrinolyse est prescrite contre les hémorragies par surdosage en héparine.

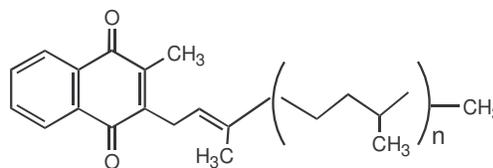
Enfin, parmi les produits issus du sang humain, le facteur VIII est indiqué pour l'hémophilie A, le facteur IX pour l'hémophilie B, les concentrés de plaquettes pour certaines thrombopénies. Ces produits sont contre indiqués en cas de grossesse et chez les personnes sujettes aux réactions allergiques. Les produits d'origine humaine sont traités pour éviter tout risque de transmission de virus.

► Les hémostatiques locaux s'appliquent sur la plaie pour arrêter l'écoulement sanguin. Les colles biologiques (substance ressemblant à de la colle) et les gazes résorbables servent lors des interventions chirurgicales.

Les autres hémostatiques locaux sont utilisés de manière plus courante: l'alginate de calcium surtout, les celluloses, les dérivés de la vitamine K, l'eau oxygénée. Les produits prêts à l'emploi pour le public sont présentés en compresse, en solution et en pommades (Larousse, 1995).



Vitamine K1



Vitamine K2

1.3.4. QUELQUES PLANTES A ACTIVITE HEMOSTATIQUE

Les feuilles de *Combretum micranthum* sont utilisées en décocté dans le traitement des hémorragies et des épistaxies avec ou sans l'adjonction de *Gardenia triacantha* et la chimie

indique la présence dans les feuilles, de la vitexine, la saponarétine et de deux alcaloïdes majeurs : la combretine A et B.

Bose et collaborateurs ont mis en évidence l'action de la graine de *Jatropha curcas* L. (gros pignon d'inde) sur la coagulation sanguine. En effet, la fraction de la pulpe réduit considérablement le temps de prothrombine, le temps de saignement et de coagulation (Kerharo et Adam, 1974).

Des propriétés hémostatiques sont également reconnus à la poudre d'écorces de *Tamarindus indica* L. et de *Piliostigma reticulatum* avec les fruits d'*Acacia nilotica* (Kerharo et Adam, 1974).

1.3.5. LES TESTS D'EVALUATION DE L'ACTIVITE HEMOSTATIQUE

1.3.5.1 Effet sur l'agrégation plaquettaire

Les plaquettes humaines sont isolées, lavées par centrifugation puis resuspendues dans un milieu Tyrode contenant du Ca⁺⁺, du Mg⁺⁺, du glucose et 0,35 % d'albumine humaine.

L'agrégation est observée dans un agrégomètre Payton à 37° et 1100 tours/mn.

► ACTIVITE AGREGANTE

Les échantillons à tester dissous dans de l'eau ou du DMSO sont ajoutés à la suspension plaquettaire (1 µl/500 µl) en présence de fibrinogène. L'agitation est prolongée 3 mn.

► POTENTIALISATION DE L'AGREGATION INDUITE PAR L'ADENOSINE DIPHOSPHATE (ADP)

Les échantillons à tester sont ajoutés à la suspension plaquettaire en présence d'ADP 2,5MM. L'agrégation est observée comme décrit plus haut.

1.3.5.2. Effet sur la coagulation sanguine *in vitro*

Les échantillons à tester sont dissous dans de l'eau ou du DMSO. On mesure l'apparition du caillot de fibrine dans un "pool" de plasma humain au moyen d'un appareil KC10 Ameling (Potterat ,1991).

► *LE TEMPS DE THROMBINE*

100 µl de plasma sont incubés avec 1 µl de la solution à tester pendant 2 mn à 37°. On ajoute alors 100 µl de thrombine à 54/ml et on mesure le temps d'apparition du caillot.

► *LE TEMPS DE CEPHALINE*

A 100 µl de plasma on ajoute 1 µl de solution à tester et 100 µl de céphaline au 1/10. Après 2mn d'incubation à 37°, on ajoute 100 µl de CaCl₂ 25 mM et on mesure le temps d'apparition du caillot (Potterat, 1991).

► *MESURE DU TEMPS DE COAGULATION* : Technique de Lee et White

Le sang est prélevé par ponction veineuse franche et recolté directement dans deux tubes à hémolyse contenant l'extrait à tester.

Les deux tubes sont aussitôt placés au bain marie à 37°C. Tandis que le deuxième est maintenu immobile, le premier est examiné toutes les deux minutes puis, après cinq minutes toutes les minutes, en l'inclinant chaque fois à 45° et ceci jusqu'à coagulation complète. C'est à dire lorsque le tube peut être retourné sans écoulement du caillot.

On note ce premier temps et l'on examine ensuite le deuxième tube qui, n'ayant pas été agité, n'est pas encore coagulé, on surveille la coagulation comme précédemment et on note la durée observée. Dans le cas normal le temps de coagulation observé dans le second tube ne dépasse guère que de deux ou trois minutes celui observé dans le premier tube (Lee et White, 1913).

► *MESURE DU TEMPS DE RECALCIFICATION*

Le sang est recueilli sur mélange Wintrobe desséché ou sur citrate trisodique 0.13M.

Le plasma est obtenu à partir du sang centrifugé à haute vitesse, soit 3600 tours par minute pendant 10 minutes.

A 0,2 ml d'extrait à tester et 0,2 ml de plasma placés dans un tube à hémolyse au bain marie à 37°C, on ajoute 0,2 ml de chlorure de calcium. Déclencher aussitôt le chronomètre. Sortir le tube à hémolyse du bain marie pour l'agiter rapidement et assurer le mélange; le replacer au bain marie.

Sortir le tube du bain marie par inclinaison à 45° toutes les trentes secondes au début, plus fréquemment par la suite, jusqu'à ce que l'on observe la prise en masse du caillot.

La mesure du temps de recalcification se pratique en même temps que celle d'un plasma témoin prélevé et centrifugé dans les mêmes conditions (Lee et White, 1913).

1.4. LES ESSAIS DE TOXICITE

Toutes les substances chimiques sont toxiques lorsque les doses administrées sont suffisantes. Pour qu'une drogue possédant des effets pharmacologiques puisse éventuellement être utilisée comme médicament, il est d'abord nécessaire que l'activité apparaisse à des doses pour lesquelles la toxicité est négligeable.

Les essais de toxicité accompagnent donc les essais d'activités biologiques au cours de la sélection de nouvelles molécules. La toxicité peut être appréciée entre autre par la détermination de la DL50.

La DL50 correspond à la dose capable de tuer dans des conditions déterminées, la moitié des animaux mis en expérience dans une même espèce animale. Cette détermination est fondée sur l'évaluation des réponses de tout ou rien : mort ou survie des animaux.

Le protocole expérimental consiste à expérimenter sur 5 à 6 lots de 10 à 20 animaux auxquels sont administrées des doses croissantes de la substance à essayer de manière que le

pourcentage de mortalité varie entre 0 et 100 % . Ceci parce qu'il est impossible d'obtenir immédiatement 50 % de morts à partir d'un seul group.

La construction d'une courbe donnant le pourcentage de mortalité en fonction du logarithme de la dose conduit à une courbe dite de Trevan. Il est possible de déterminer à partir de cette courbe la dose qui serait la DL50.

Il est à signaler que des troubles de toxicité se manifestent souvent après une longue imprégnation de l'organisme. Des essais de toxicité par administration répétée chez l'animal sont toujours effectués lorsqu'une molécule présente un éventuel intérêt thérapeutique. Certains risques thérapeutiques qui n'apparaissent que dans des conditions particulières, font l'objet d'essais spéciaux à savoir l'évaluation des effets tératogènes, cancérigènes et mutagènes (WEPIERRE, 1981).

1.5. L'ACTIVITE ANTALGIQUE

1.5.1 Notion de physiologie : LA DOULEUR

La douleur est une sensation désagréable et de malaise qui prend naissance par stimulation des terminaisons nerveuses suivie de leur intégration psychique: c'est une douleur nociceptive.

La douleur nociceptive peut être superficielle (cutanée, somatique) consciente ou parfaitement localisée ou profonde (viscérale) mettant en cause le système nerveux autonome.

Activation des nocicepteurs

Il peut s'agir d'activation directe (mécanique, chimique, thermique) ou d'activation par des substances chimiques (ions H^+ , K^+ , histamine, sérotonine, bradykinine, ATP, prostaglandines, etc).

Trajet des voies nociceptives périphériques

Les fibres nociceptives rejoignent la moëlle par les racines dorsales puis, par les voies ascendantes médullaires, le message douloureux est transmis aux centres supérieurs. Le cheminement de l'influx douloureux emprunte 3 neurones :

- Le protoneurone conduit l'influx des nocicepteurs jusqu'à la corne postérieure de la moelle.
- La deutoneurone assure la transmission spinothalamique (voies ascendantes médullaires)
- Le troisième neurone assure la transmission thalamocorticale.

Le thalamus reçoit ainsi les stimulations nociceptives et détermine une réaction neuro-végétative.

- Une stimulation adrénergique: augmentation du débit cardiaque, hypertension et ralentissement du transit intestinal, rétention urinaire.
- Une stimulation parasympathique en cas de douleur très intense et brutale: malaise vagal augmentation du catabolisme, hyperglycémie, augmentation de la consommation d'oxygène, risque de décompensation d'une pathologie cardiaque ou respiratoire (Pieri et Kirkiacharian, 1992).

1.5.2. EVALUATION DE LA DOULEUR

Les méthodes d'évaluation visent une quantification réitérée de la situation douloureuse. La subjectivité du phénomène incite à préférer l'auto-évaluation. Mais le patient peut nier certaines perturbations ou tout simplement éprouver lui-même des difficultés d'estimation de ses troubles ou d'utilisation de l'instrument proposé. C'est pourquoi le médecin veillera à respecter son degré d'expression et à adapter le matériel à l'ensemble de ses caractéristiques douloureuses, affectives et culturelles. Ces outils sont des vecteurs potentiels de communication thérapeutiques mais peuvent aussi faire écran à cette dernière. Cette démarche quantitative doit cependant rester secondaire à la clinique.

Elle sera d'autant plus efficiente qu'elle pourra s'inscrire au sein d'une relation médecin-malade de qualité.

1.5.2.1. Evaluation de l'intensité de la douleur

Les échelles unidimensionnelles visent, en pratique à saisir la réponse globale aux traitements appliqués. Elles sont au nombre de trois.

► L'échelle Analogique (EVA)

L'EVA se présente sous la forme de règle plastifiée de 10cm sur laquelle se trouve un curseur que le malade doit manipuler horizontalement. La règle comporte deux faces : Une face "patient" non graduée et une face "thérapeute" graduée qui permet la quantification de l'appréciation du malade. Le 0 correspond à l'absence de douleur et le 10 à la douleur

maximale imaginable. L'EVA peut s'utiliser également en format papier crayon sur lequel le patient coche la ligne qui correspond à sa douleur.

L'EVA est en pratique, l'échelle la plus utilisée car plus facile. Elle assure une distribution continue des réponses avec impossibilité de mémoriser les antérieures.

► L'échelle verbale simple (EVS)

Elle est beaucoup moins sensible car discontinue. Cependant, elle est beaucoup moins sensible car discontinue. Elle est beaucoup plus accessible au patient. Elle propose une série de qualifications hiérarchisées et chiffrées à priori. Ces qualificatifs sont:

-Douleur absente =0

-Douleur faible =1

-Douleur modérée =2

-Douleur importante =3

-Douleur extrême =4

Le patient est invité à désigner le qualificatif le plus adapté à sa douleur.

► L'échelle numérique (EN)

Le patient donne une note de 0 à 10 ou de 0 à 100 en fonction de l'intensité de sa douleur. La note 0 est définie par "douleur absente" et la note 10 ou 100 par "douleur insupportable".

Chez l'enfant, il existe l'Observer Pain Scale pour coter la douleur (Dabou, 1999).

1.5.2.2 Evaluation de la quantité de la douleur.

L'instrument multidimensionnel le plus utilisé reste "le questionnaire douleur Antoine". Il s'agit d'une adaptation française du Mc Gill PAIN Questionnaire de Melzack.

Cette échelle d'autoévaluation permet en pratique de préciser et de quantifier les participations respectives du sensoriel et de l'affectif dans la douleur. Son principe de fonctionnement est le suivant :

58 termes répartis en 16 classes : 9 sensorielles (de A à I) et 7 affectives (de J à P) sont proposés au patient pour écrire sa douleur. Il doit d'abord choisir tous les adjectifs les mieux adaptés. On lui demande ensuite de sélectionner au sein de chaque classe concernée le meilleur descripteur de la douleur et de lui attribuer une note de 0 (pas du tout) à 4 (extrêmement). On calcule alors un score sensoriel et affectif par sommation (Dabou, 1999).

1.5.3. LES ANTALGIQUES

Les antalgiques ou analgésiques sont des médicaments de la douleur utilisés dans le but de diminuer les sensations douloureuses.

1.5.3.1. Classification

Les analgésiques sont généralement répartis en deux classes:

- Les analgésiques morphiniques ou narcotiques ou centraux atténuent ou suppriment la douleur d'une façon globale et leur point d'impact est central (thalamique et cortical).
- Les analgésiques non morphiniques

1.5.3.2. Les analgésiques morphiniques

► L'OPIUM et ses préparations

L'opium est le suc épais, recueilli par incision de la capsule encore verte du pavot blanc. Il renferme de nombreux alcaloïdes: morphine, codéine, papavérine, narcotine...

Les propriétés analgésiques de l'opium et de ses préparations sont utilisées en thérapeutique depuis fort longtemps comme médicament très efficace contre les douleurs insupportables (Touitou, 1993).

► L'analgésique morphinique de référence: LA MORPHINE

La morphine est le principal alcaloïde de l'opium

L'analgésie morphinique est sélective. Elle supprime les sensations douloureuses, sans altérer les autres sensations en préservant l'état de conscience. Autrement dit elle augmente le seuil de perception de tous les stimuli douloureux. La durée et l'intensité de l'analgésie sont en rapport direct avec la voie d'administration, la sensibilité individuelle et la dose (au delà d'un seuil les effets toxiques sont majorés).

La morphine soulage bien les douleurs sourdes (contusion, fractures), les douleurs viscérales et les douleurs aiguës (Touitou, 1993).

► Autres

En dehors de l'opium et de la morphine on peut citer comme analgésiques morphiniques:

LA PENTAZOCINE (Fortal) moins analgésique que la morphine.

LA PETHIDINE (Dolosal) utilisée comme analgésique dans les douleurs post opératoire, les algies des cancéreux.

LE DEXTROPROPOXYPHENE (Antalvic).

1.5.3.3. Les analgésiques non morphiniques

Les analgésiques non morphiniques sont soit seulement sédatifs de la douleur, on les appelle encore antalgiques purs; soit à la fois antalgiques et antipyrétique ou antiinflammatoire.

Ces médicaments ont une action analgésique beaucoup moins forte que celle des analgésiques centraux comme la morphine. Leurs effets analgésiques se manifestent dans les douleurs peu intenses (céphalées, névralgie, arthralgie, maux de dents...).

Certains sont antipyrétiques, car normalisent une température élevée, en agissant sur le centre de la thermorégulation (Touitou, 1993).

► L'analgésique antipyrétique et antiinflammatoire le plus usuel est l'acide acétylsalicylique ASPIRINE®.

Son action antalgique périphérique est dûe à une inhibition de la synthèse des prostaglandines. En effet ces dernières sensibilisent les terminaisons nerveuses aux stimuli algogènes comme la bradykinine.

L'action centrale de l'aspirine au niveau de l'hypothalamus permettrait d'expliquer l'effet antalgique lorsque le facteur algogène n'est pas en cause.

► Autres

Quelques analgésiques non morphiniques couramment utilisés sont:

LE PARACETAMOL (Doliprane)

LA NORAMIDOPYRINE (Optalidon)

LA PHENACETINE

1.5.4. QUELQUES PLANTES A ACTIVITE ANTALGIQUE

En pratiques traditionnelles, plusieurs plantes trouvent leur utilisation sous différentes formes de recettes comme antalgique. Ainsi, les feuilles fraîches et écorces de *Cassia alata* pilées et enroulés autour de la tête ont une vertu antalgique. Le decocté de feuilles en boisson ou en bain également. En basse Casamance l'écorce de *Combretum nigricans* est réputée antinévralgique. Les feuilles d'*Ipomoea asarifolia* (Convolvulacée) sont recommandées, selon diverses modalités, pour les névralgies, les céphalées et les douleurs articulaires.

Le macéré de feuilles de *Solanum incanum* (Solanacée) est employé en association avec celui de *Piliostigma reticulatum* dans le traitement de céphalés et névralgies dentaires. En réalité la solasonine isolée de *Solanum incanum*, est un produit assez toxique, mais analgésique dans les migraines, les gastralgies et dans les douleurs fulgurantes du tabès.

En 1888, Goldschmitt, Gutmann et Hirshfield mettent en évidence dans les écorces d'*Erythrophleum guineense*, une molécule: l'érythrophleine. Des expérimentations pharmacologiques ont permis d'attribuer à cette molécule des effets analgésiques (Kerharo et Adam, 1975).

1.6. L'ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

1.6.1. LA REACTION INFLAMMATOIRE

La réaction inflammatoire fait partie des maladies du tissu conjonctif et constitue une réaction de défense de l'organisme contre une agression d'origine infectueuse, traumatique, immunitaire ou chimique. Elle implique des composants humoraux, cellulaires, et comporte 3 phases plus ou moins individualisées.

1.6.1.1. Le tissu conjonctif

Le tissu conjonctif est un tissu servant de soutien aux autres tissus du corps, assurant leur nutrition et participant aux mécanismes de défense immunitaire de l'organisme.

Les tissus conjonctifs sont disséminés à l'intérieur des organes et entre eux. Leurs cellules (fibrocytes, cellules adipeuses, globules blancs) sont dispersées dans une matrice extracellulaire plus ou moins fluide, contenant de l'eau et des fibres constituées d'une protéine (le collagène ou l'élastine). Il y a plusieurs types de tissus conjonctifs.

❖ Le tissu adipeux ou tissu gras

Il se caractérise par une abondance de cellules adipeuses et constitue la plus grande partie de la réserve énergétique (95%) de l'organisme: 1 kilogramme de tissu adipeux renferme environ 7000 kilocalories sous forme de graisse. On distingue le tissu adipeux brun, principalement situé autour des gros vaisseaux et des organes thoraciques, et qui sert à produire de la chaleur; et le tissu adipeux blanc qui sert de réserve énergétique.

❖ Le tissu conjonctif banal

Le plus abondant il se trouve essentiellement dans les organes (il forme notamment le derme de la peau) et entre eux.

❖ Le tissu fibreux collagène

Très dense et riche en fibres de collagène, il se caractérise par sa solidité. Il forme des enveloppes et des cloisons entre les organes. C'est en outre le constituant des tendons, des muscles et des ligaments articulaires.

❖ Le tissu fibreux élastique

Il est très riche en élastine. On le trouve presque uniquement dans la paroi de certaines grosses artères telle que l'aorte.

❖ Le tissu osseux et le sang

Ils sont considérés par certains comme des tissus conjonctifs particulièrement spécialisés.

❖ Le tissu réticulé

C'est un fin réseau de fibres de collagène soutenant les précurseurs des cellules sanguines dans la moëlle osseuse et les ganglions lymphatiques (Larousse, 1995).

1.6.1.2 Les phases de l'inflammation

La réaction inflammatoire est subdivisée en trois phases.

Phase1

Précoce, elle se caractérise par une vasodilatation, une augmentation de la perméabilité capillaire et se traduit par des signes suivants : chaleur-oedèmes-douleur.

On note également une migration de leucocytes des vaisseaux vers les tissus lésés et une libération de facteurs tissulaires à savoir l'histamine, la sérotonine, les kinines, les prostaglandines.

Phase2

C'est la phase dite du "granulome" caractérisée par l'introduction dans l'infiltrat cellulaire de polynucléaires, faisant place à des cellules mononuclées (lymphocytes, plasmocytes) aux macrophages qui phagocytent les agents agressifs et aux fibroblastes. IL s'en suit une libération d'enzymes protéolytiques qui entretiennent l'inflammation.

Phase3

C'est la phase ultime ou de réparation. La cellule dominante est le fibroblaste qui synthétise les fibres de collagène et les mucopolysaccharides aboutissant à la constitution d'un nouveau tissu conjonctif. Ce tissu a pour rôle de former une barrière.

Le tissu fibreux néoformé entourant le foyer infectueux peut empêcher les antibiotiques d'agir au niveau des articulations conduisant à une diminution de la mobilité et parfois un blocage.

Au niveau du système nerveux central la réaction inflammatoire empêche le déplacement du liquide céphalorachidien et entraîne une compression du SNC.

Tous ces inconvénients expliquent la nécessité d'utiliser des produits qui peuvent empêcher l'inflammation.

1.6.1.3. Biochimie de l'inflammation

Les médiateurs vasoactifs sont l'histamine, la sérotonine, les kinines, les prostaglandines et les leucotriènes.

L'histamine (libérée à partir des mastocytes et basophiles) et la sérotonine augmentent la perméabilité vasculaire.

Les kinines augmentent la perméabilité vasculaire et la libération des prostaglandines.

Les prostaglandines et les leucotriènes interviennent dans les processus inflammatoires aigus ou chroniques. Ils sont formés à partir de l'acide arachidonique.

1.6.1.4. Biosynthèse des prostaglandines

La voie de la cyclooxygénase conduit aux prostaglandines primaires PGE₂, PGD₂, PGF₂. Les PGE₂ sont de puissants proinflammatoires. Ils augmentent la perméabilité vasculaire et provoquent l'afflux des polynucléaires vers le foyer inflammatoire (chimiotactisme). Les PGF₂ sont plutôt inflammatoires.

La voie de la lipoxygénase conduit à la formation de leucotriènes.

L'injection de substances phlogogènes (carragénine, dextran) qui permettent de produire des inflammations expérimentales conduisent à une augmentation du taux de PGE₂ puis de PGF₂ (Pieri et Kirkiacharian,1992).

1.6.1.5. Actions des prostaglandines

Les prostaglandines provoquent une vasodilatation. Elles dérèglent le thermostat hypothalamique vers le haut. Elles agissent également sur la transmission du message douloureux à deux niveaux.

- A la périphérie, elles augmentent la sensibilité des nocicepteurs vis à vis des substances algogènes (bradykinines, histamine).

Au niveau central, elles facilitent la transmission de l'influx nociceptif en inhibant les voies descendantes du contrôle de la douleur (impliquant la sérotonine, les enképhalines...)

L'action inflammatoire sera ainsi liée surtout à l'inhibition de la synthèse des prostaglandines, à la suppression des perturbations membranaires des cellules intervenant dans les phénomènes inflammatoires et à une désensibilisation des cellules aux médiateurs de l'inflammation

1.6.2. LES ANTIINFLAMMATOIRES

Les antiinflammatoires sont une classe de médicaments subdivisée en deux catégories.

1.3.2.1 Les molécules antiinflammatoires stéroïdiens

Les antiinflammatoires stéroïdiens de référence sont représentées par la cortisone et l'hydrocortisone.

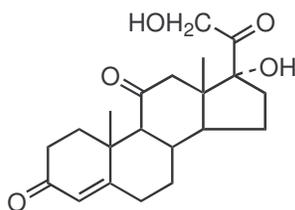
Ces corticoïdes inhibent la réponse inflammatoire quelque soit l'agent phlogogène responsable entraînant une réduction de la vasodilatation et de l'oedème en diminuant le chimiotactisme et la migration leucocytaire vers le foyer inflammatoire. Cet effet est un phénomène qui nécessite de l'énergie. Cette énergie est apportée par la glycolyse aérobie.

En diminuant l'entrée du glucose dans la cellule, le cortisone abaisse la réponse aux facteurs chimiotactiques.

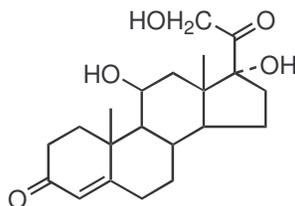
Le métabolisme oxydatif des mitochondries est diminué, il s'en suit une baisse de l'activité de phagocytose. Elle empêche la libération des enzymes protéolytiques et leur action inflammatoire par stabilisation des membranes lysosomiales (polynucléaires et macrophages).

Par inhibition de la lipase, il en résulte une diminution de la biosynthèse des prostaglandines.

Ces médicaments agissent sur la réaction inflammatoire sans en supprimer la cause.



Cortisone



Hydrocortisone

1.3.2.2. Les antiinflammatoires non stéroïdiens

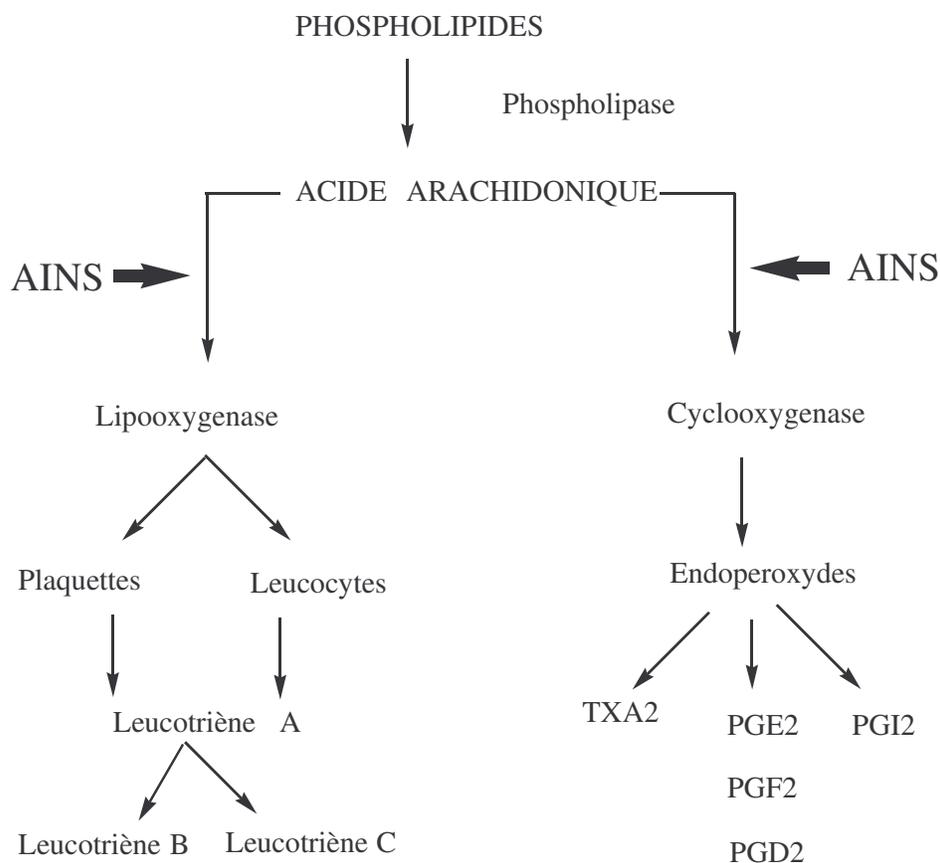
Ils forment un groupe de médicaments destinés à traiter la réaction inflammatoire et les maladies qui en résultent tels que les manifestations rhumatismales, les stomatites, les inflammations génitourinaires.

Une particularité de cette classe de médicaments est que tous les antiinflammatoires non stéroïdiens possèdent à des degrés divers les propriétés antiinflammatoires, analgésiques et antipyrétiques.

Dans le processus de la réaction inflammatoire, au cours de la phagocytose et de la synthèse des différents dérivés de l'acide arachidonique, il y a une libération de superoxydes à action pro-inflammatoire d'où l'inflammation. Les antiinflammatoires non stéroïdiens inhibent par action sur la cyclooxygénase la synthèse des prostaglandines; et par action sur la

lipooxygénase inhibent la formation de superoxydes. Ils ont également la capacité de stabiliser la membrane lysosomiale empêchant ainsi la libération des composés pro-inflammatoires et d'inhiber l'élaboration des kinines.

L'acide acétylsalicylique ou Aspirine® constitue l'anti-inflammatoire non stéroïdien le plus usuel (Touitou, 1993).



Schema 1 : Lieux d'action des antiinflammatoires non stéroïdiens

1.6.3. QUELQUES PLANTES A ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

En 1968, Koumaré a mis en évidence dans les feuilles de *Guiera sénégalsensis* (Combretacées), des mucillages, tanins galliques et catéchiques, des flavonoides des amino-acides et des alcaloides. Koumaré a signalé suite à ces travaux le pouvoir antinflammatoire des extraits de feuilles en particulier à l'égard de l'oedème provoqué et du granulome au pellet de coton (Kerharo et Adam, 1974).

L'abrine est une phytotoxine de nature protéique extraite des graines d'*Abrus precatorius* L. (encore appelé Liane réglisse). Les travaux de Richou et collaborateurs concernant l'activité antinflammatoire de l'abrine qui est le filtrat d'une macération à 10 % des graines dans l'eau physiologique pendant 48 heures à 4° montrent une bonne activité (Kerharo et Adam, 1974).

Les feuilles d'*Abrus precatorius* quant à elles ont une forte teneur en glycyrrhizine . Les donnés pharmacologiques indiquent que, l'acide glycyrrhétique est doué plus particulièrement pour ses propriétés anti-inflammatoires et cette propriété a trouvé son application en médecine

humaine et vétérinaire pour le traitement des eczémas, des prurits et de différentes maladies oculaires (Kerharo et Adam, 1974).

Adansonia digitata L. (Bombacacée) est utilisé comme anti-inflammatoire en compresses de pâte de graines grillées ou en lotion chaude de feuilles bouillies (Kerharo et Adam, 1974).

2. LA PLANTE : *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae)

2.1. DONNEES BOTANIQUES

2.1.1. Position dans la systématique

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphyte

Sous embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotylédones

Ordre : Sapindales

Sous-ordre : Anacardiinées

Famille : Anacardiaceés

Genre : *Mangifera*

Espèce : *indica*

2.1.2. Noms africains

Pays	Ethnies	Appellations
ANTILLES	Créole	Mangove
BENIN	Fon ; Goun	Manga; mangatin
CONGO	Akwa	Onmangourou
	Laali	Moumago ; Manga
GABON	Apindji	Wéba-montanga
NIGERIA	Yoruba	Mangoro
TOGO	Ewé	Mangoti
MALI	Bambara	Mâgoro

2.1.3. Description de la plante

Le manguier est un arbre fruitier de 9 m à 30 m de haut qui présente un fût trapu et une fondaison dense, ovoïde, bien équilibrée, donnant toute l'année un magnifique ombrage (Kerharo et Adam, 1974).

Les feuilles sont oblongues, lancéolées à elliptiques de 20 cm à 30 cm de long, large de 3cm à 6 cm, glabres, vert foncés, bords parfois ondulés, apex généralement aigu portées par de longs pétioles de 2,5 à 10 cm de long renflé à la base.

Les inflorescences en panicule terminales portent de nombreuses petites fleurs jaunâtres ou rose verdâtres.

Le fruit est une drupe ovoïde, légèrement réniforme à pulpe plus ou moins fibreuse selon les variétés.

2.1.4. Origine et répartition géographique

Le Manguier est un des arbres fruitiers les plus anciennement cultivés.

Espèce originaire de l'est des Indes, aux pieds des monts Himalaya (Kerharo et Adam,1974) le manguier fut introduit en Afrique au siècle dernier. Actuellement il est cultivé dans toute la zone intertropicale du monde, à l'exception des régions où le climat lui est trop défavorable :

pluviosité trop faible, climats sans saison sèche marquée. Dans quelques cas cependant, la zone de culture déborde le tropique Nord.

2.1.5. Description de la drogue

Caractères macroscopiques : Les feuilles sont lancéolées de 15 cm-25 cm de long et 3-6 cm de largeur, parfois glabres. Les pétioles de 2,5 cm-5 cm de long sont renflés à la base.

Caractères organoleptiques : Les feuilles sont de couleur vert foncé et dégagent une odeur de térébenthine quand on les froisse.

2.2. USAGE EN MEDECINE TRADITIONNELLE

Tableau N°1 : Utilisations thérapeutiques de *Mangifera indica* L. en médecine traditionnelle.

Affections	Parties utilisées	Formes pharmaceutiques	Pays	Références
Toux, asthme, troubles du sinus, hoquet, angine, bronchite, douleurs de poitrine.	Ecorces, feuilles, amande, graine, suc.	Décocté, infusé, extrait aqueux, mâché, digéré, gouttes nasales.	Centrafrique, Zaïre, Indes, Fiji, Népal, Sénégal, Réunion.	Ake-assi et coll.,1980; Muanza et coll.,1994; Maheshwari et Mukerjee,1975; Singh,1986; Suwal,1970; Deka et coll.,1983; Le Grand,1989; Adédji et coll.,1992.
Insomnie	Feuilles, racines.	Infusé, décocté.	Antilles, Bénin	Ayensu,1981; Adjanohoun et coll.,1988.
Fièvre, vomissement, asthénie, ictère.	Feuilles, écorces.	Infusé, décocté.	Antilles, Bénin, Indes	Ayensu,1981; Adjanohoun et coll.,1988; Singh et coll.,1994.
Maux de ventre, indigestion, laxatif.	Pulpe, fruit, amande.	Digéré, nature.	Fiji, Indes, Panama.	Singh,1986; Maheshwari et Mukerjee,1975; Sharma et coll.,1971; Gupta et coll., 1979
Diarrhée, dysenterie.	Ecorces, feuilles fraîches, fleur, feuilles, amande.	Infusé, macéré, digéré, extrait, mâché.	Antilles, Bénin, Canary islands, Indes, Sénégal, Zaire, Fiji.	Ayensu,1981; Adjanohoun et coll.,1988; Diarras et coll.,1989; Maheshwari et Mukerjee,1975; Deka et coll.,1983; Le Grand,1989; Muanza et coll.,1994; Singh,1986.

Tableau N°1 Utilisations en médecine traditionnelle (suite)

Affections	Parties utilisées	Formes pharmaceutiques	Pays	Références
Diurétique, infection urinaire.	Fruit, écorces.	infusé	Indes, Zaire.	Maheshwari et Mukerjee, 1975; Muanza et coll., 1994.
Syphilis, leucorrhée, contraceptif, blennorrhagie, aphrodisiaque.	Oléorésine, écorces, écorces de jeune plant non fleuri, feuilles, amande.	Digéré, décocté.	Sénégal, Fiji, Indes.	Le Grand, 1989; Singh, 1986; Alam et coll., 1990; Nisteswar, 1988; Billore et Audichya, 1978; Sharma et coll., 1971.
Ménorragie, hémorragie utérine, dysménorrhées, stérilité.	Feuilles, graine, fruit, écorces.	Extrait aqueux, digéré, décocté.	Indes, Malaisie, Népal, Togo.	Chopra, 1933; Burkhill, 1966; Suwal, 1970; Adjanohoun et coll., 1986.
Hypertension, hémorroïdes, hémorragie pulmonaire, blessure, astringent, tonic.	Feuilles, écorces, partie interne de l'écorce, fruit.	Décocté, infusé, digéré, extrait phénol/eau.	Curaçao, Indes, Nicaragua, Zaire, Sri Lanka.	Morton, 1968; Morton, 1974; Deka et coll., 1983; Dennis, 1988; Muanza et coll., 1994; Maheshwari et Mukerjee, 1975.
Gingivites, carie dentaire, douleurs dentaires, carie dentaire.	Ecorces, feuilles.	Digéré, décocté, infusé, mâché, poudre.	Sénégal, Tanzanie, Zaire, Panama, Indes.	Le Grand, 1989; Chabra et coll., 1987; Muanza et coll., 1994; Gupta et coll., 1979; Patel et coll., 1988.

2.3. DONNEES PHYTOCHIMIQUES

La revue de la littérature scientifique montre que *Mangifera indica* a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques. Tous les organes de la plante ont été analysés :

2.3.1. Les racines

ANJANEYULU et ANJANEYUM ont isolé des racines de *Mangifera indica*, de nombreuses substances du groupe des triterpénoïdes comme l'ocotillol, l'acide mangiférolique, et l'acide mangiféronique (Anjaneyulu, 1982; Anjaneyum, 1993).

2.3.2. Les tiges

On retrouve dans les tiges 10 à 20% de tanins, des pigments type xanthone tel que la mangiférine isolée par PHAM XUAN SINH (Pham Xuan Sinh, 1991), des triterpénoïdes et de la gomme résine.

2.3.3. La pulpe de fruits et noyau

Dans la pulpe des fruits les substances isolées sont nombreuses : huile essentielle, hydrocarbures, esters, aldéhydes et cétones, alcool, lactones, pigments (caroténoïdes, xanthone, tanins) et aussi les vitamines A et C (ACCT, 1993).

Dans le noyau du fruit il a été isolé des acides gras, des lipides (triglycérides, glycolipides, phospholipides) (ACCT, 1993).

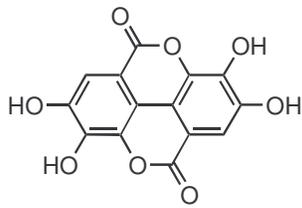
2.3.4. Les feuilles

Les feuilles sont riches en acides phénols: acide gallique, ellagique (Kerharo et Adam, 1974), protocatéchique (Sissi, 1970); en aminoacides (Sissi, 1970), en huiles essentielles (Hegnauer, 1964) et sucres (Kerharo et Adam, 1974).

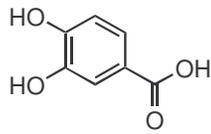
On retrouve également dans cette composition chimique, des pigments type flavonoïdes comme la quercétine, l'hypérine (Lu, 1982), le kaempférol (Hegnauer, 1964), l'isoquercétine (Sissi, 1970); des pigments type anthocyane (Jacquemin, 1970) et des xanthone (Tanaka, 1984).

Des tanins (Lu, 1982; Tanaka, 1984), des triterpènes et stérols comme la taraxénone, taraxérol (Anjaneyu, 1982) ont été isolés des feuilles de *Mangifera indica*.

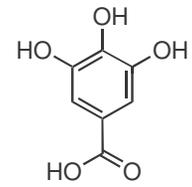
Acides phénols :



Acide ellagique

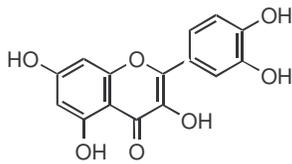


Acide protocatéchique

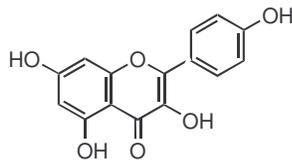


Acide gallique

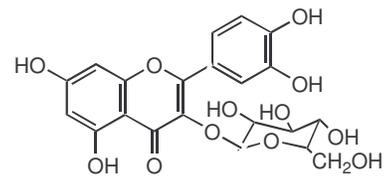
Pigments type flavonoïdes :



Quercétine

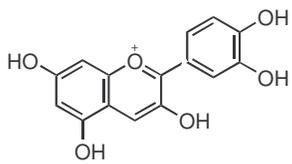


kaempférol

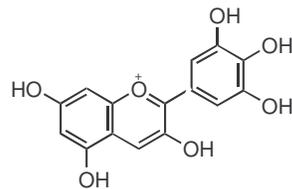


isoquercetine

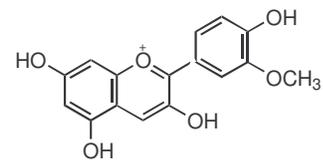
Anthocyanes :



cyanidine

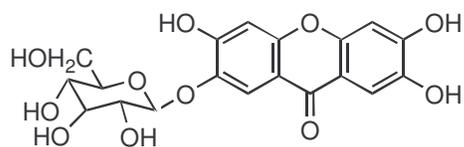


Delphinidine



Poenidine

Xanthone :



Mangiférine

Récemment, des essais phytochimiques préliminaires effectués sur la poudre de feuilles de *Mangifera indica* au niveau du Département de Médecine Traditionnelle, ont révélé la présence de flavonoïdes, de tanins, de sucres, de mucilages, de stéroïdes, d'hétérosides cardiotoniques et de leucoanthocyanes (Bakayoko, 2001).

Les résultats des dosages effectués au niveau du DMT sont reportés dans le tableau N° 2 (Bakayoko, 2001).

Tableau n°2 : Les résultats des dosages effectués au niveau du DMT sur les feuilles de *Mangifera indica*.

Substances extractibles par l'eau (1 gramme)	38,20 %
Substances extractibles par l'éther	2,49 %
Substances extractibles par l'éthanol absolu	42,03 %
Eau Méthode gravimétrique	5,18 %
Méthode azéotropique	5,60 %
Cendres totales	4,88 %
Cendres insolubles dans l'acide sulfurique 50 %	5,83 %
Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %	2,52 %

2.4. DONNEES TOXICOLOGIQUES

L'extrait éthanolique 50 % de la partie aérienne de *Mangifera*, administré par voie intrapéritonéale aux souris conduit à une DL₅₀>1000 mg/kg (Rukmini et Vijayaraghavan, 1984).

L'huile extraite des graines à 10 % dans une ration alimentaire n'a pas présenté d'effets tératogènes ni toxiques sur des rats (Rukmini et Vijayaraghavan, 1984).

L'expérience menée sur *Salmonella thyphium* TA100 et TA98, a montré que l'huile extraite de la graine ne possède pas de propriétés mutagènes (Polasa et Rukmini, 1987).

2.5. DONNEES PHARMACOLOGIQUES

De nombreuses recherches effectuées sur des différentes parties de *Mangifera indica* L ont indiqué que cette plante possède un nombre important de propriétés pharmacologiques.

Propriétés antiparasitaires

Les extraits riches en substances polyphénoliques des écorces de *Mangifera* ont montré *in vitro* une activité anti-amibienne sur *Entamoeba histolytica* (Tona et coll., 2000).

Les expériences effectuées à partir de l'extrait éthanolique 95 % des graines n'ont pas montré d'activité sur *Ascaris lumbricoides* (Feroz et coll., 1982).

Des travaux sur *Haemonchus contortus* ont montré une activité de l'extrait aqueux du noyau à la concentration de 2 % (Sharma et coll., 1971).

L'extrait aqueux d'écorces de *Mangifera*, administré à la dose de 7,82 mg/kg par voie orale aux poules s'est avéré inactif sur *Plasmodium gallinaceum* (Spincer et coll., 1947).

L'extrait aqueux de feuilles a montré une faible activité molluscicide sur *Biophalaria pfeifferi* (Kloss et coll., 1987).

L'extrait éther de pétrole d'écorces a présenté une activité insecticide sur *Rhodnius neglectus* (Schmeda et Rojas, 1992).

Propriétés antibactériennes

L'extrait éthanolique 95 % des feuilles séchées de *Mangifera indica* a présenté une activité antibactérienne sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (George et coll., 1949).

L'extrait obtenu après digestion aqueuse de feuilles est actif sur *Sarcinia lutea* et *Staphylococcus aureus* (Malcolm et Sofowora, 1969). Par contre les recherches sur l'activité antimicrobienne de certaines plantes de la flore du Nigeria ont montré que l'extrait aqueux de feuilles séchées de *Mangifera indica* était inactif sur *Mycobacterium phlei* (Malcolm et Sofowora, 1969).

L'extrait aqueux de feuilles est actif sur le genre *Actinomyces* et sur les plaques bactériennes. Il a montré une activité inhibitrice des plaques dentaires supérieure à celle des pâtes dentifrices commerciales (Patel et coll., 1988). Il est également actif sur *Bacteroides gingivalis*, *Pseudomonas saccharophila*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus viridans*.

L'extrait éthanolique 95 % du noyau frais a montré sur plaque d'Agar une activité antibactérienne contre *Agrobacterium tumefaciens* CMI 1,5 mg/ml, *Staphylococcus aureus* CMI 2,0 mg/ml, *Bacillus firmis* CMI 3 mg/ml, *Escherichia coli* CMI 3 mg/ml, *Proteus vulgaris* CMI 3.0 mg/ml, et *Pseudomonas aeruginosa* CMI 4 mg/ml (Das et coll., 1989).

L'extrait méthanolique d'écorces à la concentration de 10 mg/ml s'est avéré inactif sur *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* et *Streptococcus mutans*. Il a par contre montré une activité positive sur *Klebsiella pneumonia* et *Staphylococcus aureus* CMI 125 µg/ml. La fraction tannique d'écorces sur plaque d'Agar est active sur *Citrobacter diversus* à la dose de 110 µg/ml, *Salmonella enteritidis* à la dose de 120 µg/ml, *Staphylococcus aureus* à la concentration de 145 µg/ml, *Escherichia piracoli*, *Klebsiella pneumonia* et *Shigella flexneri* à la concentration de 200 µg/ml (Lutete et coll., 1994).

Propriétés antifongiques

Des expériences effectuées ont montré que l'extrait éthanolique du noyau frais à 5 mg/ml possède une propriété antifongique à l'égard de *Trichophyton mentagrophytes*, de *Candida lunata*, l'extrait est cependant inactif sur *Candida albicans* (Das et coll., 1989).

L'extrait éthanolique 60 % de feuilles sur plaque d'Agar s'est montré inactif sur les levures de *Candida albicans* (Caceres et coll., 1991). Aussi l'extrait aqueux de feuilles est inactif sur *Aspergillus niger* et *Saccharomyces cerevisiae* (Malcolm et Sofowora, 1969).

L'extrait méthanolique d'écorces à 10 mg/ml est inactif sur *Aspergillus niger*, *Microsporium gypseum* et *Candida albicans* (Muanza et coll., 1994).

Propriétés antivirales

Les tests effectués avec l'extrait éthanolique de feuilles lyophilisées à des concentrations variables ont donné des résultats contradictoires vis à vis du virus Cox-sackie B2, du virus de la rougeole, du Poliovirus, de l'Herpès virus type 1 et du virus Semilicki-forest. C'est ainsi que les auteurs ont conclu l'inactivité de cet extrait (Van Den Berghe et coll., 1978).

L'extrait de l'écorce de tige a développé une action très marquée sur l'Herpès simplex virus type 1 (Oulake et coll., 2002). L'extrait méthanolique d'écorces à 100 µg/ml a montré quant à lui une faible activité sur le virus HIV (Muanza et coll., 1995).

Pour ce qui est de l'effet stimulant sur le WBC-Macrophage, l'extrait aqueux de fruits lyophilisés à la dose 2.0 mg/ml produit un faible effet sur les macrophages (Miwa et coll., 1990).

Propriétés anti-inflammatoires et antalgiques

L'extrait éthanolique à 95 % de l'amande administré par gavage aux rats à la dose de 50 mg/kg a montré une activité anti-inflammatoire contre l'œdème de la patte induit par la carragénine, la 5-Hydroxytryptamine et la bradykinine. L'extrait s'est montré par contre actif contre la pleurésie, les granulomes de coton pellet induits par la turpentine, et l'arthrite induite par un adjuvant, contre l'œdème de la patte induite par le dextran, la prostaglandine et faiblement actif sur l'arthrite provoquée par le formaldéhyde (Das et coll., 1989).

Les travaux de Gabino sur l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Mangifera indica* ont montré de réelles activités analgésiques et anti-inflammatoires dues à la présence de substances polyphénoliques :

En effet, l'extrait a montré d'une part, à la dose de 50–1000 mg/kg une activité antinociceptive dose-dépendante contre les constriction induites par l'acide acétique chez la souris. La dose efficace 50 (DE₅₀) a été de 54,5 mg/kg et le maximum d'inhibition de l'ordre de 94,4 %. D'autre part, cet extrait inhibe à la dose de 20–1000 mg/kg la seconde phase de la douleur provoquée par le formol (c'est à dire 15 à 30 min après administration du formol). Par contre aucune activité n'a été observée sur la première phase (c'est à dire 5 min après administration du formol). La DE₅₀ a été de 8,4 mg/kg et le maximum d'inhibition de l'ordre de 99,5 % est plus important que celui de l'indométacine à la dose de 20 mg/kg.

Le vimang administré par voie orale à la dose de 20-1000 mg/kg a montré une inhibition significative de l'œdème provoqué par la carragénine et le formol chez le rat, la souris et l'espèce porcine de Guinée. Les maximum d'inhibition sont respectivement de 39,5 %; 45 % et 48,6 % sont similaires à ceux produits par l'Indométacine et le Naproxène de sodium administrés par voie orale.(Gabino et coll., 2001).

Propriétés anti-oxydantes

L'extrait de l'écorce de tronc a montré une puissante activité de piègeur de radicaux hydroxyles et d'acide hypochloreux et agit comme chélateur d'ions (Martinez et coll., 2000).

Propriétés spasmolytiques

Les extraits riches en substances polyphénoliques des écorces de *Mangifera* ont montré une activité spasmolytique (Tona et coll., 2000).

L'extrait butanolique d'écorces à la concentration de 0,2 mg/ml a montré une activité spasmolytique sur l'iléon de l'espèce porcine de Guinée. Il diminue les contractions induites

par l'acétylcholine de l'ordre de 45,12 % et les contractions provoquées par le chlorure de potassium de 37,43 %. L'extrait d'alcool isopentyl d'écorces à la concentration de 0,2 mg/ml a montré quant à lui une réduction de 87,34 % des contractions provoquées par l'acétylcholine et une réduction de 76,54 % des contractions induites par le chlorure de potassium. L'extrait méthanolique d'écorces à la concentration de 0,2 mg/ml a montré une réduction de 34,00 % des contractions provoquées par l'acétylcholine et une réduction de 20,17 % des contractions induites par le chlorure de potassium (Kambu et coll., 1990).

Stimulation utérine

L'extrait éthanolique 50 % de la partie aérienne s'est avérée stimulant de l'utérus de rat (Aswal et coll., 1984). L'extrait aqueux du noyau est inactif sur l'utérus de l'espèce porcine de Guinée (Kapur, 1948).

Propriétés hypoglycémiantes

Des expériences ont montré que les fibres de fruits frais à la concentration de 9.0 % diminuaient le rythme d'activité de l'amylase sur les féculs de pomme de terre et ralentissaient la diffusion du glucose en dialyse expérimentale. Ils possèdent ainsi une propriété hypoglycémiantes (Gorgue et coll., 1992).

L'extrait aqueux de feuilles administré par voie orale aux lapins à la dose de 10mg/kg a présenté des propriétés hypoglycémiantes (Jain et Sharma, 1967). Il réduirait l'absorption intestinale du glucose (Aderibigbe et coll., 1999).

L'extrait éthanolique d'écorces a montré une intéressante activité inhibitrice de l' α -amylase, ce qui constitue un potentiel important dans le contrôle de l'obésité et du diabète (Prashanth et coll., 2000).

Les travaux de l'équipe du Dr Prashanth ont révélé une très bonne activité inhibitrice de l' α glucosidase de l'extrait éthanolique d'écorces avec une $IC_{50} = 314 \mu\text{g/ml}$, ce qui permet son utilisation dans le traitement du diabète et de l'obésité (Prashanth et coll., 2001).

Propriété antitumorale et cytotoxique

L'extrait éthanolique à 50 % de la partie aérienne, à la dose de 250 mg/kg administré aux souris par voie intrapéritonéale s'est montré inactif contre la ligne cellulaire Leuk-P388 (Aswal et coll., 1984).

Des expériences effectuées par de nombreux chercheurs ont donné les résultats ci-après:

L'extrait éthanolique à 50 % de la partie aérienne à la concentration de 25 mg/ml s'est avéré inactif sur CA-9KB (Aswal et coll., 1984).

L'extrait méthanolique d'écorces séchées à la concentration de 100 µg/ml a donné des résultats contradictoires quant à son activité vis à vis de CA-HS-578-T, CA-mammary-MF-7, CA-mammary-MF-7/ADR, des lignées cancéreuses du sein BT-549, MDA-MB- 231, MDA-MB-435, MDA-N, T47-D, La lignée de cellules leucémiques CCRF-CEM.

Cet extrait est inactif sur les cellules RPMI-8226 et faiblement actif sur CA-colon-KM12, CA-HCT-15, CA-human-colon COLO-205, CA-human-colon-HCT116, CA-human-nonsmall-cell-lung HOP-62, CA-human-ovarian OVCAR-3, CA-human-ovarian OVCAR-4, CA-human-ovarian OVCAR-5, CA-human-ovarian-SKOV-3, les cellules de la lignée cancéreuse humaine CNS-SNB75, de la lignée SF-268, SF-295, SF-539, SNB-19, U251; les cellules des lignées cancéreuses du colon humain HT29, et SW620, les cellules des lignées leucémiques HL-60-TB, MOLT-4, les cellules des lignées du mélanome humain MALME-3M, SK-MEL-2, SK-MEL-5; les cellules de la lignée de cancer ovarien humain OVCAR-1; les cellules des lignées cancéreuses du rein humain 786-0, A498, CAKI-1, SN-12C, TK-10, UO-31; Leuk-K562, Leuk-SR, Melanoma-LOXIMVI, Melanoma-M14, Melanoma-SK-MEL-28, Melanoma-UACC-257, Melanoma-UACC-62 et sur *Mycobacterium fortuitum* (Ross, 1999). L'extrait aqueux du fruit lyophilisé est quant à lui actif sur Leuk-P815. Le degré de la toxicité tumorale a été évaluée par la mesure de la 3H-thymidine radioactive dans une culture cellulaire de Mastocytes P815 et de macrophages (Miwa et coll., 1990).

Valeur nutritionnelle

L'huile extraite des graines est riche en acide oléique et stéarique et pauvre en acide linoléique. Une étude effectuée sur plus de 3 générations de rats, sous une ration constituée à 10 % de cet extrait, permet de noter une remarquable croissance et conduit à une faible augmentation de poids des rats (Rukmini et Vijayaraghavan, 1984).

2.6. ESSAIS CLINIQUES

Sur 50 patients présentant une parodontite suppurative chronique traités avec l'extrait de feuilles de *Mangifera indica*, *Camellia sinensis*, *Murray koenigii*, *Ocimum basilicum*, 40 patients ont montré une amélioration avec une baisse de 50 % de la population bactérienne (Patel et coll., 1988).

DEUXIEME PARTIE :

TRAVAUX PERSONNELS

1. METHODOLOGIE

1.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Mangifera indica* ont été récoltées en Novembre 2001 au quartier du fleuve à Bamako. Un échantillon d'herbier de feuilles de *Mangifera indica* est déposé au Département de Médecine Traditionnelle.

Les feuilles ont été lavées avec l'eau du robinet et à séchées à l'ombre.

Les feuilles séchées ont été concassées dans un mortier traditionnel puis pulvérisées au moulin type Resh SM 2000.

1.2. Matériel animal

Nous avons travaillé sur des souris males et femelles OF1 (Oncins France Souche 1) de masse comprise entre 19 et 25 g, provenant de l'animalerie du Centre National d'Appui à la Maladie (CNAM).

Les souris ont été réparties par lots de 6 individus par cage et sont maintenues en stabulation avec accès libre à l'eau et à l'alimentation (annexe 1) au moins une semaine avant l'expérimentation. En général les animaux ont été mis à jeun 17 à 18 heures avant chaque expérimentation.

1.3. Préparation des extraits

1.3.1. Extractions avec des solvants à polarité croissante

250 g de poudre ont été extraits avec 3 x 500ml d'éther de pétrole et mis en agitation pendant 3 x 24 heures. Après filtration sur papier Whatmann, le marc est ensuite mis en agitation avec 1500ml de dichlorométhane pendant 3 x 24 heures.

Le marc obtenu après le DCM, été extrait sous agitation avec 1500 ml de méthanol pendant 3 jours.

A la fin de l'extraction avec les solvants organiques, le marc a été séché pendant 24 heures et il a été ensuite porté à 50°C puis à 100°C avec 1.5 litres d'eau distillée à chaque fois pendant 3 heures.

Les solutions ont été filtrées sous vide à l'aide de filtres en microfibres de verre Whatmann.

Les extraits éther de pétrole, dichlorométhane, méthanolique et aqueux ont été concentrés sous vide à 40°C à l'aide de Rotavapor (marque Büchi R 114)

Après concentration, les extraits éther de pétrole et dichlorométhane ont été laissés à l'air libre. Par contre les extraits méthanoliques et aqueux ont été repris avec l'eau et lyophilisés. Le schéma n°2 illustre les étapes de l'extraction avec les solvants à polarité croissante.

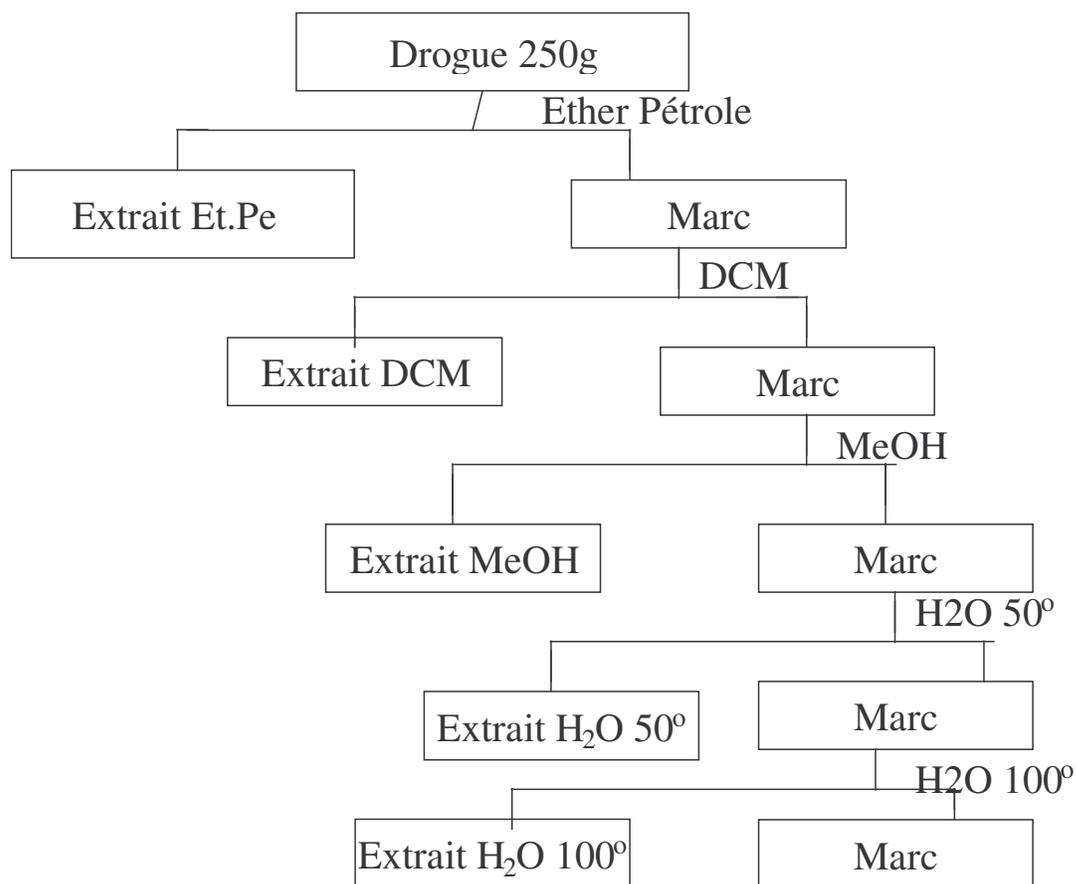


Schéma n°2 : Schéma de l'extraction avec des solvants à polarité croissante

1.3.2. La macération

Une macération aqueuse a également été effectuée sur 50 g de poudre avec 1500 ml d'eau pendant 3 x 24 heures. Après filtration, l'extrait a été concentré au Rotavapor, et lyophilisé.

1.3.3. La décoction

Nous avons effectué une décoction aqueuse à 10 %. 250g de poudre ont été mis dans 2500 ml d'eau distillée et portés à ébullition pendant 1 heure. La filtration s'est faite sur un morceau de tissu percale.

Le filtrat a été concentré sous vide à 50°C à l'aide du Rotavapor, et lyophilisé.

1.3.4. Séparation liquide-liquide

30 g de lyophilisat obtenus précédemment avec la décoction, ont été repris avec 200 ml d'eau distillée. Avec la solution aqueuse ainsi obtenue, nous avons ensuite procédé à la séparation liquide-liquide dans une ampoule à décanter, avec successivement, 200 ml x 3 d'éther de pétrole pendant 3 x 15 min. Après décantation, la phase organique est récupérée et à la phase aqueuse nous avons ajouté 3 x 200ml d'acétate d'éthyle. Avec ce solvant, la séparation n'étant pas nette après 3 x 15min, nous avons laissé reposer pendant 24 heures puis centrifugé.

Sur la phase aqueuse obtenue après l'acétate d'éthyle, nous avons fait passer 200 ml x 3 de butanol pendant 3 x 15 min.

L'extrait éther de pétrole est concentré à 40°C à l'aide d'un Rotavapor et laissé à l'air libre.

Les extraits acétate d'éthyle, butanol et aqueux épuisés ont été concentrés sous vide à 50°C, puis lyophilisés.

Le schéma n°3 résume les étapes séparation liquide-liquide croissante

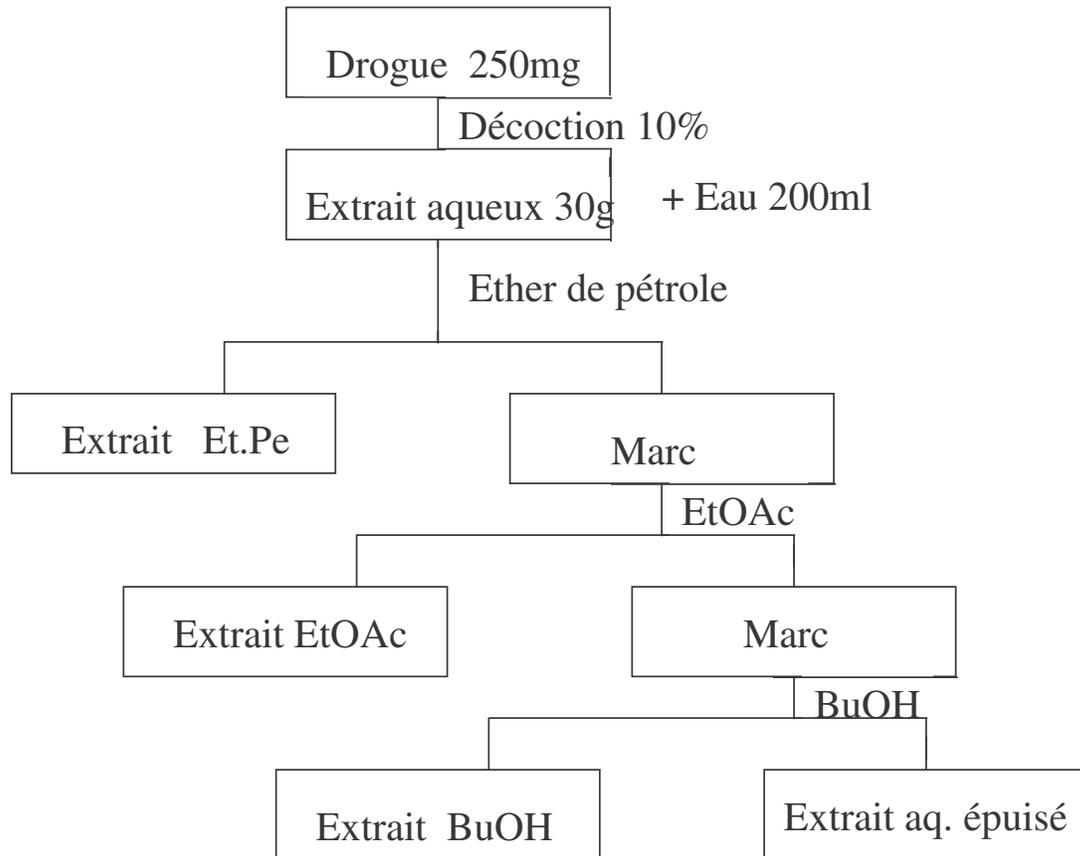


Schéma n°3 : Schéma de fractionnement de l'extrait aqueux

1.4. LES ETUDES PHYTOCHIMIQUES

Nous nous sommes limités à établir le profil chromatographique des différents extraits et au dosage des polyphénols totaux dans le décocté aqueux de *Mangifera indica*.

1.4.1. La chromatographie sur couche mince (CCM)

Mode opératoire: Nous avons travaillé sur les 11 extraits de *Mangifera indica* dans les conditions suivantes:

Solutions d'essai :

10 mg de chaque extrait a été repris avec 1 ml de solvant approprié.

Les extraits éther de pétrole ont été repris avec l'éther de pétrole.

L'extrait dichlorométhane a été repris avec du dichlorométhane.

Les extraits aqueux total, acétate d'éthyle, butanolique, aqueux épuisé, méthanolique, aqueux 50°C, aqueux 100°C et le macéré aqueux ont été repris avec 1 ml du mélange méthanol-eau (1:1).

Support : Plaque de silice 60GF 254, d'épaisseur 0,25 mm.

Dépôt : sur les plaques préparées nous avons déposé 3µl de chaque extrait à l'aide d'une micro pipette

Solvants de migration : Deux systèmes de solvants de migration ont été utilisés:

↳ ligroïne-acétate d'éthyle (2 : 1) pour les extraits éther de pétrole et dichlorométhane.

↳ Acétate d'éthyle-méthyle éthyle cétone-acide formique-eau (50 : 30 : 10 : 10) pour tous les autres extraits.

Observation : Après migration, les plaques ont été observées à 254 nm et à 366 nm. A 254 nm les taches ont été encerclées en trait plein. A 366nm elles ont été encerclées en tirets: ce sont des substances UV actives.

Révélation : Nous avons ensuite pulvérisé les plaques avec le réactif de GODIN:

Réactif de Godin

<u>Solution A</u>	Vanilline	1 g
	Ethanol	100 ml
<u>Solution B</u>	Acide perchlotique	3 ml

	Eau distillé	100 ml
<u>Solution C</u>	Acide sulfurique	10 ml
	Ethanol	90 ml

Les spots qui apparaissent après chauffage de la plaque ont été marqués entre crochets.

Ceci nous a permis de calculer pour chaque tache, le facteur de rétention (Rf).

$$Rf = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

1.4.2. Dosage des polyphénols totaux dans l'extrait aqueux.

Nous avons utilisé la méthode de Folin-Ciocalteu qui s'avère plus sensible (Singleton et coll.,1965).

Réactif : Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions formés à partir d'hétéropolyacides phosphomolybdiques et phosphotungstiques.

Principe : Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Le réactif de Folin-Ciocalteu, en milieu alcalin, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ces hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe molybdotungstique bleu. La coloration bleu obtenue est mesurée au spectrophotomètre à 765 nm et l'absorption est proportionnelle à la quantité de phénols présents. Les résultats seront exprimés en g de phénols pour 100 g de lyophilisat à partir de la courbe étalon de rutine (Daels-rakotoarison, 1999).

Solution d'essai : Nous avons dilué 100 mg d'extrait aqueux dans 5 ml d'eau distillée.

Mode opératoire : A 50 µl, 100 µl, 150 µl, 200 µl, 250 µl, 300 µl, 350 µl, 400 µl, 450 µl, 500 µl de cette solution nous avons ajouté à chaque fois 200 µl du réactif Folin-Ciocalteu, 2 ml d'eau distillée et 1 ml de carbonate de sodium 15 %. Après 2 heures à la température du laboratoire, la densité optique a été mesurée à 765 nm. Le taux de polyphénols totaux de notre extrait, a été obtenu à partir d'une courbe d'étalonnage, établie avec des concentrations précises de rutine. Le taux de polyphénols totaux a été exprimé en milligrammes par gramme de drogue sèche.

1.5. ETUDES D'ACTIVITES BIOLOGIQUES

1.5.1. LES TESTS BIOLOGIQUES *IN VITRO*

Pour les tests biologiques *in vitro*, nous avons utilisé :

- La révélation de chromatogrammes obtenus avec nos extraits avec une solution de DPPH (1-1-Diphényl-2-Picrylhydrazyle) pour mettre en évidence les constituants antiradicalaire (activité anti-oxydante) et la méthode Bioautographique pour identifier les constituants possédant une activité antifongique
- Test de l'activité hémostatique sur le sang et le test de coagulation du lait.

1.5.1.1. Etude de l'activité anti-oxydante : Test anti-radicalaire contre de DPPH sur CCM.

Principe : Il se résume en la réduction du radical 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle par les substances antiradicalaires.

Solutions d'essai : Nous avons testé tous les extraits de *Mangifera indica*.

Mode opératoire : 3 µg de chaque extrait ont été chromatographiés sur des plaques de silice 60G F254. Le développement des plaques a été fait avec les systèmes de migration précédemment décrits dans le chapitre 1.4.1.

Après séchage, nous avons giclé les plaques avec une solution méthanolique à 2 mg/ml de de DPPH.

Les constituants de l'extrait présentant une activité antiradicalaire apparaissent sous forme de spots de couleur Jaune-blanc sur fond violet. Nous avons calculé les RF de tous ces spots.

1.5.1.2. Etude de l'activité antifongique des extraits de feuilles de *Mangifera indica* par Méthode Bio autographique (Bioautographic Agar Overlay Method : BAOM)

L'activité antifongique des extraits de plantes a été évaluée en utilisant la méthode de **BAOM** selon la technique reportée par Rahalison et *coll.*, 1991.

Matériel

Solution d'essai : tous les extraits de *Mangifera*

Substances témoins: nystatine en solution chloroformique à 1 mg/10 ml, extrait chloroformique de l'écorce de racine de *Swarthzia madagascariensis* .

Les chromatogrammes de nos différents extraits et des substances témoins ont été préalablement obtenus sur les plaques en verre comme décrit sous le chapitre 1.4.1.

Milieu de culture : Sabouraud.

Microorganismes : *Candida albicans*

Mode opératoire

Jour 1 :

Nous avons repiqué une culture de *Candida albicans* sur milieu de culture Sabouraud gélose (SDA Sabouraud Dextrose Agar) en boîte de pétri et incubé à 30°C pendant environ 24 heures **(1)**;

Jour 2 :

2 erlenmeyers contenant 50 ml de milieu de culture Sabouraud liquide (SDB Sabouraud Dextrose Broth) ont été préparés et stérilisés à l'autoclave 121°C pendant 15 min **(2)** ;

Nous avons ensuite ajouté à froid une pointe de spatule d'une colonie issue de **(1)** dans l'un des milieux préparés sous **(2)**. Le tout est laissé bain-marie sous agitation une nuit.

Jour 3 :

En début de matinée, nous avons prélevé 0,5 ml du milieu précédent (trouble) et ajouté au second milieu préparé sous **(2)** nous avons ainsi obtenu une dilution de 100x. **(3)**

Le tout est laissé au repos pendant environ 7 heures sous agitation, temps nécessaire pour atteindre la phase de croissance exponentielle de *Candida albicans*,

Pendant ce temps, nous avons préparé les milieux de culture à base de Malt Agar (MA) qui ont été la base de l'inoculum versé sur les plaques CCM, et les avons réparti en erlenmeyers de 50ml (par plaque de 10 cm x 10 cm, il faut préparer 10 ml de MA). Le MA est maintenu fondu au bain marie à 48°C (Au-dessus de cette température les levures ne survivent pas et au dessous de 43°C le milieu se solidifie);

A chaque fraction de 50ml de MA fondu, nous avons ajouté 0.5 ml de solution obtenue sous **(3)** afin d'obtenir un inoculum contenant environ 10^5 cellules/ml.

Les milieux sont maintenus à 48°C.

Une quantité déterminée de l'inoculum (avec la quantité suffisante de microorganisme) est distribuée sur chaque chromatogramme, avec une pipette stérile. Après solidification, les

chromatogrammes sont incubés à 30°C pendant une nuit en atmosphère humide (boîtes en plastique contenant un papier buvard détrempe).

Jour 4 :

Les plaques sont alors révélées à l'aide d'une solution aqueuse de bromure de méthylthiazoyltétrazolium à 2,5 mg/ml. Les zones d'inhibition de croissance apparaissent sous forme de tâches décolorées sur fond violet, après une nouvelle incubation de 4 heures.

A la fin nous avons giclé de l'éthanol sur les plaques afin de tuer les microorganismes.

Afin de conserver ces résultats, nous avons séché l'Agar avec précaution pendant quelques jours, et recouvert les plaques avec des feuilles plastiques transparents.

1.5.1.3. Etude de l'activité hémostatique de l'extrait aqueux

Le test d'évaluation *in vitro* de l'activité hémostatique a été effectué sur le sang total, sur le plasma et sur le lait.

◆ Temps de coagulation du sang total selon la méthode de Lee et White (1913)

Principe : on prélève du sang veineux dans un tube de verre. On mesure le temps qu'il lui faut pour se coaguler.

Solution à tester : A 100 mg l'extrait aqueux total lyophilisé nous avons ajouté 1 ml d'eau distillée et nous avons agité jusqu'à solution homogène.

Prélèvement du sang : Nous avons prélevé à l'aide d'une seringue en plastique du sang veineux chez des sujets sains. Le chronomètre est déclenché dès que le sang pénètre dans la seringue.

Protocole de l'étude :

Test en tube :

La solution a été répartie en raison de 10 µl, 25 µl, 50 µl et 100 µl (soit 1 mg, 2,5 mg, 5 mg et 10 mg d'extrait) respectivement dans deux tubes d'hémolyse en verre pour chaque dose. Deux tubes vides ont servi de témoin. Nous avons ensuite prélevé 10 ml de sang humain, qui ont été repartis dans chacun des dix tubes en volume égal, soit 0,5 ml par tube. Les tubes ont été bouchés avec du coton cardé et immédiatement mis au bain-marie à 37°C. Après 3 minutes, un des tubes de chaque dose est retiré du bain-marie, incliné à un angle de 45° pour voir si le sang est coagulé. Quand ce n'est pas le cas, le tube est remis dans le bain-marie et examiné toutes les 30 secondes pour voir si la coagulation s'est faite. Dès que le sang du premier tube est coagulé, le deuxième tube est examiné pour constater la coagulation. Noter le temps de coagulation des 2 tubes de chaque dose.

Test sur lame :

De la même manière, les mêmes doses ont été respectivement déposées sur quatre lames, une lame sans dose devant servir de témoin.

Du sang humain a été déposé sur les cinq lames en volume égal, soit 0,5 ml. Les lames ont été couvertes par des boîtes de pétri. Les lames sont maintenues à la température du laboratoire. Les observations commencent dès la 3^{ème} minute et se poursuivent toutes les 30 secondes pour constater la coagulation. Noter le temps de coagulation.

◆ **Temps de récalcification du plasma :**

Prélèvement du sang : Le sang est recueilli sur un mélange de Wintrobe. Le plasma est obtenu à partir du sang centrifugé à haute vitesse en raison de 3600 tours par minute pendant 10 minutes.

Protocole de l'étude : La solution a été répartie en raison de 10 µl, 25 µl, 50 µl et 100 µl (soit 1 mg, 2,5 mg, 5 mg et 10 mg d'extrait) respectivement dans deux tubes d'hémolyse en verre pour chaque dose. Deux tubes vides ont servi de témoin. Les tubes sont maintenus au bain-marie à 37°C.

Nous avons introduit dans chaque tube 0,2 ml de plasma et 0,2 ml de chlorure de calcium 0,025 M. Déclencher aussitôt le chronomètre, sortir les tubes du bain-marie pour agiter rapidement et assurer le mélange, les replacer aussitôt à 37°C. Sortir un des tubes de chaque dose du bain-marie, incliné à un angle de 45° pour voir pour toutes les 30 secondes au début, plus fréquemment par la suite, jusqu'à ce que l'on observe la prise en masse du caillot. Noter le temps de coagulation pour les 2 tubes de chaque dose.

◆ **TEST DE COAGULATION DU LAIT**

PRINCIPE : SE BASE SUR LA COAGULATION DES PROTEINES DU LAIT PAR UN EXTRAIT RICHE EN TANINS. C'EST UN TEST QUI PERMET D'EVALUER L'ACTIVITE ASTRINGENTE DES TANINS PAR LEUR CAPACITE A PRECIPITER LES PROTEINES DU LAIT.

Solution à tester : Nous avons effectué une décoction à 10 % sur la poudre de feuilles de *Mangifera indica* et filtré sur coton.

Protocole de l'étude :

A 1 ml d'eau distillée, nous avons ajouté 100 µl de lait frais pour constituer le blanc.

A 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml et 10 ml du décocté nous avons ajouté respectivement, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl, et 500 µl de lait frais. Nous avons laissé le tout au repos pendant 3 mn à la température du laboratoire. Le mélange a été centrifugé pendant une minute.

Nous avons ensuite mesuré avec une règle graduée la hauteur du coagulat formé dans chaque tube.

1.5.2. LES TESTS BIOLOGIQUES *IN VIVO*

Pour les tests des activités biologiques *in vivo*, nous avons d'abord déterminé la dose létale 50 par voie orale et par voie intrapéritonéale, nous avons ensuite étudié l'activité antalgique et antiinflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica*.

1.5.2.1. Etude de la toxicité aiguë: Détermination de la (DL₅₀)

Principe : Il consiste à déterminer la dose létale 50 % (DL₅₀), c'est à dire la dose capable de tuer, par la voie d'administration choisie, le moitié des animaux mis en expérience

Protocole:

Les animaux ont été maintenus à jeun 18 h avant le début de chaque expérimentation. Pour la détermination de la DL₅₀ nous avons utilisé des lots de 6 souris femelle et mâles, auxquels nous avons administré par gavage gastrique (voie orale) et par voie intra péritonéale (I.P) des doses croissantes d'extraits aqueux de *Mangifera*.

DETERMINATION DE LA DOSE LETHALE 50 PAR VOIE ORALE

Nous avons travaillé sur 7 lots de 6 souris (4 lots femelles et 3 lots mâles), nous avons administré aux lots femelles, respectivement 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg, d'extrait aqueux lyophilisé obtenu à partir de la décoction; correspondant respectivement à 1 g ; 1,5 ; 2 et 2,5 g d'extrait aqueux total par kg de poids corporel. Les lots mâles ont reçus dans les mêmes conditions 2,5 g, et 3 g d'extrait aqueux total par kg de poids corporel. Le lot témoin a reçu uniquement de l'eau distillée par la même voie.

Pour l'administration l'extrait a été repris avec 5 ml l'eau distillée et administré à la dose 25 µl par gramme de poids corporel des souris.

Détermination de la dose létale 50 par voie intrapéritonéale

Nous avons constitué 6 lots homogènes de 6 souris mâles auxquelles nous avons administré par voie i.p. l'extrait aqueux total lyophilisé dilué dans une solution isotonique de chlorure de

sodium. L'extrait a été administré à la dose de 500, 750, 1000, 1250 et 1500 mg/kg. Le lot témoin a reçu uniquement la solution isotonique de chlorure de sodium par la même voie. Pour la voie i.p, la solution de l'extrait a été administré à la dose 5 µl par gramme de poids corporel des souris.

Observation: Après administration des extraits, les animaux ont été d'abord mis en observation pendant 2 heures avant de leur donner à manger et à boire (pour noter les cas de morts immédiates).

Pendant les deux semaines les animaux ont été observés non seulement pour enregistrer les cas de mort, leur temps, mais aussi pour enregistrer contemporanément dans le temps l'apparition, l'intensité et la durée d'éventuels effets au niveau du SNC, SNA et des modifications comportementales. L'observation a continué jusqu'à deux semaines pour permettre d'enregistrer les effets tardifs y compris la mortalité et le nombre de morts est comptabilisé dans chaque lot.

Calcul de la DL₅₀ : la courbe de Trevan donnant le pourcentage de mortalité en fonction du logarithme de la dose nous a permis de calculer la dose correspondante à 50 % de mortalité. Dans les cas de mortalités tardives nous avons calculé la valeur de la DL₅₀ à 24h (toxicité aigüe) ou 48h et au bout de deux semaines nous avons exprimé l'ensemble de la toxicité immédiate et de la toxicité retardée.

1.5.2.2. Etude de l'activité antalgique de l'extrait aqueux de *Mangifera indica* L.

Principe : Il consiste à vérifier l'action inhibitrice de l'extrait sur la douleur provoquée chez la souris par la chaleur (Hot plate test) ou par l'injection intra-péritonéale (I.P) d'une solution diluée d'acide acétique (Writhing test).

Animaux : Les souris de 19 à 25g ont été maintenues à jeun pendant 18h avant le début de l'expérience. Nous avons travaillé sur des lots de 6 souris (mâles et femelles)

Etude de l'activité antalgique par la méthode de la plaque chauffante «Hot plate» : Elle permet d'évaluer une activité analgésique centrale.

Protocole de l'étude :

Nous avons travaillé sur 3 lots de 6 souris.

A Temps 0 heure, avant l'administration de l'extrait nous avons mesuré deux fois le temps de réaction de chaque souris avec 10 min d'intervalle entre les deux lectures. L'extrait aqueux à la dose de 1000 mg/kg de drogue sèche, le chlorhydrate de tramadol à la dose de 5 mg/kg et l'eau distillée à la de 0,5 ml pour 20 g poids corporel ont été administré par gavage gastrique.

Trente minutes après le traitement, nous avons laissé tomber doucement les souris sur la plaque chauffante entourée d'un cylindre de rétention. La température de la plaque a été maintenue à $50 \pm 1^\circ\text{C}$ (Eddy and Leimbach, 1932). Nous avons noté le temps de réaction.

Le temps de réaction correspond à l'intervalle entre le moment où la souris atteint la plaque chauffante et le moment où elle se lèche les pattes, ou bien celui où elle saute hors du cylindre. Les autres mouvements sont ignorés.

Nous avons donc noté le temps de réaction de chaque souris à 30, 60, 90, et 120 minutes après l'administration de l'extrait, du médicament de référence et l'eau.

La réponse est considérée positive si le temps de réaction est de 8 secondes plus long que la moyenne des deux temps de réaction mesurés à 10 minutes d'intervalle avant le traitement par les substances analgésiques.

Nous avons retenu 30 secondes comme temps de « Cut off », un temps limite pour éviter d'endommager les tissus par la trop longue permanence sur la plaque chaude.

Evaluation de l'activité analgésique :

Nous avons calculé dans un premier temps, le temps de réaction en secondes, exprimé en moyenne \pm DS (déviation standard) pour chaque groupe. Le pourcentage d'augmentation du temps de réaction a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Augmentation} = \frac{(\text{MTR après administration}) - (\text{MTR avant administration})}{(\text{MTR avant administration})} \times 100$$

MTR= Moyenne des Temps de Réaction

Activité antalgique vis à vis de la douleur chimique provoquée par l'acide acétique «Writhing test»

Protocole :

Nous avons travaillé sur 5 lots de 6 souris

L'extrait aqueux à la dose de 500, 1000 et 1500 mg/kg de drogue sèche, l'indométacine à la dose de 5 mg/kg et l'eau distillée à raison de 0,5 ml pour 20 g poids corporel ont été administrés respectivement aux souris des différents lots.

Une heure après le traitement, une injection de 10 μ l/g d'une solution à 0,6 % d'acide acétique dans l'eau) a été faite en I.P dans le péritoine de chaque souris selon la méthode de Siegmund (Siegmund, 1957).

Après l'injection de la solution d'acide acétique, nous avons compté pour chaque souris le nombre torsions pour une période de 20 min.

Nous avons calculé pour chaque groupe la moyenne (M) des torsions effectuées dans chaque groupe et la déviation standard (SD). La signification statistique a été déterminée au moyen du test *t* de Student.

Evaluation de l'activité antalgique :

Le pourcentage d'inhibition de la douleur pour chaque groupe traité par les différentes doses de l'extrait et l'indométacine et le véhicule, a été calculé en comparant la moyenne du groupe traité par l'extrait et l'indométacine avec celle du groupe témoin traité par l'eau distillée. Le pourcentage d'inhibition de la douleur est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{MnbreTgroupe témoins}) - (\text{MNbreTgroupe traité})}{(\text{MnbreTgroupe témoins})} \times 100$$

MnbreT= Moyenne du Nombre de torsions

1.5.2.3. Etude de l'activité anti-inflammatoire aiguë : Oedème à la carragénine

Principe : Il consiste à vérifier l'action inhibitrice des extraits sur un œdème provoqué par l'injection de carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte d'une souris ou d'un rat.

Protocole d'étude :

Nous avons travaillé sur 5 lots de 6 souris

L'extrait aqueux à la dose de 250, 500 et 1000 mg/kg de drogue sèche, l'acide acétylsalicylique à la dose de 100 mg/kg et l'eau distillée pour le lot témoin, ont été administrés aux différents lots de souris.

1h après le traitement, une injection de 0,05 ml de solution à 1% de carragénine (dans la solution saline à 9 pour mille) a été faite à chaque souris sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure (Winter et coll, 1963).

3 heures après l'injection de la carragénine, les animaux sont rapidement sacrifiés par dislocation cervicale. Les deux pattes postérieures sont très rapidement coupées au niveau de la tarso-articulation et pesées à l'aide une balance analytique (Levy, 1969).

Pour évaluer l'effet de notre extrait sur l'inflammation, pour la dose de 1000 mg/kg, nous avons sacrifié un groupe 1 heure et un autre à 5 heures après la carragénine.

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :

Nous avons calculé pour chaque souris, l'augmentation du poids de la patte enflée (Patte postérieure gauche), qui a reçu la carragénine par rapport au poids de la patte saine (Patte postérieure droite) selon la formule : poids patte gauche (PPG) - poids patte droite (PPD). Nous avons calculé pour chaque groupe la moyenne (M) et la déviation standard (SD). La signification statistique a été déterminée au moyen du test *t* de Student.

Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation pour chaque groupe traité par les différentes doses de l'extrait et le médicament de référence, a été calculé en comparant la moyenne de l'augmentation de l'inflammation avec celle du groupe témoin traité par l'eau distillée. Le

pourcentage d'inhibition de l'inflammation est calculé selon la formule suivante reportée par SaéNZ et *coll.* (1998):

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{M (PPG - PPD) groupe témoin} - \text{M(PPG - PPD) groupe traité}}{\text{M (PPG - PPD) groupe témoin}} \times 100$$

2. RESULTATS

2.1. MATÉRIEL VÉGÉTAL

Nous avons récolté 8 kg de feuilles fraîches matures de *Mangifera indica*. Après séchage, nous avons obtenu 3,25 kg de feuilles sèches et 3 kg de poudre fine après pulvérisation. Si on tient compte de la quantité de feuilles fraîches de départ nous avons obtenu un rendement de 37,5 %.

2.2. LES EXTRACTIONS

2.2.1. Extraction avec les solvants à polarité croissante

Les résultats de l'extraction avec les solvants à polarité croissante, à partir des 250g de poudre de *Mangifera* sont réportés dans le tableau N°3.

Tableau N°3 : Résultats de l'extraction avec les solvants à polarité croissante.

<i>EXTRAIT</i>	<i>ASPECT</i>	<i>MASSE (g)</i>	<i>RENDEMENT (%)</i>
<i>Ether de pétrole</i>	<i>pâte collante verte</i>	<i>4.43</i>	<i>1.77</i>
<i>Dichlorométhane</i>	<i>pâte collante verte</i>	<i>2.47</i>	<i>0.99</i>
<i>Méthanolique</i>	<i>poudre cristalline verte</i>	<i>22.51</i>	<i>9</i>
<i>Eau 50 °</i>	<i>poudre hygroscopique marron</i>	<i>3.51</i>	<i>1.40</i>
<i>Eau 100 °</i>	<i>Poudre marron</i>	<i>5.66</i>	<i>2.26</i>

La majorité des constituants des feuilles de *Mangifera* est extraite par le méthanol et l'eau.

2.2.2. La macération

L'extrait aqueux obtenu après la macération de poudre de feuille de *Mangifera* dans l'eau distillée, est vert avec un aspect floconneux. Sur 50 g de poudre nous avons obtenu 9,99 g d'extrait soit 19,98 %.

2.2.3. La décoction

L'extrait aqueux lyophilisé obtenu à partir de la décoction, se présente sous forme de poudre fine granulée de couleur marron. Le rendement de l'extraction est de 17,85 %.

2.2.4. La séparation liquide-liquide

Les résultats de la séparation liquide-liquide à partir de 30 g de lyophilisat aqueux obtenu après la décoction.

Tableau N°4: Résultats du fractionnement de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica*.

<i>EXTRAIT</i>	<i>ASPECT</i>	<i>MASSE(g)</i>	<i>RENDEMENT (%)</i>
<i>Ether de pétrole</i>	<i>pâte collante vert foncé</i>	<i>0.53</i>	<i>1.77</i>
<i>Acétate d'éthyle</i>	<i>talc vert clair</i>	<i>1.34</i>	<i>4.47</i>
<i>Butanolique</i>	<i>poudre marron</i>	<i>6.17</i>	<i>20.57</i>
<i>Aqueux épuisé</i>	<i>Cristaux marron</i>	<i>12.41</i>	<i>41.37</i>

Le rendement de l'extrait aqueux est plus important.

2.3. DONNEES PHYTOCHIMIQUES

2.3.1. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Les résultats de la chromatographie sur couche mince de tous nos extraits sont résumés dans les tableaux ci-après. Il s'agit des informations sur les facteurs de rétention des constituants chimiques, leur comportement à la lumière UV (à 254nm et à 366nm), et leur coloration après révélation avec le réactif de Godin.

2.3.1.1. Chromatogrammes des extraits obtenus avec les solvants à polarité croissante

Tableau N°5: Résultats de la CCM de l'extrait ether de pétrole des feuilles de *Mangifera*.

<i>EXTRAIT</i>	<i>Rf</i>	<i>Observation à 254 nm</i>	<i>fluorescence à 366 nm</i>	<i>Godin</i>
<i>Ether de pétrole</i>	0.01	-	rose	
	0.03	-	rose	
	0.06	visible	rose	
	0.09	visible	rouge	
	0.12	-	rose	
	0.15	-	rose	
	0.17	-	rose	
	0.20	-	rose	
	0.27	visible	rouge	vert
	0.32	visible	rouge	rose-violet
	0.42	visible	rouge	-
	0.47	-	-	violet ++
	0.57	-	-	violet
	0.70	visible	-	-
	0.72	visible	rose	violet
	0.77	visible	bleuâtre	violet
	0.83	visible	bleuâtre	jaune
0.88	visible	jaune	violet ++	

L'extrait ether de pétrole de couleur vert foncé est très riche en pigments: à l'oeil nu les taches à Rf égale à 0,2; 0,3; 0,4 apparaissent vertes. A 366 nm la majorité des taches apparaissent rose intense ou rouge (chromatogramme n°2).

Tableau N°6: Résultats de la CCM de l'extrait *dichloromethane* des feuilles de *Mangifera*.

<i>EXTRAIT</i>	<i>Rf</i>	<i>Observation à 254 nm</i>	<i>Fluorescence à 366 nm</i>	<i>Godin</i>
<i>Dichloromethane</i>	0.01	-	rose	Violet ++
	0.02	-	rose	
	0.03	-	rose	
	0.06	visible	jaune	
	0.08	visible	rose	
	0.10	visible	rose	
	0.14	visible	rose	
	0.18	visible	rouge	
	0.25	visible	rouge	vert
	0.32	visible	rouge	léger violet
	0.40	visible	rouge++	vert
	0.43	visible	rouge++	
	0.47	-	-	violet
	0.70	visible	rose	violet
	0.83	visible	bleuâtre	violet
	0.88	visible	maron	violet

A l'oeil nu les taches à Rf égal à 0,5; 0,18; 0,25; 0,32; 0,4 apparaissent vertes. La majorité des taches présentent une fluorescence rose ou rouge à 366 nm (chromatogramme n°2).

Les solvants éther de pétrole sont apolaires et sont utilisés pour dégraisser la drogue.

Les colorations vertes de certaines taches à l'œil nu des extraits éther de pétrole et dichlorométhane, et les fluorescences rouge et rose à 366 nm sont typiques des chlorophylles.

Tableau N°7: Résultats de la CCM de l'extrait méthanolique des feuilles de *Mangifera*.

<i>EXTRAIT</i>	<i>Rf</i>	<i>Observation à 254 nm</i>	<i>fluorescence à 366 nm</i>	<i>Godin</i>
<i>Méthanolique</i>	0.14	-	bleuâtre	
	0.20	-	marron	
	0.55	visible	orange	jaune
	0.60	visible	violet foncé	orange
	0.66	visible	marron	
	0.72	visible	violet foncé	orange
	0.76	visible	marron	orange
	0.80	visible	violet foncé	orange
	0.85	visible	violet	-
	0.92	visible	violet foncé	orange
	0.96	visible	rose	vert

Seules les taches e Rf 0,14 et 0,20 ne sont pas visibles à 254 nm (chromatogramme n°1).

Tableau N°8: Résultats de la CCM des extraits aqueux à 50°C et à 100°C des feuilles de *Mangifera*.

<i>EXTRAIT</i>	<i>Rf</i>	<i>Observation à 254 nm</i>	<i>fluorescence à 366 nm</i>	<i>Godin</i>
<i>Aqueux 50 °</i>	0.14	-	<i>bleuâtre</i>	<i>Jaune</i>
	0.20	-	<i>marron</i>	
	0.55	<i>visible</i>	<i>orange</i>	
	0.60	<i>visible</i>	<i>violet foncé</i>	
	0.66	<i>visible</i>	<i>marron</i>	
	0.72	<i>visible</i>	<i>violet foncé</i>	
<i>Aqueux 100 °</i>	0.14	-	<i>bleuâtre</i>	<i>Jaune</i>
	0.20	-	<i>maron</i>	
	0.41	<i>visible</i>	-	
	0.55	<i>visible</i>	<i>orange</i>	
	0.60	<i>visible</i>	<i>violet foncé</i>	
	0.66	<i>visible</i>	<i>maron</i>	
	0.72	<i>visible</i>	<i>violet foncé</i>	
	0.77	<i>visible</i>	<i>maron</i>	
	0.87	<i>visible</i>	<i>violet foncé</i>	

Les taches à Rf égal à 0,14 et 0,20 ne sont pas visibles à 254 nm, elles apparaissent respectivement de même couleur dans les deux extraits à 366 nm.

Les Rf 0,55; 0,60; 0,66; et 0,72 se retrouvent également dans dans les deux extraits. (Chromatogramme n°1)

2.3.1.2. Chromatogramme de l'extrait aqueux obtenu après macération

Tableau N°9: Résultats de la CCM du macéré aqueux des feuilles de *Mangifera*.

<i>EXTRAIT</i>	<i>Rf</i>	<i>Observation à 254 nm</i>	<i>fluorescence à 366 nm</i>	<i>Godin</i>
<i>Macéré</i>	0.14	-	bleuâtre	<i>Jaune</i>
	0.20	-	marron	
	0.28	visible	-	
	0.55	visible	orange	
	0.60	visible	violet foncé	
	0.66	visible	marron	
	0.72	visible	violet foncé	
	0.80	visible	marron	
	0.85	visible	violet foncé	
	0.91	visible	violet	
	0.97	visible	rose	

La tache à Rf égal à 0,55 apparait jaune après révélation (Chromatogramme n°1).

2.3.1.3. Chromatogramme de l'extrait aqueux total obtenu par décoction

Tableau N°10 : Résultats de la CCM de l'extrait aqueux total obtenu par décoction de feuilles de *Mangifera*.

<i>EXTRAIT</i>	<i>Rf</i>	<i>obs 254nm</i>	<i>fluorescence 366nm</i>	<i>Godin</i>
<i>Aqueux</i>	<i>0.14</i>	-	<i>bleuâtre</i>	<i>jaune</i>
	<i>0.20</i>	-	<i>marron</i>	
	<i>0.55</i>	<i>visible</i>	<i>orange</i>	
	<i>0.60</i>	<i>visible</i>	<i>violet foncé</i>	
	<i>0.66</i>	<i>visible</i>	<i>marron</i>	
	<i>0.71</i>	<i>visible</i>	<i>violet foncé</i>	
	<i>0.78</i>	<i>visible</i>	<i>marron clair</i>	
	<i>0.86</i>	<i>visible</i>	<i>violet</i>	
	<i>0.91</i>	<i>visible</i>	<i>violet</i>	
	<i>0.97</i>	<i>visible</i>	<i>rose</i>	

Les mêmes taches observées avec le décocté se retrouvent au niveau du macéré aqueux.

(Chromatogramme n°1)

2.3.1.4. Chromatogrammes des extraits obtenus par séparation liquide-liquide de l'extrait aqueux total.

Tableau N°11: Résultats de la CCM de fraction ether de pétrole de l'extrait aqueux total.

<i>EXTRAIT</i>	<i>Rf</i>	<i>Observation à 254 nm</i>	<i>fluorescence à 366 nm</i>	<i>Godin</i>
<i>Ether de pétrole (séparation liquide-liquide)</i>	0.01	visible	rose	violet
	0.02	visible	rose	
	0.06	visible	jaune	
	0.10	visible	rose	
	0.15	visible	rose	
	0.17	visible	rose	
	0.20	visible	rouge	
	0.26	visible	rouge	vert
	0.31	visible	rouge	
	0.40	visible	rouge	vert
	0.47	-	-	violet ++
	0.51	visible	rose	
	0.56	visible	rose	violet
	0.58	visible	rose	
	0.67	visible	-	
	0.71	visible	rose	violet
	0.76	visible	rose	-
	0.82	visible	bleuâtre	violet
	0.88	visible	maron-jaune	violet ++

Les taches à Rf égal 0,2; 0,26; 0,31; et 0,4 apparaissent de couleur verte à l'oeil nu.

(Chromatogramme n°2)

Tableau N°12 : Résultats de la CCM de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux total.

<i>EXTRAIT</i>	<i>Rf</i>	<i>Observation à 254 nm</i>	<i>Fluorescence à 366 nm</i>	<i>Godin</i>
<i>Acétate d'éthyle</i>	0.55	<i>visible</i>	<i>orange</i>	<i>Jaune</i>
	0.60	<i>visible</i>	<i>violet foncé</i>	
	0.65	<i>visible</i>	<i>marron</i>	
	0.68	<i>visible</i>	<i>maron</i>	<i>Orange</i>
	0.73	<i>visible</i>	<i>violet foncé</i>	
	0.78	<i>visible</i>	<i>marron</i>	<i>Orange</i>
	0.83	<i>visible</i>	<i>violet foncé</i>	<i>Rose</i>
	0.91	<i>visible</i>	<i>violet foncé</i>	<i>Orange</i>
	0.96	<i>visible</i>	<i>rose</i>	

Tous les constituants de cet extrait sont visibles à 254 nm et présentent une fluorescence à 366 nm (chromatogramme n°1).

Tableau N°13 : Résultats de la CCM de la fraction butanolique et la phase aqueuse épuisée de l'extrait aqueux total.

<i>EXTRAIT</i>	<i>Rf</i>	<i>Observation à 254 nm</i>	<i>Fluorescence à 366 nm</i>	<i>Godin</i>	
<i>Buthanolique</i>	0.14	-	bleuâtre	<i>jaune</i>	
	0.20	-	marron		
	0.55	visible	orange		
	0.60	visible	violet foncé		
	0.66	visible	marron		
	0.72	visible	violet foncé		<i>orange</i>
	0.78	visible	marron		
	0.91	visible	violet foncé		
<i>Aqueux épuisé</i>	0.14	-	bleuâtre	<i>jaune</i>	
	0.20	-	marron		
	0.41	visible	-		
	0.55	visible	orange		
	0.60	visible	violet foncé		
	0.66	visible	marron		

L'extrait aqueux épuisé présente moins de taches que les autres extraits aqueux chromatogramme n°1).

La CCM nous a permis de contrôler la qualité de nos différents extraits, même si elle n'est pas suffisante pour identifier un constituant précis, elle nous a permis d'obtenir des renseignements utiles sur les éléments constitutifs de nos extraits (fluorescence, coloration, Facteur de Rétention...) (**Figure n°5 et 6**).

Les observations à 254 nm et à 366 nm nous permettent de faire les commentaires suivants sur la chromatogramme 1.

La tache à $R_f = 0.55$ apparaît au niveau de tous les extraits ayant migré dans le chromatogramme 1 à 254 nm. Elle a une fluorescence jaune intense ou orange à 366 nm et se colore en jaune intense après révélation au Godin. Cette coloration serait une indication sur la présence de flavonoïdes.

Les taches à Rf 0.55 ; 0.6 ; 0.66 ; 0.72 ; 0.8 et 0.85 apparaissent à 254 nm et à 366 nm au niveau de l'extrait aqueux total (décocté), du macéré, de l'extrait aqueux 100⁰ C et également au niveau de l'extrait acétate d'éthyle et de l'extrait méthanolique. Elles ont une fluorescence allant du marron au violet foncé. Certains se colorent au godin, ce qui constitue une indication sur la présence de polyphénols.

Les taches à Rf 0.13 et 0.2 de fluorescence bleuâtre et marron à 366 nm sont présentes dans tous les extraits sauf dans l'extrait acétate d'éthyle. La coloration bleuâtre pourrait être dû à la présence de coumarines dans les extraits polaires.

La migration montre le plus faible nombre de taches au niveau des extraits aqueux épuisé et aqueux 50⁰ C. Par contre l'extrait décocté et l'extrait aqueux 100⁰ C présentent un plus grand nombre de taches.

Il ressort que la majorité des substances passent dans l'eau. Ceci justifie la forme d'utilisation traditionnelle qui est le décocté.

2.3.2. DOSAGE DES POLYPHENOLS

Le taux de constituants polyphénoliques de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera* a été obtenu à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec des concentrations précises de rutine (**Figure n°7**). La quantité de constituants polyphénoliques de l'extrait aqueux est de 106,8 mg, exprimée en rutine par gramme de drogue sèche.

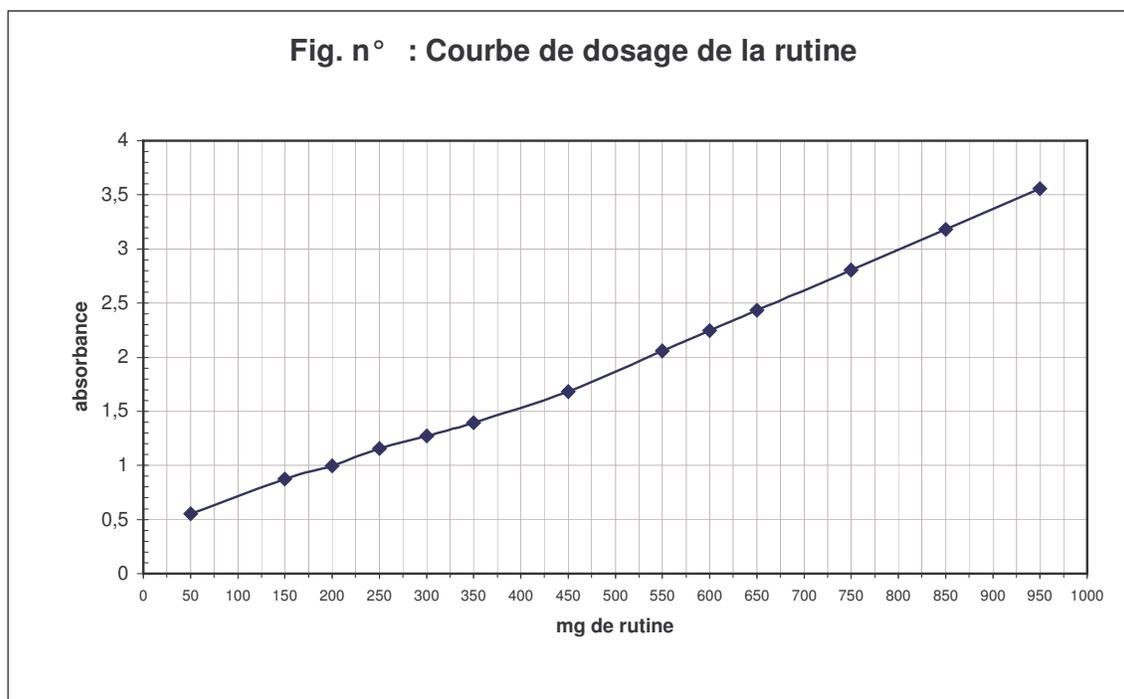


Figure N°7 : La courbe de dosage de la rutine.

Ce résultat confirme la grande richesse de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica* en substances polyphénoliques.

2.4. LES TESTS D'ACTIVITES BIOLOGIQUES

2.4.1. Les activités biologiques *in vitro*

2.4.1.1. Activité anti-radicalaire contre de DPPH

Les chromatogrammes des différents extraits de *Mangifera* révélés par une solution de DPPH, présentent de nombreux constituants qui apparaissent sous forme de spots de couleur Jaune-blanc sur fond violet.

Les constituants avec les RF

- 0,55; 0,6; 0,71; 0,78; 0,86 de l'extrait aqueux,
- 0,55; 0,6; 0,65; 0,68; 0,73; 0,78; 0,83; et 0,91 de l'extrait acétate d'éthyle,

- 0,55; 0,6; 0,66 et 0,72 de l'extrait buthanolique,
- 0,55 de l'extrait aqueux épuisé,
- 0,55; 0,72; et 0,8 du macéré aqueux,
- 0,55; 0,6; 0,66; 0,72; 0,76; 0,8 et 0,85 de l'extrait méthanolique,
- 0,55 des extraits aqueux 50°C et 100°C

du chromatogramme n°1 décolorent le DPPH (Figure N°8)

Ces constituants, capables de réduire le radical DPPH oxydant, donnent des indications intéressantes pour une activité antiradicalaire des extraits de *Mangifera indica*.

2.4.1.2. Activité antifongique des extraits de feuilles de *Mangifera indica*

Dans nos conditions expérimentales, les extraits des feuilles de *Mangifera indica*, ne possèdent pas d'activité antifongique contre les souches de *Candida albicans* isolées au niveau du laboratoire de l'hôpital du Point G.

2.4.1.3. L'activité hémostatique

TEMPS DE COAGULATION DU SANG TOTAL

Tableau N°14 : Résultats sur le temps de coagulation du sang total en présence d'extraits de *Mangifera*

Extraits	Temps de coagulation du sang en minute							
	Tu be	La me	Tu be	La me	Tu be	La me	Tu be	La me
	10 µl		25 µl		50 µl		100 µl	
Témoin	12, 38	12, 07	12, 38	12, 07	12, 38	12, 07	12, 38	12, 07
Décocté	17	---	4,3 0 (65 %)	5,3 0 (56 %)	---	10, 30 (14 %)	H	H
Ether pétrole	7 (43 %)	---	8 (35 %)	9 (25 %)	7 (43 %)	14	10 (19 %)	---
Extrait épuisé	6,3 0 (49 %)	---	---	---	---	---	---	---

A la dose 25 µl le lyophilisat de décocté des feuilles de *Mangifera indica* provoque une diminution du temps de coagulation du sang in vitro en tube (65 %) et sur lame. C'est une diminution qui n'est pas dose dépendante, elle disparaît avec l'augmentation de la dose d'extrait. Ce résultat est une indication intéressante en faveur d'une activité hémostatique de l'extrait de *Mangifera indica*.

Temps de recalcification du plasma :

Tableau N°15 : Résultats sur le temps de recalcification du plasma en tube de l'activité en présence de l'extrait aqueux total de *Mangifera*

Nombre de lecture	Témoin	Décocté (10 µl)
1	3,30	2,30
2	3,30	2,30
3	3,30	2,30
4	3,30	3,00
5	4,30	3,30
6	5,00	3,30
7	5,30	4,00
8	6,00	4,00
9	5,30	4,00
10	5,30	4,00
Moyenne ± D.S.	4,44 ± 1,06	3,25 ± 0,75*
Pourcentage de diminution	26,8%	
Test <i>t</i> de Student	*P < 0,0001 très significatif	

A la dose de 10 µl, le décocté confère une diminution du temps de recalcification de 26,8% (P<0001 très significatif). Même avec le test de recalcification plus sensible que le test de

coagulation du sang total, le décocté provoque une diminution, ce qui confirme davantage une propriété hémostatique significative.

TEST DE COAGULATION DU LAIT

La coagulation du lait par l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera*, nous confirme la richesse de cet extrait en tanins. Les tanins étant doués entre autres de propriétés astringentes, cela est en faveur d'une vasoconstriction, un paramètre qui intervient dans l'hémostase.

2.4.2. Les activités biologiques *in vivo*

2.4.2.1. La toxicité aiguë : dose létale 50 (DL₅₀)

DL₅₀ par voie orale:

La DL₅₀ du lyophilisat obtenu de la décoction supérieure à 3 g d'extrait par kg de poids corporel. En tenant compte du rendement de l'extrait lyophilisé (17,85 %), il apparaît que la DL₅₀ du décocté est supérieure à 16,80g de drogue sèche de feuilles de *Mangifera indica*. Le lyophilisat du décocté n'est donc pas toxique par voie orale en une prise unique.

DL₅₀ par voie intrapéritonéale :

Tableau N°16 : Etude de la DL₅₀ du lyophilisat des feuilles de *Mangifera indica* par voie intrapéritonéale.

Dose (mg/kg)	Nombre de souris Testées	Nombre de souris mortes	% de morts
500	6	0	0
750	6	0	0
1000	6	1	16,67
1250	6	5	83,33
1500	6	6	100

La dose létale 50 (DL₅₀) a été calculée grâce à la courbe de TREVAN (Figure N°9)

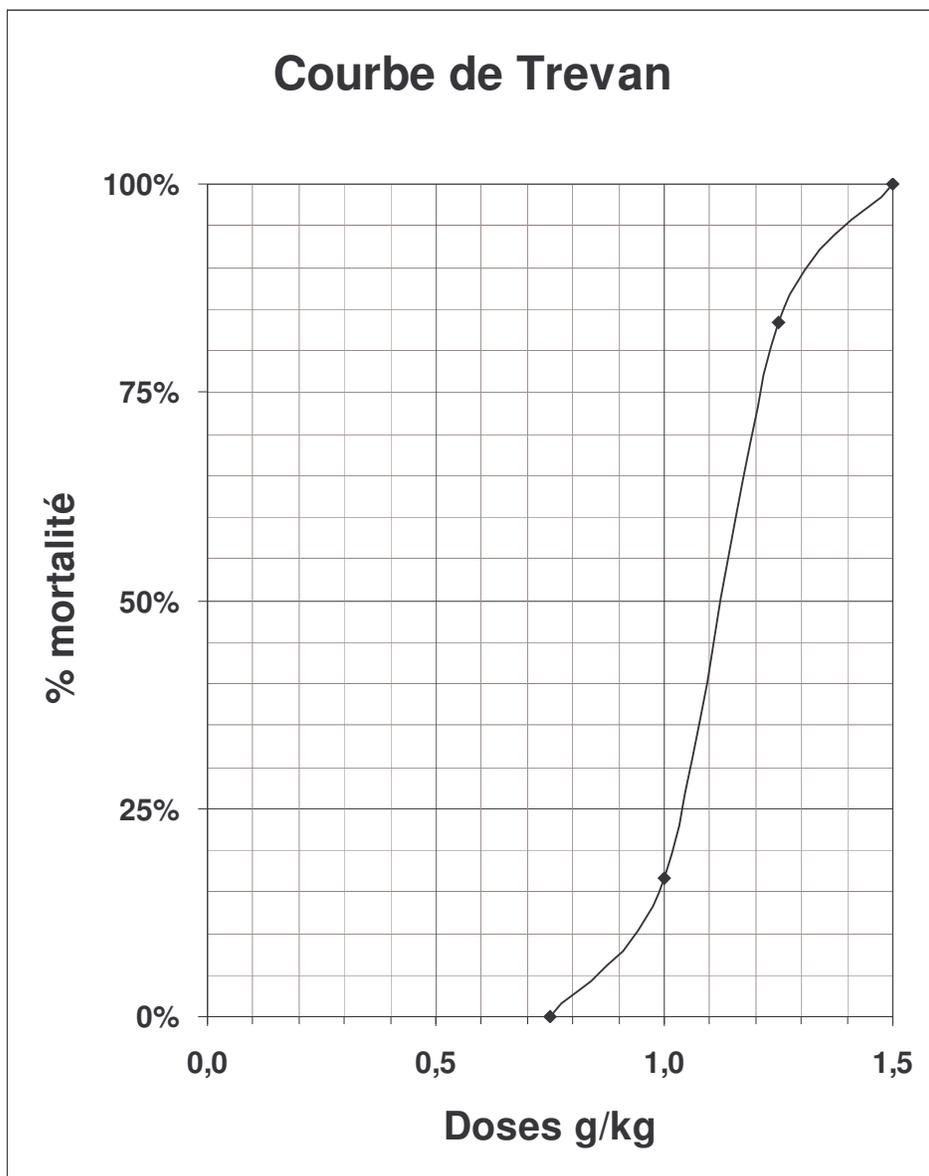


Figure N°9 : Courbe de TREVAN

La DL_{50} du lyophilisat administré par voie intrapéritonéale selon la courbe de Trevan est de $1100 \pm 102, 10$ mg/kg de poids corporel. Si nous tenons compte du rendement de l'extraction (17,85%), il apparaît que la DL_{50} du lyophilisat du décocté des feuilles de *Mangifera* est de 6,16 g de drogue sèche par kg de poids corporel.

2.4.2.2. L'Activité antalgique

Activité antalgique par la méthode de la plaque chauffante «Hot plate»

Tableau N°17 : Activité antalgique de l'extrait aqueux de *Mangifera* par la méthode de la plaque chauffante « Hot plate» .

Produits	Doses (ml- mg/kg)	Avant admin.	Après administration			
			Temps de réaction en secondes % d'augmentation du temps de réaction			
		10 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Eau distillée	25	7,35±1,63	3,24±1,20 ----	5,17±0,06 ----	7,55±3,20 ----	3,78±1,89 ---
<i>Mangifera</i>	1000	2,75±0,82	3,50±1,54 -----	2,22±0,64 ----	2,15±1,18 ----	2,57±1,03 ----
Chlorhydrate de Tramadol	5	4,17±0,81	18,30±4,2* (338,84%)	24,67±4,70* (491,60%)	22,18±6,49* (431,89%)	9,88±3,79* (136,93%)

M = Moyenne de 20 souris; résultats exprimés en $M \pm DS$ (Déviation standard); (*P< 0,000001 à 0,001) test *t* Student.

Dans nos conditions expérimentales, Le décocté de feuilles de *Mangifera indica* ne présente pas d'activité antalgique centrale selon la méthode de la plaque chauffante. La validité de la méthode a été confirmée par l'effet analgésique centrale du médicament de référence le chlorhydrate de tramadol, qui protège les animaux vis à vis de la chaleur.

Activité antalgique vis à vis de la douleur chimique provoquée par l'acide acétique :
«Writhing test»

Tableau N°18 : Activité antalgique l'extrait aqueux de *Mangifera* contre les torsions provoquées par l'acide acétique : «Writhing test»

Produits	Dose (ml ou mg/kg)	Nombre de torsions M ± DS	% protection
Eau distillée	25	71,17 ± 6,49	----
<i>Mangifera</i>	500	48,17 ± 8,37*	32,32
<i>Mangifera</i>	1000	46,53 ± 9,85*	34,19
<i>Mangifera</i>	1500	41,33 ± 7,37*	41,92
Indométacine 25 mg	5	33,67 ± 3,50*	52,69
Chrorhydrate de Tramadol 50 mg	5	30,50 ± 6,71*	57,14

M = Moyenne de 6 souris ; résultats exprimés en M ± DS (Déviation standard); *P<0,01 test *t* Student.

L'extrait aqueux de *Mangifera* aux différentes doses, exerce un effet protecteur vis à vis de la douleur chimique. Les effets analgésiques obtenus avec les différentes doses, sont comparables aux effets analgésiques périphériques de l'indométacine testé à la dose de 25mg/kg. L'effet analgésique l'extrait est dose dépendante.

2.4.2.3. Activité anti-inflammatoire

Tableau N°19 : Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Mangifera* 3 heures après l'induction de l'œdème à la carragénine

Produits	Doses (ml ou mg/kg)	PPG-PPD M ± DS	% inhibition
Eau distillée	25	0,117 ± 0,008	----
<i>Mangifera</i>	250	0,094 ± 0,017**	19,86
<i>Mangifera</i>	500	0,094 ± 0,017**	19,86
<i>Mangifera</i>	1000	0,075 ± 0,028**	36,14
ASA [°]	100	0,074 ± 0,010**	36,86
Indométacine	5	0,089 ± 0,013**	23,43

M = Moyenne de 6 souris ; résultats exprimés en M ± DS (Déviation standard); **P<0,01 test *t* Student. °ASA= Acide Acétyle Salicylique.

L'EXTRAIT AQUEUX DE *MANGIFERA* AUX DIFFERENTES DOSES, PRESENTE UNE ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DANS LE TEST DE L'ŒDEME A LA CARRAGENINE CHEZ LA SOURIS. CHIMIQUE. A LA DOSE DE 1000 MG/KG, L'EFFET ANTI-INFLAMMATOIRE DE NOTRE EXTRAIT EST COMPARABLE A CELUI DE ACIDE ACETYLE SALICYLIQUE ADMINISTRE A LA DOSE DE 100MG/KG ET EST SUPERIEUR A CELUI DE L'INDOMETACINE A LA DOSE DE 5 MG/KG.

ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *MANGIFERA* DANS LE TEMPS :

Tableau N° 20 : Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Mangifera* dans le temps

Produits	Doses (ml ou mg/kg)	DP 1 h	DP 3 h	DP 5 h
Eau distillée	25	0,093 ± 0,134	0,117 ± 0,008	0,091 ± 0,007
<i>Mangifera</i>	1000	0,085 ± 0,021 (8,27%)	0,075 ± 0,028** (30,52%)	0,092 ± 0,017 (- 0,36%)

L'étude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de *Mangifera* dans le temps, nous a permis de confirmer son action sur la phase aiguë de l'inflammation, 3 heures après l'injection de la carragénine (30,52%). L'extrait aqueux présente un très faible effet anti-inflammatoire sur la phase initiale de l'inflammation avec seulement 8,27% d'inhibition. L'extrait ne présente aucun effet anti-inflammatoire 5h après la carragénine.

COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

Pour l'étude des activités biologiques des extraits de *Mangifera indica*, nous avons passé en revue la littérature scientifique existante sur la plante. De nombreuses études phytochimiques, pharmacologiques et toxicologiques et autres ont été effectuées sur les différentes parties de la plante comme en témoignent les résultats de nos recherches bibliographiques.

Pour ce qui est de nos travaux expérimentaux, nous avons effectué des études phytochimiques complémentaires pour mieux connaître les différents constituants des extraits des feuilles de *Mangifera*, des tests pour connaître les limites de toxicité de l'extrait aqueux et des tests biologiques pour évaluer les différentes propriétés pharmacologiques en rapport avec l'utilisation des feuilles de *Mangifera* en Médecine traditionnelle.

Pour nos différentes études nous avons travaillé aussi bien sur les extraits organiques que sur les extraits aqueux. Pour les études phytochimiques et les tests biologiques *in vitro*, nous avons analysé tous les différents extraits de feuilles de *Mangifera*.

Nous avons surtout utilisé la chromatographie sur couche mince non seulement pour la phytochimie mais aussi pour les tests anti-radicalaire à DPPH et bio autographique pour l'activité antifongique.

Compte tenu de la forme d'utilisation de la plante en MT, pour les tests de toxicité et d'activités biologiques nous avons surtout travaillé sur le lyophilisat obtenu par décoction de la poudre de feuilles de *Mangifera indica*. En effet, l'eau semble être le meilleur solvant pour extraire la majorité des constituants chimiques de la drogue (17,85% de rendement pour la décoction et 19,98% pour la macération dans l'eau).

Le taux de substances polyphénoliques du lyophilisat du décocté de *Mangifera* est de 106,8 mg/g de drogue exprimée en rutine par gramme sèche.

Les résultats de la chromatographie sur couche mince, confirment la richesse des extraits de feuilles de *Mangifera* en substances polyphénoliques comme les flavonoïdes (quercétine, l'isoquercétine kaempferol), d'acides phénols (acide protocatéchique, acide gallique), des anthocyanes (poenidine), des xanthones (mangiférine), des tanins déjà identifiés par d'autres auteurs dans des études précédentes (Hegnauer, 1964 ; Jacquemin, 1970 ; Sissi, 1970 ; Lu, 1982 ; Tanaka, 1984 ; Bagayoko, 2001). La plupart de ces constituants chimiques solubles dans l'eau peuvent en partie expliquer l'activité de l'extrait aqueux. Ce qui justifie le choix de l'extrait aqueux pour les tests biologiques en rapport avec l'utilisation thérapeutique des feuilles de *Mangifera indica*.

Le test antioxydant effectué sur plaque par révélation avec une solution de DPPH présente de nombreuses tâches anti-radicalaires comme le montre la figure N°8. Les extraits méthanolique, aqueux (décocté et macéré), les fractions acétate d'éthyle et butanolique ont montré la présence de nombreux composés capteurs de radicaux 1-1-diphényl-2-picrylhydrazyle.

L'activité antioxydante de ces extraits pourrait s'expliquer par leur richesse en substances polyphénoliques. De nombreuses études ont déjà montré les propriétés antioxydantes des tanins (Ohnishi et *coll.*, 1994)., des flavonoïdes, des anthocyanes et de leucoanthocyanes (Madhavi et *coll.*, 1996). Sato a montré au cours de ses travaux en 1992 que la mangiférine, de la classe des xanthones, possédait des propriétés anti-oxydantes significatives (Sato et *coll.*, 1992). Les xanthones présentent également des propriétés d'inhibition envers la peroxydation des lipides, des propriétés de capteurs de radicaux libres contre les anions superoxydes (Anderson et *coll.*, 1996). Le potentiel antioxydant de cette drogue est entre autre une donnée non négligeable dans le cadre des recherches menées sur les molécules anti-oxydantes.

Dans nos conditions expérimentales, les extraits des feuilles de *Mangifera indica*, ne possèdent pas d'activité antifongique contre les souches de *Candida albicans*. Nos résultats concordent avec ceux d'autres travaux précédents, en effet l'extrait éthanolique 60% de feuilles de *Mangifera* sur plaque d'Agar s'est montré inactif sur *Candida albicans* (Caceres et *coll.*, 1991).

Les résultats préliminaires obtenus à l'issu des tests hémostatiques, nous donnent des indications sur une possible activité hémostatique du décocté de feuilles de *Mangifera indica*. C'est une activité qui semble seulement se manifester à de petites doses, la diminution du temps de coagulation disparaît avec une augmentation de la dose de l'extrait (Tableau N° 14), c'est la dose de 25 µl du décocté qui provoque une diminution du temps de coagulation du sang total de 65 % en tube et de 56 % sur lame. A la dose de 100 µl d'extrait, nous n'avons pas obtenu une coagulation du sang.

La diminution du temps de coagulation du sang total a été confirmée par la détermination du temps de recalcification du plasma, qui est une méthode plus sensible. Nous avons observé vis à vis d'un témoin une diminution du temps de recalcification de l'ordre de 26,8 % pour une dose d'extrait de 10 µl.

N'ayant pas eu la possibilité de pousser la recherche jusqu'au niveau des facteurs de coagulation afin de confirmer ces résultats préliminaires et aussi de comprendre les possibles mécanismes d'action du décocté, nous avons effectué un test complémentaire: le test de coagulation du lait. Ce test est proposable dans la recherche d'activité hémostatique car il permet de se faire une idée de la présence de tanins qui sont reconnus pour leur activité astringente souhaitée en cas d'hémorragie.

La coagulation du lait nous a permis de confirmer la présence de tanins dans l'extrait aqueux de feuilles de *Mangifera indica* et par conséquent une activité astringente. Il est important de souligner ici que l'activité astringente est en faveur d'une vasoconstriction qui constitue un paramètre important dans l'hémostase. Les tannins possèdent ainsi une action hémostatique et vasoconstrictrice sur les petits vaisseaux d'où leur emploi contre les varices et les hémorroïdes : rappelons que le décocté de feuilles de *Mangifera* est utilisé traditionnellement en Inde dans les cas d'hypertension et de ménorragie (Chopra, 1933 ; Morton, 1968; Morton, 1974).

Les extraits de différentes parties de *Mangifera indica*, notamment les extraits d'écorces contenant également une forte proportion de substances polyphénoliques sont utilisés pour leur propriété astringente et tonique dans le traitement d'hémorroïdes, d'hémorragie pulmonaire (Deka et coll., 1983), de blessures (Dennis, 1988), d'hémorragie utérine (Suwal, 1970) et de dysménorrhées (Adjanohoun et coll., 1986).

Pour ce qui est de la relation structure activité, en dehors de leur propriété astringente, les tannins possèdent des propriétés voisines à celles des flavonoïdes, capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et d'augmenter leur résistance, le tonus veineux, stabilisation du collagène .

L'extrait aqueux des feuilles de Mangifera est très riche en beaucoup d'autres constituants polyphénoliques comme les anthocyanosides, les flavonoïdes qui sont reconnus être veinotoniques ou « veino-actifs », capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et d'augmenter leur résistance. C'est pour cela qu'ils trouvent des utilisations dans le domaine capillaro-veineux : comme vasculoprotecteurs et veinotoniques en phlébologie; dans le traitement des symptômes de l'insuffisance veinolympatique; dans le traitement des signes fonctionnels de la crise hémorroïdaire; et dans les troubles de la fragilité capillaire au niveau de la peau, de la muqueuse gingivale (Deka et coll., 1983; Morton, 1968; Morton, 1974; Le Grand, 1989; Muanza et coll., 1994).

Ces différents constituants chimiques présents dans l'extrait aqueux de Mangifera indica pourrait expliquer d'une manière et d'une autre l'activité hémostatique observée à l'issu de nos travaux.

Avant d'effectuer les recherches pharmacologiques sur l'extrait aqueux, nous avons d'abord déterminé la dose létale 50 par voie orale et par voie intrapéritonéale. Concernant la dose létale 50 par voie orale, jusqu'à 3g d'extrait par kg (soit 16,806 g de drogue sèche) nous n'avons observé aucune mortalité après 48 heures d'observation.. Cependant par voie intrapéritonéale la dose létale 50 à 24H est de $1100 \pm 102,10$ mg/kg d'extrait aqueux (soit $6,162 \text{ g} \pm 0,57$ g de drogue sèche / kg).

Le lyophilisat du décocté de feuilles de *Mangifera indica* n'est pas toxique par voie orale en une prise unique.

Dans nos conditions expérimentales, Le décocté de feuilles de *Mangifera indica* ne semble pas avoir une activité antalgique centrale selon la méthode de la plaque chauffante. Le Tramadol, antalgique central de référence testé dans les mêmes conditions a présenté une augmentation du temps de réaction de 338,84 %, 491,60 %, 431,89 %, 136,93 %, respectivement 30min, 60min, 90min, et 120min après son administration aux souris.

Par contre avec le Writhing test le décocté de feuilles de Mangifera indica s'est révélé antalgique. Avec cette méthode, L'extrait aqueux de Mangifera aux différentes doses, exerce un effet protecteur vis à vis de la douleur chimique. Les effets analgésiques obtenus avec les différentes doses, sont comparables aux effets analgésiques périphériques de l'indométacine testé à la dose de 25mg/kg. Nous avons obtenu une inhibition de 32,32%, 34,19 % et 41,92 % respectivement aux doses de 500, 1000 et 1500 mg de drogue sèche par kg de poids corporel.

Ces données nous permettent de suggérer l'extrait aqueux contre la douleur au niveau périphérique comme l'indométacine et non pas au niveau centrale comme les morphiniques

Les résultats obtenus à l'issu des tests anti-inflammatoires montrent que l'extrait aqueux de *Mangifera* réduit de façon appréciable l'œdème induit par la carragénine.

En effet à la dose de 1000 mg/kg exprimée en drogue sèche, soit 178,5 mg d'extrait administré par gavage gastrique, l'inhibition de l'œdème 3 heures après la carragénine est de 36,14 %, comparable, dans les mêmes conditions à celle de l'aspirine à 100 mg/kg qui est de 36,86 % et est supérieure à l'effet de l'indométacine, qui administrée à la dose de 5 mg/kg provoque une inhibition de 23,43 % seulement.

Pour ce qui est de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Mangifera indica* dans le temps, nos résultats montrent qu'elle est seulement de 8,27 % d'inhibition sur la phase précoce de l'inflammation, de 30,52 à 36,14 % d'inhibition sur la phase aiguë. L'extrait ne semble pas avoir un effet sur la phase tardive de l'inflammation (Tableau N° 20).

L'œdème est provoquée par la carragénine dans la patte de la souris ou du rat. Il a été reporté que l'œdème provoquée par la carragénine dans la patte de la souris comporte trois phases distinctes: une première phase qui fait intervenir l'histamine et la 5-hydroxytryptamine qui favorisent la vasodilatation, la transsudation plasmatique et l'œdème; une seconde phase qui fait appel aux kinines comme médiateurs augmentent la perméabilité vasculaire et une troisième phase dont le médiateur est supposé être la prostaglandine (Wang et Mineshita, 1996). Cette libération de prostaglandines est associée à la migration leucocytaire dans la zone enflammée. Les prostaglandines interviennent dans les processus inflammatoires aigus ou chroniques.

Le test utilisant l'œdème provoqué par la carragénine trouve un intérêt particulier à ce stade de notre travail dans la mesure où c'est un test dans lequel la participation des dérivés de la cyclo-oxygénase produits au cours du métabolisme de l'acide arachidonique, et la production des espèces réactives à l'oxygène sont bien établies (Smith et coll., 1974).

Les médicaments anti-inflammatoires interviennent en général en s'opposant à l'effet de ces médiateurs chimiques: histamine, sérotonine, kinines et prostaglandines.

Nos résultats nous feraient penser que l'extrait aqueux de feuilles de *Mangifera indica* inhiberait de médiateurs de l'inflammation surtout la production des prostaglandines comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens (Acide acétyle salicylique et l'indométacine) utilisés comme médicaments de référence dans nos tests.

La richesse l'extrait aqueux de *Mangifera* en constituants polyphénoliques capables de piéger les radicaux libres, empêcherait la formation des prostaglandines qui provoquent l'inflammation. L'activité anti-oxydante de l'extrait aqueux de *Mangifera* est donc un atout supplémentaire pour son utilisation comme médicament anti-inflammatoire.

Ces résultats apportent donc une justification scientifique à l'utilisation traditionnelle des feuilles de manguier dans le traitement d'inflammation oculaire (Anis et Iqbal, 1994) de rhumatisme, d'angine et de douleurs dentaires (Gupta et coll., 1979; Le Grand, 1989). Les préparations aqueuses traditionnelles trouveraient de ce fait une indication thérapeutique comme antalgique et anti-inflammatoire comme l'Aspirine.

Les substances polyphénoliques du décocté de feuilles de *Mangifera* pourraient en partie expliquer ces activités. La littérature attribue aux flavonoïdes (quercétine, kaempférol), aux

acides phénols (acide protocatéchique, acide gallique), aux anthocyanes (poenidine), aux xanthones (mangiférine) une activité anti-inflammatoire (Jeffrey et Herbert, 1995). Pour ce qui concerne la relation structure activité, les flavonoïdes sont des inhibiteurs de la 5-lypooxygénase, donc de la production des prostaglandines et des leucotriènes, qui sont médiateurs de l'inflammation et des manifestations allergiques. Ainsi, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Mangifera indica* peut être due en partie à la présence de ces molécules précitées dont les flavonoïdes.

Les différentes activités pharmacologiques (anti-oxydante, hémostatique, antalgique et anti-inflammatoire) s'observent à des doses de drogue sèche plusieurs inférieures aux doses de la dose létale 50 aussi bien par voie orale (16 fois) que par la voie intrapéritonéale (6 fois). Cela est d'autant plus intéressant quand nous savons que la voie la plus commune utilisée par les populations est celle orale.

Il est intéressant d'analyser la relation entre les activités pharmacologiques confirmées au cours de nos études expérimentales et les affections traitées par le décocté des feuilles de *Mangifera indica* en médecine traditionnelle. Dans le tableau résumant les utilisations traditionnelles mentionnées au chapitre 2.2, les extraits de feuilles et d'écorces sont utilisés en médecine traditionnelle entre autre pour traiter les caries dentaires, les gingivites, les douleurs dentaires (Le Grand, 1989; Chabra et coll., 1987; Muanza et coll., 1994; Gupta et coll., 1979; Patel et coll., 1988).

Dans chacun de ces maux, le malade se plaindra de douleurs, d'inflammation, souvent de saignements ou d'atteinte de la dent. Le traitement nécessite donc une molécule anti-inflammatoire, un antalgique pour palier à l'odontalgie, un hémostatique contre les saignements, une protections des petits vaisseaux de la gencive, des antifongiques en cas de mycoses buccales et aussi des antibiotiques contre une atteinte bactérienne.

Les travaux effectuées jusqu'ici sur *Mangifera indica* ont montré que les écorces possèdent une propriété antalgique, anti-inflammatoire et anti-oxydante (Martinez et coll., 2000 ; Gabino et coll., 2001). L'extrait aqueux des feuilles est actif sur l'espèce *Actinomyces* et sur les plaques bactériennes. L'extrait additionné à une pâte dentifrice a montré une activité inhibitrice des plaques dentaires nettement supérieure à celle des pâtes dentifrices commerciales testées seules (Patel et

coll., 1988). Il est également actif sur *Bacteroides gingivalis*, *Pseudomonas saccharophila*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus viridans*.

En outre sur 50 patients présentant une parodontite suppurative chronique traités avec l'extrait de feuilles de *Mangifera indica*, *Camellia sinensis*, *Murray koenigii*, *Ocimum basilicum*, 40 patients ont montré une amélioration avec une baisse de 50 % de la population bactérienne (Patel et *coll.*, 1988).

Ces données bibliographiques et les résultats de nos études expérimentales constituent une confirmation de certaines activités pharmacologiques de la plante et permettent de proposer l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera* dans le traitement des affections précitées.

Le décocté qui est la forme traditionnellement employée pourrait effectivement être utilisé à dose de 1000-1500 mg/kg de drogue sèche en cas d'inflammation, d'odontalgie, contre *Bacteroides gingivalis* bref dans certaines affections buccodentaires mais pas comme antifongique contre *Candida albicans* en cas de muguet par exemple. Il faut cependant se rappeler d'utiliser le décocté en petites doses en cas de saignement dentaire.

L'utilisation du décocté de feuilles dans les affections bucco-dentaires serait ainsi justifiée. Ce extrait n'ayant pas présenté de mortalité chez la souris, son utilisation par la population ne présenterait donc pas de risque à la dose d'activité.

CONCLUSION

Les résultats de nos recherches bibliographiques et de nos études expérimentales nous ont permis de mieux connaître *Mangifera indica* sous différents aspects :

Les différents extraits ont été préparés, analysés par la chromatographie sur couche mince pour confirmer la présence de substances polyphénoliques déjà identifiés dans les feuilles.

Les différentes activités pharmacologiques, anti-oxydante, hémostatique, antalgique et anti-inflammatoire l'extrait aqueux de feuilles de *Mangifera indica* ont été confirmées permettant ainsi de justifier et de confirmer les indications thérapeutiques des formulations traditionnelles à base des feuilles de *Mangifera indica*. Nous avons pu également confirmer l'innocuité de l'extrait aqueux de feuilles de *Mangifera indica* aux doses thérapeutiques.

Etant donné que le décocté des feuilles de *Mangifera indica* ne présente pas de toxicité, l'utilisation de cette forme traditionnelle peut effectivement être envisagée dans le traitement d'affections bucco-dentaires afin de soulager le malade.

Les préparations aqueuses traditionnelles peuvent être proposées en thérapeutique comme antalgique et anti-inflammatoire comme l'Acide acétylsalicylique. Elles sont favorables à la production d'un MTA à utiliser dans les affections bucco-dentaires.

Dans le cadre du programme de recherches préconisées par le DMT pour la production d'un MTA à base des trois plantes indiquées par la recette dont les feuilles de manguier, il faudra tenir compte des différentes doses aux quelles il y a une activité biologique.

L'extrait aqueux de feuilles du manguier constituerait dans ce cas une source avantageuse de médicament traditionnelle améliorée très accessible et reviendrait moins cher aux populations.

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie

Aderibigbe, A O; Emudianughe, T S; Lawal, B A. Antihyperglycaemic effect of *Mangifera indica* in rat. *Phytother. Res.* 1999; **13**:504-507.

Alam, M. M., M. B. Siddiqui and W. Husain. Treatment of diabete through herbal drugs in rural India. *Fitoterapia* 1990; **61**(3): 240-242.

Anderson, C.M., Hallberg, A. et Hogberg, T. (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug Res* 28, 65-180.

Anis, M. and M. Iqbal. Medicinal plantlore of Aligarh, India. *Int J Pharmacog* 1994 ; **32**(1):59-64.

Anjaneyulu, V.; Prasad, K.; Harischandra, K.; Rao, G. Sambasiva, 1982. Triterpenoids of the leaves of *Mangifera indica*. *Indian J. Pharm. Sci.*, vol.**44**. n°3, p.58-9.

Anjaneyulu, V.; Prasad, K. H.; Rao, G. S. - 1982. Triterpenoids of roots-bark of *Mangifera indica*. *Indian J Pharm Sci*, Vol.**44**, n°4, p.85- 7.

Anjaneyulu, V.; Prasad, K. Harischandra; Ravi, K.; Connolly, J. D., 1985. Triterpenoids from *Mangifera indica*. *Phytochemistry*, vol. **24**, n° 10, p.2359.

Anjanayum, V.; Suresh Babu, J.; Murali Kishna, M.; Connolly, J.D., 1993 - 30x0-20s, 24R-Epoxy-Dammarane-25, 26-diol from *Mangifera indica*. *Phytochemistry*, vol. **32**, n°2, p.469-71.

Aswal, B. S., D. S. Bhakuni, A. K. Goel, K. Kar, B.N. Mehrotra and K.C. Mukherjee. Sreening of Indian plants for biological activity. Part X. *Indian J Exp Biol* 1984; **22**(6): 312-332

Bakayoko, Mama (2001). Etude botanique et phhytochimique de trois plantes médecinales en vue de la production d'un médicament traditionnel amélioré (MTA). Thèse de la faculté de Médecine, Pharmacie et d'odonto-stomatologie du MALI, Bamako, 76p.

Bate-Smith, E.C., 1962. Th phenolic constituents of plants and their taxonomix significance. *J. Linn Soc. (Bot)* vol.**58**, p.95-173.

Bernard J., J.P. Levy, B. Varet, J.P.Claudel, J.D. Rain, Y.Sultan, 1996. Abrégé Hémétologie, 8eme édition Masson, Paris ; 349p.

Billore, K. V. and K.C. Audichya. Some oral contraceptives-family planning tribal way. *J Res Indian Med yoga Homeopathy* 1978 ; **13**: 104-109.

Burkhill, I. H. Dictionary of the economic products of the Malay Peninsula. Ministry of agriculture and cooperatives, Kuala Lumpur, Malaysia. Volume II, 1966.

Caceres, A., E. Jauregu, D. Herrera and H. Logemann. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal infections. 1. Screening of 38 plants extracts for anticandidal activity. *J Ethnopharmacol* 1991; **33**(3) : 277-283.

Calvin A., 2001. Investigation phytochimique de trois plantes indonesiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires. *Tinospora crispa*, *Merremia emarginata* et *Orophea enneandra*. Thèse Université de Lausanne; 243p.

Chabra, S. C., R. L. A. Mahunnah and E. N. Mshiu. Plants used in traditional medicine in easterne Tanzania. I. Pteridiphytes and angiosperms (Acanthaceae to Canellaceae). *J Ethnopharmacol* 1987; **21**(3): 253-277.

Chauhan, J. S., N. K. Singh and S. V. Singh. Screening of heigher plants for specific herbicidal principe active against dodder, *Cuscuta reflexa* Roxb. *Indian J Exp Biol* 1989; **27**(10): 877-884.

Chopra, R. N. Indigenous drugs of India. Their medical and economic aspect. The art press, Calcutta, India, 1933; 550 pp.

Dabou Kizito, 1999. Analgésie post opératoire à la Clonidine par voie péridurale. Thèse de médecine, Bamako 96 p.

Daels-rakotoarison Dominique, 1999. Extraits polyphénoliques d'aubepine, de cola et d'eglantier : Etude phytochimique et effets sur les métabolismes oxydatifs et protéolytiques des polynucléaires neutrophiles humains. Thèse de doctorat de l'université de LilleII, Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques, LilleII, France ;172(64).

Darias,V., L. Brando, R. Rabanal, C. Sanchez Mateo, R.M. Gonzalez Luis and A.M. Hernandez Perez. New contribution to the ethnopharmacological study of the Canary Islands. *J Ethnopharmacol* 1989; **25**(1): 77-92.

Darguere Jean-Marc, 2001. Le sélénium. <http://compalim.free.fr/compl/selenium.htm>

Das, P. C., A. Das, S. Mandal, C.N. Islam, M. K. Dutta, B. B. Patra, S. Sikdar and P.K. Chakrabartty. Antiinflammatory and antimicrobial activities of the seed kernel of *Mangifera indica*. *Fitoterapia* 1989; **60**(3): 235-240.

Deka, L., R. Majumdar and A. M. Dutta. Some Ayurvedic important plants from district Kamrup (Assam). *Ancient Sci Life* 1983; **3**(2):108-115.

Dennis, P. A. Herbal medicine among the miskito of eastern Nicaragua. *Econ Bot* 1988; **42**(1): 16-28.

Diogenes, M. J. N., S. M. De Morias and F.F. Carvalho. Perioral contact dermatitis by cardol. *Int J Dermatol* 1995; **34**(1):72,73.

Evans, D.A. and R. K. Raj. Extracts of indian plants as mosquito larvicides. *Indian J Med Res* 1988; **88**(1): 38-41.

- Feroz, H., A. K. Khare and M. C. Srivastava. Review of scientific studies on anthelmintics from plants. *J Sci Res Pi Med* 1982 ; **3**:6-12.
- Gabino Garrido, Deyarina Gonzalez, Carla Delporte, Nadine Backhouse, Gypsy Quintero, Alberto J. Nùñez-Sellés et Miguel A. Morales. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract (Vimang). *Phytother. Res*, 2001, **15**:18-21.
- Gorgue, C. M. P., M. M. J. Champ, Y. Lozano and J. Delort-Laval. Dietary fiber from mango by products. Characterization and hypoglycemic effects determined by in vitro methods. *J Agr Food chem* 1992; **40**(10): 1864-1868.
- George, M. and K. M. Pandalai. Investigations on plant antibiotics. Part IV. Further search for antibiotic substances in indian medicinal plants. *Indian J Med Res* 1949; **37**:169-181.
- Gupta, M. P., T. D. Arias, M. Correa and S. S. Lamba. Ethnopharmacognostic observations on Panamanian medicinal plants. Part 1. *Q J Crude Drug Res* 1979 ; **17**(3/4): 115-130.
- Halliwell, B. (1996). Antioxydants in human health and disease. *Annu. Res. Nutr.* **16**, 33-50.
- Harman, D. (1992). The flavonoids. Advances in Research since 1986. Chopaman and Hall, London.
- Hegnauer, R., 1964. Chemotaxonomie des pflanzen. III- Ed. Birkhäuser verlag. P.95-115.
- Hostettman K. et Hostettman M. (1989). Xanthones. Dans Methods in plant biochemistry, Vol. 1 (Harborne, J.B. Edit). Academic Press, London p.493-508.
- Huang, M.T. et Ferraro, T. (1991). Phenolic compound in food and cancer prevention. Phenolic compounds in food and their effect on health, Vol II (Hang, M.T., HO, C.T. and Lee, C.V., Edit.). American chemical Society, Washington, 8-34.
- Ivan A. Ross. Medicinal plants of the world. Chemical constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses. Humana press Totowa, New Jersey USA 1999; p.197-205.
- Jacquemain, H., 1970. Recherche sur les anthocyanes foliaires de trois arbres tropicaux (*Mangifera indica* L., *Theobroma cacao* L., *Lophira alata* Banks ex Gaertn.f.). *Pl. Med. et phytotherapie*- vol.4, p.230-59 et p.306-341.
- Jacquemain, H., 1970. Recherche sur les anthocyanes foliaires de trois arbres tropicaux (*Mangifera indica* L., *Theobroma cacao* L., *Lophira alata* Banks ex Gaertn.f.). *Pl. Med. et phytotherapie*- vol.5, p.45-94.
- Jain, S. R. and S. N. Sharma. Hypoglycaemic drugs of Indian indigenous origin. *Planta Med* 1967; **15**(4): 439-442.
- Jang, M., Lung, C, Udeani,, G.O., Slowing, K.V. et Pezzuto, J.M. (1997). Cancer Chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derivated from grapes. *Science* **275**, 218-220.

- Jeffrey B. Harborne and Herbert Baxter. *Phytochemical dictionary*; Edition Taylor et Francis 1995.
- John, D. One hundred useful raw drugs of the Kani tribes of Trivandrum Forest Division, Kerala, India. *Int J Crude Drug Res* 1984 ; **22**(1): 17-39.
- Kambu, K., L. Tona. S. Kaba, aaak. Cimanga ang N. Mukala. Antispasmodic activity of extracts proceeding of plant antidiarrheic traditional preparations used in Kinshasa, Zaire. *Ann Pharm Fr* 1990; **48**(4): 200-208.
- Kapur, R. D. Action of some indigenous drugs on uterus. A preliminary note. *Indian J Med Res* 1948; **36**:47.
- Kerarho, J.; Adam, J.G., 1974. La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques. Paris, Vigot frères Ed. P.138.
- Kloss, H., F. W.Thiongo, J. H. ouma and A. E. Butterworth. Preliminary evaluation of some wild and cultivated plants from srail control in Machakos District, Kenya. *J Trop Med Hyg* 1987; **90**(4): 197-204.
- Konipo A. ,2001. Etude de Marché des Médicaments Traditionnels Améliorés et mise au pont d'une pommade dermique à base de *Mitracarpus scaber*. Thèse de doctorat à la Faculté de Médecine, Pharmacie et d'odonto-stomatologie du Mali, Bamako ; 77p.
- Koshimizu, K., H. Ohigashi, H. Tokuda, A. Kondo and K. Yamaguchi. Screening of edible plants against possible anti-tumor promoting activity. *Cancer Lett* 1988; **39**(3): 247-257.
- Krinsky, N.I. (1989). Antioxidant functions of carotenoids. *Free Rad. Biol. Med.* **7**, 617-635.
- Larousse, 1995. Dictionnaire médicale, édition Larousse, Paris (1039).
- Larson, R.A. (1995). Antioxidant Mechanisms of secondary Natural Products, in *Oxidative Stress and Antioxidant defense in Biology*. Ed. Ahmad, London.
- Laughton, M.J., Halliwell, B., Evans, P.J. et Hault, J.R.S. (1989). Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin gossypol and myricetin. *Biochem. Pharmacol.* **38**, 2859-2865.
- Lee R.I, White P.D A clinical study of coagulation time of blood. *Amer. J. Med. Sci*, 1913, 145, 495
- Le Grand, A. Anti-infectious phytotherapy of the tree-savannah, Senegal (western africa) III: A review of the phytochemical substances and antimicrobial activity of 43 species. *J Ethnopharmacol* 1989; **25**(3):315-338.
- Levy, L. Carragenan paw edema in the mouse. *Life Sci.* 1969 ; **8**, 601 -606
- Lu, Zonghyi; MAO, H.; HE, M.; Lu, S., 1982. Studies on the chemical constituents of mango (*Mangifera indica*) leaf. *Zhongcaoyao-* vol.**13**, n°3, p.3-6.

Lutete, T., K. Kambu, D. Ntondele, K. Cimanga and N. Luki. Antimicrobial activity of tannins. *Fitoterapia* 1994; **65**(3) : 276-278.

Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. et Salumkhe, D.K. (1996). Food antioxidants, Technological, Toxicological, and health perspectives. Marcel Dekker, New York.

Maheshwari, M. L. and S. K. Mukerjee. Lipids and Phenolics of healthy and malformed panicles of *Mangifera indica*. *Phytochemistry* 1975 ; **14**:2083,2084.

Malcolm, S.A. and E. A. Sofowora. Antimicrobial activity of selected Nigerian folk remedies and their constituent plants. *Lloydia* 1969 ; 32:512-517.

Michels, C., Paes, M., Toussaint, O. et Remacle, J. (1994). Importance of glutathione peroxidase, catalase and Cu / Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radical Biol. Med.* **17**, 235-348.

Miwa, M., Z. L. Kong, K. Shinohara and M. Watanabee. Macrophage stimulating activity of foods. *Agr Biol Chem* 1990; **54**(7) : 1863-1866.

Morton, J.F. A survey of medicinal plants of Curacao. *Econ Bot* 1968; 22:87.

Morton, J.F. Folk-remedy plants and esophageal cancer in Coro, Venezuela. *Morris Arbortum Bull* 1974 ; **25**:24-34.

Muanza, D. N., B. W. Kim, K. L. Euler and L. Williams. Antibacterial and antifungal activities of nine medicinal plants from Zaïre. *Int J Pharmacog* 1994 ; **32**(4) : 337-345.

Muanza, D. N., K. L. Euler, L. Williams and D. J. Newman. Screening for antitumor and anti HIV activities of nine medicinal plants from Zaïre. *Int J Pharmacog* 1995 ; **33**(2):98-106.

Muller, K. (1992). Freie Radikale Bedeutung in pathophysiologie und therapie. *Dtsch. Apoth. Ztg* **132**, 1473-1482.

Nisteswar, K. Review of certain indigenous antifertility agents. *Deerghayu International* 1988; **4**(1): 4-7.

Ohnishi, M., Morishita, H., Toda, S., Shirataki, Y., Kimura, M., et Kido R. (1994). Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic peroxidation and haemolysis. *Phytochemistry* **36**, 579-583.

OMS () Manuel des techniques de base pour le laboratoire medical

Orafidiya, L.O., Lamikanra, A. and Adediji J.A. Coagulation of milk as an index of astringency of the bark extract of *Bridelia ferruginea* Benth and lime juice for formulation of traditional gargle "Ogun Efu" Phytotherapy Research, 1990, **4** (5) 189-194

Patel, V. K. and H. Venkatakrishna-Bhatt. Folklore therapeutic indigenous plants in periodontal disorders in India (Review, experimental and clinical approach). *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1988; **26**(4): 176-184.

- Pham Xuan Sinh; Pham Ghia Khoi, 1991. The extraction and determination of the flavonoid mangiferin in the bark and the leaves of mangifera indica. *Tap chi Duoc Hoc*-vol.5, n°8, p.19.
- Pieri F., Kirkiacharian S.,1992. Pharmacologie et Thérapeutique, 2eme édition Marketing, Paris ; 443p.
- Polassa, K. and C. Rukmini. Mutagenicity tests of cashewnut shell liquid, mice-bran oil and other vegetable oils using the *Salmonella typhimurium* / microsome system. *Food chem toxicol* 1987; **25**(10): 763-766.
- Potterat, O. (1997). Antioxidants and free radical scavengers of natural origin. *Current organic chemistry* **1**, 415-417.
- Prabhu, V. K. K. and M. John. Juvenile activity in some plants. *Experienta* 1975; **31**:913.
- Prashanth D., A. Amit, D. S. Samiulla, M. K. Asha, R. Padmaja. α -glucosidase inhibitory activity of *Mangifera indica* bark, *Fitoterapia* 2001;**72**:686-688.
- Prashanth D., D. S. Samiulla, R. Padmaja. Effect of certain plant extracts on α -amylase activity, *Fitoterapia* 2001; **72**:179-181.
- Ray, B. N. and A. K. Pal, Estrogenic activity of tree leaves as animal feed. *Indian J Physiol Allied Sci* 1967; **20**:6.
- Reddy, M. B., K. R. Reddy and M. N. Reddy. A survey of plants crude drugs of Anantapur district, Andhra Pradesh, india. *Int J Crude Drugs Res* 1989; **27**(3): 145-155.
- Revue de Medecine et pharmacopées africaines. *Agence de cooperation culturelle et technique*; Fiche espèce de Mangifera indica (Adjanehoum et collaborateurs, 1993(sous la direction)). Vol.7 , n° 1, p.49-64.
- Rukmini, C. and M. Vijayaraghavan. Nutritional and Toxicological evaluation of mango kernel oil. *J Amer oil chem Soc* 1984; **61**(4): 789-792.
- Saéñz, M.T., Gracia, M.D. and Fernández, M.A. (1998) Anti-inflammatory activity and acute toxicity of *Anredera leptostachys*. *Phytomedicine* 5(3), 195-198.
- Salvi, A. (1998). Esterase-like activity of human serum albumin. Pharmacocinetic significance, loss by free radical attack, and protection by antioxidants. These, faculté des Sciences, Université de Lausanne, Suisse.
- Sato, T., Kawamoto, A., Tamura,A., Tatsumi, Y. et Fujii, T. (1992). Mechanisms of antioxidant action of *Pueraria* glycoside (PG)-1 (an iso- flavonoid) and mangiferin (a xanthonoid). *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 721-724.
- Scartezzini, P; Speroni, E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *Journal of Ethnopharmacology* 2000;**71**:23-43.

Schmeda-hirschmann, G. and A. Rojas De Arias. A screening method for natural products on triatomine bugs. *Phytother Res* 1992; **6**(2): 68-73.

Sharma, L. D., H. S. Bahga and P. S. Srivastava. In vitro anthelmintic screening of indigenous medicinal plants against *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) cobbold, 1898 of sheep and goats. *Indian J Anim Res* 1971; **5**(1): 33-38.

Siegmund, E, Cadmus, R., Lu G. (1957) A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 95, 729-731.

Sies, H. et Sthahl, W. (1995). Vitamins E and C, β carotene and other carotenoids as antioxidant. *Am. J. Clin. Nutr.* **62**, 1315.

Singh, K. K. and J. K. Maheshwari. Traditional Phytotherapy of some medicinal plants used by the tharus of the Nainital district, Uttar Pradesh, India. *Int J Pharmacog* 1994 ; **32**(1) : 51-58.

Singh, Y.N. Traditional medicine in Fiji. Some herbal folk cures used by Fiji indians. *J Ethnopharmacol* 1986 ; **15**(1): 57-88.

Singleton V. L., Joseph A., Rossi J. R. : Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 1965, **16**, 144-153.

Sissi, H.I.El; Saleh, N.A.M., 1970. Phenolic components of *Mangifera indica*. *Planta medica*, vol.**18**, p.73-8.

Sissi, H.I.El; Saleh, N.A.M., 1970. Phenolic components plants and amini acids of *Mangifera indica*. *Planta medica*, vol.**18**, p.185-91.

Smith MJH, Ford-hutchinson AW, Elliot PNC, Bolam J. 1974. Prostaglandin in the anti-inflammatory activity of a human plasma fraction in carrageenan-induced paw oedeme in the rat. *J Pharm Pharmacol* **26**: 692.

Spencer, C. F., F. R. Koniuszy, E. F. Rogers et al. Survey of plants for antimalarial activity. *Lloydia* 1947; **10**:145-174.

Suwal, P.N. Medicinal plants of Nepal. Ministry of forests, departement of medicinal plants, Thapathali, Kathmandu, Nepal, 1970.

Tanaka, Takashi; Sueyasu, Tokiko; Nonaka, Genichiro; Nishioka, Itsuo, 1984, Tannins and related compounds XXI isolation and characterization of galloyl and p. hydroxybenzoyl esters of benzophenone and xanthone c-glucosides from *Mangifera indica* L.-*chem. Pharm. Bull*, vol.**32**, n^o7, p.2676-86.

Tiwari, K. C., R. Majumder and S. Bhattacharjee. Folklore medicines from Assam and Arunachal Pradesh (District Tirap). *Int J Crude Res* 1979 ; **17**(2):61-67.

Tona, L; Kambu, K; Ngimbi, N; Mesia, K; Penge, O; Lusakibanza, M; Cimanga, K; De Bruyne, T; Apers, S; Totte, J; Pieters, L; Vlietinck, A.J. Antiamoebic and spasmolytic activities

of extracts from some antidiarrhoeal traditional preparations used in Kinshasa, Congo; *Phytother. Res.*2000; **7**:31-38.

Touitou Yvan, 1993. Pharmacologie Diplôme d'Etat d'Infirmier (e), 7eme édition Paris. 407 p

Van Den Berghe, D. A., M. Ieven, F. Mertens, A. J. Vlietinck and E. Lammens. Screening of higher plants for biological activities. II. Antiviral activity. *J Nat Prod* 1978 ; **41**:463-467.

Vijayalakshimi, K., S. D. Mishra and S. K. Prasad. Nematicidal properties of some indigenous plant materials against second stage juveniles of *Meloidogyne incognita* (Koffoid and White) chitwood. *Indian J Entomol* 1979; **41**(4): 326-331.

Wang LM, Mineshita S. Preventive effects of Unsei-in and Oren-gedoku-to, chinese traditional medicines, against rat paw oedema and abdominal constriction in mice. *J Pharm Pharmacol* 1996;**48**: 327-331.

Weniger,B., M. Rouzier, R. Daguilh, D. Henrys, J.H. Henrys and R. Anthon. Popular medicine of the plateau of Haïti. 2. Ethnopharmacological inventory. *J Ethnopharmacol* 1986; **17**(1): 13-30.

Winter, C. A. Risley, E.A., Nuss, G.W. (1963) Carrageenan-induced edema in hind-paw of rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Journal of Phamacology and experimental Therapeutics*, **141**, 369 – 373

Wepierre Jacque,1981. Abrégé de pharmacologie générale et moléculaire. 2eme édition Masson Paris ; 203p.

Annexes

Annexe 1

Composition alimentaire des souris

Formule pour la nourriture des souris :

Pour des raisons pratiques, la formule est calculée à 100 kg d'aliments, ce qui permet de tout exprimer: composants et apports nutritifs en pourcentage.

Farine de maïs50 kg

Pâte d'arachide.....20 kg

Son de mil17,5 kg

Lait en poudre.....7,0 kg

Farine de poisson.....3,0 kg

Feuilles de salade pilées...2,0 kg

Sel (sel gemme)0,5 kg

Eau q s p / 100 kg.....38l

Fiche signalitique

Nom : AOUISSA

Prénom : Itiann Wen-Rehaba

Titre de la thèse : Etude des activités biologiques et de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica* Linne (ANACARDIACEAE).

Année : 2002

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : République du Togo

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de médecine, de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie du Mali.

Secteur d'intérêt : Recherche en Médecine traditionnelle.

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'évaluation de l'activité d'une recette traditionnelle à base de trois plantes : *Fagara zanthoxyloides*, *Mangifera indica* et *Securidaca longepedunculata* utilisée dans le traitement des affections bucco-dentaires. L'objectif était d'évaluer les activités pharmacodynamiques et la toxicité aiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae).

La chromatographie sur couche mince révèle la présence de plusieurs groupes chimiques.

Le dosage de polyphénols totaux a montré leur présence en grande quantité dans le décocté aqueux des feuilles de *Mangifera indica*.

Les résultats des études scientifiques effectuées sur les extraits des feuilles de *Mangifera indica* confirment certaines propriétés pharmacologiques favorables à la production d'un MTA à utiliser dans les affections buccodentaires.

Mots clés : Activité antioxydante, hémostatique, antalgique, anti-inflammatoire.

Affections bucco-dentaires

Mangifera indica

Médecine traditionnelle ; MTA.

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 en 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 .