

Ministère de l'Éducation Nationale

Université de Bamako

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

(FMPOS)

République du Mali

Un peuple-Un but-Une foi

Thèse N° 45

Année Universitaire 2003-2004

**ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE ET DE L'ACTIVITÉ
ANTIPALUDIQUE D'UNE RECETTE UTILISÉE
DANS LE TRAITEMENT TRADITIONNEL DU
PALUDISME AU NIGER.**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 16 Février 2004 devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Mali.

Par Mademoiselle FOUMAKOYE GADO Amsatou

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(DIPLÔME D'ÉTAT)

Jury

Président :

Professeur Amadou DIALLO

Membres :

Professeur Yénimégué Albert DEMBELE

Docteur Ababacar MAÏGA

Co-directeur de thèse :

Professeur Khalid IKHIRI

Directeur de thèse:

Docteur Drissa DIALLO

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2003 - 2004

ADMINISTRATION

DOYEN : MOUSSA TRAORE - PROFESSEUR
1^{ER} ASSESSEUR : MASSA SANOGO - MAITRE DE CONFERENCES
2^{ME} ASSESSEUR : GANGALY DIALLO - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE
SECRETAIRE PRINCIPAL : YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE
AGENT COMPTABLE : MADAME FATOUMATA TALL - CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

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

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

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

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

| | |
|--------------------------------|--------------------------|
| Mr Abdoulaye DIALLO | Ophtalmologie |
| Mr Djibril SANGARE | Chirurgie Générale |
| Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP | Chirurgie Générale |
| Mr Abdoulaye DIALLO | Anesthésie - Réanimation |
| Mr Gangaly DIALLO | Chirurgie Viscérale |

3. MAITRES DE CONFERENCES

| | |
|------------------|--------------------|
| Mme SY Aïda SOW | Gynéco-Obstétrique |
| Mr Salif DIAKITE | Gynéco-Obstétrique |

4. MAITRES ASSISTANTS

| | |
|--------------------------------|--------------------|
| Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE | Gynéco-Obstétrique |
| Mr. Mamadou TRAORE | Gynéco-Obstétrique |
| Mr Sadio YENA | Chirurgie Générale |
| Mr Filifing SISSOKO | Chirurgie Générale |
| Mr Issa DIARRA | Gynéco-obstétrique |

5. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Mamadou L. DIOMBANA
Mr Sékou SIDIBE
Mr Abdoulaye DIALLO
Mr Tiéman COULIBALY
Mme TRAORE J. THOMAS
Mr Nouhoum ONGOIBA
Mr Zanafon OUATTARA
Mr Zimogo Zié SANOGO
Mr Adama SANGARE
Mr Youssouf COULIBALY
Mr Samba Karim TIMBO
Mme TOGOLA Fanta KONIPO
Mr Sanoussi BAMANI
Mr Doulaye SACKO
Mr Ibrahim ALWATA
Mr Lamine TRAORE
Mr Mady MAKALOU
Mr Aly TEMBELY
Mr Niani MOUNKORO
Mr Djénéba DOUMBIA
Mr Tiemoko D. COULIBALY
Mr Souleymane TOGORA
Mr Mohamed KEITA

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

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO
Mr Bréhima KOUMARE
Mr Siné BAYO
Mr Yéya T. TOURE
Mr Amadou DIALLO
Mr Moussa HARAMA
Mr Ogobara DOUMBO

Chimie Générale & Minérale
Bactériologie-Virologie
Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Biologie
Biologie
Chimie Organique
Parasitologie - Mycologie Chef de D.E.R.

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yéniégué Albert DEMBELE
Mr Anatole TOUNKARA
Mr Amadou TOURE
Mr. Flabou Bougoudogo

Chimie Organique
Immunologie
Histoembryologie
Bactériologie-Virologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bakary M. CISSE
Mr Abdourahmane S. MAIGA
Mr Adama DIARRA
Mr Mamadou KONE
Mr. Massa SANOGO

Biochimie
Parasitologie
Physiologie
Physiologie
Chimie Analytique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE
Mr Sékou F.M. TRAORE
Mr Abdoulaye DABO
Mr Abdourahmane TOUNKARA
Mr Ibrahim I. MAIGA
Mr Moussa Issa DIARRA
Mr Amagana DOLO
Mr Kaourou DOUCOURE
Mr Bouréma KOURIBA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Cheik Bougadari TRAORE

Biologie
Entomologie médicale
Malacologie, Biologie Animale
Biochimie
Bactériologie - Virologie
Biophysique
Parasitologie
Biologie
Immunologie
Bactériologie-Virologie
Anatomie-Pathologie

5. ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY
Mr Mahamadou A. THERA

Hématologie
Parasitologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY
Mr Mamadou K. TOURE
Mr Mahamane MAIGA
Mr Baba KOUMARE
Mr Moussa TRAORE
Mr Issa TRAORE
Mr Mamadou M. KEITA
Mr Hamar A. TRAORE
Mr Dapa Aly DIALLO
Mr Moussa Y. MAIGA

Médecine Interne
Cardiologie
Néphrologie
Psychiatrie, Chef de DER
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Médecine Interne
Hématologie
Gastro-entérologie – Hépatologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

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

Pédiatrie
Pneumo-Phtisiologie
Cardiologie
Dermato-Leprologie
Médecine Interne
Radiologie

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mamadou DEMBELE
Mr Mamady KANE
Mme Tatiana KEITA
Mr Diankiné KAYENTAO †
Mme TRAORE Mariam SYLLA
Mr Adama D. KEITA
Mme SIDIBE Assa TRAORE
Mme Habibatou DIAWARA

Médecine Interne
Radiologie
Pédiatrie
Pneumo-Phtisiologie
Pédiatrie
Radiologie
Endocrinologie
Dermatologie

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE
Mr Bougouzié SANOGO
Mr Saharé FONGORO
Mr Bakoroba COULIBALY
Mr Kassoum SANOGO
Mr Seydou DIAKITE
Mr Mahamadou B. CISSE
Mr Arouna TOGORA
Mme DIARRA Assétou SOUCKO
Mr Boubacar TOGO
Mr Mahamadou B. TOURE
Mr Idrissa A. CISSE
Mr Mamadou B. DIARRA
Mr Anselme KONATE
Mr Moussa T. DIARRA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Souleymane COULIBALY
Mr Daouda K. MINTA
Mr Soungalo DAO

Psychiatrie
Gastro-entérologie
Néphrologie
Psychiatrie
Cardiologie
Cardiologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Médecine Interne
Pédiatrie
Radiologie
Dermatologie
Cardiologie
Hépatogastro-entérologie
Hépatogastro-entérologie
Pneumologie
Psychologie
Maladies Infectieuses
Maladies Infectieuses

5. ASSISTANT

Mr Cheick Oumar GUINTO

Neurologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

| | |
|--------------------------|-------------------|
| Mr Boubacar Sidiki CISSE | Toxicologie |
| Mr Gaoussou KANOUTE | Chimie analytique |

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

| | |
|--------------------|--------------------|
| Mr Arouna KEITA † | Matière Médicale |
| Mr Ousmane DOUMBIA | Pharmacie Chimique |

3. MAITRES DE CONFERENCES

| | |
|------------------------|-------------------------------|
| Mr Boulkassoum HAIDARA | Législation |
| Mr Elimane MARIKO | Pharmacologie, Chef de D.E.R. |

4. MAITRES ASSISTANTS

| | |
|----------------------|--------------------|
| Mr Benoît KOUMARE | Chimie Analytique |
| Mr Drissa DIALLO | Matières Médicales |
| Mr Alou KEITA | Galénique |
| Mr Ababacar I. MAIGA | Toxicologie |
| Mr Yaya KANE | Galénique |

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

| | |
|---------------------|--------------------------------|
| Mr Sidi Yaya SIMAGA | Santé Publique, Chef de D.E.R. |
|---------------------|--------------------------------|

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

| | |
|--------------------|----------------|
| Mr Moussa A. MAIGA | Santé Publique |
|--------------------|----------------|

3. MAITRES DE CONFERENCES

| | |
|--------------------|----------------|
| Mr Sanoussi KONATE | Santé Publique |
|--------------------|----------------|

4. MAITRES ASSISTANTS

| | |
|----------------------|----------------|
| Mr Bocar G. TOURE | Santé Publique |
| Mr Adama DIAWARA | Santé Publique |
| Mr Hamadoun SANGHO | Santé Publique |
| Mr Massambou SACKO | Santé Publique |
| Mr Alassane A. DICKO | Santé Publique |

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

| | |
|----------------------------|----------------------------------|
| Mr N'Golo DIARRA | Botanique |
| Mr Bouba DIARRA | Bactériologie |
| Mr Salikou SANOGO | Physique |
| Mr Bokary Y. SACKO | Biochimie |
| Mr Boubacar KANTE | Galénique |
| Mr Souleymane GUINDO | Gestion |
| Mme DEMBELE Sira DIARRA | Mathématiques |
| Mr Modibo DIARRA | Nutrition |
| Mme MAIGA Fatoumata SOKONA | Hygiène du Milieu |
| Mr Arouna COULIBALY | Mathématiques |
| Mr Mahamadou TRAORE | Génétique |
| Mr Souleymane COULIBALY | Psychologie Médicale |
| Mr Yaya COULIBALY | Législation |
| Mme Rokia SANOGO | Pharmacognosie |
| Mr Boubacar TRAORE | Pharmacognosie |
| Mr Saïbou MAIGA | Législation |
| Mr Ousmane KOITA | Parasitologie Moléculaire |
| Mr Samba DIOP | Anthropologie Médicale |
| Mr Seydou DOUMBIA | Epidémiologie |
| Mr Oumar THIERO | Biostatistique |
| Mr Mangara M. BAGAYOGO | Entomologie Moléculaire Médicale |
| Mr Guimogo DOLO | Entomologie Moléculaire Médicale |
| Mr Abdoulaye TOURE | Entomologie Moléculaire Médicale |
| Mr Djibril SANGARE | Entomologie Moléculaire Médicale |
| Mr Mouctar DIALLO | Biologie Parasitologie |

ENSEIGNANTS EN MISSION

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

Dédicaces
et
Remerciements

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A Allah,

Gloire a toi, le tout Puissant, le très Miséricordieux, qui m'a donné la force de mener ce travail jusqu'au bout.

A ma mère, Aissa Sibiri :

Tu t'es toujours dévouée à la cause de tes enfants, tu nous a entouré d'amour et de soins. Tu as été pour nous, un exemple d'intelligence, de bonté et de générosité. Aucun mot ne saurait exprimer ma gratitude et mon affection pour toi. Tes encouragements et ta foi en mes capacités n'ont cessé de me galvaniser pendant ces années d'études. Maman, ce travail est le tien. Que Dieu te bénisse pour tout le bien que tu as toujours su faire autour de toi et qu'il t'accorde encore de nombreuses et belles années de vie aux côtés de tes enfants. Je t'aime très fort.

A mon père, Foumakoye Gado :

Tu as toujours œuvré pour la réussite de tes enfants ; toujours à l'ouvrage, tu nous as exhorté au travail.

Tu m'as aidée dans le choix de mes études et tu m'as soutenue pendant tout mon parcours. Tu m'as aussi appris l'humilité et la persévérance en toute chose. Tes encouragements au cours de ces années ont été pour moi une arme infaillible dans les moments de découragement. Merci pour tout papa, je t'aime fort. Ce travail est le tien.

A mon frère, Adamou Foumakoye :

Au-delà du frère, tu as été un complice, un ami, un confident. Ton respect pour les autres, ta gentillesse et ta simplicité, font de toi un être exceptionnel. Surtout reste comme tu es !. Je suis fière d'être ta sœur ! Merci pour tous les moments de joie et de peine que nous avons partagés. Puisse Dieu nous garder toujours aussi unis. Ce travail est le tien frérot. Je t'aime très fort.

A ma sœur, Nadira Foumakoye :

Mon petit ange, tes rires, tes jeux et ta gaieté illuminent nos vies depuis quatre ans. Tu es encore jeune et j'espère que tu sauras toujours garder ta joie de vivre et que ce modeste travail pourra te servir d'exemple pour persévérer dans tes études. Mon affection pour toi est infinie. Je t'aime très fort ma chérie. Ce travail est pour toi.

A mes grands-parents,

Je n'ai pas de souvenirs de mes grands-pères, mais je suis sûre que leurs bénédictions m'ont accompagnées pendant tout mon parcours.

Merci Kaka et Inna pour vos encouragements et vos bénédictions, et pour toute l'affection dont vous m'avez entourée. Je vous aime fort.

A mes oncles et tantes à Talladjé, Doutchi, Tahoua , Arlit et Niamey,

Vous avez été des parents attentionnés et vous m'avez entouré d'affection. Ce travail est aussi le fruit de vos encouragements et conseils. Que Dieu nous garde tous unis, car c'est ainsi que nous serons plus forts Recevez ici toute mon affection.

A mes cousines et mes cousins

Merci pour votre gentillesse à mon égard. J'espère que ce travail donnera aux plus jeunes, l'envie d'étudier.

Aux familles Mahamadou Issoufou, Souleymane Kané et Bazoum Mohamed,

Les liens qui unissent nos familles, sont un hommage à l'amitié. J'ai trouvé dans chacune de vos demeures un véritable foyer, des personnes aimantes et attentionnées. Recevez ce travail comme un gage de mon affection indéfectible.

A mon fiancé Ahmad Jean-Baptiste Natama

Je ne saurais trouver les mots pour t'exprimer mes sentiments. Alors je te dirais tout simplement MERCI, pour tes encouragements, ton aide et ton soutien moral. Sois assuré de mon amour infini. Que Dieu vous garde ta famille et toi.

MENTION SPÉCIALE

- ❖ **A ma chère patrie, le Niger** : pour les efforts consentis pour ma formation
- ❖ **A monsieur Salif Diallo** au Burkina-Faso : Vous m'avez accueillie dans votre maison sans hésitation et vous m'avez soutenue pendant mes études. Trouvez ici l'expression de toute ma reconnaissance.
- ❖ **A mes amies et sœurs** : **Mariam Issoufou, Amehoum Marianne, Salamatou Ahmet, Amina Amadou, Fati Sabo, Zarah Kalla, Nafi Bengeloum, Hamsatou Djermaakoye, Fatou Fofana, Aichatou Tinno, Biba et Zeinabou Kassoum, Kongo Blandine** : pour toutes ces années passées ensemble et pour la complicité qui nous a unis, pour votre amitié et votre soutien. Vous aurez toujours une place spéciale dans mon cœur.
- ❖ **A mes amis et frères** : **Mohamed Alhousseini, Oussou et Mamé, Cheick Diouf, Djihrilla Nouhou, Claude Ouandaogo, Aldiouma Dicko, Chaibou Salhatou** : vous avez toujours été là, dans les bons moments comme dans les mauvais. Merci pour votre affection.
- ❖ **A Feu Karim Hamani** : ton souvenir restera à jamais vivant dans nos cœurs. Repose en paix.
- ❖ **Aux familles** : **Alhousseini, Wriqth Yves, Bomborou Souleymane, Badroum** : pour tous vos encouragements et votre sympathie pour notre famille
- ❖ **A tout le personnel du service informatique de la SONIBANK** : pour vos encouragements durant toutes ces années, pour votre aide précieuse.
- ❖ **Au peuple malien** : pour l'accueil fraternel que j'ai reçu.
- ❖ **A la famille Mohamed Lamine Traoré au Mali** : pour avoir été une seconde famille pour moi en cette terre.
- ❖ **A mes amis du Club e-net en particulier, Mahamoudane Niang et Tidiane Traoré** : pour nos fous rires et l'esprit amical dans lequel nous menions nos activités
- ❖ **A tous mes promotionnaires** : courage et plein succès dans vos carrières respectives.
- ❖ **A toute la communauté nigérienne de Bamako** : tous unis, nous vaincrons toujours !
- ❖ **A la famille Natama et amis** : pour l'accueil chaleureux que vous m'avez réservé.

REMERCIEMENTS

- ❖ **A ceux qui nous ont aidé dans la réalisation de ce travail :**
 - L' ICSN (Institut de Chimie des Substances Naturelles) **du CNRS en France,**
 - le **CERMES (en particulier Ganda, Mamoudou et Issaka),**
 - le **Centre Muraz de Bobo Dioulasso,**
 - le **laboratoire de Cytologie du CHU de Niamey,**
 - **Dr Almou et Dr Achirou de l'ENS (Ecole Normale Supérieure),**
 - Monsieur Djika Mamane**
- ❖ **A l'équipe du laboratoire de recherche de la faculté des Sciences de Niamey :** Dr Idrissa Moussa, Dr Alpha Keita, Dr Abdoulaye Alhassane, Dr Amadou Illagouma, pour m'avoir encadrée et guidée dans ce travail, pour votre patience, vos conseils et votre simplicité, pour tout ce que vous m'avez appris.
- ❖ **A tout le Corps enseignant de la faculté des Sciences :** pour m'avoir accueillie a bras ouverts.
- ❖ **A tout le personnel administratif et technique de la faculté des Sciences de l'Université de Niamey,** en particulier Amadou Souley, Gayka et Maimouna, Anouar, Nouhou Ali, Moussa, Oussou (chauffeur) : pour votre sympathie, vos encouragements et votre aide précieuse.
- ❖ **Au Dr Madougou Mariama Djibo et au personnel de la pharmacie du Carrefour sixième :** pour la gentillesse avec laquelle vous m'avez reçue et encadrée.
- ❖ **A tous les enseignants de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie de Bamako :** pour l'enseignement de qualité que j'ai reçu.
- ❖ **Au Dr Diarra :** pour ta gentillesse, tes encouragements et ton aide
- ❖ **Au Professeur Gaoussou Kanouté :** pour votre humilité et vos conseils précieux.
- ❖ **Aux tontons Sadio et Modibo:** pour avoir veillé sur moi, pour vos encouragements et votre gentillesse.
- ❖ **A la famille Fofana du point G et à mes voisins**
- ❖ **A mes amis :** Chaibou Gaoury, Nana Chétima, Amina Amarrma, Aicha Mati, Ousseina Koulou, Soul Aouami, Aziz, Oudou, Ibou, Moustapha Gambo, Djouldé , Walou, Halima Karadji, Ramatou , Moustapha Galadima, Edmond, Maiga CONEAM, Fama Coulibaly et sa famille, Flora, Aicha, Mariame Fofana.

- ❖ **Aux membres de Comité exécutif 2000-2001 de l'USNM : Le Grand, Adams, Karim, O.T., Habibou, Maman Sidi, Ada ; pour la lutte menée ensemble**
- ❖ **A tous mes amis des communautés malienne, ivoirienne, burkinabé, mauritanienne, camerounaise, béninoise.**
- ❖ **A Sekou traoré : merci pour ton soutien durant ces années.**
- ❖ **A la famille Aitchedji : pour la franche amitié que vous m'avez témoigné.**
- ❖ **A tous les amis de la Jeune Chambre du Niger : pour ce credo auquel nous croyons tous et pour les activités menées ensemble.**
- ❖ **A tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail, à tous ceux qui me sont chers et que je n'ai pu nommer ici sachez qu' « on ne voit qu'avec le cœur, l'essentiel est invisible pour les yeux » S^tEXUPERY.**

A nos Maîtres et Juges

A notre Maître et Président du Jury,

Professeur Amadou Diallo

Professeur de Zoologie et Biologie humaine à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie ;

Cher maître, vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de présider le jury de cette thèse, malgré vos multiples occupations. Durant nos années d'études, nous avons pu bénéficier de votre enseignement de qualité. Votre grande sagesse, vos qualités humaines, votre rigueur et votre souci du travail bien fait, font de vous un homme de référence. Veuillez trouver ici, l'expression de notre profonde gratitude et de notre respect.

A notre Maître et Juge,

Professeur Yénimégué Albert Dembélé

**Maître de conférence agrégé en chimie organique,
Secrétaire Principal de la Faculté de Médecine, de Pharmacie
et d'Odonto-Stomatologie**

C'est un grand honneur pour nous que vous ayez accepté de siéger dans ce jury, malgré vos lourdes responsabilités. Vos conseils nous ont été d'une grande aide pour la finalisation de ce document. Votre esprit scientifique, votre disponibilité et votre simplicité, nous ont beaucoup marqué. Veuillez trouver ici, cher Maître, notre profonde reconnaissance et nos sentiments respectueux.

A notre Maître et Juge
Docteur Ababacar Maiga :

Maître assistant en Toxicologie
Chercheur au Département de Médecine Traditionnelle de Bamako,
Chef du Service des Sciences Pharmaceutiques au DMT,

Cher maître, Nous sommes très honoré que vous ayez accepté de siéger dans notre jury de thèse. Votre goût pour la recherche et votre simplicité nous ont beaucoup touché. Nous vous sommes profondément reconnaissant pour l'aide que vous nous avez apportée. Veuillez trouver ici, l'expression de nos sentiments les plus respectueux.

A notre maître et Co-directeur de thèse
Professeur Khalid Ikhiri,

Professeur Agrégé en Chimie Organique,
Responsable du laboratoire de Recherche de la Faculté des Sciences de l'Université Abdou Moumouni Dioffo de Niamey,

Cher maître, votre humilité, votre connaissance immense et votre attachement aux plantes médicinales, nous ont beaucoup marqué. Vous nous avez ainsi communiqué cette passion pour la médecine traditionnelle et la foi en son avenir dans notre pays. Toujours à l'écoute, vous n'avez cessé de nous encourager et de nous guider tout au long de ce travail. J'espère qu'il vous donnera pleine satisfaction. Veuillez accepter, toute ma gratitude et mon profond respect.

**A notre Maître et Directeur de Thèse,
Docteur Drissa Diallo,**

**Maître assistant en pharmacognosie
Chef du Département de Médecine Traditionnelle**

Nous ne vous remercierons jamais assez, pour avoir accepté de diriger ce travail malgré la distance et pour y avoir apporté toutes les corrections nécessaires. L'enseignement de qualité que vous nous avez dispensé, a été pour beaucoup dans la réalisation de cette thèse. Votre esprit scientifique, votre rigueur et l'encadrement sans faille dont bénéficient vos étudiants font de vous une référence, un exemple à suivre.

Cher Maître, veuillez trouver ici, l'expression de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

SOMMAIRE

| | |
|---------------------------|----------|
| INTRODUCTION | 1 |
| OBJECTIFS | 3 |

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

| | |
|---|-----------|
| 1- Généralités sur le paludisme | 4 |
| 1.1- Définition | 4 |
| 1.2- Répartition géographique | 4 |
| 1.3- Cycle de développement des plasmodies | 5 |
| 1.4- Agents pathogènes | 7 |
| 1.5- Vecteurs de la maladie | 10 |
| 1.6- Autres types de transmissions du paludisme | 11 |
| 1.7- Manifestations cliniques | 11 |
| 1.8- Diagnostic | 13 |
| 1.9- Traitement | 14 |
| 2- Généralités sur la médecine traditionnelle | 20 |
| 2.1- Définition | 20 |
| 2.2- Médecine traditionnelle au Niger | 21 |
| 2.4- Présentation des trois plantes étudiées | 24 |
| 2.3.1- <i>Celosia trygina</i> | 24 |
| 2.3.2- <i>Limeum pterocarpum</i> | 28 |
| 2.3.3- <i>Momordica balsamina</i> | 31 |
| 3- Présentation du cadre d'étude | 36 |
| 3.1- Bref aperçu sur le Niger | 36 |
| 3.2- Présentation du laboratoire de la Faculté des Sciences | 38 |
| 3.3- Présentation du C.E.R.M.E.S | 38 |

DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX PERSONNELS

| | |
|--|-----------|
| 1- Méthodologie | 40 |
| 1.1- Récolte des plantes | 40 |
| 1.2- Etude chimique des plantes | 40 |
| 1.2.1- Préparation des extraits | 41 |
| 1.2.2- méthodes chromatographiques | 46 |
| 1.2.3- Recristallisation | 49 |

| | | |
|--------------|---|-----------|
| 1.2.4- | Analyses spectroscopiques. | 50 |
| 1.3- | Etude pharmacologique des extraits des plantes | |
| 1.3.1- | Tests <i>in vitro</i> sur <i>Plasmodium falciparum</i> | 50 |
| 1.3.2- | Tests de toxicité aiguë. | 51 |
| 1.3.3- | Tests <i>in vivo</i> sur <i>Plasmodium berghei</i> | 52 |
| 2- | <u>Résultats</u> | |
| 2.1- | Rendements des extractions. | 55 |
| 2.1.1- | <i>Celosia trygina</i> | 55 |
| 2.1.2- | <i>Limeum pterocarpum</i> | 55 |
| 2.1.3- | <i>Momordica balsamina</i> | 56 |
| 2.2- | Résultats des chromatographies | |
| 2.2.1- | Chromatographies sur couche mince des extraits. | 57 |
| 2.2.1.1- | <i>Celosia trygina</i> | 57 |
| 2.2.1.2- | <i>Limeum pterocarpum</i> | 57 |
| 2.2.1.3- | <i>Momordica balsamina</i> | 60 |
| 2.2.2- | Résultats des CC des extraits de <i>Limeum pterocarpum</i> | 61 |
| 2.3- | Purifications. | 63 |
| 2.4- | Analyses spectroscopiques. | 65 |
| 2.5 - | Essais pharmacologiques des extraits. | 66 |
| 2.5.1- | Essais <i>in vitro</i> | 66 |
| 2.5.2- | Essais toxicologiques. | 66 |
| 2.5.3- | Essais <i>in vivo</i> | 67 |
| 3- | Commentaires et Discussion. | 69 |
| | CONCLUSION- RECOMMANDATIONS. | 73 |
| | REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES. | 75 |
| | ANNEXES | |

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|-------------------|---|
| Amp. | Ampoule |
| Buv. | buvable |
| CC | Chromatographie sur Colonne |
| CCM | Chromatographie sur Couche Mince |
| CERMES | Centre de Recherche Médicale et Sanitaire |
| cm | centimètre |
| Cp. | Comprimé |
| Inj. | injectable |
| j. | Jour |
| kg | Kilogramme |
| mg | milligramme |
| mL | Millilitre |
| MHz | Mégahertz |
| ng | Nanogramme |
| NMRI | Naval Medical Research Institut |
| Quadriséc. | Quadrisécables |
| O.C.C.G.E | Organisation de Coordination et de Coopération pour la lutte contre les Grandes Endémies |
| OMS | Organisation Mondiale de la Santé |
| Sec. | Sécable |
| Susp. | suspension |
| µg | microgrammes |

Introduction

INTRODUCTION

Le milieu naturel a toujours été pour l'être humain une source médicamenteuse précieuse. Bien avant l'innovation et l'introduction des spécialités pharmaceutiques, l'homme se soignait à base d'extraits de végétaux, d'animaux et de minéraux. Aujourd'hui encore, près de 45% des médicaments modernes sont d'origine végétale ou animale [Fleurentin, 1990].

Dans la plupart des pays en voie de développement, la médecine traditionnelle constitue un passage obligatoire dans le domaine de la santé publique. On estime à 80% les populations du tiers monde qui se soignent par les plantes [Fleurentin, 1990]. Dans ces régions, les tradipraticiens, sur la base de connaissances transmises de génération en génération, proposent des remèdes pour traiter la plupart des maladies qui sévissent au sein des populations. Certaines de ces maladies, telles que les syndromes ictériques, contre lesquels la médecine moderne a montré ses limites, sont soignées grâce à des traitements à base de plantes médicinales.

En dépit de cet arsenal thérapeutique naturel dont regorgent les régions, la prise en charge de certaines maladies reste précaire. Parmi ces pathologies, nous pouvons citer le paludisme qui constitue à l'heure actuelle un des plus grands fléaux qui menacent les pays en voie de développement.

En effet, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), chaque année 300 à 500 millions de personnes souffrent de cette maladie, avec 1,5 à 2,7 millions de décès observés dont 90% surviennent en Afrique au Sud du Sahara. Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes restent les plus frappés par cette maladie [OMS, 2003].

La prise en charge du paludisme est assez complexe du fait des nombreux facteurs socio-économiques défavorables auxquels sont exposées les populations : faible couverture sanitaire, coût élevé des médicaments, pharmacorésistance à la

chloroquine et la Sulfadoxine-Pyriméthamine qui sont les antipaludiques les moins chers, non-respect ou méconnaissance des méthodes préventives et curatives du paludisme.

Des molécules telles que la quinine et l'artémisinine sont des antipaludiques extraits de végétaux. Ce qui démontre que les plantes sont également une source de médicaments antipaludiques sur laquelle on peut compter. Au Mali, par exemple, le Malarial 5, antimalarial à base de plantes a fait l'objet d'études approfondies qui ont montré son efficacité sur le *Plasmodium* [Keita, 1993].

Des guérisseurs Nigériens ont récemment élaboré un mélange présentant des propriétés antiplasmodiales in vivo [Yacoudina, 2002]. Ce mélange est constitué d'une certaine quantité de poudre de *Celosia trygina* Linn., *Limeum pterocarpum* (Gay) Heimerl, *Momordica balsamina* Linn.

Notre étude portera donc sur cette recette, afin de déterminer la ou les plantes responsables de l'activité antipaludique du mélange et éventuellement d'isoler les principes actifs qu'elle contient.

OBJECTIVES

OBJECTIFS

1- **Objectif général**

Etudier l'activité antipaludique de *Celosia trygina* L., *Limeum pterocarpum* (Gay) Heimerl et *Momordica balsamina* L.

2- **Objectifs spécifiques**

Les objectifs spécifiques visent à :

- Identifier un ou des extraits actifs provenant de *Celosia trygina*, *Limeum pterocarpum* et *Momordica balsamina* ;
- Déterminer les fractions de ces extraits présentant l'activité antipaludique ;
- Déterminer la toxicité des fractions actives ;
- Isoler la ou les molécules responsables de l'activité antipaludique.

Première partie :
Généralités

1- GENERALITES SUR LE PALUDISME

1.1- Définition

Le paludisme (ou malaria) est une maladie fébrile, provoquée par un protozoaire du genre *Plasmodium* et transmise à l'être humain par l'intermédiaire d'un insecte hématophage : l'anophèle femelle [Larousse de la médecine, 1996].

1.2- Répartition géographique

Une centaine de pays dans le monde est touchée par la maladie, principalement ceux d'Afrique, d'Asie et d'Amérique latine à des degrés différents. L'Afrique est de loin le continent le plus atteint avec 90% des cas [OMS, 2001].

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a classé les pays en trois groupes en fonction de la résistance du *Plasmodium falciparum* (responsable de la forme mortelle de paludisme) à la chloroquine [[www.ligue-palu.org /palud/epidemie.html](http://www.ligue-palu.org/palud/epidemie.html)] (figure 1) :

Groupe 1 : Pays sans chloroquinino-résistance ou sans *Plasmodium* (respectivement en gris et blanc sur la figure 1).

Groupe 2 : Pays à chloroquinino-résistance modérée (en pointillés sur la figure 1)

Groupe 3 : Pays à chloroquinino-résistance ou multi-résistance (en noir sur la figure 1).

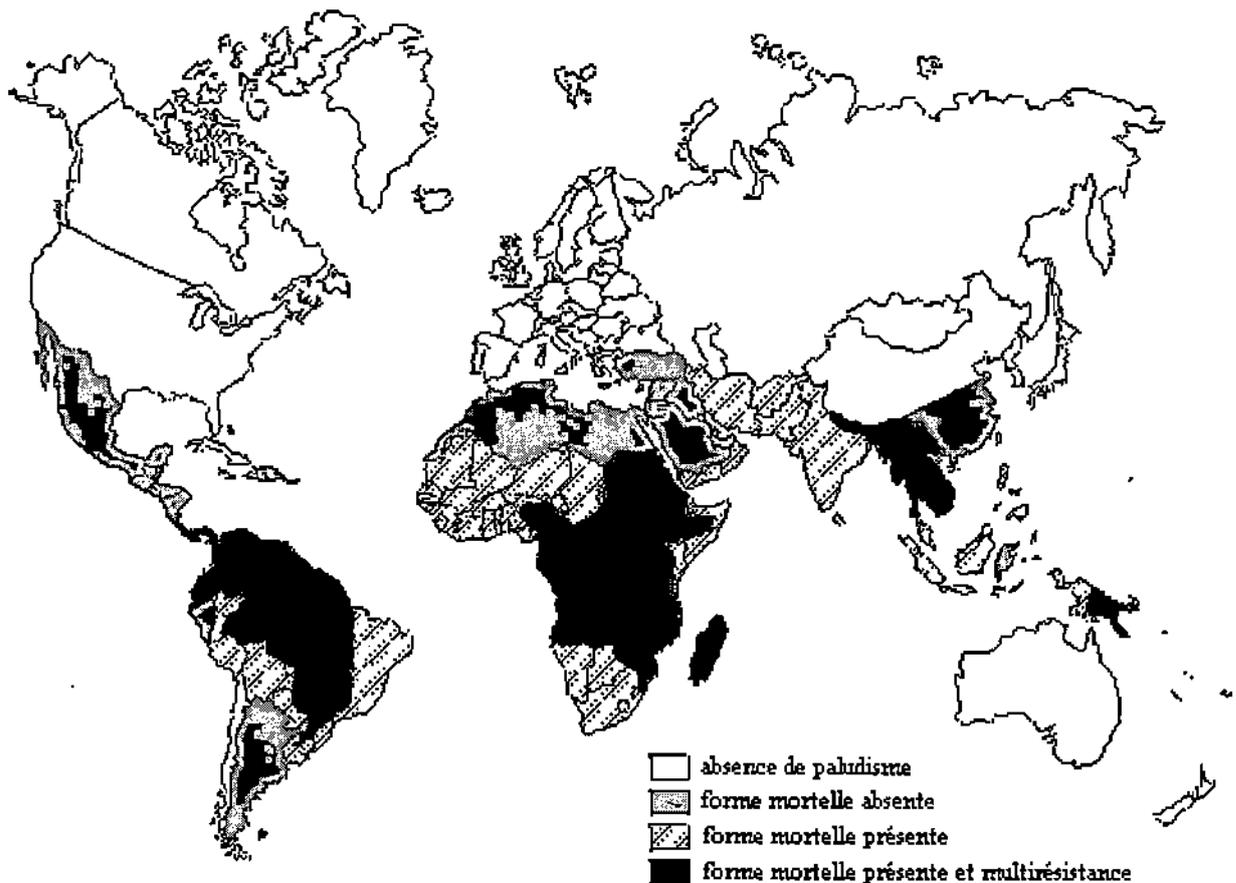


Figure 1: répartition géographique du paludisme dans le monde[OMS, 2000]

1.3- Cycle de développement des plasmodies

Le *Plasmodium* est un parasite unicellulaire à cycle de développement diphasique pour lequel, il faut deux hôtes indispensables : le moustique qui est son vecteur biologique et l'homme.

1.3.1- Cycle chez l'anophèle

Il correspond à la phase de reproduction sexuée.

Lors d'un « repas de sang » sur un individu infecté, le moustique ingère des gamétocytes, à potentiel sexuel mâle ou femelle. Ceux-ci parviennent dans l'estomac et se transforment en gamètes. Le gamète mâle subit un processus d'exflagellation à la suite duquel les gamètes femelles sont fécondés. Il en résulte un zygote appelé ookinète qui s'implante sur la paroi stomacale en formant l'oocyste. Cette brève phase diploïde s'achève par une division méiotique et est suivie par plusieurs

milliers de mitoses qui conduisent au développement des sporozoïtes. L'éclatement de l'oocyste libère dans l'hémolymphe, les sporozoïtes qui vont alors regagner les glandes salivaires du moustique. Ce cycle se déroule entre dix et quatorze jours selon la température et les espèces. En piquant un individu sain, le moustique lui transmet les sporozoïtes [www.ebischoff.free.fr/palu/palu2.html].

1.3.2- Cycle chez l'homme

Il correspond à la phase de reproduction asexuée.

1.3.2.1- Le cycle exoérythrocytaire

Les sporozoïtes inoculés à l'homme transitent dans la circulation générale pendant une trentaine de minutes avant d'envahir les hépatocytes. Ils entrent alors dans une phase de multiplication intra-cellulaire qui aboutit à la formation de corps bleus. Ces derniers en éclatant vont libérer de très nombreux mérozoïtes. Cette phase est asymptomatique et dure huit à quinze jours selon les espèces [www.ebischoff.free.fr/palu/palu2.html].

1.3.2.2- Le cycle endoérythrocytaire

Les mérozoïtes libérés lors de la rupture de l'hépatocyte vont débiter le cycle sanguin en infestant les globules rouges. Le mérozoïte pénètre grâce à un processus parasitaire actif et se différencie au sein de la vacuole parasitophore en anneau puis en trophozoïte ; stade à partir duquel une intense réplication commence. Il donne alors naissance au schizonte. Celui-ci, après segmentation, montre une forme caractéristique en rosace, puis libère huit à trente deux mérozoïtes qui réinfectent des érythrocytes sains.

Après plusieurs cycles endo-érythrocytaires de ce genre, certains trophozoïtes se transforment en gamétocytes mâles et femelles qui seront ingérés par un moustique lors d'une piqûre [www.ebischoff.free.fr/palu/palu2.html].

Sur plus d'une centaine d'espèces isolées, pouvant parasiter les mammifères, les rongeurs, les bactéries, quatre seulement sont spécifiques à l'homme et peuvent déclencher la maladie sous des formes variées, plus ou moins graves. Il s'agit de :

Plasmodium falciparum, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* et *Plasmodium vivax*.

Dans notre étude nous avons utilisé un parasite des rongeurs : *Plasmodium berghei* qui est le premier *Plasmodium* murin à avoir été isolé en 1948 par VINCKE et LIPS [Vincke, 1948].

1.4.1-Les plasmodies humaines

1.4.1.1- *Plasmodium falciparum*

Il est à l'origine de la fièvre tierce (un jour sur deux) maligne et est responsable de 90% de la mortalité due au paludisme. C'est l'espèce dominante en Afrique, mais on le retrouve également en Asie et en Amérique latine. Son temps d'incubation est de 7 à 22 jours. Il est rare de voir survenir un accès fébrile à *P. falciparum* plus de deux mois après le départ d'une zone d'endémie car la longévité de cet hématozoaire est courte [Yacoudina, 2002].

Les trophozoïtes sont petits à moyens, de forme annulaire en virgule. La chromatine est constituée de deux taches et le cytoplasme est régulier et fin. Les trophozoïtes sont souvent associés à des schizontes, qui sont petits, compacts, peu nombreux libérant 12 à 30 mérozoïtes. Les gamétocytes sont en forme de banane ou arrondis [OMS, 2000].

1.4.1.2- *Plasmodium vivax*

Il est à l'origine de la fièvre tierce bénigne. Il a la même répartition géographique que *Plasmodium falciparum*, mais se retrouve aussi dans les zones tempérées.

L'incubation dure quinze jours à neuf mois, parfois plus. Elle évolue donc avec des rechutes à plus ou moins long terme en fonction des souches. [Yacoudina, 2002].

Les trophozoïtes de *P. vivax*, sont des anneaux ouverts, de forme irrégulière à cytoplasme irrégulier ou fragmenté qui deviennent denses, compacts à maturité. Les schizontes sont de grande taille ; à maturité ils contiennent 12 à 24 mérozoïtes. Les gamétocytes jeunes sont difficiles à distinguer des trophozoïtes matures [OMS, 2000].

1.4.1.3- *Plasmodium ovale*

Il sévit en Afrique intertropicale et est responsable de la fièvre tierce bénigne.

Son incubation peut être courte (15jours) ou très longue, entraînant des rechutes de plus de 5 ans après la première crise, mais non mortelles [Yacoudina, 2002].

Les trophozoïtes sont petits, en forme d'anneaux ou arrondis et compacts ; le cytoplasme est régulier assez charnu. Les schizontes sont petits et libèrent 4 à 12 mérozoïtes en amas diffus. Les formes reproductives sont rondes, plus petites que celles de *P. vivax*, on les confond facilement aux trophozoïtes matures [OMS, 2000].

1.4.1.4- *Plasmodium malariae*

Il est à l'origine de la fièvre quarte. Il est réparti de façon très inégale dans le monde. Son incubation est d'environ trois semaines et il peut survivre jusqu'à vingt ans entraînant des rechutes à long terme [Yacoudina, 2002].

Les trophozoïtes sont de petite taille, de forme annulaire arrondie et compacte. Le cytoplasme est régulier et dense. Les schizontes également de petite taille, libèrent 6 à 12 mérozoïtes en amas diffus. Les gamétocytes sont ronds et compacts, ressemblent aux trophozoïtes matures [OMS ; 2000].

Les formes érythrocytaires de ces quatre espèces sont illustrées dans l'annexe 1.

1.4.2- *Plasmodium berghei*

Ce parasite infecte les rats, les souris, les hamsters et d'autres rongeurs. Il infecte également beaucoup d'espèces de moustiques, le meilleur vecteur en laboratoire étant *Anopheles stephensi*. Il est très virulent et fatal pour les souris et les jeunes rats.

La phase exoérythrocytaire dure 48 à 60 heures. Les schizontes produisent 6 à 10 mérozoïtes. *P. berghei* a une grande affinité pour les érythrocytes jeunes [Cox, 1967].

1.5- Les vecteurs du paludisme

Les moustiques responsables de la transmission du paludisme à l'être humain appartiennent au genre *Anopheles* (famille des *Culicidae*).

Une soixantaine d'espèces différentes de ces moustiques véhiculent les parasites *Plasmodium* responsables de la maladie.

Une des espèces la plus connue et sans doute la plus étudiée jusqu'ici est *Anopheles gambiae*, principal vecteur du paludisme en Afrique. Dans cette partie du monde on note aussi la présence d'*Anopheles funestus* dont le rôle dans l'épidémiologie a longtemps été sous-estimé.

En Asie, parmi les anophèles impliquées dans la transmission de la maladie, on peut citer *Anopheles stephensi*, *Anopheles farauti*, *Anopheles sinensis*, *Anopheles tellessarus* et *Anopheles minimus*.

En Amérique, quatre espèces sont principalement impliquées : *A. albimanus*, *A. quadrimaculatus*, *A. darling* et *A. freeborni*

[www.pasteur.fr/actu/presse/documentation/anopheles.htm].

D'autres espèces d'anophèles peuvent héberger des parasites *Plasmodium* : elles ne piquent pas l'être humain, mais d'autres mammifères.

Les mâles se nourrissent de nectar de fleurs, tandis que les femelles piquent les humains et les mammifères, car les protéines sanguines sont indispensables à la maturation de leurs œufs. C'est au cours de ce repas de sang que les anophèles injectent les sporozoïtes présents dans leur salive à l'homme. L'anophèle femelle peut vivre environ un mois. Elle pond tous les trois jours environ 1500 œufs en surface des eaux stagnantes. Les larves aquatiques libérées par éclosion, se transforment en adultes en l'espace de 2 à 4 semaines [Bourré, 1993].

La découverte, en 2002, du génome d'*Anopheles gambiae* constitue un grand espoir pour la recherche du vaccin contre le paludisme [Enserink et Pennisi, 2002].

1.6- Autres types de transmission du paludisme

En dehors de la transmission de la maladie par le moustique, on distingue d'autres voies de contamination :

Le paludisme transfusionnel : il peut arriver que le paludisme soit transmis à un individu lors d'une transfusion de sang contaminé.

Le paludisme accidentel : il existe un risque de transmission du paludisme au personnel soignant ou à plusieurs malades par utilisation de matériels souillés, non stérilisés.

Transmission mère-enfant : une mère atteinte de paludisme a de fortes chances de transmettre la maladie à son enfant ; ce qui augmente les risques de mortalité néonatale et maternelle [Bourré, 1993].

1.7- Manifestations cliniques du paludisme

1.7.1- Physiopathologie

Pour les quatre espèces plasmodiales, parasites de l'homme, on distingue deux manifestations principales qui sont : la fièvre et la splénomégalie.

La fièvre peut être tierce (un jour sur deux) ou quarte (un jour sur trois).

Elle a deux origines possibles :

- L'éclatement synchrone des rosaces,
- La présence de certains pigments sécrétés par le parasite.

La splénomégalie est due à la phagocytose des débris d'hématies par la rate.

On peut également noter d'autres troubles plus ou moins importants tels que l'anémie, la thrombopénie, un sub-ictère [Bourré, 1993].

1.7.2- Les formes cliniques

Le paludisme peut se manifester sous diverses formes d'intensité variable.

1.7.2.1- La primo-invasion

Les symptômes apparaissent après une période d'incubation de sept à trente jours.

L'accès commence par un syndrome grippal accompagné d'asthénie, d'arthralgie, de myalgies, de céphalées avec parfois un tableau de gastro-entérite et de fièvre

continue en plateau ou en plusieurs poussées quotidiennes. Les urines sont foncées. On a une petite hépatomégalie, mais la rate n'est pas palpable.

Traité, l'accès évolue de façon favorable. Non traité, il évolue vers une fièvre intermittente et une splénomégalie [Bourré, 1993].

1.7.2.2- L'accès palustre simple

Appelé aussi phase d'état, il est dû à l'éclatement synchrone des rosaces, il peut succéder à une primo-infection ou marquer l'entrée dans la maladie.

On distingue trois phases :

- a) Frissons, tremblements et sensations de froid qui durent environ une heure. La température corporelle augmente à 39,5-40°C. La rate est de plus en plus palpable.
- b) Chaleur : la peau devient brûlante et sèche avec 40-45°C. La splénomégalie régresse. Cette phase dure trois à quatre heures.
- c) Sueur : il n'y a plus de fièvre. Le malade transpire beaucoup. La pression artérielle augmente. La crise est suivie d'une sensation de soulagement ou de fatigue.

Sous traitement, l'accès simple est rapidement favorable, mais se renouvelle périodiquement en l'absence de thérapeutique et peut entraîner des complications graves [Bourré,1993].

1.7.2.3- L'accès pernicieux

Egalement appelé neuropaludisme, il survient souvent chez les sujets non immuns ; il est dû exclusivement à *Plasmodium falciparum* et résulte du blocage des vaisseaux sanguins irriguant le cerveau par les globules rouges infectés.

La symptomatologie est dominée par des signes neurologiques : fièvre à 40-41°C, troubles de la conscience, coma, convulsions, signes méningés cliniques (céphalées, vomissements). Un ictère et une hépatomégalie sont souvent constatés. Le pronostic dépend de la rapidité du traitement. L'évolution spontanée est mortelle chez l'enfant et l'adulte non immuns. Sous traitement, les troubles disparaissent sans séquelles ; mais l'enfant peut garder quelques troubles neurologiques résiduels [Bourré, 1993].

1.7.2.4- Les autres formes de paludisme

Il existe d'autres formes de paludisme qui sont en général des complications de l'accès simple : le paludisme viscéral évolutif et la fièvre bilieuse hémoglobinurique.

1.8- Diagnostic du paludisme

En présence des manifestations cliniques spécifiques du paludisme, le diagnostic de certitude est apporté par l'observation du *Plasmodium* sur un frottis sanguin ou une goutte épaisse. Le sang doit être prélevé au moment du pic fébrile.

Certaines données biologiques et immunologiques telles que l'anémie, la thrombopénie, etc.... peuvent également aider au diagnostic [Bourré, 1993].

1.8.1- Examen direct

Utilisé par LAVERAN, il consiste à observer sans coloration une goutte de sang entre lame et lamelle.

Cet examen permet d'observer la mobilité des plasmodies [Bourré, 1993].

1.8.2- Frottis mince

On étale une goutte de sang (1mL) sur une lame, puis on la colore soit par la technique de May-Grünwald-Giemsa, soit par la technique plus rapide du R.A.L. On obtient alors un étalement monocouche des hématies colorées.

La lecture se fait plutôt vers la queue du frottis avec un objectif 100 à immersion. Cette technique permet un diagnostic rapide d'espèce, de stade et du degré de parasitémie [Bourré, 1993].

1.8.3- Goutte épaisse

C'est une méthode qui consiste à concentrer les plasmodies. On ne l'examine qu'en cas de frottis négatif, devant une forte suspicion de paludisme. La destruction des hématies et la déformation des plasmodies rendent le diagnostic d'espèce délicat.

Technique : une goutte de sang est posée au milieu d'une lame, le sang est défibriné, les hématies sont lysées en tournant la goutte avec le coin d'une autre lame par un mouvement circulaire pendant deux minutes, pour former une plage ronde ou ovale, la plus harmonieuse possible. La lame est colorée, généralement par la

méthode de May- Gründwald Giemsa. La lecture se fait à l'objectif 100 à immersion [Bourré, 1993].

1.8.4- Données biologiques

Sur le plan biologique, la numération formule sanguine (NFS) permettra de constater :

- une anémie hémolytique avec hyperréticulocytose et polychromatophilie,
- une hyperleucocytose initiale suivie de neutropénie lors des accès répétés ou d'un paludisme viscéral évolutif,
- Une thrombopénie.

Ces différents paramètres doivent être contrôlés au cours de l'accès [Bourré, 1993].

1.8.5- Diagnostic immunologique

Il est utilisé pour des cas particuliers :

- faible parasitémie,
- malade sous traitement,
- dépistage des donneurs dangereux potentiels,
- enquêtes épidémiologiques, pour déterminer le niveau d'infestation d'une population.

On utilise généralement des techniques d'immunofluorescence indirecte. [Bourré, 1993].

1.9- Traitement du paludisme

1.9.1- Les médicaments

On peut classer les antipaludiques selon leurs propriétés pharmacologiques, leurs propriétés chimiques et leur origine [Bryskier, 1988].

Classification selon les propriétés pharmacologiques

- *les schizonticides*, actifs sur les schizontes, inactifs sur les gamètes, ils sont curatifs des accès palustres, mais n'empêchent pas de transmettre la maladie. Ils comprennent : la quinine et ses sels, les amino-4 quinoléones, les biguanides et dérivés, les diaminopyrimidines; les sulfamides.

- Les *gaméticides* qui n'ont d'action que sur les gamètes; ils n'ont pas d'intérêt immédiat sur le paludéen, mais ils sont intéressants sur le plan collectif car ils peuvent empêcher la transmission de la maladie. Ce sont : les amino-8-quinoléines.

Classification selon la famille chimique

- Les méthanol quinoléïnes : la quinine et la méfloquine.
- Les amino-4 quinoléïnes; la chloroquine et l'amodiaquine.
- Les amino-8 quinoléïnes : la primaquine.
- Les antifoliques : les biguanides et les diaminopyrimidines (pyriméthamine et triméthoprime).
- Les antifoliques : sulfadoxine, sulfalène, dapsone.
- Les phénanthrènes méthanols : halfan.
- Les aryl-amino-alcool : artémisinine et dérivés (artemether, artésunate,..).

Il faut noter que certains antibiotiques appartenant à la famille des tétracyclines tels que la doxycilline ou des macrolides sont utilisés en association avec les schizonticides dans les cas de résistance partielle pour renforcer l'activité de l'antipaludique.

Classification selon l'origine

- Origine naturelle : quinine, artémisinine, sesquiterpènes lactones).
- Origine synthétique : quinolyl-méthanol, amino-4-quinoléïnes, amino-8-quinoléïnes, antifoliques, antifoliques.

Le problème majeur qui se pose, avec ces produits, est la pharmacorésistance du *Plasmodium* rendant les traitements inefficaces. Le choix de l'antipaludique est très important si l'on veut réussir une bonne thérapie. Il doit tenir compte non seulement de la chimiorésistance, mais également de la spécificité de chaque individu (état général du malade, allergies).

Chez la femme enceinte certains médicaments sont totalement contre-indiqués, tels que la Doxycycline ou la Clindamycine [OMS, 2001].

1.9.2- Traitement curatif

Il y a plus de 350 ans que les Indiens d'Amérique du Sud ont découvert les vertus de l'écorce du quinquina contre le paludisme. En 1820, Pelletier et Caventou en isolent le principe actif : la quinine. Depuis, de nombreuses molécules ont été synthétisées. Le tableau 1 donne le mode d'utilisation et les posologies des antipaludiques les plus couramment utilisés de nos jours.

Tableau 1 : Chimiothérapie du paludisme [OMS, 2001].

| DCI | Spécialité | Dosage | Posologie | A savoir |
|--|---|--|--|---|
| Amodiaquine | Flavoquine Camoquine | Cp. à 153 mg | 10mg/kg pendant 3jours | A prendre après les repas |
| Chloroquine | Nivaquine | Cp.séc. 100mg et 300mg Amp. inj. à 100mg | 10mg/kg J1 et J2 et 5mg/kg J3 | Prendre pendant les repas pour éviter nausées et vomissements |
| Halofantrine | Halfan | Susp. Buv. 20mg/mL Cp. à 250mg | 24mg/kg pendant 24h en 3 prises | Prendre à distance des repas |
| Méfloquine | Lariam | Cp. Quadriséc. à 250mg | 15 ou 25mg//kg pendant 24h en 2 ou 3 prises. | Prendre au cours des repas |
| Proguanil+ Atovaquone | Malarone | Cp. A 100mg/250mg | 4cp en prise unique pendant 3 jours | Prendre avec un repas ou une boisson lactée pour favoriser l'absorption |
| Quinine | Quinimax Quinine Lafran Surquina | Cp. à 125 et 500mg Amp. inj. 125,250 et 500 Cp. à 250 et 500mg Cp. à 250 mg Amp. inj. à 245 et 490 mg | Per. os : 8mg/kg 3 fois par jour pendant 7 j ; IV : 8mg/kg 3 fois par jour | Surveiller la glycémie surtout chez la femme enceinte et l'enfant |
| Sulfadoxine+ Pyriméthamine | Fansidar | Cp. à 500 /25 mg Amp. inj. à 500/25mg | 2 à 3 cp. ou ampoule en une seule administration | Si effets secondaires, arrêter définitivement le traitement |
| Artémisinine Et dérivés ⁽²¹⁾ | Artémisinine Paluther (arthemeter) Artesunate (arsumax) | Cp. à 200mg Suppo.à 100,200,300,400,500mg Amp. Inj. à 80mg/mL et 40mg/mL cp. à 50mg Cp à 50mg Amp. Inj. à 60mg/mL | 20mg/KG en 2 prises j1 puis 10mg/Kg en 1 fois pendant 6 jours. 4 mg/kg J1 puis 2 mg/kg en deux prises pendant 6 jours. 2 Cp matin et soir le premier jour et 1 Cp matin et soir du 2eme au 5e jour. | |

Il existe d'autres associations médicamenteuses utilisées pour traiter le paludisme. On peut citer : l'association proguanil-chloroquine, artemether-lumefantrine, méfloquine-sulfadoxine-pyriméthamine.

La doxycycline, la tétracycline sont des antibiotiques qui sont également utilisés en association avec la quinine pour traiter les accès palustres [OMS, 2001].

La quinine est l'antipaludique le plus ancien et il demeure de nos jours, le médicament par excellence contre le paludisme. On l'utilise pour le traitement des formes graves de paludisme: dose de charge 17 mg/kg en perfusé en quatre heures, suivi d'un traitement d'entretien de 8mg/kg toutes les huit heures en perfusion de quatre heures [Moniteur des pharmacies, 2003].

1.9.3- Traitement préventif

Les recherches sur le vaccin antipaludique n'ayant pas encore abouties, la protection contre le moustique et la chimioprophylaxie restent les principaux moyens de prévention contre la maladie [Bourré, 1993].

➤ Pour éviter les piqûres de moustiques, il faut d'abord assainir le cadre de vie :

- éviter l'accumulation des ordures, des eaux ménagères à proximité des habitations.
- Pulvériser des insecticides dans les chambres le soir avant le coucher.
- Dormir de préférence sous des moustiquaires, imprégnées d'insecticides.
- Utiliser des répulsifs sous formes de fumigènes ou de pommade.

Le port de vêtements longs et assez épais pour sortir le soir est recommandé.

La lutte antivectorielle vient porter appui à ces moyens d'éviter la maladie.

- La chimioprophylaxie concerne surtout les sujets non immuns : les voyageurs séjournant dans les zones endémiques et les enfants. L'antipaludique généralement utilisé est la chloroquine, mais du fait de la chimiorésistance il est de plus en plus remplacé par d'autres molécules.

Les médicaments utilisés pour la prévention sont essentiellement : la chloroquine, proguanil associé ou non à la chloroquine ou à l'atovaquone, la méfloquine, la doxycycline [Moniteur des pharmacies, 2003].

Le tableau 2 donne leur mode d'utilisation et les posologies usuelles.

Tableau 2: Chimio prophylaxie du paludisme chez l'adulte [Moniteur des pharmacies, 2003].

| DC | Spécialité | Dosage | Posologie | A savoir |
|-----------------------|------------|--------------------------|--|--|
| Chloroquine | NIVAQUINE | Cp. séc. 100 mg et 300mg | 100 mg /jour ou 300 mg deux fois/semaine | Pour les pays du groupe 1 |
| Proguanil | PALUDRINE | Cp. Séc.100 mg | 200 mg/jour | Pour les pays du groupe 2 |
| Proguanil+chloroquine | SAVARINE | Cp. à 200 mg/100 mg | un cp. par jour | Pour les pays du groupe 2 |
| Proguanil+atovaquone | MALARONE | Cp. à 100 mg/250 mg | Un cp./jour à heure fixe | En pays du groupe 2 et 3 |
| Méfloquine | LARIAM | Cp. quadriséc. à 250mg | 250 mg/semaine | En pays du groupe 3 |
| Doxycilline | DOXYPALU | Cp à 50 et 100mg | 100 mg/jour | En cas de résistance ou de contre indication à la méfloquine |

Chez l'enfant, la chimio prophylaxie est délicate. Le tableau 3 donne quelques schémas thérapeutiques pour l'enfant.

Tableau 3 : Chimio prophylaxie du paludisme chez l'enfant [Moniteur des pharmacies, 2003].

| DC | Présentation | Poids | Posologie | A savoir |
|-------------|-----------------------|--------------|--------------|---|
| Chloroquine | Sirop 25mg/5ml | de 8.5kg | 12,5 mg/j | Attention aux intoxications accidentelles graves |
| | | 9 à 16.5 | 25 mg/j | |
| | | 17 à 33 kg | 50 mg/j | |
| | | 33.6 à 46 kg | 75 mg/j | |
| Proguanil | Cp. Sécables de 100mg | de 8.5kg | 25 mg/j | Les cps. peuvent être écrasés et dissous dans l'eau |
| | | 9 à 16.5kg | 50 mg/j | |
| | | 17 à 33kg | 100 mg/j | |
| | | 33.6 à 46 Kg | 150 mg/j | |
| Méfloquine | Cp. quadriséc. 250mg | 15 à 20 kg | ¼ cp/semaine | Les cps peuvent être écrasés et dissous dans l'eau. Contre-indiqué si poids < 15 kg |
| | | 20 à 30 kg | ½ cp/semaine | |
| | | 30 à 45 kg | ¾ cp/semaine | |

La chimio prophylaxie doit commencer deux semaines avant le départ en voyage et se poursuivre durant 4 semaines après le retour sauf pour la Malarone que l'on maintiendra 7 jours et la méfloquine que l'on commence à prendre 10 jours avant le départ [Moniteur des pharmacies, 2003].

Toutes les molécules citées plus haut ont un certain coût, et ne sont pas accessibles pour la grande majorité des populations des pays touchés par le paludisme. Le traitement par les plantes est donc privilégié, surtout dans les zones rurales.

2- Généralités sur la médecine traditionnelle

2.1- Définition de la médecine traditionnelle

Selon un groupe d'experts de l'OMS, la médecine traditionnelle est : « l'ensemble de toutes les connaissances et pratiques, explicables ou non pour diagnostiquer, prévenir ou éliminer un déséquilibre physique, mental ou social, en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation transmise de génération en génération. »

La médecine traditionnelle Africaine pourrait être définie comme « l'ensemble des pratiques, mesures, ingrédients, interventions de tout genre, matérielles ou autres qui ont permis à l'Africain depuis toujours de soulager ses souffrances » [OMS, 1978].

Avant les grandes révolutions scientifiques et la découverte des molécules pharmaceutiques modernes, les plantes, les animaux et les minéraux étaient les principales sources médicamenteuses. Aujourd'hui, leur utilisation est surtout constatée dans les régions pauvres du monde. Appelée également médecine « complémentaire » ou « parallèle », dans les pays industrialisés où son usage ne cesse de croître, (environ 50% de la population y a eu recours au moins une fois) la médecine traditionnelle est beaucoup plus courante en Afrique, en Asie et en Amérique Latine. Dans ces régions de nombreux pays y ont recours pour répondre à certains de leurs besoins au niveau des soins de santé primaires. En Chine, les préparations traditionnelles à base de plantes représentent entre 30 et 50% de la consommation totale de médicaments. Ce taux est de 80% pour les pays d'Afrique [www.who.int/mediacentre/factsheets/2003/fs134/fr/].

2.2- Médecine traditionnelle au Niger

Au Niger, la quasi-totalité de la population utilise les plantes pour se soigner (80%). Comme dans la plupart des pays en voie de développement, la médecine traditionnelle pose le problème de qualité (efficacité, dosage). Le Laboratoire de recherche de la Faculté des Sciences de l'Université de Niamey et l'ONPPC (Office National des Produits Pharmaceutiques, actuel Lanspex), sont les deux principales structures qui s'occupent de la recherche sur les plantes médicinales du Niger. Des enquêtes sur ces plantes médicinales et les expériences des guérisseurs, effectuées au Niger, ont permis d'identifier et de décrire 762 plantes dans les différentes zones climatiques du pays. Ces plantes ont été classées au total en quatre cent cinquante domaines différents d'action thérapeutique [Astor, 1992]. Les renseignements concernant les indications, posologies, effets secondaires, ont été fournis par les guérisseurs et ne sont pas suffisants pour décider lesquelles de ces plantes peuvent être inscrites dans une pharmacopée. Pour ce faire, le laboratoire de la Faculté des Sciences et le Lanspex, malgré les problèmes (surtout financiers) qu'ils rencontrent, oeuvrent pour la détermination des activités chimiques et biologiques des plantes médicinales du Niger. A ce jour, le screening chimique de près de 50 plantes a été réalisé et constitue un bon départ pour l'élaboration d'une pharmacopée nationale

[GTZ, 1992]. Des études portant sur la détermination des structures des composés organiques et huiles essentielles des plantes, ainsi que l'étude des propriétés pharmacologiques ont été réalisées et d'autres sont en projet.

La stratégie mondiale en matière de pharmacopée et médecine traditionnelle, adoptée par l'OMS en 2002, devrait permettre aux pays en voie de développement, dont le Niger, d'améliorer la qualité des produits et méthodes traditionnels

[www.who.int/mediacentre/factsheets/2003/fs134/fr/].

Actuellement, les études sur les plantes antipaludiques connaissent particulièrement un regain d'intérêt du fait de la résistance croissante du parasite aux molécules déjà existantes.

2.3- Plantes et paludisme

Il existe, de part le monde, de nombreuses plantes utilisées traditionnellement contre le paludisme. Des études portant sur certaines de ces plantes ont permis de tester *in vivo* ou /et *in vitro* leur activité réelle et aussi d'isoler des molécules plus ou moins actives. Dans une récente publication, Fanie Van Heerden et Sianne Schwikkard [Schwikkard et Van Heerden, 2002], ont répertorié les études faites sur des plantes antiplasmodiales : leurs familles, les structures des composés isolés, les résultats des essais pharmacologiques. Parmi les substances naturelles isolées et ayant montré une certaine activité antiplasmodiale on note de nombreux alcaloïdes, mais on peut citer aussi, les quassinoides, les sesquiterpènes et bien d'autres. D'après cette étude, de 1990 à Décembre 2002, 186 articles ont été publiés et 170 structures de composés antipaludiques naturels issus des plantes ont été déterminées [Schwikkard et Van Heerden, 2002]. Les figures 3 à 8 donnent les structures de quelques composés antipaludiques issus des plantes.

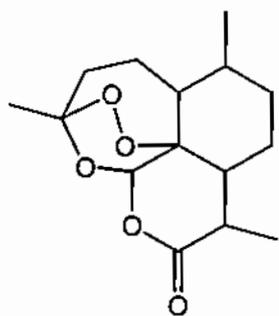


Figure 3 : Artemisinine
(*Artemisia annua*)

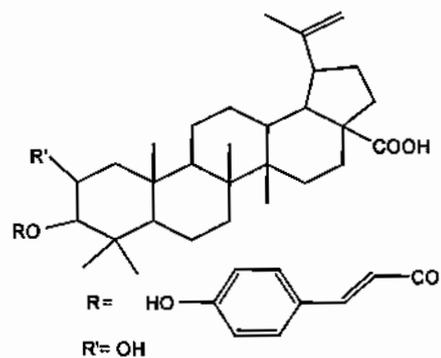


Figure 4 : 3-O-E-p acide coumaroylalphitolique
(*Cochlospermum tinctorium*)

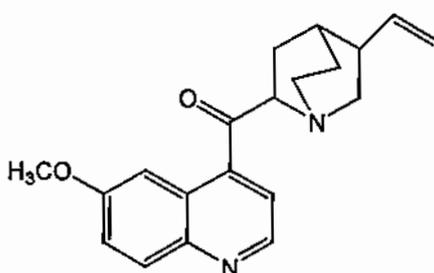


Figure 5 : Quinine
(Quinquina)

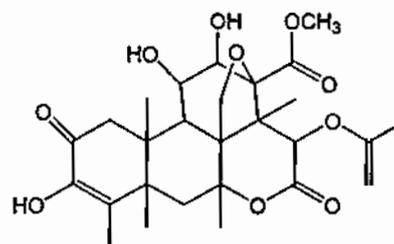


Figure 6 : Lignan niasol
(*Asparagus africanus*)

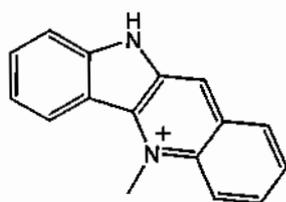


Figure 7 : Bruceine B
(*Brucea javanica*)

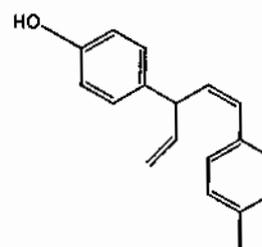


Figure 8 : cryptolepine
(*Cryptolepis sanguinolenta*)

Cependant, la plupart de ces molécules restent au stade expérimental et souvent leurs activités seules ne suffisent pas à soigner complètement la maladie, d'où la nécessité de les associer avec d'autres molécules. Ceci permettrait non seulement de potentialiser leur effet, mais aussi de lutter contre la chimiorésistance. En effet, l'expérience a montré qu'en associant deux médicaments ou plus on pouvait différer l'apparition de la résistance aux deux médicaments [RBM, 2003]. L'artémisinine est un bon exemple car son association avec d'autres molécules s'est montré très efficace contre le paludisme résistant [Wiesner, 2003].

Le produit qui est l'objet de notre étude est constitué de trois plantes : *Celosia trigyna* Linn., *Limeum pterocarpum* (Gay) Heimerl, *Momordica balsamina* Linn. . Il est utilisé en infusion avec un peu de citron pendant quatre jours pour traiter les accès palustres. L'annexe 2 donne la liste de quelques plantes utilisées traditionnellement au Niger contre le paludisme.

2.3- Présentation des plantes étudiées

2.3.1- *Celosia trigyna*

2.3.1.1- Systématique

| | |
|-----------------|------------------------|
| Règne : | végétal |
| Embranchement : | <i>Magnoliophyta</i> |
| Classe : | <i>Eudicotyledonen</i> |
| Sous classe : | <i>Caryophyllidēa</i> |
| Ordre : | <i>Caryophyllales</i> |
| Famille : | <i>Amaranthaceae</i> |
| Genre : | <i>Celosia</i> |
| Espèce : | <i>trigyna</i> |

2.3.1.2- Noms vernaculaires [Adjanooun, 1985].

- Nom Hausa : tsarkya' r n gulu, nannahua
- Nom Zarma : nafho-nafho .

2.3.1.3- Botanique

C'est une plante herbacée, annuelle, allant jusqu'à 40 cm de haut, quelque fois décombante. Les feuilles sont ovales ou ovales-lancéolées, de dimension variable. Elle présente des inflorescences terminales, en racèmes spiciformes. Les fleurs blanchâtres ont jusqu'à 3mm de long.

C'est une plante répandue dans toute l'Afrique tropicale. On la rencontre aussi en Arabie et à Madagascar [Adjanooun, 1985].

2.3.1.4- Usages

Au Niger, la partie aérienne fraîche ou en poudre est utilisée localement contre les piqûres de scorpion. En décoction elle sert de boisson ou est utilisée en lavage antipyrétique. La décoction de la partie aérienne est également utilisée pour le traitement des hémorroïdes, en association avec la bouillie de mil. [Adjanooun, 1985].

Les feuilles de *C. trygina* sont comestibles malgré leur goût amer, elles sont utilisées dans la préparation de sauces et soupes [Burkill, 1985].

Au Sénégal, les feuilles sont utilisées comme antihelminthiques, surtout chez les enfants [Burkill, 1985].

En Sierra Leone, la feuille est mangée fraîche en cas de douleurs cardiaques [Burkill, 1985].

Au Nord du Nigeria, les feuilles sont utilisées en application sur les éruptions cutanées purulentes et sur les maladies de la peau en général [Burkill, 1985].

Au Ghana, les feuilles écrasées servent de traitement des désordres digestifs, hépatiques et rénaux, mais sont aussi utilisées en cataplasme en cas de douleurs thoraciques. Au Congo, elles sont ainsi utilisées en application sur les scarifications pour atténuer les douleurs [Burkill, 1985].

Cette plante est dite diurétique et hémostatique [Burkill, 1985].

En Ethiopie, les feuilles et les fleurs sont utilisées pour traiter l'anémie et les diarrhées [Burkill, 1985].

En Côte d'Ivoire comme au Congo, les feuilles sont utilisées pour traiter les troubles ovariens.

La sève des feuilles, préparée en collyre est utilisée dans le traitement des troubles ophtalmologiques [Burkill, 1985].

Au Soudan, les feuilles séchées sont utilisées dans le traitement des diarrhées.

Il est rapporté que la consommation accidentelle (en excès ou au mauvais stade de maturité), entraîne vertiges et délires [Burkill, 1985].

2.3.1.5- Etudes chimiques

- Une molécule : la kosotoxine a été isolée de *C. trygina* [Burkill, 1985].
- Les graines contiennent de l'huile, et une certaine quantité de nitrate de potassium [Burkill, 1985].
- La plante est riche en saponines et contient des flavones en faible quantité [Burkill, 1985].

2.3.1.2- Etudes pharmacologiques

- la kosotoxin, molécule isolée de *C. trygina*, a des propriétés antihelminthiques [Burkill, 1985].

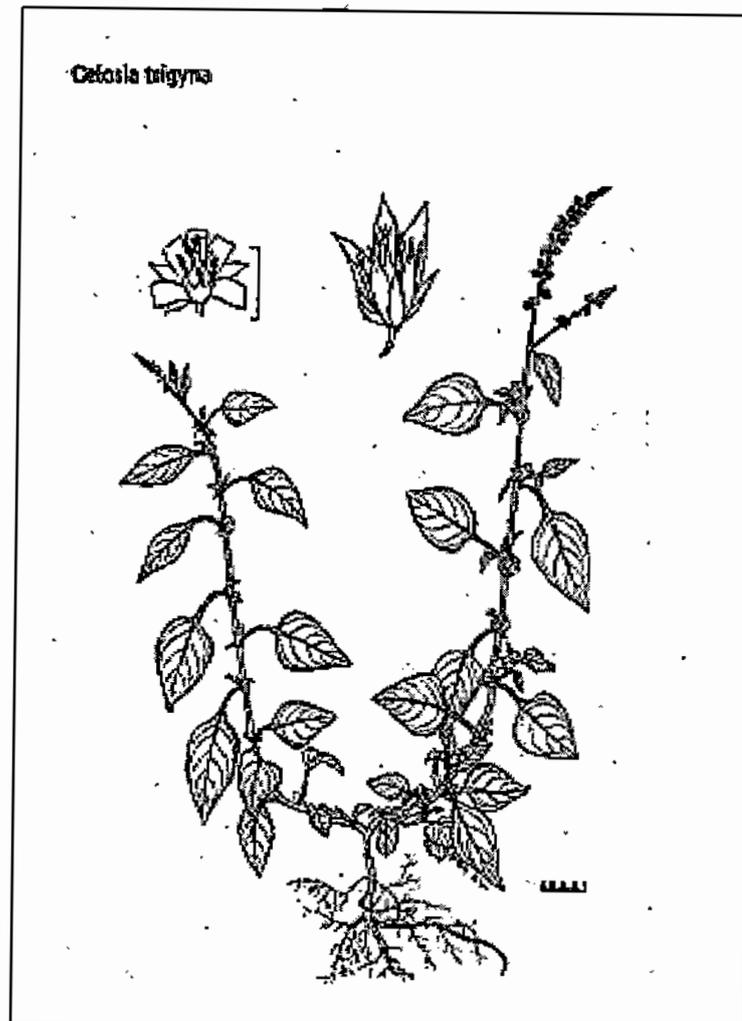


figure 9 : schéma d'un pied de *Celosia trigyna*

2.3.2- *Limeum pterocarpum*

2.3.2.1- Systématique

| | |
|-----------------|--------------------|
| Règne : | végétal |
| Embranchement : | Magnoliophyta |
| Classe : | Eudicotyledonea |
| Sous classe : | Caryophyllidea |
| Ordre : | Caryophyllales |
| Famille : | Aizoaceae |
| Genre : | <i>Limeum</i> |
| Espèce : | <i>pterocarpum</i> |

2.3.2.2- Noms vernaculaires

- Nom Haoussa : garkoua koussou
- Nom Zarma : ganda korey,

2.3.2.3- Botanique

C'est une plante annuelle de 30 cm à tige rameuse tout particulièrement dans sa partie inférieure. La racine est pivotante.

Les feuilles sont nombreuses, alternes, tendres, lancéolées-linéaires, à pétioles courts.

Les fleurs sont en faisceaux et de couleur blanc-vert.

Le fruit est déhiscent et s'ouvre en deux parties.



Figure 10 : herbiers de *L. pterocarpum*

2.3.2.4- Usages

Les feuilles sont séchées, broyées et utilisées avec du lait pour traiter le paludisme [Diallo, 1999].

Une autre préparation antimalarial consiste à laisser macérer la plante entière, jusqu'à ce que l'eau change de couleur. La solution est bue pendant trois jours [Diallo, 1999].

Les feuilles séchées sont utilisées en décoction pour traiter les maux de ventre [Diallo, 1999].

La décoction, préparée à partir d'une poignée de feuilles, dans 500 mL d'eau est prise avec 75 mL de graisse de poisson, pour stimuler la prise de poids [Diallo, 1999].

2.3.2.5- Etudes chimiques

- Des études phytochimiques réalisées par Mahamane Baoua *et al.* ont montré la présence de certains groupes de composés [Baoua, 1976].

Le tableau 4 donne les résultats de leurs travaux.

Tableau 4 : Résultats du screening chimique de *Limeum pterocarpum*.

| Alcaloïdes | | Flavonosides | Saponosides | Tanins | Quinones | Steroïdes- Terpènes |
|------------|---|--------------|-------------|---------|----------|--------------------------------------|
| M | D | 0 | 1,0 | Pp vert | 0 | LB: bleu |
| 0 | + | | | | | H ₂ SO ₄ :noir |

Légende : M : réactif de Mayer

+ : faiblement positif

D : réactif de Dragendorf

0 : négatif

- Khalid Ikhiri *et al.* ont isolé, en 1995, le composé majoritaire du *Limeum pterocarpum*. La structure du produit a été déterminée par les méthodes spectroscopiques usuelles. Il s'agit d'un sesquiterpène de type drimane : « le limeloïde », de formule $C_{15}H_{24}O_4$ [Ikhiri, 1995].

2.3.2.6 - Etudes pharmacologiques

Une étude menée par Diallo *et al.* [Diallo, 2001], portant sur les propriétés antifongique, antioxydante, molluscicides, larvicides de 20 plantes médicinales dont *L. pterocarpum*, a montré que :

- L'extrait DCM des parties aériennes de *Limeum pterocarpum*, possède une activité antifongique, spécialement sur le germe *Candida albicans* ;
- Les extraits méthanolique et DCM des parties aériennes de *L. pterocarpum*, à raison de 500 mg/L possèdent un effet larvicide sur le genre *Anopheles*.

2.3.3- *Momordica balsamina*

2.3.3.1- Systématique

| | |
|-----------------|------------------------|
| Règne : | végétal |
| Embranchement : | <i>Magnoliophyta</i> |
| Classe : | <i>Eudicotyledonea</i> |
| Sous classe : | <i>Rosidea</i> |
| Ordre : | <i>Cucurbitales</i> |
| Famille : | <i>Cucurbitaceae</i> |
| Genre : | <i>Momordica</i> |
| Espèce : | <i>balsamina</i> |

2.3.3.2- Noms vernaculaires [Adjanooun, 1985].

- Nom Haoussa : garahuni ;
- Nom Zarma : badôma.

2.3.3.3- Botanique

C'est une plante annuelle, volubile, grêle, glabre ou presque, atteignant 4 à 5 m de long.

Les feuilles sont simples avec 3 à 5 lobes séparés jusqu'à la moitié du limbe, à bords un peu dentés, de 3 à 4 cm de large, glabres ou presque, longuement pétiolées.

Les fleurs sont jaune-pâles, de 2 à 3 cm de diamètre, le pédoncule, grêle a 5-7 cm de long et porte vers le sommet une bractée foliacée denticulée.

Le fruit est ovoïde, de 4 à 5 cm de long, orangé à maturité, avec de nombreuses épines molles non piquantes.

Plante pantropicale, on la rencontre dans toutes les parties sèches de l'Afrique intertropicale[Adjanooun,1985].



Figure 11 : feuille, fleur et tige de *Momordica balsamina*

2.3.3.4- Usages

Au Niger, la partie aérienne est utilisée contre la jaunisse ; le jus des feuilles est utilisé en instillation auriculaire en cas d'otite [Adjanohoun, 1985].

La plante entière est utilisée comme stomachique, émétique et purgatif [Burkill, 1985].

Au Sénégal, la plante entière est utilisée comme vermifuge par les PEULH, l'infusé est utilisé en bain contre la fièvre ; ce traitement peut-être complété par une décoction ajoutée à du natron. Le macéré, est utilisé comme galactagogue en massage sur la poitrine. Cette préparation sert aussi à traiter les douleurs intercostales. Les PEUHL l'utilise également pour augmenter la production laitière des vaches. Ces populations prêtent à *M. balsamina* des propriétés tranquillisantes, très bénéfiques dans les cas de maladies mentales [Burkill, 1985].

En Afrique du Sud, les ZULU utilisent l'infusé ou le décocté de la plante pour calmer les maux de ventre. Dans cette région, les feuilles et parfois les fruits, sont utilisés dans la préparation des sauces et soupes. La tribu des PEDI, considère cependant le fruit comme un poison mortel, mais consomme les jeunes feuilles [Burkill, 1985].

Le jus extrait des feuilles est utilisé par les YORUBA dans le traitement des vers intestinaux [Burkill, 1985].

Les graines des fruits, trempées dans l'eau puis introduites dans le col de l'utérus, servent d'abortifs chez les MBULA du Nord-Nigeria. Fruits et feuilles moussent au contact de l'eau et sont utilisés comme savon à usage corporel uniquement. Les feuilles peuvent également être utilisées pour nettoyer les métaux [Burkill, 1985].

Les fruits mélangés à de l'huile douce permettent de préparer un ointement neutre qu'on applique en cas de suppuration, d'inflammation, de plaies, de brûlures, etc. [Burkill, 1985].

M. balsamina est également utilisé comme poison par des tribus du Bénin. Il est rapporté que le fruit a causé un empoisonnement chez des porcs, cependant il est dit

en Australie que les graines sont comestibles après trempage dans l'eau et cuisson [Burkill, 1985].

Les tiges servent souvent d'ingrédients pour des prescriptions aphrodisiaques et comme les graines des fruits, sont utilisées pour provoquer des avortements [Burkill, 1985].

Elle est broutée par les ânes, les moutons et chèvres. Les chevaux ne la consomment pas [Burkill, 1985].

2.3.3.5- Etudes chimiques

- Mahamane Baoua *et al.* ont effectué un screening chimique sur la plante portant sur la recherche des alcaloïdes, des flavonoïdes, des saponosides, des quinones, des stéroïdes et des terpènes. Le tableau 5 donne le résultat des différents tests [Baoua, 1976].

Tableau 5 : résultats du screening chimique de *Momordica balsamina*

| Alcaloïdes | | Flavonosides | Saponosides | Tanins | Quinones | Stéroïdes et terpènes |
|------------|----|--------------|-------------|---------|----------|---|
| M | D | 0 | 0,9 | Pp Vert | 0 | LB : bleu |
| ++ | ++ | | | | | H ₂ SO ₄ :bleu-noir |

N.B : Ces résultats sont obtenus à partir de la plante entière.

- Deux esters des acides phényl propanoïque et rosmarinique ont été isolés des parties aériennes de *Momordica balsamina*. Ces composés ont été isolés de l'extrait méthanolique [Nunziatina de Tommasi, 1991].
- Des diterpènes ont également été isolés à partir de la plante entière. Leurs structures ont été déterminées par RMN (Résonance Magnétique Nucléaire).

2.3.3.6- Etudes pharmacologiques

Cette plante a fait l'objet de plusieurs études pharmacologiques.

- Les diterpènes issus des parties aériennes de la plante ont été testés pour le traitement du Sida [Nunziatina de Tommasi, 1995].
- Les extraits aqueux des feuilles de *Momordica balsamina*, testés par BA Iwalokun *et al.* au Nigéria a montré une faible activité contre les shigelles [Iwalokun, 2001].
- Akinyemi *et al.* ont quant à eux démontré que l'activité contre les Salmonelles (*Typhi et Paratyphi*) est assez intéressante [Akinyemi, 1998].
- Les esters des acides phényles propanoïques isolés de la plante entière par NUNZIATINA *et al.* ont montré des propriétés antibactérienne, analgésique et antihypertenseur [Nunziatina de Tommasi, 1995].
- La plante renferme un principe amer : la momordicine [Burkill, 1985].

3- Présentation du cadre d'étude

Les analyses spectrométriques et les tests *in vitro*, entrant dans le cadre de notre étude ont été réalisées avec la collaboration de l'institut de chimie des substances naturelles du CNRS à gyf/Yvette (France).

Au Niger, le laboratoire de chimie des substances naturelles et l'animalerie du CERMES, ont abrité nos recherches.

3.1- Aperçu sur le Niger

Le Niger est un pays sahélien de l'Afrique de l'Ouest, situé en zone tropicale sèche avec une superficie de 1.267.000 Km². La population est estimée à 10.790.352 habitants avec une densité brute de 8,5 habitants/Km² [RGP, 2001].

Le pays est limité au Nord par l'Algérie et la Lybie, à l'ouest par le Mali et le Burkina-Faso, à l'Est par le Tchad et au Sud par le Nigéria et le Bénin.

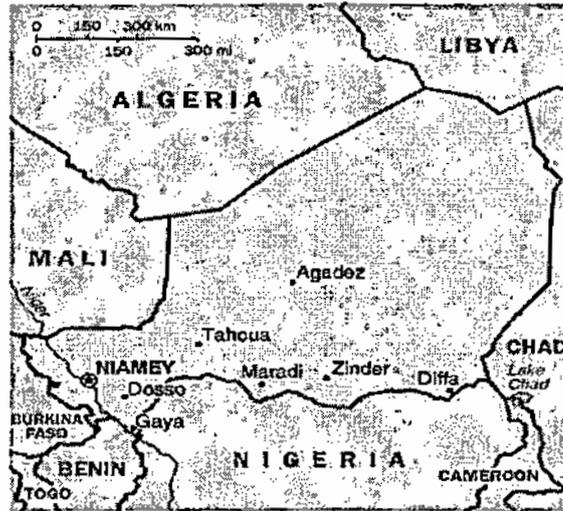


Figure 12 : carte du Niger

Dans son ensemble le pays est caractérisé par une température moyenne très élevée (37°C). On distingue une saison des pluies très courte de Juin à Septembre et une saison sèche d'Octobre à Mai avec alternance de froid (novembre- février) et de chaleur (mars-mai).

On rencontre au Niger plusieurs groupes ethniques, les Haoussa et les Zarma sont majoritaires.

Les taux de mortalité et de morbidité sont très élevés, ce qui s'explique aisément par la situation d'extrême pauvreté dans laquelle vivent les populations [Attama, 1999].

Au plan technique, le système de santé est constitué de trois niveaux de prestations [PNLS, 2000] :

- Le niveau périphérique qui correspond aux hôpitaux de district ;
- Le second niveau dit intermédiaire qui correspond aux centres hospitaliers régionaux qui sont au nombre de cinq ;
- Le troisième niveau central qui correspond aux hôpitaux nationaux. C'est à ce niveau que l'on trouve les centres spécialisés.

La situation épidémiologique actuelle du Niger se caractérise par une

prédominance des maladies infectieuses et parasitaires, notamment :

le paludisme (37,38%), les insuffisances rénales aiguës (13,69%), les diarrhées et déshydratations (7,69%), la méningite (7,36%), la rougeole (5,68%) [PNLS, 2000].

Deuxième partie :
Travaux personnels

1. Méthodologie

3.2- Présentation du laboratoire de chimie des substances naturelles

L'ordonnance N° 8403 du 12 janvier 1984, portant création de l'Université de Niamey, transforme les écoles existantes en facultés. La faculté des Sciences, comporte 5 départements (mathématiques, physique, chimie, biologie et géologie).

Le département de chimie

Il dispose de quatre laboratoires :

- Le laboratoire de travaux pratiques de première année ;
- Le laboratoire réservé aux travaux pratiques de deuxième année ;
- Le laboratoire d'analyses des eaux usées ;
- Le laboratoire de recherche sur les plantes où se sont déroulés nos travaux.

L'effectif est de 13 enseignants permanents, un vacataire et deux appelés du service civique national. On note également 2 missionnaires, 2 secrétaires, 6 techniciens de laboratoires et 1 manœuvre.

L'équipe de recherche sur les plantes est constituée par 5 enseignants-chercheurs et 1 technicien.

2.4.3- Présentation du CERMES

Le Centre de Recherche sur les Méningites et les Schistosomiasés (CERMES) était un institut de recherche dépendant de l'Organisation de Coordination et de Coopération pour la lutte contre les Grandes Endémies (O.C.C.G.E), organisme inter-étatique regroupant huit pays de l'Afrique de l'Ouest.

Résultant du transfert de deux laboratoires du centre Muraz de Bobo Dioulasso au Burkina Faso, le CERMES a été créé en 1977 et a ouvert ses portes à Niamey en 1980.

La vocation du CERMES est la recherche opérationnelle dans les domaines de l'évaluation des endémies (méningites et schistosomiasés notamment) et de la lutte préventive. La mise au point des outils méthodologiques s'accompagne de leur mise à disposition des Etats en collaboration avec les équipes nationales ainsi que le transfert de connaissances ou de technologies auprès de techniciens et de chercheurs nationaux.

Le centre est reconnu comme l'un des rares centres d'essais cliniques en Afrique.

Après la dissolution de l'O.C.C.G.E, le CERMES a été intégré aux structures sanitaires nationales et est devenu Centre de Recherche Médicale et Sanitaire gardant la même dénomination.

C'est au sein de l'animalerie du CERMES que nous avons effectué nos tests pharmacologiques.

1. Méthodologie

1.1- Récolte et séchage des plantes

Matériel utilisé

Mortier et pilon en bois ;

nattes pour le séchage ;

flacons en verre ;

tamis.

Technique

Nos différents échantillons sont constitués par les plantes entières.

Celosia trigyna a été récolté sur la rive droite du fleuve Niger, à Niamey, au mois de Mai 2003.

Limeum pterocarpum a été récolté au mois d'Août 2002 aux alentours de la ville de Niamey au Niger.

L'échantillon de *Momordica balsamina*, a été obtenu à 5 km à l'ouest de Niamey. Il a été récolté au mois de Juin 2003.

Le séchage des plantes s'est fait à l'ombre, en prenant soin de bien étaler les couches afin de permettre une bonne aération.

Les échantillons ont ensuite été broyés avec un mortier préalablement lavé et séché. Puis les poudres obtenues ont été tamisées.

Le stockage des échantillons a été fait dans des flacons en verre colorés afin de les protéger d'éventuels rongeurs, de l'humidité, de l'air et de la lumière.

1.2- Etude chimique des plantes

Pour l'étude chimique des plantes nous avons suivi le schéma suivant :

- Les échantillons ont été extraits par divers solvants organiques ;
- Les extraits obtenus ont été fractionnés par des méthodes chromatographiques ;
- Les fractions ont ensuite été purifiées par recristallisation ;
- Enfin les molécules isolées ont été analysées par des méthodes spectroscopiques.

1.2.1- Préparation des extraits

L'extraction d'une plante est une opération qui consiste à faire passer les molécules contenues dans cette plante dans un solvant. C'est une étape importante ; réalisée de façon inadéquate, elle peut conduire soit à l'altération des molécules, soit à l'inhibition ou la modification de leur activité.

Chaque extrait obtenu est évaporé et pesé, puis on calcule le rendement qui est donné par la relation : $R = (\text{masse d'extrait obtenu} / \text{la prise d'essais}) \times 100$.

Pour les trois plantes, nous avons préparé des infusions, et des extraits méthanoliques (réalisés au soxlhet). *Limeum pterocarpum* et *Momordica balsamina* ont été préfractionnés (extraction liquide-liquide); le premier pour les études chimiques, le second pour l'étude pharmacologique.

1.2.1.1- Extraction de *Celosia Trygina*

Extraits destinés aux tests *in Vitro*

Matériel et solvants

Matériel végétal ;
soxlhet ; ballon et chauffe-ballon, colonne réfrigérante ;
méthanol ; eau distillée.

Technique

L'infusé de *Celosia trygina* à été préparé à partir de la poudre (7g), à laquelle a été ajouté de l'eau chaude (200mL). L'extrait a ensuite été lyophilisé.

L'extrait méthanolique a été préparé au soxlhet à partir de la poudre (7g). Nous avons utilisé pour cela du méthanol (260 mL). Le reflux a duré 3 heures.

1.2.1.2- Extraction de *Limeum pterocarpum*

Extraction pour l'étude chimique

Matériel et solvants

Matériel végétal ;
colonne cylindrique en verre , ampoule à décanter ;
eau distillée, méthanol, acétate de méthyle, dichlorométhane.

Technique

Un échantillon de poudre de la plante entière de *Limeum pterocarpum* (300g) est introduit dans une colonne cylindrique ; de l'eau distillée est ajoutée de façon continue. L'opération se déroule à température ambiante. L'extrait est recueilli dans une fiole à la sortie de la colonne. On obtient alors un extrait brut de la poudre que nous appelons (E).

L'extrait (E) a été ensuite successivement extrait par le dichlorométhane (E₁), l'acétate de méthyle (E₂). Le résidu est évaporé à sec à l'étuve à 45°C, puis est repris au méthanol ; Nous avons obtenu l'extrait (E₃). Il est resté un résidu soluble uniquement dans l'eau.

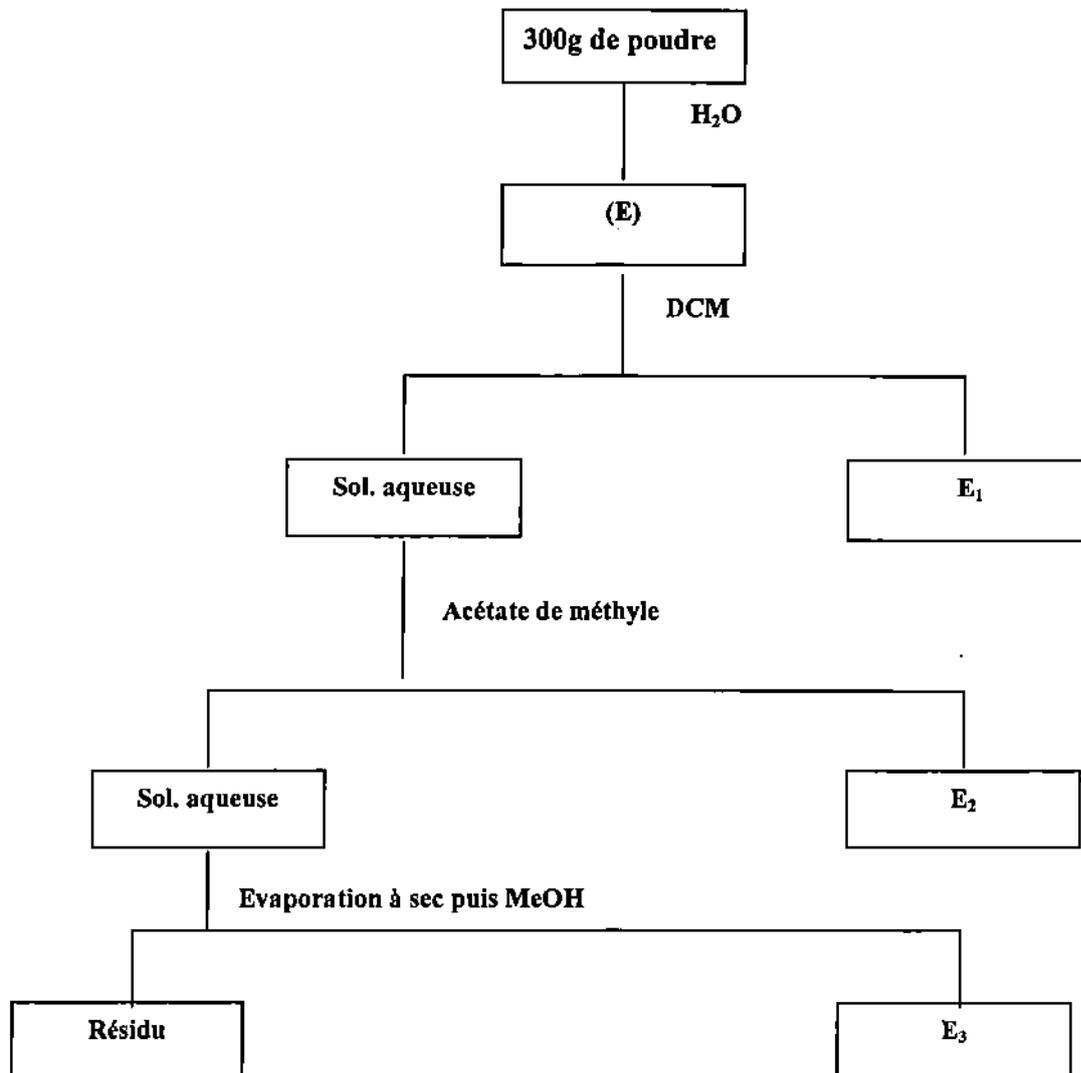


Figure N°13: Schéma de la préparation des extraits de *Limeum pterocarpum* destinés à l'étude chimique.

Extraction pour les tests *in vitro*

Matériels et solvants

Matériel végétal ;

soxhlet, ballon, chauffe-ballon, colonne réfrigérante ;

eau distillée, méthanol.

Technique

- L'infusé aqueux a été préparé en ajoutant de la poudre (5g) à de l'eau chaude (150 mL). Puis nous avons lyophilisé
- L'extrait méthanolique a été réalisé au soxhlet à partir de la poudre (4 g), avec du méthanol (280mL).

Extraction pour les tests *in vivo*

Matériel et solvants

Matériel végétal ;

soxhlet , ballon et chauffe ballon

réfrigérant ;

évaporateur rotatif (buchi 461).

Méthanol (MeOH).

Technique :

Pour les essais *in vivo* nous avons extrait la poudre (200g) au soxhlet par le méthanol..

L'extrait obtenu après évaporation du solvant est administré aux souris à différentes doses.

1.2.1.3- Extraction de *Momordica balsamina*

Extractions pour les tests *in vitro* et *in vivo*

- Pour préparer l'infusé nous avons ajouté la poudre de la plante (8g) à de l'eau chaude (150mL) et nous avons lyophilisé.

- L'extrait méthanolique est obtenu au soxhlet à partir de la poudre (7,8g). Le volume de méthanol utilisé a été de 170mL.

Préfractionnement des extraits aqueux et méthanolique de *Momordica balsamina*.

Matériel et solvants

matériel végétal,

soxhlet de 500 ml ; ballon de 4L et chauffe ballon,

colonne réfrigérante ;

méthanol, hexane, DCM, Acétate d'éthyle, eau distillée.

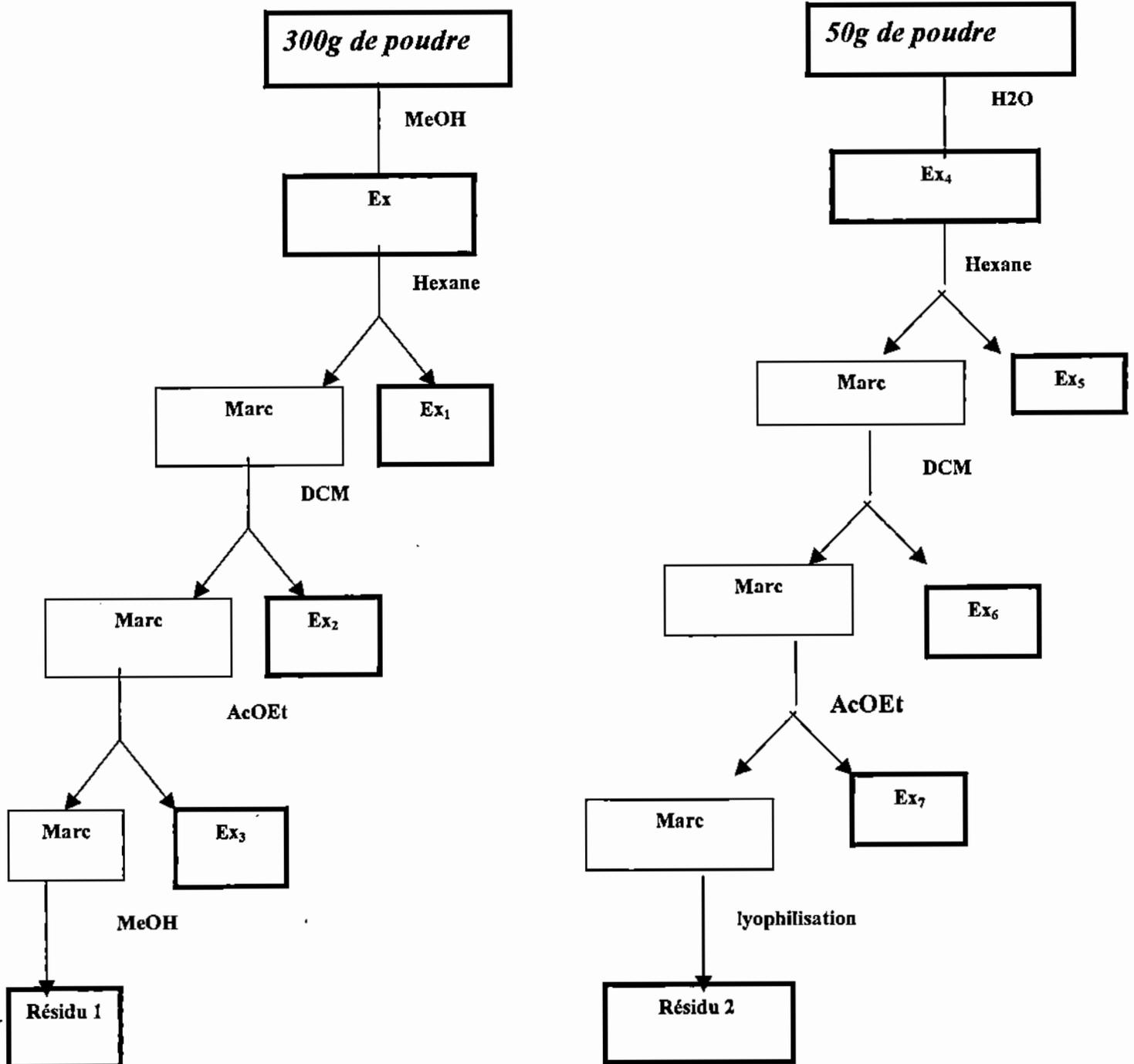
Technique :

Pour l'extrait méthanolique, un échantillon de poudre de *M. balsamina* (300g) a été introduit dans un soxhlet et a été extrait au méthanol. On obtient l'extrait Ex.

L'extrait obtenu a ensuite été dégraissé à l'hexane, ce qui nous a donné l'extrait Ex₁, puis le résidu a été repris au dichlorométhane, ce qui correspond à Ex₂. Le résidu obtenu est extrait à l'acétate d'éthyle ce qui donne l'extrait Ex₃. Ce qui reste de Ex est repris au méthanol. C'est le résidu 1

Le même schéma de fractionnement a été utilisé pour l'infusé mais à partir de 50g de poudre de plante. On a respectivement les extraits Ex₄ (pour l'infusé), Ex₅, Ex₆, Ex₇ et le résidu 2.

Figure N°14 : Schéma du préfractionnement des extraits de *Momordica balsamina*



1.2.2- Méthodes chromatographiques

La chromatographie est une méthode physique qui permet la séparation des constituants d'un mélange. La première chromatographie a été réalisée par TSWETT en 1906 [www.123bio.net].

Les composants du mélange sont entraînés le long d'une phase stationnaire (solide ou liquide fixé) par une phase mobile (liquide ou gaz).

Ainsi, on distingue plusieurs types de chromatographies en fonction des phases choisies et du composé à séparer.

Nous rapportons ici les méthodes utilisées.

1.2.2.1- La chromatographie sur colonne

La phase stationnaire est un solide et la phase mobile est un liquide.

Matériel et solvants

Matériel végétal ;

colonne cylindrique ;

gel de silice ;

solvant pour élution : hexane, DCM, méthanol,

Technique

Elle consiste à introduire dans une colonne cylindrique, préalablement fixée à une potence par des pinces, un mélange éther de pétrole-alumine ou éther de pétrole-gel de silice. On laisse couler le solvant pour que le gel se tasse. En règle générale, pour 1g de produit à analyser, il faut au moins 30 g de gel de silice ou 60 g d'alumine. Le choix des dimensions de la colonne est donc fonction de la quantité de gel à utiliser.

L'échantillon à analyser est dilué dans un minimum de solvant, puis est introduit dans la colonne avec précaution. On élue ensuite avec des solvants de polarité croissante.

Les composés sont entraînés en fonction de leur polarité et on les récupère avec le solvant à la sortie de la colonne. Les fractions obtenues sont évaporées à sec et pesées. La somme des masses des différentes fractions doit être inférieure ou égale à la masse de produit brut introduit.

Seuls les extraits E₂ et E₃ du *Limeum pterocarpum* ont été fractionnés.

- Pour (E₂), 4g de produit ont été introduits dans une colonne cylindrique remplie aux trois quarts par un mélange hexane-gel de silice. L'éluant de départ est l'hexane, puis le dichlorométhane, ensuite on a utilisé le mélange de polarité croissante dichlorométhane- méthanol.

Tableau 6 : Liste des différents éluants utilisés pour la chromatographie de E₂

| Eluant | Composition |
|----------|---------------|
| Eluant 1 | Hexane |
| Eluant 2 | DCM |
| Eluant 3 | DCM/MeOH 99/1 |
| Eluant 4 | DCM/MeOH 98/2 |
| Eluant 5 | DCM/MeOH 97/3 |

- Pour E₃, 3g de produit ont été introduits dans une colonne cylindrique en verre contenant du gel de silice. Nous avons utilisé le DCM comme éluant de départ, puis on a ajouté des concentrations croissantes de méthanol.

Tableau 7: Liste des éluants utilisés pour la chromatographie sur colonne de E₃

| Eluant | Composition |
|----------|----------------|
| Eluant 1 | DCM |
| Eluant 2 | DCM/MeOH 99/1 |
| Eluant 3 | DCM/MeOH 95/5 |
| Eluant 4 | DCM/MeOH 92/8 |
| Eluant 5 | DCM/MeOH 90/10 |
| Eluant 6 | DCM/MeOH 85/15 |
| Eluant 7 | DCM/MeOH 50/50 |

1.2.2.2- La chromatographie sur couche mince (CCM)

Le principe est le même que celui de la chromatographie sur colonne. Mais on travaille sur une couche mince d'alumine ou de silice fixée sur une plaque métallique ou polyéthylénique. La CCM permet de voir les différents constituants du mélange. Ces composés apparaissent sous forme de spots après révélation par un réactif approprié ou grâce à la lampe U.V.

Matériel et solvants utilisés

matériel végétal ;

plaque de gel de silice 60F254, crayon, règle ;

pipettes Pasteur ;

cuves de migration ;

hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle, méthanol ;

lampe U.V., acide sulfomolybdique

Technique

Nous avons déposé une goutte du ou des produits sur la plaque à l'aide d'une pipette Pasteur, en prenant soin de marquer d'un trait la ligne de dépôt. Nous avons laissé sécher, puis, nous avons plongé la plaque dans une cuve contenant l'éluant sans que le niveau de l'éluant ne dépasse celui des produits déposés.

Le solvant de migration a entraîné les constituants en des points différents, selon leur polarité. Pour chaque spot obtenu après révélation de la plaque, nous avons calculé le facteur de rétention (R_f) qui est le rapport de la distance parcourue par le produit sur la distance parcourue par le solvant.

Un composé est supposé pur lorsque sa CCM donne une seule tâche dans au moins deux systèmes de solvants différents.

Nous avons fait des CCM de tous nos extraits, ainsi que des fractions obtenues après Chromatographie sur colonne (CC). Les solvants de migration que nous avons utilisés sont des mélanges de solvants à des proportions différentes.

Tableau 8 : liste des solvants de migration et des révélateurs en fonction des extraits.

| Extrait | Solvant | Revelateur |
|---------|------------------|--------------------------------------|
| E1 | Acetate d'éthyle | Lampe U.V. |
| E2 | MeOH/DCM 10/90 | Lampe U.V. |
| E3 | MeOH/DCM 50/50 | Lampe U.V. |
| Ex | MeOH/DCM 15/85 | Lampe U.V + acide phosphomolybdique. |
| Ex1 | MeOH/DCM 15/85 | Lampe U.V + acide phosphomolybdique |
| Ex2 | MeOH/DCM 15/85 | Lampe U.V + acide phosphomolybdique |
| Ex3 | MeOH/DCM 15/85 | Lampe U.V + acide phosphomolybdique |

1.2.3- La Recristallisation

C'est une méthode de purification des substances basée sur le fait que les composés organiques sont beaucoup plus solubles dans un solvant à chaud qu'à froid.

Matériel et solvants

chauffe-ballon,

hexane, dichlorométhane, méthanol

Technique

Nous avons dissout le produit dans un minimum de solvant dans lequel il est soluble puis, nous l'avons chauffé jusqu'à ébullition. Le solvant dans lequel il est insoluble, a ensuite été ajouté jusqu'à l'obtention d'un trouble. Nous avons laissé refroidir et les cristaux se sont formés peu à peu. Ils ont été récupérés par filtration.

Deux de nos produits ont été recristallisés : l'un issu de l'extrait E₁ que nous avons appelé P₁ et l'autre provenant du fractionnement de l'extrait E₃ (P₂)

P₁ a été recristallisé dans l'hexane et P₂ dans le dichlorométhane.

1.2.4- Analyses spectroscopiques

Ce sont des méthodes basées sur l'interaction entre la matière et les rayonnements électromagnétiques. Elles permettent de déterminer les structures des composés organiques.

Les échantillons P₁ et P₂ ont été analysés par RMN (Résonance Magnétique Nucléaire).

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Elle est basée sur le comportement du noyau d'hydrogène ou du carbone 13 dans un champ magnétique, qui varie en fonction de l'environnement de ce dernier. Elle permet de déterminer la structure de la molécule en indiquant le nombre d'atomes d'hydrogènes et carbones impliqués, ainsi que les interactions entre ces différents atomes.

Matériel utilisé :

matériel végétal,

appareil RMN (Brucker AM 300)

Technique

L'échantillon a été dissout dans du D₂O puis introduit dans l'appareil RMN. Les résultats sont apparus sous forme de signaux (pics) qui ont été interprétés.

1.3- Etude pharmacologique

1.3.1- Tests *in vitro* sur *Plasmodium falciparum*

Ils ont été réalisés avec la collaboration du Laboratoire de chimie des substances naturelles CNRS à Gyf / Yvette en France.

Technique

Les tests *in vitro* ont été réalisés selon la méthode de Desjardins *et al.* [Desjardins, 1979].

Des séries de dilutions du produit à tester ont été préparées grâce à des cuves pour microtitration : les parasites mis en culture selon la méthode de Trager et Jensen [Trager et Jensen, 1976], ont été réensemencés dans les cuves de microtitration pendant 48 heures. L'assimilation par les parasites d'un acide précurseur nucléique, radioactif sert de révélateur de la croissance du parasite. La mesure de la parasitémie s'effectue après traitement par un scintifluor, grâce à un compteur de radioactivité à scintillation qui donne le taux de désintégrations par minute de chaque puits.

Les extraits suivants ont été testés :

- Infusé de *Celosia trygina* ;
- Infusé de *Limeum pterocarpum* ;
- Infusé de *Momordica balsamina* ;
- Extrait méthanolique de *Celosia trygina* ;
- Extrait méthanolique de *Limeum pterocarpum* ;
- Extrait méthanolique de *Momordica balsamina* ;
- Les extraits : Ex₁, Ex₂, Ex₃, Ex₅, Ex₆, Ex₇ de *Momordica balsamina*.

1.3.2- Toxicité aiguë

Nous avons évalué la toxicité aiguë de la fraction DCM de *Momordica balsamina* et l'extrait méthanolique de *Limeum pterocarpum* avant d'évaluer leur activité antiplasmodiale. Nous avons utilisé la méthode de Litchfield et Wilcoxon et ses diverses modifications [Litchfield et Wilcoxon, 1949].

Technique

Des souris mâles de 32g de masse moyenne, mises à jeun 24 heures avant le début de l'expérimentation, sont réparties en lots de 5 souris chacun. Les extraits à tester ont été dissout dans de l'eau distillée et administrés aux souris par voie orale. Les lots témoins n'ont reçu que de l'eau distillée. Nous avons observé le comportement des souris pendant 24 heures. La toxicité aiguë est évaluée par la DL50 qui est la dose qui entraîne 50% de mortalité chez les animaux en expérience.

Pour la fraction DCM de *Momordica balsamina* les doses de 10, 20, 50mg/kg ont été testées ; pour un problème de solubilité nous n'avons pas pu tester des doses supérieures.

Pour L'extrait méthanolique de *Limeum pterocarpum* les doses de 10, 20, 50, 100,150, 200, 250, 300mg/kg ont été testées.

1.3.3-Tests in vivo sur *Plasmodium berghei*

La souche de *Plasmodium berghei* sur laquelle nous avons travaillé a été obtenue au centre Muraz de Bobo Dioulasso. Elle a été conservée in vivo sur des souris NMRI de sexe mâle, de trois mois d'âge environ et de masse allant de 30 à 39g.

L'étude de l'effet antipaludique s'est faite selon le test de 4 jours de Peters [Peters, 1965].

Matériel utilisé

Extraits des plantes ;

souris NMRI, infestées par *P.berghei* ;

pince, ciseaux ; planche ;

seringues à insuline (ICC), aiguilles ;

anticoagulant (EDTA 2%), éther ;

lames, microscope, colorant (Giemsa rapide) .

Technique

Les souris ont été réparties par lot de 5 et mises à jeune 24 heures avant le début de l'expérience.

A J_0 , nous leur avons administré en intra péritonéal (IP), 10^7 érythrocytes parasités provenant d'une souris malade, puis nous les avons traitées pendant 4 jours :

A J_0 , nous avons administré l'extrait à tester, par gavage, 3 heures après infestation.

A J_1, J_2, J_3 nous administrons la dose de produit, toujours à la même heure.

A J_4 , nous avons fait un frottis et calculé la parasitémie dont l'évolution est comparée à celle du lot témoin qui n'a reçu aucun traitement.

Les extraits à tester ont été solubilisés dans de l'eau pour préparation injectable (EPP) et administrés à raison de 0,5 ml de solution par jour et par souris.

Test *in vivo* de l'extrait méthanolique de *Limeum pterocarpum*

Nous avons fait 6 lots de 5 souris mâle de 36g de masse moyenne. Elles ont reçu les doses respectives de 10mg/Kg, 20mg/Kg, 50 mg/Kg, 100mg/Kg et 150mg/Kg ; le cinquième lot étant le lot témoin.

Test de la fraction DCM de l'extrait méthanolique de *Momordica balsamina* :

Nous avons fait 4 lots de 5 souris mâles de 36g de masse moyenne. Ils ont reçu les doses de 10mg/kg ; 20mg/Kg et 50mg/kg de produits ; le dernier lot étant le lot témoin.

Technique d'infestation

Une souris infestée a été endormie à l'éther. Nous l'avons couchée sur le dos et fixé ses quatre pattes à une planche à l'aide d'aiguilles; de telle sorte qu'elle ait le ventre en l'air. Puis nous avons découpé la peau au niveau du thorax , avec une pince, nous avons soulevé le sternum. Nous avons ensuite découpé les côtes avec une paire de ciseaux, pour accéder au cœur. Nous y avons alors injecté environ 0.2mL d'anticoagulant, puis à l'aide d'une seringue, nous avons aspiré le sang de l'animal que nous avons mis dans un tube EDTA. Nous avons ensuite fait un frottis mince pour calculer la parasitémie.

Quand cette dernière est supérieure à 10^7 érythrocytes parasités, le sang est dilué avec le sang de souris saines, jusqu'à obtenir la densité voulue.

Ce sang, contenant le *Plasmodium*, est inoculé à des souris saines, par injection intrapéritonéale, à raison de 0,2 mL par souris.

Technique d'administration des extraits

La souris est tenue par la peau du cou et on la retourne. On immobilise ses pattes arrières entre la paume de la main et l'auriculaire, puis on lui administre l'extrait par gavage, grâce à une seringue adaptée à une aiguille à extrémité arrondie.

Goutte épaisse et frottis

Nous avons coupé le bout de la queue de la souris et pressé jusqu'à obtenir une goutte de sang qui est déposée sur une lame. Nous avons ensuite réalisé le frottis comme décrit précédemment.

Calcul de la densité parasitaire

Nous avons calculé le pourcentage de globules rouges parasités (%GRP) qui est donné par la relation :

$\%GRP = \text{nombre de globules rouges comptés} / A \times \text{nombre de globules rouges par champs microscopiques}$

A = nombre de champs microscopiques lus.

Le nombre de globules rouges par champs microscopique est de 527.

Nous avons ensuite calculé le pourcentage de réduction de la parasitémie donné par la relation :

$$Rp = (Dp - Dpt) \times 100 / Dpt$$

Dp = densité parasitaire du lot test

Dpt = densité parasitaire du lot témoin

2. Résultats

2- Résultats

2.1- Rendements des extractions

2.1.1- *Celosia trygina*

Tableau 9 : Rendement des extractions de *Celosia trygina*

| Extraits | Masse de la prise d'essai (g) | Masse de l'extrait(g) | Rendement |
|-----------------------|----------------------------------|--------------------------|-----------|
| Infusé | 7 | 0,813 | 11,61 |
| Extrait méthanolique. | 7 | 0,82 | 11,71 |

- ✓ Comme on le constate dans le tableau 9, le rendement est sensiblement le même pour l'infusion que pour l'extraction au méthanol.

2.1.2- *Limeum pterocarpum*

- Les tableaux 9 et 10 donnent les masses et rendements des extractions de *L. pterocarpum*.

Tableau 10 : rendements de l'extraction liquide-liquide de *Limeum pterocarpum* (300g).

| Extrait | Masse | Rendement (%) |
|----------------|--------|---------------|
| E ₁ | 12,80g | 4,26 |
| E ₂ | 4,00g | 1,33 |
| E ₃ | 6,00g | 2,00 |
| E ₄ | 6,67g | 2,22 |

- ✓ L' extraction de E₁ (extraction au DCM) a présenté le meilleur rendement (4,26%)

- Pour les extraits destinés aux tests in vitro les rendements sont consignés dans le tableau 11

Tableau 11 : rendement de l'infusion et de l'extraction au méthanol de *Limeum pterocarpum*.

| Extrait | Masse de la prise d'essai (g) | Masse de l'extrait (g) | Rendement (%) |
|----------------------|-------------------------------|------------------------|---------------|
| Infusé | 5 | 0,5 | 0,1 |
| Extrait méthanolique | 4 | 0,48 | 0,1 |

✓ Le rendement est le même pour l'infusion et pour l'extraction méthanolique.

2.1.3- *Momordica balsamina*

Les tableaux 11 et 12 donnent les rendements des différentes extractions de *Momordica balsamina*.

Tableau 12 : rendements de l'infusion et de l'extraction au méthanol de *Momordica balsamina*

| Extrait | Masse de la prise d'essai (g) | Masse de l'extrait (g) | Rendement (%) |
|----------------------|-------------------------------|------------------------|---------------|
| Infusé | 8 | 1,6 | 20 |
| Extrait méthanolique | 7,8 | 1,22 | 16,26 |

✓ Le rendement de l'infusion est plus élevé que celui de l'extraction au méthanol

Tableau 13: rendement du préfractionnement des extraits de *Momordica balsamina*

| Extrait | Masse de la prise d'essai(g) | Masse de l'extrait (g) | Rendement (%) |
|-----------------|------------------------------|------------------------|---------------|
| Ex ₁ | 300 | 1,30 | 0,43 |
| Ex ₂ | 300 | 6,33 | 2,11 |
| Ex ₃ | 300 | 1,47 | 0,49 |
| Ex ₅ | 50 | 0,11 | 0,20 |
| Ex ₆ | 50 | 0,11 | 0,23 |
| Ex ₇ | 50 | 0,03 | 0,06 |

✓ Le rendement le plus important a été obtenu à l'extraction de Ex₂ (2,11%)

2.2- Résultats des chromatographies

2.2.1 Chromatographies sur couche mince des extraits

2.2.1.1- *Celosia trygina*

CCM de l'extrait méthanolique dans DCM-MeOH 85/15. La CCM ont été révélés à l'u.v. puis à l'acide sulfomolybdique.

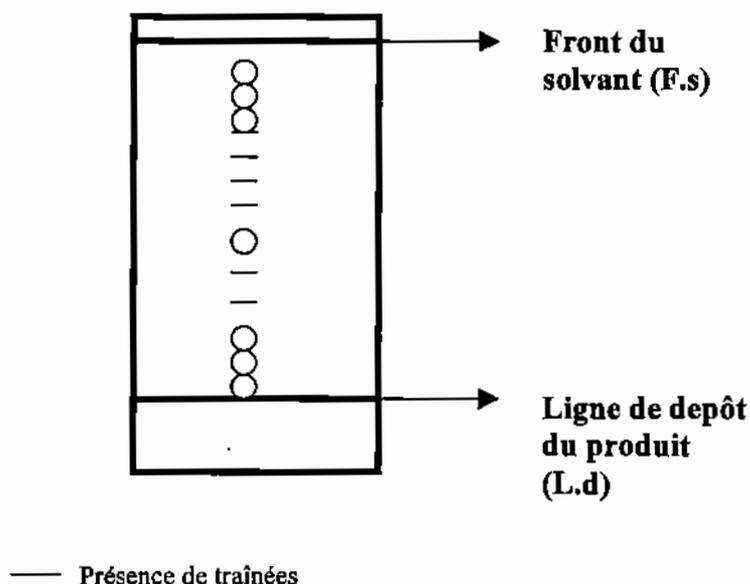


Figure 15 : Chromatogramme de l'extrait méthanolique de *C. trygina* dans du DCM-MeOH (85/15)

Nous avons obtenu 7 spots distincts et de nombreuses traînées.

2.2.1.2- *Limeum pterocarpum*

- L'extrait (E₁) donne dans l'acétate de méthyle une monotache plus quelques traînées (chlorophylle, et autres composés polaires). Le R_f de la tache est de 0,51. La révélation s'est faite à la lampe u.v.

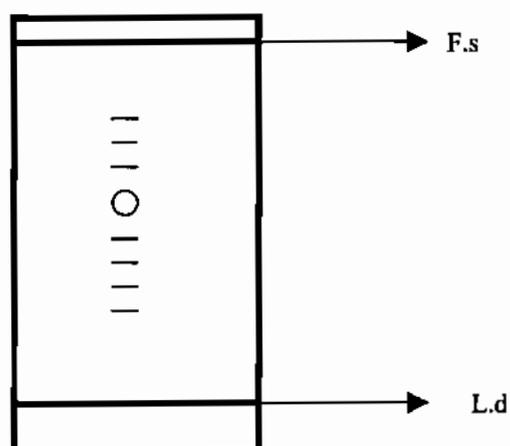


Figure 16 : Chromatogramme de l'extrait DCM de *L. pterocarpum* dans de l'acétate de méthyle.

- L'extrait E₂ donne 5 spots dans le système MeOH- DCM 10/90. La révélation s'est faite à la lampe u.v.

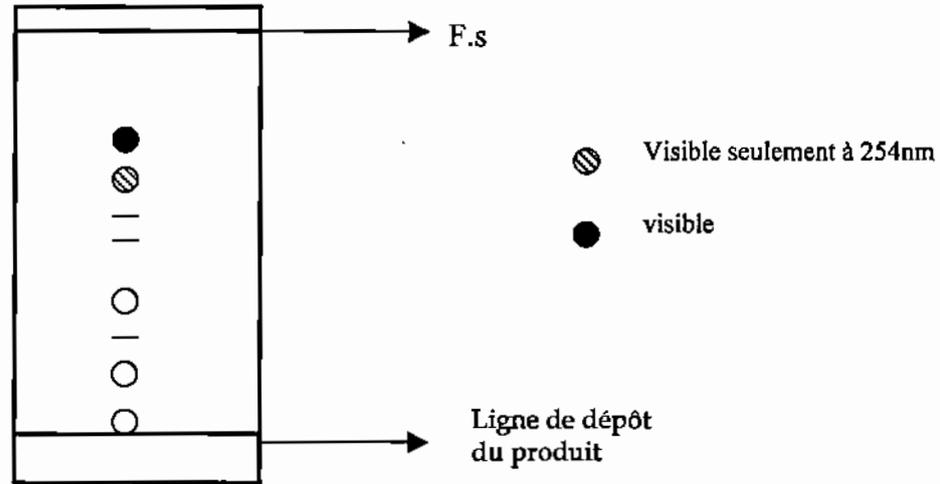


Figure 17 : Chromatogramme de l'extrait à l'acétate de d'éthyle dans du DCM-MeOH (10/90)

Les R_f des spots, du moins polaire au plus polaire sont :

R_{f0} = ligne de dépôt.

R_{f1} = 0,2

R_{f2} = 0,28

R_{f3} = 0,35

R_{f4} = 0,51

R_{f5} = 0,60

- La CCM de l'extrait E₃ dans un système d'éluant composé de 50% DCM et 50% méthanol a donné le résultat suivant :

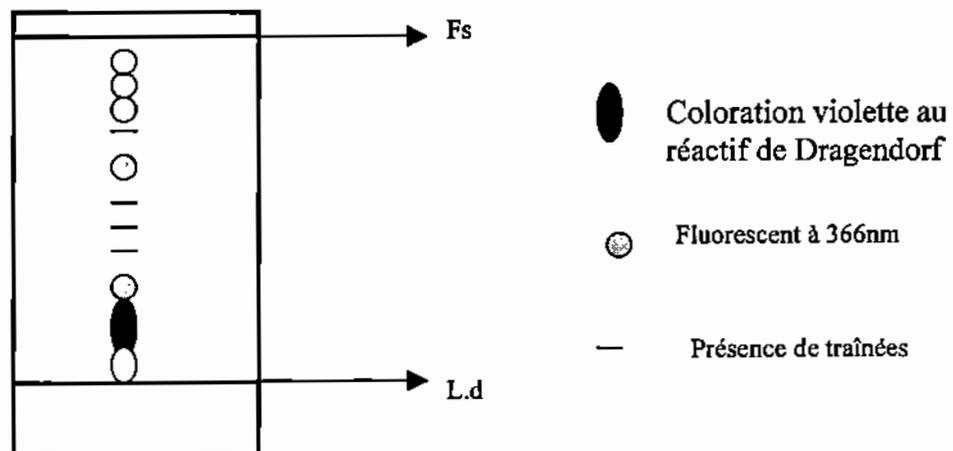


Figure 18 : Chromatogramme de l'extrait E₃ de *L. pterocarpum* dans du DCM-MeOH (50-50)

Nous avons obtenu 7 spots dont les Rf du plus polaire au moins polaire sont :

Rf₀= ligne de dépôt

Rf₁=0,1 Rf₅=0,63

Rf₃=0,29 Rf₆=0,71

Rf₄=0,59 Rf₇=0,82

- La CCM de l'extrait méthanolique de *Limeum pterocarpum* dans DCM-MeOH 85/15 est illustrée ci-dessous. La révélation a été faite avec la lampe U.V. puis l'acide sulfomolybdique.

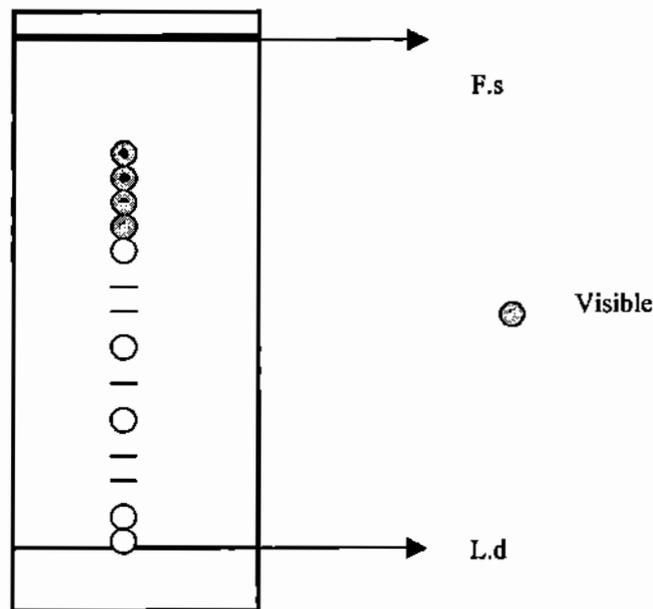


Figure 19 : Chromatogramme de l'extrait méthanolique de *L. pterocarpum* dans du DCM-MeOH (85/15).

Nous avons obtenu 9 spots distincts et quelques traînées. Les Rf de ces produits par ordre de polarité décroissante sont :

Rf₀= ligne de dépôt

Rf₁=0,11 Rf₅=0,59

Rf₂=0,19 Rf₆=0,61

Rf₃=0,35 Rf₇=0,73

Rf₄=0,53 Rf₈=0,8

2.2.1.3- *Momordica balsamina*

- La CCM de l'extrait méthanolique dans le système DCM -MeOH 90/10 est représentée par le schéma suivant :

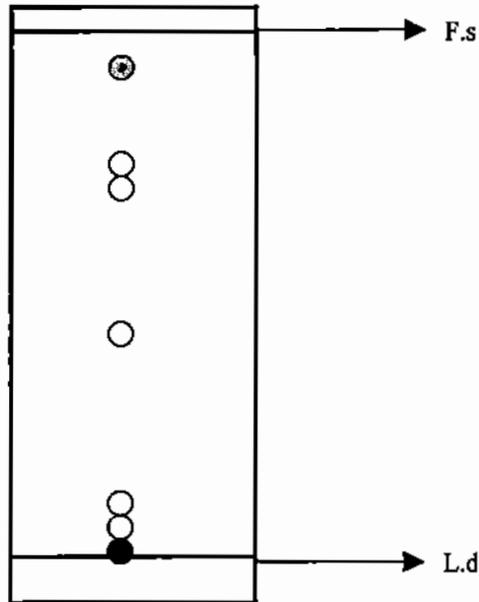


Figure 20 : Chromatogramme de l'extrait méthanolique de *M. balsamina* dans du DCM-MeOH 90/10

Les R_f des différents spots sont :

R_{f_0} = ligne de dépôt

R_{f_1} = 0,1

R_{f_2} = 0,21

R_{f_3} = 0,43

R_{f_4} = 0,61

R_{f_5} = 0,76

R_{f_6} = 0,92

- Les CCM des extraits Ex_1 , Ex_2 , Ex_3 de *M. balsamina* dans MeOH-DCM 15/85, après révélation à l'acide sulfomolybdique, donnent le résultat suivant :

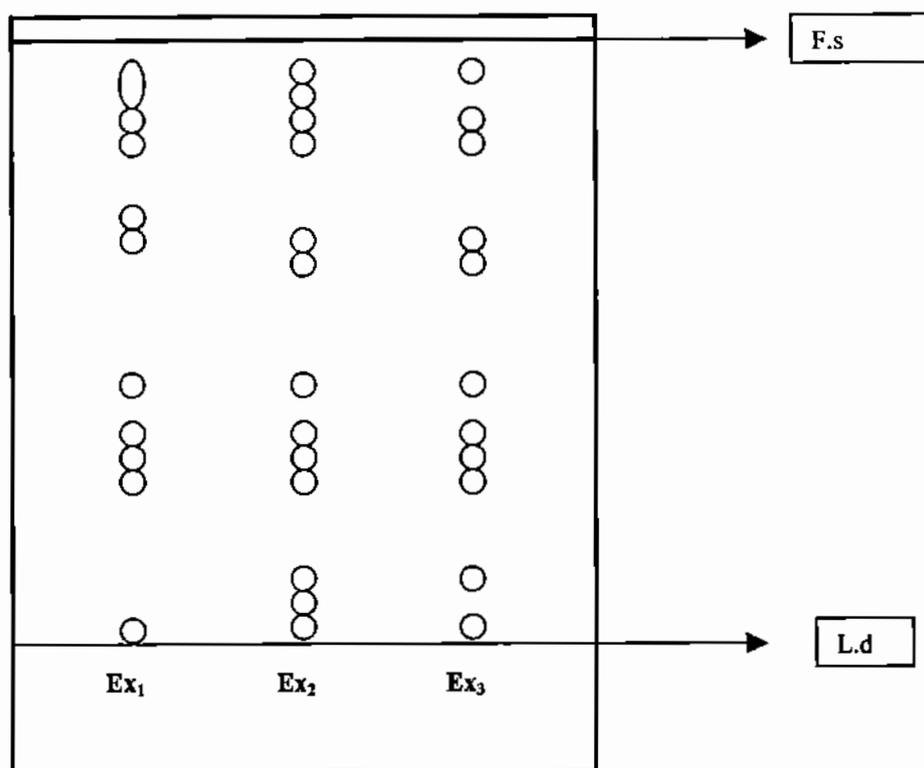


Figure 21 : Chromatogramme des extraits Ex₁, Ex₂, Ex₃ de *M. balsamina* dans du DCM-MeOH (85/15)

Le tableau suivant donne les Rf par ordre de polarité décroissant pour chaque extrait :

Tableau 21 : Rf des spots obtenus avec les extraits Ex₁, Ex₂, Ex₃

| Extrait | Rf |
|-----------------|---|
| Ex ₁ | 0,24- 0,29- 0,31- 0,39- 0,60- 0,63- 0,72-0,80- 0,95 |
| Ex ₂ | 0,09- 0,18- 0,24- 0,29- 0,31- 0,39- 0,60-0,63- 0,72- 0,80- 0,95 |
| Ex ₃ | 0,18-0,24- 0,29- 0,31 -0,39- 0,60- 0,63- 0,72-0,80- 0,95 |

2.2.2- Résultats des CC des extraits de *L. pterocarpum*

2.2.2.1- Chromatographie sur colonne de l'extrait (E₂) de *Limeum pterocarpum*

Le tableau suivant donne les fractions obtenues après chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait E₂, leur masse et le solvant d'élution.

Tableau 15 : récapitulatif de la CC de 4g d'extrait E₂ (extrait acetate d'éthyle de *L. pterocarpum*)

| Fractions | Masse (mg) | Solvant |
|-----------|------------|----------------|
| F1 | 200 | hexane |
| F2 | 400 | DCM |
| F3 | 1000 | MeOH-DCM 1/99 |
| F4 | 900 | MeOH-DCM 3/97 |
| F5 | 200 | MeOH-DCM 3/97 |
| F6 | 500 | MeOH-DCM 5/95 |
| F7 | 200 | MeOH-DCM 10/90 |

La masse totale des fractions est de 3,4g.

- La CCM des différentes fractions de E₂ dans MeOH-DCM 90/10 est illustrée ci-dessous

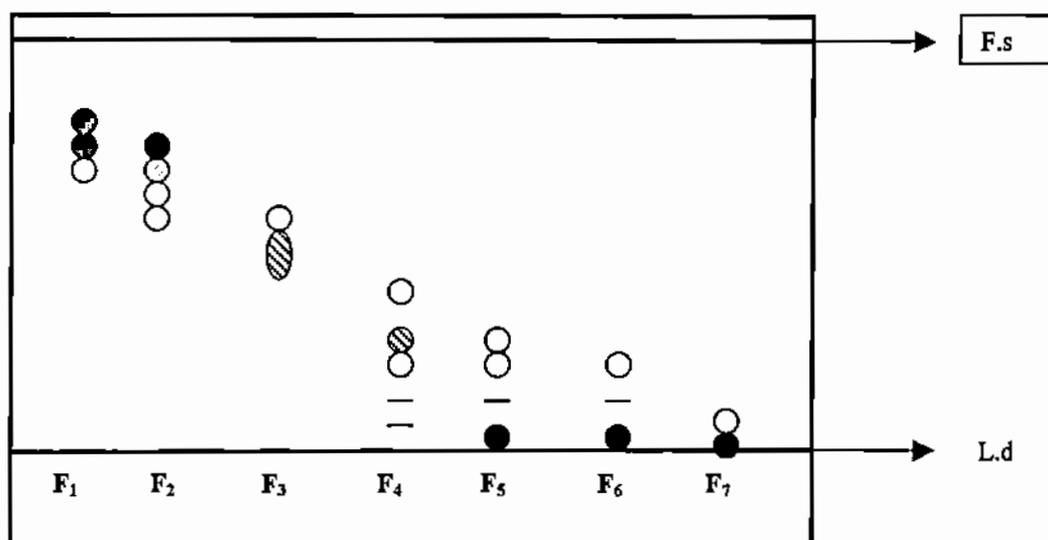


Figure 22 : Chromatogramme des fractions obtenues après CC de l'extrait E₂ de *L. pterocarpum*

2.2.2.2- fractionnement de l'extrait E₃ de *L. pterocarpum*

Le tableau ci après donne les fractions obtenues, le solvant de migration et le nom correspondant.

Tableau 16 : tableau récapitulatif de la CC de 3g de l'extrait E₃

| Fraction | Masse (mg) | Solvant de migration |
|-------------------|------------|----------------------|
| F _I | 10 | DCM |
| F _{II} | 60 | 1% MeOH/DCM |
| F _{III} | 50 | 5% MeOH/DCM |
| F _{IV} | 30 | 8% MeOH/DCM |
| F _V | 100 | 10% MeOH/DCM |
| F _{VI} | 1200 | 50% MeOH/DCM |
| F _{VII} | 170 | 50% MeOH/DCM |
| F _{VIII} | 170 | 50% MeOH/DCM |

La masse totale des fractions est de 1790 mg, il est resté assez de produit contenant des composés très polaires dans la colonne.

La CCM des fractions de l'extrait EX₃ dans MeOH-DCM 50/50, après révélation à la lampe U.V, a donné le résultat suivant :

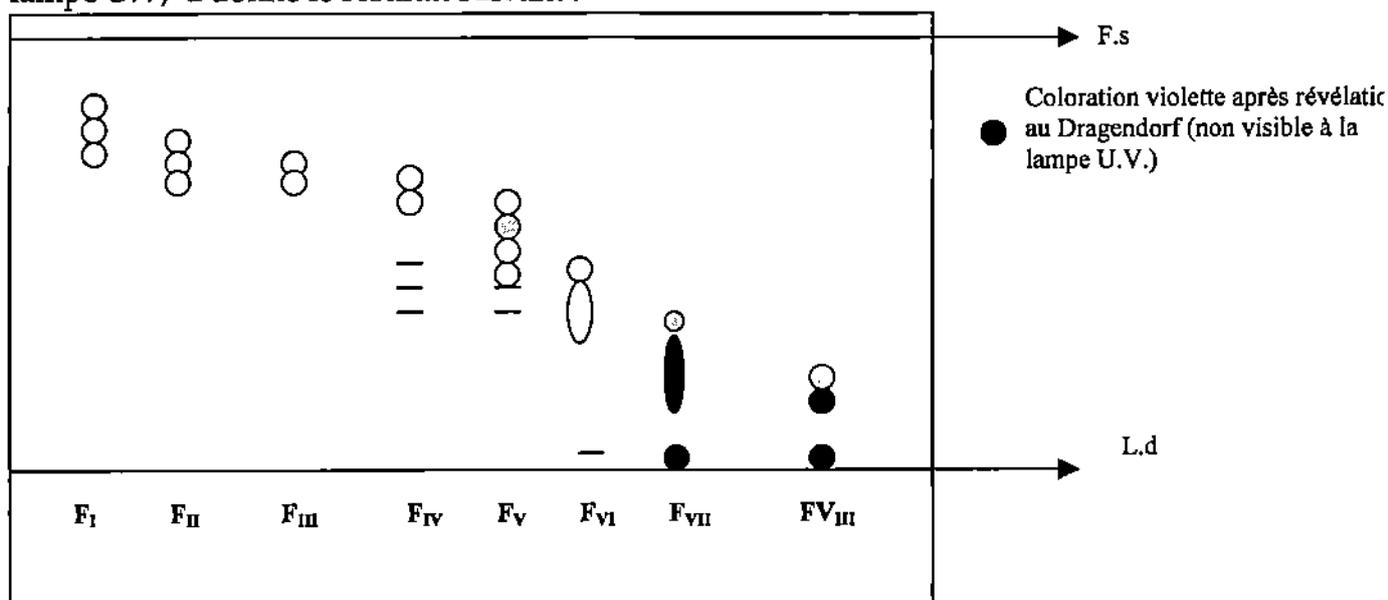


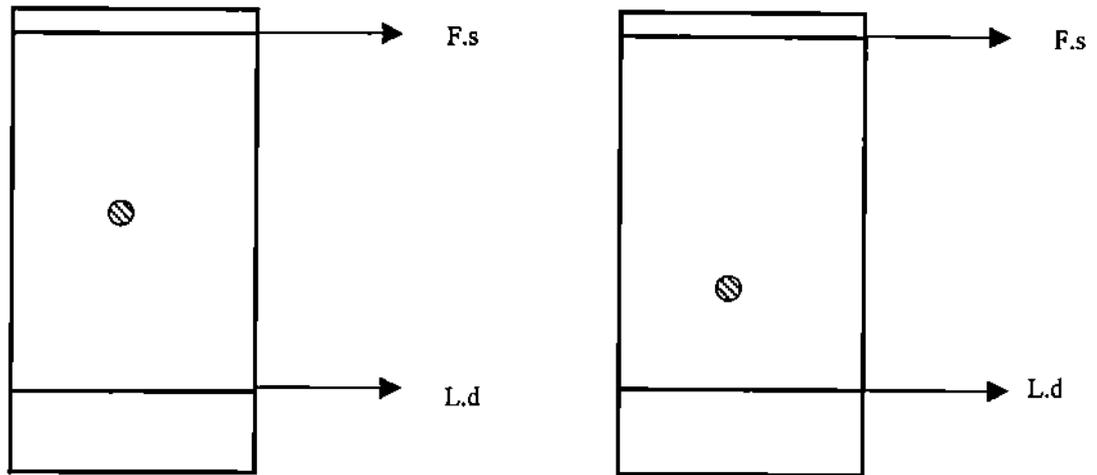
Figure 23: Chromatogramme des fractions obtenues après CC de l'extrait E₃ de *L. pterocarpum*

2.3- Purification

L'extrait E₁ et la fraction F₃ de l'extrait E₂ de *L. pterocarpum* ont été purifiés dans l'hexane, nous avons obtenu des cristaux blancs correspondant au produit P₁.

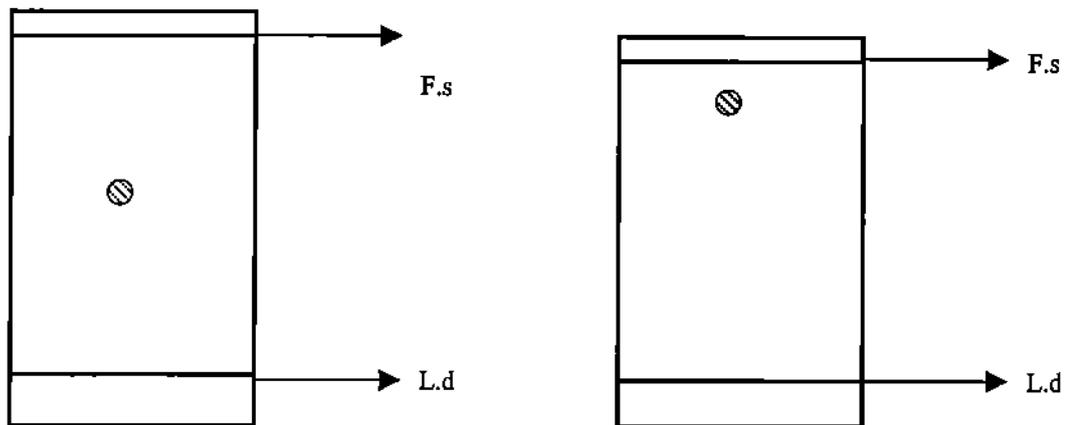
La fraction F_{VI} de l'extrait E₃ de *L. pterocarpum* a été recristallisée dans le dichlorométhane, on a obtenu une poudre de couleur blanche correspondant au produit P₂.

CCM du produit P1



CCM de P₁ dans AcOEt
Rf=0,51

CCM de P₁ dans DCM-AcOEt 50/50
Rf=0,29

Figure 24: Chromatogrammes de P₁CCM du produit P₂

CCM de P₂ dans MeOH- DCM 20-70
Rf=0,59

CCM de P₂ dans MeOH-DCM 50-50
Rf=0,73

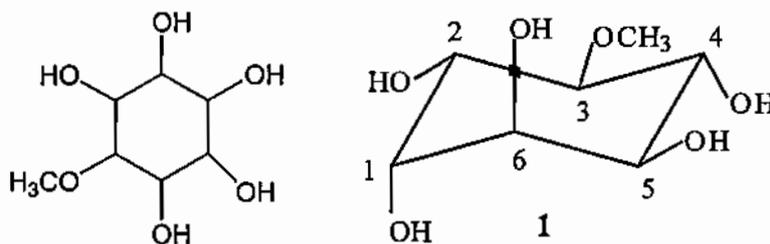
Figure 25 : Chromatogrammes de P₂

2.4- Analyses spectroscopiques

spectres RMN

Spectres de P₂

Les données RMN ¹H et ¹³C du produit P₂, enregistrées dans D₂O, à 300 et 75 MHz sur appareil Bruker AM 300 sont comparables à celles déjà publiées et pourraient correspondre au D-3-O-méthyl -inositol, encore appelé D-pinitol. Sa formule brut est C₇H₁₄O₆.



D-pinitol

2.5- Etudes pharmacologiques

2.5.1- Tests *in vitro*

Tableau 17 : IC50 des différents extraits testés *in vitro*.

| Extraits | IC50 ($\mu\text{g/mL}$) |
|--|---------------------------|
| 1-Infusés | |
| Infusé <i>Celosia trygina</i> | >50 |
| Infusé <i>Limeum pterocarpum</i> | 49 |
| Infusé <i>Momordica balsamina</i> | 37 |
| 2-Extraits méthanoliques | |
| Extrait méthanolique de <i>Celosia trygina</i> | >50 |
| Extrait méthanolique de <i>Limeum pterocarpum</i> | >50 |
| Extrait méthanolique de <i>Momordica balsamina</i> | 24 |
| 3- Extraits de <i>M. balsamina</i> | |
| | IC50 ($\mu\text{g/mL}$) |
| Ex ₁ | 29 |
| Ex ₂ | 6 |
| Ex ₃ | 25,7 |
| Résidu1 | 65 |
| Ex ₅ | 14 |
| Ex ₆ | 8 |
| Ex ₇ | 21 |
| Résidu 2 | >50 |

- ✓ On constate que pour les extraits aqueux et méthanoliques, *Momordica* présente la meilleure activité antiplasmodiale. Les fractions Chlorométhylénique des extraits de *M. balsamina* semblent contenir les principes actifs avec des IC50 respectives de $6\mu\text{g/mL}$ et $8\mu\text{g/mL}$ pour l'extrait méthanolique et l'infusé.

2.5.2- Tests de toxicité

Aux doses testées, aucun de nos extraits n'a entraîné de mortalité chez les souris. Cependant avec *L. pterocarpum*, nous avons constaté un hérissément des poils aux doses supérieures à 150 mg/kg .

2.5.3- Tests *in vivo***Tests de *Momordica balsamina***

Tableau 18 : pourcentage de globules rouges parasités (GRP) en fonction de la dose de Ex₂ (extrait de l'extrait méthanolique de *M. balsamina*) administrée.

| Dose administrée | % GRP |
|------------------|-------|
| Lot 1: 10mg/Kg | 18,50 |
| Lot 2: 20mg/Kg | 18,47 |
| Lot 3: 50mg/Kg | 18,28 |
| Témoins | 21,03 |

✓ (Ex₂) n'est pas actif aux doses étudiées. La parasitémie est du même ordre chez les témoins que chez les traitées.

Tests pour *Limeum pterocarpum*

Le tableau 20 donne le pourcentage de globules rouges parasités (GRP) des différents lots.

Tableau 19 : pourcentage des globules rouges parasités en fonction de la dose administrée.

| Dose administrée | % de GRP |
|------------------|----------|
| Lot 1: 10mg/Kg | 16,58 |
| Lot 2: 20mg/Kg | 15,35 |
| Lot 3: 50mg/Kg | 14,02 |
| Lot 4: 100mg/ Kg | 7,50 |
| Lot 5: 150mg/Kg | 5,02 |
| Lot témoin | 20,53 |

Tableau 20 : Pourcentage de réduction de la parasitémie en fonction des doses administrées.

| Dose administrée | Réduction de la parasitémie (%) |
|------------------|---------------------------------|
| Lot 1: 10mg/Kg | 19,26 |
| Lot 2: 20mg/Kg | 25,20 |
| Lot 3: 50mg/Kg | 31,52 |
| Lot 4: 100mg/ Kg | 63,44 |
| Lot 5: 150mg/kg | 75,51 |

✓ A partir de la dose de 50mg, la réduction est multipliée et proportionnelle à la concentration.

Aux doses testées la plus grande réduction est obtenue à 150mg (75, 51%)

3. Commentaires et discussion

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Notre étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes du Niger. En effet, le laboratoire de recherche de la faculté des Sciences de l'université Abdou Moumouni Dioffo de Niamey, s'est proposé d'explorer les vertus médico-chimiques de la flore du Niger [Ikhiri, 1984]. C'est ainsi que plusieurs enquêtes ethnobotaniques, initiées dans ce laboratoire, ont permis d'identifier les plantes les plus utilisées traditionnellement contre certaines maladies dont le paludisme. C'est à ce large éventail de drogues végétales qu'appartient le mélange qui a fait l'objet de notre étude. Le choix de ce mélange se justifie par l'engouement qu'il suscite au sein de la société Nigérienne. Les tradipraticiens interrogés ont bien voulu révéler les noms vernaculaires des plantes et celles ci ont été identifiées par le Docteur Saadou au laboratoire de Biologie de la Faculté des Sciences de Niamey.

Notre étude s'est inspirée des résultats obtenus par Yacoudina A. sur l'étude de l'activité antipaludique du mélange constitué de *Celosia trygina*, *Limeum pterocarpum*, *Momordica balsamina* [Yacoudina, 2002]. Ces résultats ont mis en évidence une activité antipaludique du mélange des trois poudres de plante. Nous nous sommes proposés de déterminer l'activité antiplasmodiale de chacune des plantes du mélange, afin de pouvoir situer l'activité antiparasitaire.

Sur le plan méthodologique, notre travail a consisté à la récolte et au séchage des plantes, suivi de l'étude chimique et des tests pharmacologiques.

Récolte

Pour la récolte, nous avons tenu compte de la saisonnalité des plantes, qui ont été cueillies au moment de leur apparition massive. Les flacons en verre colorés que nous avons utilisés pour le stockage permettent une longue conservation de ces drogues.

Extraction

Nous avons dans un premier temps réalisé les extraits aqueux et méthanoliques de chacune des plantes, destinés aux essais *in vitro*.

En comparant les rendements des différentes extractions, on constate qu'ils sont les mêmes, qu'il s'agisse de l'infusion ou de l'extraction au méthanol, sauf dans le cas de *Momordica balsamina* pour laquelle l'extraction aqueuse donne un rendement plus important.

Au niveau des extractions liquide-liquide qui nous ont permis d'obtenir les extraits de E₁, E₂ de *Limeum pterocarpum* et Ex₄, Ex₅, Ex₆ de *Momordica balsamina*, les émulsions qui se sont formées entre l'eau et le DCM principalement se brisaient difficilement. Un long temps de décantation dans le cas de *L. pterocarpum* et la centrifugation pour *M. balsamina*, nous ont permis de remédier à ce problème.

Pour obtenir l'extrait E₃ de *L. pterocarpum* nous avons dû évaporer le résidu aqueux à l'étuve, ne possédant pas de pompe à vide ou de lyophilisateur pour éliminer l'eau. Nous avons fixé à la température de 45°C afin d'éviter la détérioration des composés thermolabiles.

Chromatographies

Pour les chromatographies sur colonne (CC), le choix des solvants d'élution s'est fait grâce à des CCM préalables de nos extraits. Nous avons pris comme solvant de départ, celui qui entraînait le composé le plus polaire à une R_f de 0.25.

Après dégraissage à l'hexane, La fraction III de l'extrait E₂ a été chromatographiée sur couche mince et comparée à E₁ (qui a subi le même traitement). Ceci nous a montré que les deux fractions étaient identiques. Nous les avons donc regroupées.

Purification

En ce qui concerne la purification de nos produits, nous avons utilisé la technique de Recristallisation. Pour le produit P₁, la formation des cristaux s'est observée au bout de quelques jours, alors qu'elle s'est faite instantanément pour le produit P₂.

Analyses spectroscopiques

Au départ, nous avons pensé que le produit P₁ que nous avons isolé était le « liméloïde », composé majoritaire du *L. pterocarpum* déjà décrit [Ikhir, 1995]. Cependant, les spectres de résonance magnétique nous ont permis de déterminer que P₁ est en fait un mélange de 2 produits dont l'un est le limeloïde. La différence de résultat obtenu pourrait s'expliquer par la méthode d'extraction, en effet Khalid a

extrait directement la poudre de plante par le DCM alors que nous sommes passé d'abord par une extraction aqueuse.

L'analyse de données RMN de P₂ nous propose comme structure : C₇H₁₄O₆. Des recherches bibliographiques ont montré qu'il s'agissait du D-3-O-methyl-chiro-inositol, molécule hypoglycémiant également appelée D- pinitol [Dorman, 1970]. Les spectres de masse, le point de fusion ainsi que le pouvoir rotatoire, ont été évalués pour confirmer cette hypothèse. Les valeurs obtenues sont respectivement : PM (poids moléculaire):194, Fp=189°C et sont conformes aux valeurs de la littérature. Des études ultérieures devraient permettre de confirmer ces résultats.

Etude Pharmacologique

Pour ce qui est des tests pharmacologiques, l'évaluation *in vitro* nous a servi d'orientation pour les essais *in vivo*. Les tests *in vitro* ont montré que *M. balsamina* présentait la meilleure activité antiplasmodiale. Les extraits chlorométhyléniques de l'infusé et de l'extrait méthanolique (E₂ et E₅) semblent renfermer les principes actifs. Les valeurs des IC₅₀ sont respectivement 6µg/mL et 8µg/mL. Ces valeurs sont proches de celles obtenues avec les extraits de certaines plantes tels que *Nauclea latifolia* dont l'extrait chloroformique de la poudre d'écorce à une IC₅₀ de 6,6µg/mL et le même extrait de la poudre des feuilles, une IC₅₀ de 6,6µg/mL [Traoré, 2000].

Bien sûr ces valeurs sont loin des celles obtenues pour la chloroquine qui sont de l'ordre du nanogramme (ng). Mais il est difficile de faire une comparaison car notre produit est un totum alors que la chloroquine est une molécule pure.

Nous avons choisi de tester l'extrait Ex₂ (extrait MeOH/DCM de *M. balsamina*) *in vivo*, afin de vérifier l'activité constatée *in vitro*. L'extrait méthanolique de *L. pterocarpum*, bien que ne présentant pas une activité *in vitro* intéressante, a également été testé *in vivo*. Ce choix se justifie par le fait que *L. pterocarpum* est une plante utilisée seule dans le traitement des accès palustres dans certaines régions du Niger. Nous avons donc jugé intéressant de justifier ou pas cette utilisation par des tests *in vivo*. Mais avant d'administrer les extraits aux souris nous avons évalué leur toxicité.

Les tests de toxicité ont montré que jusqu'à la dose de 300mg/kg *L. pterocarpum* n'était pas toxique après administration par voie orale, mais le

hérissément des poils constaté au delà de 150mg/kg suppose une réaction allergique. L'extrait E₂ étant très peu soluble dans l'eau nous n'avons pu déterminer la toxicité. Mais aux doses testées, *M. balsamina* n'est pas toxique après l'administration orale.

Jusqu'à la dose de 50mg/kg nous n'avons pas constaté de réduction significative de la parasitémie pour *M. balsamina*. Par contre, une appréciable activité antiplasmodiale est observée avec *L. pterocarpum* à partir de la dose de 100mg /kg : 63% de réduction de la parasitémie due à *P. berghei* à 100mg/kg et 75,51% à la dose de 150 mg/Kg/j pendant 4 jours. Ces résultats sont comparables a ceux obtenus avec l'extrait hydroéthanolique de *Cochlospermum tinctorium*.: à la dose de 150mg/kg, ILBOUDO a obtenu une réduction de parasitémie de 83% [Ilboudo, 1999]. Ces doses, nécessaires à la manifestation de l'activité, sont cependant élevée, quand on sait que la chloroquine réduit la parasitémie de 100% à la dose de 4mg/kg/j [Gresler, 1995].

La poursuite des expériences devrait permettre de tirer des conclusions plus précises quant à l'activité de nos trois plantes et aux différents effets de synergie qui pourrait exister entre elles.

Conclusion
Recommendations

CONCLUSION & RECOMMANDATIONS

Le travail que nous avons effectué nous permet de justifier l'utilisation traditionnelle du mélange des poudres de *C. trygina*, *L. pterocarpum*, *M. balsamina*. En effet, nous avons mis en évidence des activités antiplasmodiales de deux de ces plantes : *M. balsamina* et *L. pterocarpum*.

En effet :

- ✓ la fraction chlorométhylénique de l'extrait aqueux de *M. balsamina* a donné *in vitro* une IC50 de 8µg/mL ;
- ✓ la fraction chlorométhylénique de l'infusé de *M. balsamina* a donné *in vitro* une IC50 de 6µg/mL ;
- ✓ L'extrait méthanolique de *Limeum pterocarpum*, à la dose de 150mg/kg pendant 4 jours, entraîne une réduction de 75,51% de la parasitémie chez des souris NMRI infestées par *P. berghei*.

Par ailleurs, les tests de toxicité ont permis de déterminer :

- ✓ Qu'aux doses inférieures à 50 mg/kg la fraction chlorométhylénique de l'extrait méthanolique de *M. balsamina* n'est pas toxique après administration par voie orale.
- ✓ Qu'aux doses inférieures ou égales à 300 mg/kg, l'extrait méthanolique de *L. pterocarpum* n'entraîne pas de mortalité chez les souris, après administration orale.

De la fraction méthanolique de *Limeum pterocarpum* nous avons isolé par des techniques usuelles, le D- pinitol, molécule hypoglycémiante.

Nous n'avons pas pu déterminer la molécule active sur *Plasmodium* et les résultats que nous avons obtenus ont suscité certaines interrogations ; aussi nous souhaitons que ce travail soit poursuivi, afin de pouvoir mettre à la disposition de nos populations, un médicament traditionnel amélioré, peu cher et fiable. Mais pour

cela un certain nombre de conditions doivent être réunies. Aussi, nous formulons ces quelques recommandations :

1. Aux autorités de la république du Niger

✓ **Au Ministère de la Santé publique :**

- S'impliquer d'avantage dans la recherche sur les plantes médicinales,
- aider le laboratoire de recherche à acquérir le matériel nécessaire pour le travail,
- développer des stratégies nationales en matière de médecine traditionnelle.

✓ **Au Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique :**

- Favoriser les stages de formation et les bourses de spécialisation pour les chercheurs,
- allouer des fonds plus important a la recherche.

2. A tous les scientifiques du Niger :

- ✓ Développer des partenariats entre les différentes institutions, afin de potentialiser le travail.

3. A l'équipe de recherche du laboratoire :

- ✓ Evaluer l'activité in vivo de *Celosia trygina* que nous n'avons pu déterminer.
- ✓ Envisager l'étude de *Limeum pterocarpum* dans le cadre du traitement du diabète.
- ✓ Collaborer avec les tradipraticiens et les tenir au courant des avancées des études en organisant des séances d'informations.

*Références
bibliographiques*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adjanohoun EJ et al., A.-M.-R. Ahyi, Ake Assi, L.Dan Dicko, H. Daouda, M. Delmas, S. De Souza, M. Garba, S. Guinko, A Kayonga, D. N' Golo, J.-L. Raynal, M. Saadou

Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger.

Médecine traditionnelle et pharmacopée

Rapport de l'ACCT. 2eme edition, p. 19, 1985

Akinyemi KO, Coker AO, Bayangbon C, Oyefolu AOB, Akinsinde KA, Omonigbehin EO

Antityphoidal screening plants used in ethno-medicine.

J. Nigerian Infect cont Assoc, 1:23-7, 1998

Attama S, Micka S, Kourgueni AI, Koche H, Barrere B.

Enquêtes démographiques et de santé Niger, Maryland, USA/ Care International Inc., p. 358, 1999

Bourré P., Ph. Taugourdeau, Van Ng.-ANH

Le paludisme, Editions Dopamine, p. 6, 1993

Bryskier A., Labro M.T.

Classification des antipaludiques modernes in Paludisme et médicaments

Edition Arnette SA, p. 35-162,1988

Burkill H. M.

The useful plants of West Tropical Africa, Royal botanics garden kew, 2eme édition vol 1, p.56-57,1985.

Burkill H. M.

The useful plants of West tropical Africa, Royal botanics garden kew, 2eme édition vol 1, p. ,1985

Cox F.E.G.

Rodent phyto-geny and succptibility to infection with the malaria parasite *Plasmodium berghei* in Malaria: principe and practice of malarialogy, ed by wernsdorfer, sir Mc Gregor-Churchill. Livingston, vol2, p.10503-1537, 1967

Desjardins Robert E, Graig J. Canfield, J.David Hayes, Jeffrey D. Chulay

A quantitative assessment of antimalarial activity *in Vitro* by a semiautomated microdilution technique.

Antibacterial agents and chemotherapy, p.710-718, Dec. 1979

Desowitz Robert S.

The malaria Capers in www.idrc.ca

De Tommasi Nunziatina, Francesco de Simone, Sonia Piacente, Cosimo Pizza and Naheed Mahmood

Diterpenes from *Momordica balsamina*

Naturals products letters Vol. 6, pp 261-268. 1995

De Tommasi Nunziatina, Francesco De Simone, Vincenzo De Feo, Cosimo Pizza.

Phenylpropanoid glycosides and Rosmarinic Acid from *Momordica balsamina*

Phytochemical notes. Planta Med. 57, 1990

Diallo Drissa, A. Marston, C. Terreaux, Y. Toure, B. Smestad Paulsen and K. Hostettmann

Screening of Malian Medicinal Plants for Antifungal, Larvicidal, Molluscidal, Antioxidant and Radical Scavenging Activities

Phytotherapy Research, 15, p. 401-406, 2001

Diallo Drissa, Britt Hveem, Mohamed Ag Mahmoud, Gunnvor Berge, Berit Smestad, Paul Sen, Aboubacar Maiga.

An botanical survey of Herbal of Gourma district, Mali.

Pharmaceutical biology, vol 37, N°1, p. 80-91, 1999

Dorman D. E., S. J. Angyal, J.D. Roberts,

J. Am. Chem. Soc. 92 , 1351-1354, 1970

Enserink M., Pennisi E.

Malaria and mosquito genomes sequenced on www.sciencenow.org 2002.

Field L.D, Sternhell S., Kalman J.K.

Organic structures from spectra.

2eme edition, p. 34, 1995

Fleurentin Jacques et Jean- Marie Peit

Les plantes médicinales, la recherche N°22, volume 21, p. 811, 1990

Fleurentin Jacques et Jean- Marie Peit

Les plantes médicinales, la recherche N°22, volume 21, p.812, 1990

Gessler M.C, Tanner M., Chollet J., M.H.H. Nkunya, M. Heinrich

Phytotherapy research, 9, p.504-508, 1995

Harouna Yacoudina Aïssa

Etude de l'activité antipaludéenne d'un mélange de trois plantes utilisées dans la pharmacopée au Niger. Mémoire de fin d'étude de technicien supérieur. ENSP Niamey, 2002

Iboudo Placid

Etude de l'activité antiplasmodiale de l'extrait hydroéthanolique de *Cochlospermum tinctorium*

Thèse Pharmacie N°20 Bamako, 1999

Iwalokun B.A., G.O Gbenlé, T.A. Adewole, and K.A.Akinsinde

Shigellocidal properties of three Nigerian Medicinal plants: *Ocimum gratissimum*, *Terminalia avicannoides* and *Momordica balsamina*

J Health Nutr 19, n°4 ,p. 331-335, 2001

Jochen Wiesner, Regina Ortmann, Hassan Jomaa, Martin Schlitzer

New antimalarial drugs

Medicinal chemistry , p 5274-5293, 2003

Keita A., Guindo M., Diallo D., Doumbo O., Gasquet M., Delmas F., Timon-David P.

Evaluation *in vitro* and *in vivo* of a traditional antimalarial, "malarial5"

FYTOTERAPIA vol LXIV, n°5, pp. 423-4326, 1993

Khalid Ikhiri, Ibrahim Mahaman, Alain Ahond, Angèle Chiaroni, Christiane Poupat, Claude Riche et Pierre Potier

Le liméolide, nouveau sesquiterpène de type drimane isolé de *Limeum pterocarpum*

Journal of naturals products, vol.7, pp1136-1138, July 1995

Khalid I., Mahaman Saadou, Mounkaila Garba

Recherche sur la pharmacopée au Niger. Centre d'étude linguistiques et historiques/traduction orale. Ny, 1984

Larousse de la médecine

2eme édition, vol2, p.665, 1996

Litchfield J.T, Wilcoxon F.A.

A simplified method of evaluation of doses-effect experiments.

J. pharmacolo. Exp. Ther.; 95:99-113, 1949

Mahamane Baoua, Joël fayn, Jean-Marie Bessière
Essais phytochimiques sur quelques plantes médicinales du Niger.
Plantes et phytothérapie, Tome X, n°4, p.251-266 ,1976

Moniteur des pharmacies
Qu'est-ce que le paludisme ?
Cahier II du N° 2489 . Mai 2003

OMS
L'utilisation des antipaludiques, rapport d'une consultation informelle,
WHO/CDS/RBM, 2001

OMS
Promotion et développement de la médecine traditionnelle. Série de rapport
techniques. N°622, Genève, 1978

OMS
Journée Africaine de lutte contre le paludisme, RBM : fiche d'information, 2003.

OMS
La polythérapie, un traitement d'avenir pour le paludisme
RBM :Fiche d'information 2003.

OMS
Vade-mecum pour la prise en charge du paludisme. 2ème édition, p. 50-51, 2001

Peters W, Ekong R., Robinson BL., Warhurst D.C.,
Drug resistance in Plasmodium berghei. In chloroquine resistance, exp. Parasitol 17,
p. 80-89, 1965

PNLS/IST
Cadre stratégique de lutte contre le VIH/SIDA, Niger 2000

RGP (Recensement général de la population)
Rapport du Bureau Central de Recensement
RGP/H-2001,p.
Décembre 2002

Schwikkard Sianne, Van Heerden Fanie R.
Antimalarial activity of plant metabolites
Natural product Rep., 19, p.675-692, 2002

Trager W., J. Jensen

Human malarial parasite in continuous culture
Science 193:673-675, 1976

Traore F., Gasquet M., C. Di Giorgio, E. Ollivier, F. Delmas, A. Keita, O. Doumbo, G. Balansard and P. Timon-David.

Antimalarial Activity of four plants used in traditional Medecine in Mali
Phytotherapy research 14, p.45-47, 2000

Vidal 2003

In le Moniteur des pharmacies. Qu'est-ce que le paludisme ?
Cahier II du N° 2489. Mai 2003

Vincke I.H., LIPS M.

Un nouveau *Plasmodium* d'un rongeur du Congo, *Plasmodium berghei*.n. sp.
In Malaria. Principles and practise of malarialogy
Ad. WERNSDORFER. Sir GREGOR CHURCHILL LIVINGDTONE
Vol. 2 pp 1503-1537,1948

Wiesner Jochen, Regina Ortmann, Hassan Jomaa, and Martin Schlitzer

New antimalarial drugs
Medicinal chemistry Angew. Chem, 42, p. 5274-5293,2003

www.ebischoff.free.fr/palu/palu2.html

Qu'est-ce que le paludisme ?

www.ligue-palu.org/paludisme

Répartition géographique du paludisme.

www.pasteur.fr/actu/presse/documentation/anopheles.htm

www.who.int/mediacentre/factsheets/2003/fs134/fr

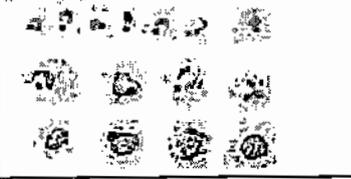
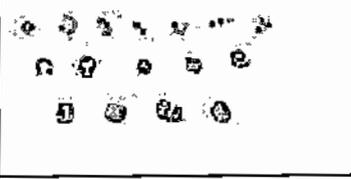
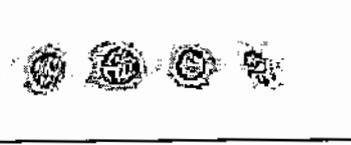
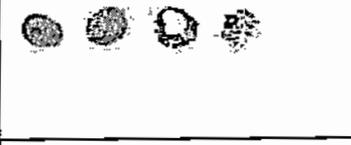
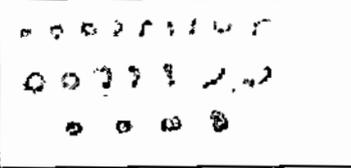
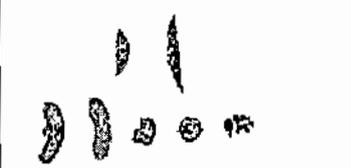
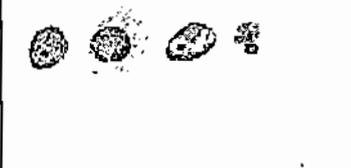
www.123bio.net

Les différents types de chromatographies.

Annexes

Annexe 1

Formes érythrocytaires de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*

| Formes érythrocytaires | <i>P. ovale</i> | <i>P. malariae</i> |
|------------------------|---|--|
| Trophozoites |  |  |
| Shizontes |  |  |
| Gamétocytes |  |  |
| | <i>P. falciparum</i> | <i>P. vivax</i> |
| Trophozoites |  |  |
| Schizontes |  |  |
| Gamétocytes |  |  |

Annexe 2

Quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme au Niger.

| Noms scientifiques | Noms vernaculaires | Famille | Drogue et forme d'utilisation |
|-------------------------------|-----------------------|----------------|--|
| <i>Acacia italica</i> | Haoussa : hilisko | Mimosacées | Feuille ou tige feuillée en macération |
| <i>Azadirachta indica</i> | Haoussa : dogon yaro | Meliacées | Feuilles en décoction |
| <i>Cassia occidentalis</i> | Haoussa : sanga-sanga | Cesalpiniacées | Feuille en décoction + sucre+ natron |
| <i>Crossopteryx febrifuga</i> | Zarma : hinkini morgo | Rubiacees | Feuille en macération |
| <i>Detarium microcarpum</i> | Haoussa : taoura | Cesalpiniacées | Ecorces en infusion |
| <i>Vittalaria donalia</i> | Haoussa : douma | Convolvulacées | Feuilles en inhalation |
| <i>Pterocarpus eracineus</i> | Haoussa : modobia | Papilionacées | Feuilles en décoction |
| <i>Tamarindus indicata</i> | Haoussa : tsamiya | Cesalpiniacées | Pulpe du fruit en boisson chaude ou froide |

Fiche technique et Résumé de la thèse

Nom : FOUMAKOYE GADO

Prénom : Amsatou

Titre de la thèse : Etude phytochimique et de l'activité antipaludique d'une recette utilisée dans le traitement traditionnel du paludisme au Niger :

Pays d'origine : Niger

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie, Bamako - Mali.

Secteurs d'intérêts : Médecine traditionnelle, paludisme.

Résumé :

Notre étude a porté sur la détermination de l'activité antiplasmodiale de trois plantes du Niger entrant dans la composition d'un mélange antipaludique utilisé en médecine traditionnelle : *Celosia trygina*, *Limeum pterocarpum*, *Momordica balsamina*.

Après récolte et séchage, nous avons réalisé des tests *in vitro* des infusés et les extraits méthanoliques des différentes plantes sur *P. falciparum* Chloroquino-résistant. *M. balsamina* a présenté l'activité la plus intéressante, avec des IC 50 respectives de 37µg/mL et 24µg/mL. Les deux extraits ont donc été extraits successivement par des solvants de polarité croissante. Les fractions DCM ont donné les meilleurs résultats avec des IC 50 respectives de 8µg/mL et 6µg/mL. L'extrait méthanolique de *L. pterocarpum* testé sur des souris NMRI infestées par *P. berghei* a entraîné une réduction de parasitémie de 75,51% à la dose de 150mg/kg pendant 4 jours. Jusqu'aux doses de 300mg/kg pour *L. pterocarpum* et 50mg /kg pour *M. balsamina*. La faible solubilité de nos extraits nous a empêché de déterminer les DL50.

De l'extrait méthanolique de *L. pterocarpum* nous avons isolé, par des techniques usuelles le D-pinitol, molécule hypoglycémiante de formule C₇H₁₅O₆.

Mots clés : Médecine traditionnelle, *Celosia trygina*, *Limeum pterocarpum*, *Momordica balsamina*, paludisme.

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

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

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