

MINISTERE DE L'EDUCATION  
NATIONALE

UNIVERSITE DE BAMAKO

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE  
ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2004- 2005

REPUBLIQUE DU MALI  
Un Peuple – un But – une Foi



Thèse N°.....

**PROPRIETES PHARMACOCHEMISTIQUES DE  
*CALOTROPIS PROCERA* Ait. (ASCLEPIADACEAE)  
RECOLTE AU MALI : ETUDE PRECLINIQUE DES  
EFFETS ANTI-INFLAMMATOIRES ET  
ANTIMICROBIENS DES EXTRAITS DES  
ECORCES DE RACINES.**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le .Samedi 08 janvier 2005  
Devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par **NIKIEMA Wendpagnagdé Patricia Rachel** née le 26 juin 1977 à  
Ouagadougou, en vue de l'obtention du grade de Docteur d'Etat en  
Pharmacie (Diplôme d'Etat)

Président du jury : Pr. BOUBACAR SIDIKI CISSE

Membres du JURY : Pr. FLABOU BOUGOUDOOGO

Directeur de Thèse : Pr. Pierre I. GUISSOU

Codirecteur : Pr. Drissa DIALLO

## **DEDICACES**

# DEDICACES

Je dédie ce travail :

- **A Dieu**, le père tout puissant et miséricordieux pour m'avoir donné la santé et la force de mener ce travail.

- **A mes très chers parents**

Pour tous les efforts consentis

Pour tous les conseils que vous m'avez prodigués

Pour toutes les souffrances que vous avez endurées

Je vous dis infiniment merci.

Veillez recevoir ce modeste travail comme un début de récompense de tous vos efforts.

Que Dieu vous récompense pour tout ce que vous avez fait et vous accorde encore de nombreuses et belles années de vie aux côtés de vos enfants.

- **A ma sœur et à mes frères**

Nicole, Olivier, Stéphane, Hermann et Christian

Je vous remercie tous pour votre soutien durant ces longues années d'étude.

Que Dieu nous guide tout au long de notre vie.

- **A tous mes oncles et tantes**

Merci de m'avoir soutenue pendant ces années d'étude. 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 cousins**

Merci pour votre gentillesse à mon égard.

J'espère que ce travail donnera aux plus jeunes, l'envie d'étudier.

- **A mon fiancé Stanislas O. et à sa famille**

Je ne saurais trouver les mots pour t'exprimer mes sentiments. Alors je te dirai tout simplement merci pour tes encouragements, ton aide et ton soutien moral et matériel. Sois assuré de mon amour infini.

Merci à ta famille pour les encouragements dans notre travail et aussi de m'avoir acceptée parmi les siens. Ce travail est aussi le vôtre.

- **A ma marraine Mme Zabramba Marcelle** : toute ma gratitude

- **A mes grands-parents** : pour leurs prières et leurs bénédictions

- **Aux familles** : Nikièma, Lalsomdé, Sissao, Passéré, Ouédraogo, Go, Sow, Dembélé, Tiemtoré, Sawadogo, Coulibaly, Adotevi, Zabramba et Kaboré,

pour les conseils et les encouragements dans notre travail. Soyez-en tous remerciés.

- **A mes amies et sœurs** : Aline, Alice, Edith, Aguiratou, Ramata, Mireille, Coumbo, Aïda, Judith, Walou, Colette, Awa, Françoise, Soeur Honorine Ouédraogo, Fatimata, Larissa, Kadi, Margueritte... pour toutes ces années passées ensemble, pour votre amitié et pour votre soutien. Vous aurez toujours une place spéciale dans mon cœur.

- **A mes amis et frères** : Claude, Patrice, Yacouba, Hermann, Michael, Jacques, Thomas, Zongo, Ly, Jacques, Anselme, Noël, Christian, Valéry, Tidiane, Sylvestre, Marcelle, Tibiri André, Koudougou Karim...  
Je vous remercie pour le soutien que vous m'avez accordé et beaucoup de courage à vous tous.

- **A madame Yaméogo Alissabatou Sanoussi (in memorium)**

Vous avez été ma mère à Bamako car j'ai pu bénéficier de votre amour, de votre soutien moral, matériel et financier. Vous resterez à jamais présente dans nos cœurs. Que votre récompense soit grande dans les cieux.

- **A ma tante Kyendrébéogo Anne Marie et son mari (in memorium)**

- **A tous mes promotionnaires** : courage et plein succès dans vos carrières respectives.

- **A toute la communauté burkinabé de Bamako** tous unis, nous vaincrons toujours.

- **Au peuple malien** : pour l'accueil fraternel que j'ai reçu.

- **A Monseigneur Jean -Marie Compaoré** Archevêque de Ouagadougou et père de l'Eglise Famille au Burkina Faso, pour m'avoir portée dans ses prières. Je vous suis infiniment reconnaissante pour votre soutien moral et spirituel.

- **Au personnel de BERA** et surtout à **Mme Coulibaly** pour sa disponibilité constante.

# **REMERCIEMENTS**

# REMERCIEMENTS

**Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent à ceux qui nous ont aidé dans la réalisation de ce travail.**

- **A mes parents encore une fois**

- **Au corps professoral de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie (FMPOS) à Bamako**, pour l'enseignement et la formation reçus.

- **Au Docteur Rokia Sanogo**

Pour ses enseignements, ses encouragements et son souci pour le travail bien fait. Que Dieu vous assiste toujours et vous aide à réaliser vos projets.

- **Au Docteur Ababacar Maïga**

Pour ses cours de toxicologie, ses conseils et son aide précieuse dans la réalisation de ce travail. Que Dieu vous aide dans vos travaux.

- **A tout le personnel du Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique de Bamako.**

- **A mes camarades internes du DMT.**

Le succès est au bout de l'effort. Courage et bonne chance à tous.

- **A tout le personnel du département de Médecine-Pharmacopée Traditionnelle et Pharmacie (ME.PHA.TRA/PH) de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS) de Ouagadougou (Burkina).**

Merci pour l'ambiance fraternelle qui a régné durant notre séjour dans votre institut.

- **Au professeur I. Pierre. Guissou**, Professeur titulaire de pharmacologie et toxicologie, Chef du département ME.PHA.TRA/PH de l'IRSS. Profonde reconnaissance pour nous avoir accepté dans son service, pour les conseils et d'avoir dirigé ce travail.

- **Au Docteur Sylvin Ouédraogo**, chargé de recherche en pharmacologie au département ME.PHA.TRA/PH de l'IRSS, pour ses conseils, ses encouragements et surtout pour le suivi de ce travail.

**Au Docteur Aristide Traoré**

**Au Docteur Marius Lompo**

**Au Docteur Seydou Sourabié**

**Au Docteur Hassanata Millogo**

**Au Docteur Felix Kini**

**Au Docteur Noya Somé**  
**Au Docteur Badioré Ouattara**  
**A monsieur Boubacar Yaro**  
**A monsieur Issa Tissolgo**  
**A monsieur Casimir Kadeba**  
**A monsieur Aubin Bationo**  
**A monsieur Roger Kaboré**  
**A monsieur Dieudonné Kinda**  
**A monsieur Traoré Aboubacar**  
**A Fatimata S. et à Léontine O.**

Sincères remerciements pour votre contribution à la réalisation de ce travail et pour l'ambiance qui a régné durant les mois que nous avons passés ensemble.

- **A tous mes camarades internes en stage à l'IRSS** : merci pour tout et surtout du courage pour la suite.
  
- **Aux docteurs : Ouédraogo Moustapha, Koudougou Joachim et Koussoubé Damien** : plein succès dans vos carrières respectives et une vie familiale réussie.
  
- **A madame Songoti / Guissou Marie-Laure** pour ses conseils, son soutien et encouragements.
  
- **Au Docteur Kadiatou Traoré**: Directrice du laboratoire d'analyses médicales « Sainte Elisabeth » pour nous avoir permis de réaliser nos tests antifongiques au sein de son laboratoire.  
Que Dieu vous aide à prospérer dans votre travail.
  
- **Au Professeur Lassina Sangaré** du laboratoire de Bactériologie – virologie du CHU-YO pour l'aide à la réalisation de ce travail.
  
- **A tout le personnel du laboratoire de CHU-YO** pour leur soutien et leur aide dans la réalisation de nos travaux.
  
- **Au docteur Zabramba et à tout le personnel de la pharmacie Saint- Lazare.**
  
- **A l'Université d'Oslo : Projet CNRST- NUFU plantes médicinales pour leur soutien matériel.**
  
- **A tous ceux qui m'ont soutenue.**

**A NOS MAÎTRES ET JUGES**



## **A Notre Maître et Président du Jury**

**Professeur Boubacar Sidiki Cissé**  
**Professeur de Toxicologie**  
**Ancien Recteur de l'Université du Mali**  
**Conseiller Technique au Ministère de la Santé**

Votre souci du travail bienfait, votre disponibilité, votre lutte pour la cause des études pharmaceutiques et de la profession pharmaceutique au Mali forcent notre admiration. Par ailleurs, nous nous réjouissons d'avoir bénéficié de vos cours de Toxicologie et de Phytopharmacie que vous avez toujours dispensés avec clarté et bienveillance. Nous vous prions de trouver ici toute notre gratitude pour avoir accepté de présider le jury de ce travail.

## **A Notre maître et juge**

**Professeur Flabou Bougoudogo**  
**Maître de Conférence agrégé en Bactériologie-virologie**  
**Chef de service de Bactériologie-Virologie à l'INRSP**

Cher maître, vous nous avez fait l'honneur en acceptant de siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations. Durant nos années d'études, nous avons pu bénéficier de vos enseignements de qualité. Nous vous admirons pour vos connaissances scientifiques et pour vos compétences professionnelles. Veuillez trouver ici l'expression de notre sincère admiration et notre profond respect.

## **A Notre maître et Directeur de Thèse**

**Professeur I. Pierre Guissou**  
**Professeur titulaire de Pharmacologie-Toxicologie, chef du département des Sciences Pharmaceutiques Appliquées à l'UFR/SDS, chef du département ME.PHA.TRA / PH de l'IRSS, chef de service de la Pharmacie hospitalière du C.H.U. Yalgado OUEDRAOGO.**

Nous avons toujours été admirablement impressionné par votre immense culture scientifique, votre rigueur dans le travail et votre amour du travail bien fait. Vous demeurez une grande référence dans le monde scientifique notamment dans le domaine Médico-pharmaceutique. Malgré vos multiples occupations, vous avez dirigé ce travail avec une très grande rigueur scientifique. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude et de notre respect.

## **A Notre maître et codirecteur**

**Professeur Drissa DIALLO**

**Maître de Conférence agrégé en Pharmacognosie.**

**Chef de Département de Médecine Traditionnelle (DMT).**

Nous ne vous remercierons jamais assez pour ce que vous avez fait pour nous et pour avoir accepté de diriger ce travail malgré la distance.

L'enseignement de qualité que vous nous avez dispensé nous a motivé dans la recherche. Votre aide, votre rigueur dans le travail, vos conseils et votre disponibilité nous ont permis de réaliser ce travail. Nous vous prions d'accepter cher Maître, l'expression de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect.

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

# LISTE DES ABREVIATIONS

<b>ADN</b>	:	Acide DésoxyriboNucléique
<b>AINS</b>	:	Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien
<b>AIS</b>	:	Anti-Inflammatoire Stéroïdien
<b>ARN</b>	:	Acide RiboNucléique
<b>BAW</b>	:	Butanol-Acide acétique-Eau
<b>CCM</b>	:	Chromatographie sur Couche Mince
<b>Cf.</b>	:	Confère
<b>CHU YO</b>	:	Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo de Ouagadougou
<b>cm</b>	:	Centimètre
<b>CMI</b>	:	Concentration Minimale Inhibitrice
<b>DL<sub>50</sub></b>	:	Dose Létale 50%
<b>DMT</b>	:	Département de Médecine Traditionnelle
<b>DPPH</b>	:	DiPhényl Picryl Hydrazyl
<b>EtOH</b>	:	Ethanol
<b>FMPOS</b>	:	Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie
<b>H<sub>2</sub>O</b>	:	Eau
<b>IRSS</b>	:	Institut de Recherche en Science de la Santé
<b>m</b>	:	mètre
<b>mn</b>	:	minute
<b>mg</b>	:	milligramme
<b>ml</b>	:	millilitre
<b>mm</b>	:	millimètre
<b>MEPHA TRA/ PH</b>	:	MEdecine PHarmacopée TRAditionnelle / PHarmacie
<b>MTA</b>	:	Médicament Traditionnel Amélioré
<b>nm</b>	:	nanomètre
<b>N.M.R.I</b>	:	Naval - Medical – Researh - Institut
<b>OMS</b>	:	Organisation Mondiale de la Santé
<b>pH</b>	:	potentiel en Hydrogène
<b>s</b>	:	seconde
<b>µl</b>	:	Microlitre
<b>UFR/SDS</b>	:	Unité de Formation et de Recherche des Sciences de la Santé
<b>U-PHARMA</b>	:	Unité de production PHARMAceutique

**µg** : Microgramme  
**UV** : Ultra-Violet  
**V. IP** : Voie Intra-Péritonéale  
**V.O** : Voie Orale

# CHAPITRE I

## 1-1 INTRODUCTION

Dans les pays en voie de développement, les problèmes du médicament se posent en terme d'insuffisance quantitative, qualitative et d'inaccessibilité économique. Au Burkina Faso, le médicament reste un problème préoccupant. En 1985, le budget pour l'approvisionnement en médicaments ne représentait que 3,21% du budget du Ministère de la Santé (Soma, 2002).

La faiblesse des ressources économiques des populations limite l'achat des produits pharmaceutiques. Les conséquences sont la désertion ou la fréquentation tardive des formations sanitaires. Pour pallier ces problèmes, le Mali tout comme la plupart des pays de la sous région ont pleinement souscrit à un certain nombre de déclarations, de résolutions et d'initiatives parmi lesquelles nous pouvons citer :

- La déclaration d'Alma-Ata qui a confirmé la nécessité d'intégrer la Médecine Traditionnelle dans les services de soins primaires en 1978;
- La déclaration des Chefs d'Etat de l'Union Africaine à Lusaka faisant de la période 2001-2010 « la Décennie de la Médecine Traditionnelle en Afrique » ;
- La Résolution AF/RC50/3 adoptée par les pays membres de la Région Africaine de l'OMS portant « promotion du rôle de la Médecine Traditionnelle dans les systèmes de santé, stratégie pour la Région Africaine de l'OMS » en 2000 ;
- L'Initiative de Libreville portant sur la protection et la valorisation des inventions africaines en matière de médicaments en 2002.
- L'Initiative de Bamako en 1987.

L'un des objectifs de l'initiative de Bamako est d'assurer la disponibilité des médicaments essentiels génériques à un faible coût.

Après plusieurs années de fonctionnement, le problème du médicament se pose toujours dans toutes ses dimensions. De nos jours, on estime à 20% l'accessibilité aux médicaments (Soma, 2002).

La plupart des pays africains tentent de remédier à ce problème en accordant un intérêt pour la médecine traditionnelle.

D'après une estimation de l'OMS, environ 80% des populations africaines ont recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire leurs besoins en Soins de Santé Primaires. (Adjanohoun, 1985).

Cet engouement pour la médecine traditionnelle pourrait s'expliquer par des raisons culturelles, socio-économiques caractérisées de plus en plus par une conjoncture difficile due au coût du médicament d'importation, laquelle favorise la résurgence de couches sociales indigentes et défavorisées à bien des égards.

Ces dernières années, la médecine traditionnelle est en plein développement en Afrique. C'est ainsi que des instituts cherchent à valoriser les plantes médicinales en s'appuyant sur les traditions populaires.

Au Mali, le Département de la Médecine Traditionnelle (D.M.T) qui est un centre de référence de l'OMS, participe à la valorisation des plantes médicinales. Ce centre a permis de mettre sur le marché pharmaceutique malien sept (7) Médicaments Traditionnels Améliorés (MTA) en vue de l'amélioration de l'état de Santé des populations.

Au Burkina Faso, l'I.R.S.S. (Institut de Recherche en Science de la Santé) propose également des médicaments à partir des plantes médicinales locales.

C'est dans cette optique que l'étude sur *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) a été entreprise.

De nombreuses études ont été faites sur cette plante et ont démontré l'utilisation des écorces des racines dans les algies rhumatismales (Berhaut, 1971), dans la fièvre (Mossa et Coll, 1991). Les extraits organiques des fruits sont utilisés dans les affections bactériennes (antifongiques) (Vohara et Coll, 1997). Récemment, l'étude pharmaco-chimique du macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* a montré une activité (antifalcémiant, anti-inflammatoire) sur la maladie drépanocytaire (Ouédraogo, 2001).



Notre travail est une étude des propriétés pharmaco-chimiques des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. récoltées au Mali. Elle porte sur les caractéristiques phytochimique, toxicologique, anti-inflammatoire, antioxydante antibactérienne et antifongique.

## 1-2 MOTIVATION DE LA RECHERCHE

En 1978, l'Organisation Mondiale de la Santé (O. M. S) s'est résolument engagée à revaloriser la pharmacopée traditionnelle afin de pouvoir satisfaire aux besoins de santé des populations.

Notre travail s'inscrit dans cette perspective et a été motivé par :

- la volonté de promouvoir et de valoriser les plantes médicinales du Mali et du Burkina.
- la nécessité de faciliter l'accès des populations aux médicaments à moindre coût compte tenu du prix élevé des médicaments conventionnels dans les pathologies inflammatoires et microbiennes.
- la volonté de savoir si le climat ou le terrain d'origine n'influe pas sur les propriétés de *Calotropis procera* vu son importance dans la prise en charge de la maladie drépanocytaire.
- la contribution à l'étude de la toxicité de *Calotropis procera* du Mali.

## **1-3 OBJECTIFS DE L'ETUDE**

### **1-3-1 OBJECTIF GENERAL**

L'objectif général était d'étudier les propriétés pharmacochimiques des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. récoltées au Mali.

### **1-3 2 OBJECTIFS SPECIFIQUES**

D'une manière spécifique, l'étude devrait permettre de :

- Déterminer les principaux groupes chimiques présents dans les extraits des écorces de racines de *Calotropis procera* récolté au Mali.
- Déterminer la toxicité aigüe et le toxidrome des extraits des écorces de racines de *Calotropis procera* récolté au Mali.
- Déterminer l'activité anti-inflammatoire des extraits des écorces de racines de *Calotropis procera* récolté au Mali.
- Déterminer l'activité anti-oxydante des extraits des écorces de racines de *Calotropis procera* récolté au Mali.
- Tester l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines de *Calotropis procera* récolté au Mali.
- Tester l'activité antifongique sur *Candida albicans* des extraits des écorces de racines *Calotropis procera* récolté au Mali.

## **CHAPITRE II : GENERALITES**

## 2-1 LA TOXICITE AIGUE D'UNE DROGUE

Elle caractérise la toxicité après administration d'une dose unique d'une substance. Elle se manifeste par un toxidrome et une atteinte des organes à fonction vitale. Son évaluation permet d'apprécier les doses qui entraînent la mort de l'animal et les circonstances de la mort. A cet effet, la dose minimale mortelle (DMM) et la dose létale 50% (DL<sub>50</sub>) sont généralement déterminées :

La Dose Minimale Mortelle (DMM) est la dose minimale de la substance capable de tuer un animal par administration par voie veineuse lente (l'arrêt cardiaque signe la mort).

Elle peut servir à faire le choix des niveaux de doses retenues pour la détermination de la DL<sub>50</sub>. (Claude, 1988).

La Dose Létale 50% (DL<sub>50</sub>) est la dose de substance capable de provoquer par la voie d'administration choisie la mortalité cumulée de 50% des animaux d'une population mise en expérience. Elle s'évalue à partir de lots d'animaux auxquels correspondent des doses de la substance.

### - Observation des manifestations de la toxicité aiguë ou toxidrome

Elle est nécessaire au cours de l'étude de toxicité aiguë d'une substance.

La valeur de la DL<sub>50</sub> d'une substance permet de la situer sur l'échelle comparative de toxicité de substances chimiques de HODGE et STERNER. (CLAUDE, 1988)

Tableau I : Echelle de toxicité de substances chimiques (d'après HODGE et STERNER, 1949)

Classe de toxicité	DL <sub>50</sub> par voie orale pour la souris ou le rat	Doses toxiques pour un enfant (12,5 kg)
Extrêmement toxique	<1 mg/kg	Environ 8 mg (il est généralement suffisant de goûter le produit pour provoquer une intoxication)
Très toxique	1 à 50mg/kg	Une petite gorgée ou 500 µl
Moyennement toxique	50 à 500 mg/kg	Une cuillerée à café ou 10 ml
Faiblement toxique	0,5 à 5 g/kg	Un coquetier
Pratiquement non toxique	5 à 15 g / kg	Environ 180g
Relativement sans danger	>15 g/ kg	>180 g

## 2-2 LES INFLAMMATIONS- LES RADICAUX LIBRES ET LES ANTIOXYDANTS

## 2-2-1 Les inflammations

### 2-2-1-1 La réaction inflammatoire

L'inflammation est une réaction de l'organisme à une irritation d'origine diverse : infection, traumatisme mécanique, traumatisme chimique, trouble métabolique, brûlure, irradiation. C'est une réaction du tissu conjonctif et des vaisseaux dans laquelle on distingue plusieurs phases successives : congestive, exsudative, proliférative, nécrotique.

On distingue les inflammations primaires et secondaires.

Les inflammations primaires ou aiguës ont une cause immédiate et localisée.

Les inflammations secondaires ou chroniques sont des réactions systémiques qui se développent à distance. Elles sont dues à une réaction immunitaire.

Sous l'influence d'un agent phlogogène, la réaction inflammatoire classique se développe en quatre phases plus ou moins distinctes et d'importance variable :

- La première est une vasodilatation artériolaire qui entraîne un érythème, un dégagement de chaleur locale, une hyperesthésie. La peau de la zone enflammée est rouge, la douleur apparaît à la pression (rudor, calor, dolor ou fever). En même temps, l'observation démontre une stase du sang dans les vaisseaux capillaires, une augmentation de la perméabilité capillaire, un afflux des leucocytes par diapédèse.

- La seconde phase est caractérisée par la formation d'un œdème. Le liquide plasmatique passe dans le compartiment interstitiel du derme. Les cavités séreuses (plèvre, péritoine, synovie) se remplissent de liquide.

- La troisième phase consiste en la formation d'un tissu de granulation (infiltration cellulaire). Les leucocytes affluent, des macrophages et des fibroblastes apparaissent. Le tissu de granulation est un tissu conjonctif jeune, riche en fibroblastes et en capillaires, pauvre en fibres conjonctives. Ce tissu nouvellement formé peut s'individualiser en granulome.

- La quatrième phase est une phase de sclérose du tissu nouvellement formé qui envahi par les fibres conjonctives, perd son élasticité et se sclérose (Cohen, 1986).

### 2-2-1-2 Médiateurs chimiques de l'inflammation

Une importante activité métabolique accompagne l'inflammation. Des protéoglycanes et du collagène sont synthétisés. Des enzymes protéolytiques sont activés et entraînent la libération d'amines biogènes (histamine et sérotonine) qui favorisent la vasodilatation, la transsudation plasmatique et l'œdème.

Ces enzymes protéolytiques provoquent la fragmentation de chaînes peptidiques et la formation de polypeptides comme la bradykinine qui détermine la contraction des fibres lisses, ou comme la leucotaxine qui provoque la diapédèse des leucocytes. La bradykinine est inactivée par l'enzyme de conversion, laquelle agit également sur l'angiotensine I pour la transformer en angiotensine II. Les prostaglandines E sont synthétisées et contribuent à la sensibilisation à la douleur, à la vasodilatation, à la contraction des fibres lisses.

La substance fondamentale faite de mucopolysaccharides se dépolymérise.

Les « slow reacting substances » apparaissent et contribuent à la réaction inflammatoire.

Les médicaments anti-inflammatoires vont s'opposer aux effets de l'histamine, de la sérotonine, des prostaglandines. Certains vont avoir une action antiprotéasique s'opposant à l'activation des systèmes enzymatiques protéolytiques. D'autres vont agir sur la répartition intra et extracellulaire des ions (Cohen, 1986).

### 2-2-1-3 Mécanismes de l'inflammation

Classiquement, les mécanismes de l'inflammation peuvent être groupés selon la séquence et les manifestations cellulaires et tissulaires successives suivantes :



- vasodilatation, modification du débit sanguin et de la paroi interne des vaisseaux avec adhésivité plaquettaire et leucocytaire,
- augmentation de la perméabilité vasculaire avec exsudation plasmatique et diapédèse leucocytaire,
- recrutement, différenciation et prolifération cellulaires,
- activation de cellules spécifiques d'organe par des cytokines et libération d'enzymes protéolytiques avec destruction de la matière intercellulaire,
- tentative de régénération et de fibrose.

Les manifestations cellulaires et tissulaires aboutissent à la libération de médiateurs chimiques qui vont stimuler la production des prostaglandines  $E_2$  ( $PGE_2$ ). Ces ( $PGE_2$ ) sont fortement impliquées dans la douleur et dans la fièvre au cours du processus inflammatoire (Cohen, 1986).

#### 2-2-1-4 Traitement de l'inflammation

Le traitement de l'inflammation se fait par différentes substances appelées anti-inflammatoires.

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui antagonisent les processus inflammatoires. A côté des analgésiques antipyrétiques tels que l'acide acétylsalicylique (Aspirine) doués, à forte dose ou à doses continues, de propriétés anti-inflammatoires, on distingue des médicaments à activité anti-inflammatoire plus spécifiques. Ce sont des hormones stéroïdiques (glucocorticoïdes) dites Anti-inflammatoires Stéroïdiens (AIS) , des substances de synthèse dites Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens (AINS) et des substances antirhumatismales (Cohen, 1986).

#### 2-2-1-5 Les Anti-inflammatoires Stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) sont des dérivés des hormones stéroïdes de la corticosurrénale. En effet, les glucocorticoïdes antagonisent les processus inflammatoires, inhibent la réaction aux agressions du tissu mésenchymateux, empêchent l'activation de la phospholipase  $A_2$  qui libère

l'acide arachidonique des phospholipides de la membrane cellulaire (DELESPESE , 1985 , COHEN, 1986, SCHORDERET, 1994).

#### 2-2-1-6 Les Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comprennent les dérivés pyrazolés et salicylés auront une action sur la phase initiale de l'inflammation, l'indométacine et ses dérivés qui ont un effet sur la phase initiale et les phases tardives de l'inflammation, ils inhibent la cycloxygénase et la synthèse des prostaglandines (COHEN, 1986 ; SCHORDERET, 1994). Ils empêchent la biosynthèse des acides eicosaénoïques et des leucotriènes par inhibition des lipoxygénases. Ils exercent une inhibition de la biosynthèse du Thromboxane (TXA<sub>2</sub>), une inhibition des réactions cellulaires de nature défensive ou immunologique, une inhibition de la migration des leucocytes et des macrophages, une stabilisation des membranes lysosomales et une inhibition de la libération d'enzymes hydrolytiques (Phosphatases acides et  $\beta$ -glucuronidase).

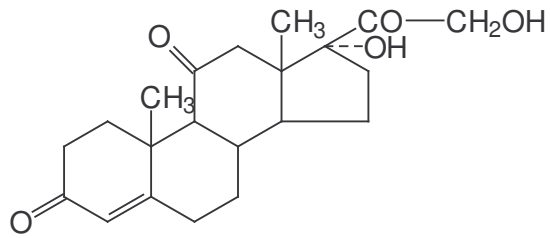
Les AINS regroupent:

- les dérivés de la pyrazolone ( Butazolidine\*, Tandéril\*...)
- les dérivés salicylés (Aspirine\*, Aspégic\* ...)
- les dérivés de l'acide phényl-acétique (Voltarène\*...)
- les dérivés de l'indole (Indocid\*...)
- les dérivés anthraniliques (Nufluril\*, Ponstyl\*...)
- les dérivés de l'acide phénylpropionique (Brufen\*,Profénid\*...)
- les dérivés des acides de la phénothiazine (Pirocid\*...)
- les dérivés carboxamidés du benzothiazine- dioxyde (Feldène\*...)

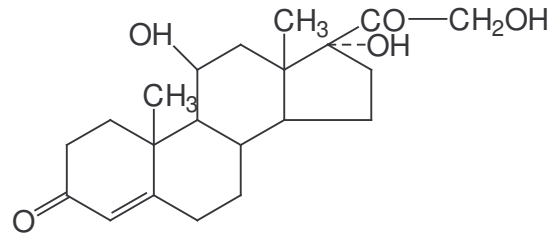
#### 2-2-1-7 Les amino-4-quinoléines : antipaludiques (Chloroquine, Hydroxychloroquine)

Les antipaludiques sont également considérés comme des médicaments anti-inflammatoires (traitement de fond). Les lysosomes sont en général considérés comme les sites primaires de l'action anti-inflammatoire des amino-quinoléines. La chloroquine agit aussi au niveau de la biosynthèse des prostaglandines (par inhibition de la phospholipase A<sub>2</sub>) et par la neutralisation de leurs effets périphériques (SCHORDERET et Coll, 1994).

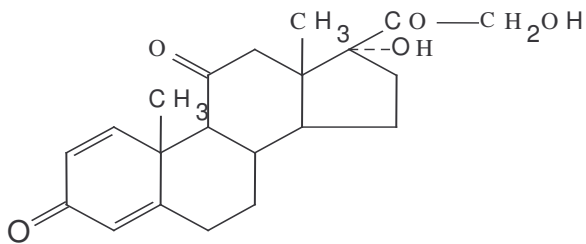
## 2-2-1-8 QUELQUES STRUCTURES DES AIS



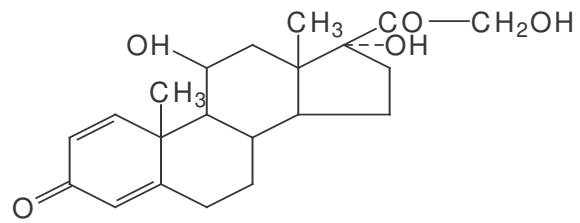
Cortisone



Hydrocortisone

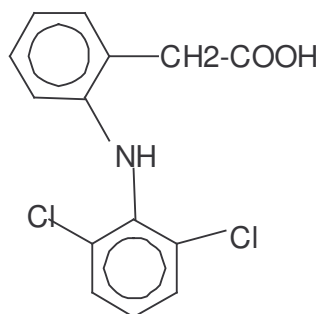


Prednisone, deltacortisone (Cortancyl)

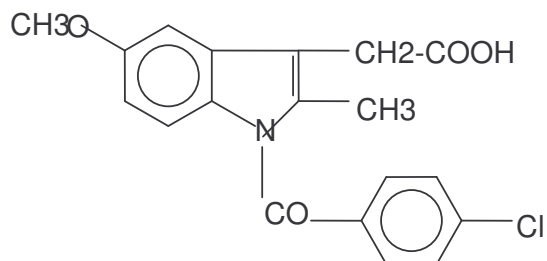


Prednisolone, deltahydrocortisone (Hydrocortancyl)

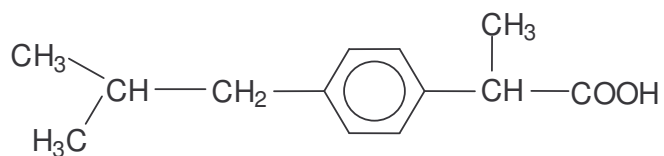
## 2-2-1-9 QUELQUES STRUCTURES DES AINS



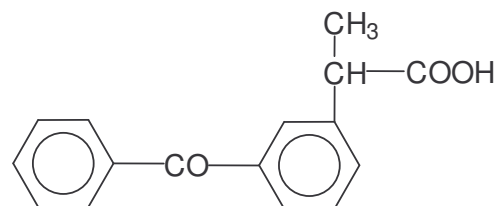
Diclofénac ( Voltarène\*)



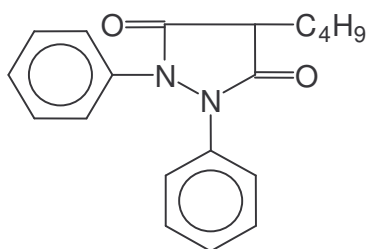
Indométacine (Indocid\*)



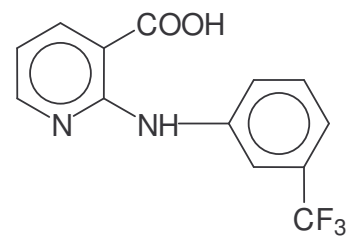
Ibuprofène (Brufen\*)



Kétoprofène (Profénid\*)



Phénylbutazone (Butazolidine\*)



Acide niflurique (Nifluril\*)

## 2-2-1-10 Quelques plantes à activité anti-inflammatoire

Le tableau II présente quelques plantes à activité anti-inflammatoire selon (Pousset, 2004)

Tableau II : Quelques plantes à activité anti-inflammatoire

Nom scientifique	Famille	Parties utilisées
<i>Baillonella toxisperma</i>	Sapotaceae	Ecorces du tronc
<i>Balanites aegyptiaca</i>	Zygophyllacea	Fruits
<i>Harpagophytum procumbens</i>	Pedaliaceae	Racines
<i>Gloriosa superba</i>	Liliaceae	Graines

#### 2-2-1-11 Méthode d'étude des anti-inflammatoires

Les méthodes d'étude des anti-inflammatoires sont nombreuses. On recherche les effets sur les premières phases de l'inflammation primaire et les effets sur l'inflammation secondaire. Sur l'inflammation primaire, on recherche les effets antiérythémateux, antioedémateux, les effets de réduction du granulome.

On étudie l'inflammation primaire et secondaire sur l'arthrite à l'adjuvant de Freund.

##### -Erythème aux rayons ultraviolets chez le cobaye

On apprécie l'intensité de la coloration rouge de la peau épilée du dos du cobaye soumise aux rayons ultraviolets, en absence et en présence d'anti-inflammatoires (Cohen, 1986).

##### -Perméabilité capillaire chez le lapin

On applique de l'essence de térébenthine ou de l'huile de croton sur la peau épilée du lapin albinos. On met en évidence une exsudation plasmatique par l'injection intra-veineuse de bleu Trypan ou de bleu Evans qui se lie aux protéines plasmatiques. L'étendue de la diffusion du bleu dans la substance fondamentale du derme est réduite en présence d'anti-inflammatoires.

On peut injecter l'agent phlogogène (agent qui provoque l'inflammation) dans le péritoine ou la plèvre de l'animal, il se produit un exsudat séreux dont l'intensité

est évaluée à l'aide d'albumine radio-iodée préalablement administrée par voie intra veineuse (Cohen, 1986).

#### -Œdème de la patte du rat

L'exsudation est évaluée par le gonflement de la patte postérieure du rat après injection intra-articulaire d'un agent phlogogène : formol, ovalbumine, Kaolin, carragénine (sulfopolygalactoside extrait du lichen d'Islande, Chondrus crispus).

On mesure le diamètre de l'articulation tibiotarsienne à l'aide d'un pied à coulisse, on en estime le volume à l'aide d'un pléthysmomètre ou l'on pèse la patte sectionnée à l'articulation.

Seul l'œdème à la carragénine paraît spécifique, les autres agents inflammatoires sont antagonisés par les vasoconstricteurs, des antihistaminiques, des antisérotonines (Cohen, 1986).

#### -Granulome à la carragénine chez le rat

On insère dans le tissu cellulaire sous-cutané contre la cage thoracique une petite boule de coton imprégnée de carragénine. Au bout de 7 jours, on prélève le tissu de prolifération qui englobe le pellet et on pèse. Sur ce test, les corticoïdes sont très actifs.

L'anti-inflammatoire est donné pendant l'essai pour empêcher la formation du granulome. La carragénine peut être remplacée par de l'agar ou par certaines matières plastiques.

La poche granulomateuse consiste à insuffler de l'air au point d'injection d'une solution de carragénine. Il se forme en quelques jours un exsudat dont on mesure le volume et dans lequel on dénombre les cellules : polynucléaires, lymphocytes, histiocytes, mastocytes (Cohen, 1986).

### -Arthrite à l'adjuvant de Freund

L'injection intra-articulaire dans la patte postérieure du rat d'adjuvant de Freund (suspension de bacilles tuberculeux tués ou émulsion de cire D de bacille tuberculeux) détermine une réaction oedémateuse qui se développe immédiatement (inflammation primaire). En deux ou trois semaines apparaissent à distance, sur la patte postérieure contralatérale, sur les pattes antérieures, à la queue, aux oreilles, une réaction inflammatoire avec gonflement, rougeur, échauffement et douleur (inflammation secondaire). On observe ainsi une réaction d'ordre immunitaire qui rappelle l'hyper-immunisation de certaines maladies rhumatismales. Les anti-inflammatoires administrés pendant l'essai empêchent la réaction primaire et la réaction secondaire.

La réaction immunitaire secondaire n'apparaît pas chez tous les rats traités, ce qui rend délicate la mise en œuvre de cet essai (Cohen, 1986).

### -Tests divers

En complément aux essais d'activité anti-inflammatoires, on procède à des études diverses pour mettre en évidence d'éventuels effets secondaires sur la pression artérielle (hypertension), la sécrétion gastrique (hyperacidité, apparition d'ulcères), l'hémostase (hypo ou hypercoagulabilité), la prise de poids (catabolisme azoté), la rétention hydrosodique et la déplétion potassique, sur les glandes endocrines (effet diabétogène, hypercorticisme, inhibition de sécrétion d'ACTH), sur le psychisme (tests des psychotropes) (Cohen, 1986).



### 2-2-2 Les radicaux libres

L'oxygène molécule présente dans l'atmosphère est indispensable à la vie des êtres vivants ou des organismes dits aérobie. En effet, elle constitue une source d'énergie pour ces organismes qui l'utilisent dans les réactions d'oxydo-réduction (chimiotrophes) reposant sur des interactions entre donneurs d'électrons (réducteurs) et des accepteurs d'électrons (oxydants).

L'oxygène, en tant que récepteur final d'électrons dans l'organisme, se transforme en molécule d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette réaction est importante puisqu'elle est associée avec la production de 38 molécules d'adénosine triphosphate (ATP) à haut potentiel énergétique contre 2 molécules dans un processus anaérobique.

Le processus de réduction de l'oxygène en eau n'est pas total car 2 à 3% de l'oxygène sont transformés en espèces réactives de l'oxygène (ERO).

Dans une première étape, le radical libre anion superoxyde  $O_2^-$  est formé, ce qui conduit par la suite à la production d'autres ERO comme le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , l'oxygène singulet  $O_2$ , le radical hydroxyle OH, les peroxydes alkyles (ROOH) l'acide hypochloreux HClO, des dérivés nitrés.. Ces ERO sont utilisées par les cellules phagocytaires de l'organisme (les macrophages) pour combattre les agents infectieux tels que les bactéries ou les virus.

Pourtant, la présence dans l'organisme de ces ERO n'est pas sans conséquence car de très nombreuses études épidémiologiques et cliniques ont plus que suggéré leur rôle dans le développement de nombreux processus pathologiques comme l'asthme, l'athérosclérose et la cancérogenèse (Müller, 1992 ; Harman, 1992).

-Mécanisme de l'inhibition des radicaux libres

La migration des leucocytes et la phagocytose amorcée sur les sites de l'inflammation sont accompagnées comme nous l'avons dit plus haut, de changements d'activité métabolique et en particulier de la formation d'anions superoxydes ( $O_2^{\cdot-}$ ), de radicaux libres ( $\cdot OH$ ), d'hydroperoxydes ( $H_2O_2$ )... Ces molécules très réactives et cytotoxiques (également dotées, après transformation, d'activité bactéricide) sont les substrats de diverses enzymes intracellulaires : superoxyde dismutase, peroxydase, glutathion peroxydase et catalase. Lorsque ces enzymes sont saturées (en particulier la glutathion peroxydase), ces intermédiaires sont engagés dans les voies métaboliques de l'acide arachidonique et favorisent ainsi la synthèse de prostaglandines inflammatoires. En conséquence, plus l'infiltration des neutrophiles est prononcée, plus le système dépendant du glutathion est saturé et le risque d'accumulation d'acides éicosanoïques élevé. Il est donc plausible d'envisager que les AINS puissent capter et désactiver ces radicaux libres et cette action a été partiellement démontrée, *in vitro*, pour les salicylates (Schorderet, 1998).

### 2-2-3 Les antioxydants

Un antioxydant est une substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat.

Pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense antioxydants composés :

- d'enzymes : superoxyde dismutases (SODs), catalase, glutathion peroxydases (GPx's), hème oxygénase, peroxyrédoxine...
- de molécules antioxydantes de petite taille (caroténoïdes, vitamines C et E, glutathion, acide urique, acide lipoïque, ubiquinone...)
- de protéines (tansferrine, ferritine, céruléoplasmine)

Ces composés maintiennent les métaux dans un état inactif pour la formation d'ERO.

Certains oligo-éléments comme le cuivre, le zinc, le sélénium sont indispensables pour l'activité des enzymes antioxydantes (Cu, Zn-SOD, MnSOD, SeGPx).

Le zinc est également un inducteur des métallothionéines, protéines à activité antioxydante et un inhibiteur des réactions de production d'ERO induite par le cuivre.

Toutes ces défenses peuvent être renforcées par des apports exogènes en antioxydants naturels.

Ces antioxydants naturels se retrouvent dans toutes les parties des plantes supérieures et sont en majeure partie constitués de composés phénoliques tels que :

- les flavonoïdes (quercétine, rutine, resvératrol ...) qui se retrouvent en grande quantité dans le vin rouge, le thé vert, les légumes et les extraits de *Ginkgo biloba*, de myrtille et d'algues marines.
- les coumarines
- les caroténoïdes présents dans les plantes alimentaires tels que la carotte ...
- les tanins qui sont actuellement recherchés pour leur activité antioxydante.

Tout bilan antioxydant normal résulterait d'une alimentation équilibrée en fruits et légumes.

#### 2-2-3-1 Méthode d'étude

- Détermination de l'activité antioxydante sur Chromatographie sur Couche Mince (CCM) par le Diphényl picryl hydrazyl (DPPH) (Bossokpi, 2002)

Principe : Réduction des radicaux libres fournis par le DPPH sur des plaques CCM (TAKAO et al, 1994).

#### 2-2-3-2 Quelques plantes à activité antioxydante

Le tableau III présente quelques plantes à activité antioxydante selon (Pousset, 2004)

Tableau III : Quelques plantes à activité antioxydante

Nom scientifique	Famille	Parties utilisées
<i>Mitracarpus scaber</i>	Rubiaceae	Feuilles
<i>Parkia biglobosa</i>	Mimosaceae	Ecorces de tronc
<i>Cassia alata</i>	Fabaceae	Feuilles fraîches

## 2-3 RAPPELS SUR LES INFECTIONS BACTERIENNES

### 2-3-1 Rappels sur les bactéries

Les bactéries ou schizomycètes constituent le groupe le plus important et le plus diversifié des protistes procaryotes (Ferron, 1984).

Ces organismes sont caractérisés par l'existence d'une paroi rigide (peptidoglycane) qui conditionne les trois formes morphologiques fondamentales: sphérique (coque), cylindrique (bacille), spiralée .

En effet, une bactérie est un microbe formé d'une seule cellule, visible au microscope et appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal.

Comme toute cellule, les bactéries sont constituées d'un noyau isolé ou diffus, d'un protoplasme contenant des granulations et des vacuoles, une paroi rigide parfois doublée d'une capsule.

Certaines bactéries sont mobiles grâce à des cils vibratiles .

Selon leur mode nutritionnel et leur comportement vis-à-vis de l'oxygène libre, on distingue les bactéries aérobies et les bactéries anaérobies.

Les bactéries se multiplient habituellement par division simple (scissiparité) mais aussi par sporulation, la spore représentant la forme de résistance et de dissémination du germe.

Pour croître, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur des conditions physico-chimiques favorables qui leur sont nécessaires et les aliments couvrant les besoins énergétiques, élémentaires et spécifiques.

Sur le plan pratique, il existe des milieux de culture qui permettent d'entretenir des bactéries en croissance pour des études.

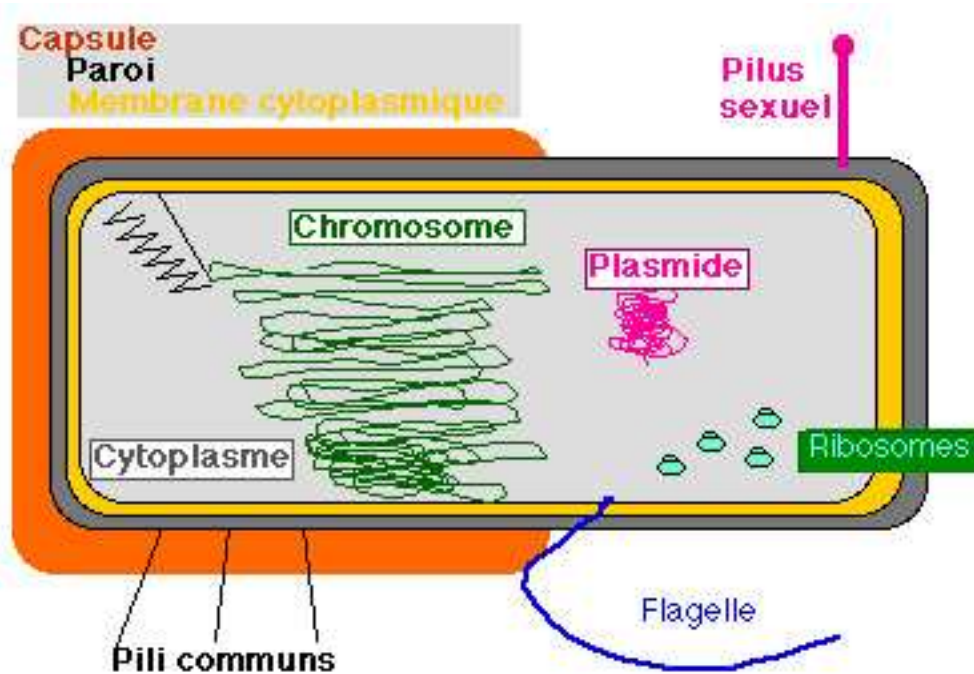


Figure 1: Structure microscopique d'une bactérie (Anthonie Van Leeuwenhoek, 1723)

### 2-3-2 Classification des bactéries

Essai de classification des bactéries d'intérêt médical.

#### -Bactéries en forme de sphère ou coques

.Coques à gram positif

Nous avons les genres suivants :

*Staphylococcus, Micrococcus, Streptococcus, Pneumococcus...*

.Coques à gram négatif

Nous avons :

*Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis...*

#### -Bactéries en forme de bâtonnet ou bacilles

.Bacilles à gram positif

*Listeria monocytogene, Erysipelothrix insidiosa et les genres Bacillus et Corynebacterium...*

.Bacilles à gram négatif : Ce sont les entérobactéries.

Nous citerons ici quelques genres de bactéries :

*Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*,  
*Yersinia* ...

-Bacilles Acido –Alcool-Résistants : ce sont les mycobactéries .

*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium bovis*

-Flore bactérienne anaérobie

.gram positif

*Clostridium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*,  
*Bifidobacterium* .

.gram négatif

*Veillonella*, *Bifidobacterium*...

- Les bactéries à forme spiralée : ce sont les spirochètes

*Treponema*, *Borrelia*, *Leptospira*

### 2-3-3-Les infections bactériennes

L'infection est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration dans un organisme d'un agent pathogène (bactéries, virus, champignon, endotoxine ...).

Elle peut- être :

Locale : Lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré.

Générale : Lorsqu'un germe franchit les barrières qu'a pu lui opposer l'organisme à son entrée (peau, muqueuse) ou au niveau des ganglions, il pénètre dans le sang et se dissémine dans tout l'organisme.

Focale : C'est l'infection en foyer dans les tissus ou organes où les germes sont apportés par la circulation.

L'infection par un agent infectieux peut-être à l'origine de fièvre,



d'inflammation entre autres. La fièvre crée un état de déshydratation au cours des infections (paludisme, infections respiratoires...). Il en résulte une augmentation de la viscosité sanguine puis un ralentissement de la circulation avec pour conséquence la formation de thrombi au niveau des micro-vaisseaux et le déclenchement de la vaso-occlusion signe d'inflammation et de douleur surtout chez les sujets drépanocytaires (Sangaré, 1991). La présence de cet agent infectieux va déclencher dans l'organisme des réactions inflammatoires ou immunologiques. Il en résulte une activation des cellules endothéliales vasculaires et des leucocytes (monocytes et polynucléaires neutrophiles). Les leucocytes activés libèrent des cytokines (Interleukine-1 $\beta$ , Tumor Necrosis Factor et l'Interleukine-6) au niveau de l'aire pré optique de l'hypothalamus antérieur par voie nerveuse ou sanguine. Ces médiateurs chimiques vont stimuler la production de prostaglandines E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) par les neurones et les cellules de l'endothélium vasculaire de l'hypothalamus. Les (PGE<sub>2</sub>) sont fortement impliquées dans la pyrogénèse (et dans l'inflammation) car elles se fixent sur des récepteurs spécifiques les E-prostanoïdes (EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub>, EP<sub>4</sub>) pour régler le thermostat hypothalamique à 3-4°C au plus ( Schorderet et coll. 1992).

## 2-3-4 TRAITEMENT DES INFECTIONS BACTERIENNES

### 2-3-4-1 Les antibiotiques

Un antibiotique est une substance chimique produite par un microorganisme (le plus souvent un champignon) et capable de détruire (bactéricide) ou d'empêcher la croissance d'autres microorganismes (bactériostatique). Par extension, toute substance de synthèse susceptible d'empêcher le développement des microorganismes est appelée antibiotique.

Le premier antibiotique connu, le sulfanilamide (sulfamide) a été isolé en 1935. Par contre, un antiseptique est une substance à usage externe, utilisé pour les soins donnés (Ferron, 1984).

Dans les deux cas, l'action recherchée est une forte diminution en nombre des micro-organismes pullulants ou présents à la surface d'un milieu vivant ou inerte.

Les antiseptiques sont considérés comme bactéricides, les antibiotiques sont soit bactériostatiques soit bactéricides en fonction de leur concentration qui leur confère une certaine activité antibactérienne dans le milieu intérieur.

Les antibiotiques agissent à un niveau bien précis, appelé site d'action ou cible, et perturbent ou inhibent certaines biosynthèses essentielles à la vie bactérienne.

#### 2-3-4-2 Mode d'action

Il est fonction du site d'action de chaque groupe d'antibiotiques (Ferron, 1984).

Ainsi, nous avons :

-des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne

Ils perturbent la synthèse du peptidoglycane il s'agit :

\*des  $\beta$ -lactamines . Elles se fixent sur les enzymes de la dernière étape de la biosynthèse (PBP=penicillin binding proteins) en particulier sur la transpeptidase. Ces antibiotiques agissent donc avec la plus grande efficacité sur des bactéries en pleine croissance ou bactéries jeunes dont la paroi est en cours d'édification. Les bactéries à gram positif dont la paroi est riche en mucopeptides sont plus sensibles que les bactéries à gram négatif.

\*de la Vancomycine et de la Bacitracine qui jouent le même rôle que les  $\beta$ -lactamines.

-des antibiotiques modifiant la perméabilité membranaire

Les antibiotiques polypeptidiques (polymyxines, Tyrothricine ...) présentent la particularité de se fixer aux phospholipides de la membrane cytoplasmique qui se trouve ainsi désorganisée. Cette action s'effectue aussi bien sur des bactéries métaboliquement actives que sur celles au repos. Il en résulte une fuite des constituants cytoplasmiques qui entraîne la mort cellulaire.

- des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines

- \* Les aminosides se fixent sur la fraction 30S du ribosome. Il en résulte une modification de la configuration ribosomale responsable d'erreur de traduction entraînant la formation de protéines anormales ayant perdu leurs fonctions.
- \* Les Tétracyclines empêchent la fixation des aminoacyl-ARN<sub>T</sub> sur le site A des ribosomes.
- \* Les macrolides et le chloramphénicol sont des inhibiteurs de la peptidyl-transférase qui permet l'élongation de la chaîne peptidique.
- \* Les synergistines sont composées de deux fractions antibiotiques A et B. La fraction A est un antibiotique de type macrolide, la fraction B agirait sur la formation de la liaison peptidique.

-des antibiotiques inhibiteurs de la biosynthèse des acides nucléiques

- \* Les sulfamides et triméthoprimes sont des inhibiteurs enzymatiques de la biosynthèse de l'acide tétra-hydrofolique, précurseur des bases puriques et pyrimidiques.
- \* Les quinolones, novobiocine et métronidazole inhibent la réplication de l'ADN, leur action se situant à différentes étapes de la synthèse de cet acide nucléique.
- \* Les rifamycines par inhibition de l'ARN polymérase, empêchent la biosynthèse des ARN messagers.

## 2-3-4-3 Classification des antibiotiques

On a proposé plusieurs bases de classification, selon la structure chimique et selon le mécanisme d'action. Cette dernière a été utilisée (Ferron, 1984).

Pour cela, nous avons des antibiotiques qui assurent :

- une inhibition de la synthèse du peptidoglycane : ce sont les  $\beta$ -Lactames.

Dans ce groupe, nous avons les:

.Pénicillines et apparentés

Penams

- Pénicilline G
- Pénicilline V
- Pénicillines M
- Pénicillines A

.Céphalosporines : Céphemés et oxacéphemés

- \* Céphalosporines orales : céfalex, céfadroxil...
- \* Céphalosporines de première génération : Céfalex, céfapirine...
- \* Céphalosporines de deuxième génération : Céfotiam, céfoxitine, céfamandole...
- \* Céphalosporines de troisième génération : Céfépime, ceftriaxone...
- \* Oxacéphem : Latamoxef

.Monobactams

- \* Fosfomycine
- \* Glycopeptides : Vancomycine, Téricoplanine.

- une destruction membranaire : Polypeptides

- \* Polymyxines : Colistine (Polymyxine E)
- \* Gramicidine et Tyrocidine
- \* Bacitracine

-une inhibition des synthèses protéiques

- \* Aminoglycosides qui regroupent :  
Streptomycines (Streptomycine)  
Désostreptomycines (Néomycine\*, Gentamycine\*, Tobramycine,  
Kanamycine...)

## Aminocyclitols (Spectinomycine)

- \* Macrolides- Lincosamides -Synergistines
    - Macrolides : Spiramycine, Erythromycine...
    - Lincosamides : Lincomycine, Clindamycine...
    - Synergistines : Pristinamycine, Virginiamycine...
  - \* Tétracyclines : Doxycycline, Chlortétracycline, Tétracycline...
  - \* Phénicolés : Chloramphénicol\*, Thiamphénicol\*...
- une inhibition des synthèses des acides nucléiques
- \* Rifamycines (Action sur l'ARN messager) : Rifampicine, Rifabutine (antituberculeux)
  - \* Quinolones (Action sur l'ADN) : Acide nalidixique, Ciprofloxacine\*, Norfloxacine\*...
  - \* Nitroimidazolés (Action sur l'ADN) : Métronidazole, Tinidazole, Ornidazole...
- une inhibition de la synthèse des Folate
- \* Sulfamides : Sulfadoxine, Sulfaguanidine, Sulfapyridine...
  - \* Antituberculeux stricts : Ethambutol, Ethionamide...
  - \* Antilépreux stricts : Dapsone

## 2-3-4-4 Méthodes d'étude *in vitro*

### -L'antibiogramme

L'antibiogramme est une technique simple qui permet de classer un germe en fonction d'une CMI estimée et des concentrations critiques.

Son nom complet <<antibiogramme qualitatif d'orientation>> indique bien les limites de l'épreuve : le résultat est qualitatif (en classes thérapeutiques

S / I /R) et est destiné à orienter la thérapeutique, à donner des indications utiles au thérapeute.

- La méthode par diffusion : réalise le classement en utilisant la relation entre CMI et diamètre d'inhibition autour d'une source d'antibiotique (disque de papier imprégné d'une quantité connue d'antibiotique), la lecture est donc relativement directe. Pour une bactérie et un antibiotique donnés, le diamètre d'inhibition autour du disque est mesuré et comparé aux diamètres critiques : en dessous d'un diamètre critique inférieur d, la souche est classée R, au-dessus du diamètre critique supérieur, la bactérie est classée S et s'il est entre les diamètres critiques supérieur et inférieur, il est classé I.

- Les méthodes par dilutions : Pour des estimations quantitatives de l'activité antibiotique, des dilutions peuvent être incorporées dans du bouillon ou de la gélose, qui est alorsensemencé avec le germe à tester.

La concentration la plus faible empêchant toute croissance après incubation de 18 à 24 heures, est connue sous le nom de concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'antibiotique testé.

## 2-3-4-5 Quelques plantes à activité antibactérienne

Le tableau IV présente quelques plantes à activité antibactérienne selon (Pousset, 2004)

Tableau IV : Quelques plantes à activité antibactérienne

Plantes	Familles	Parties utilisées	Spectre d'activité
<i>Xylopiya aethiopica</i>	Annonaceae	Fruits et Ecorces de tronc	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeriginosa</i> ...
<i>Holarrena floribunda</i>	Apocinaceae	Feuilles et écorces de tronc	<i>Amibes</i>
<i>Parkia biglobosa</i>	Mimosaceae	Feuilles et écorces de tronc	<i>Salmonella typhi</i> , <i>Paratyphi</i> , <i>Escherichia coli</i> ...
<i>Nauclea latifolia</i>	Rubiaceae	Feuilles	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> ...

## 2-4 RAPPELS SUR LES MYCOSES

Ce sont des affections provoquées par des champignons microscopiques appelés micromycètes (Ferron, 1984).

On peut les classer en trois catégories :

- les mycoses superficielles, localisées au niveau de la peau, des phanères et des muqueuses,
- les mycoses sous-cutanées, rares dans les régions tempérées, que l'on rencontre surtout dans les pays tropicaux (pathologie tropicale),
- les mycoses profondes ou systémiques au cours desquelles le champignon pénètre en la profondeur des tissus et des humeurs, qui constituent de loin les formes les plus graves.

### 2-4-1 Cas des Candidoses

Les candidoses sont des mycoses cosmopolites, à développement localisé ou généralisé, dues à des espèces du genre *Candida*.

C'est une levure « opportuniste », c'est-à-dire normalement saprophyte et inoffensive mais qui peut devenir pathogène lorsque l'organisme hôte lui présente des conditions favorables.

#### 2-4-1-1 Etiologie

- Agent pathogène

Parmi les nombreuses espèces connues isolées, seules certaines peuvent présenter un pouvoir pathogène pour l'homme. *Candida albicans* est le plus souvent à l'origine des manifestations pathologiques. Plus rarement on retrouve aussi *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida rugosa* etc...



## • Epidémiologie

Les *Candida* sont des parasites humains ou animaux. L'homme constitue le principal « réservoir » de *Candida albicans*. Le champignon y végète à l'état saprophyte dans la cavité buccale ou le tube digestif, plus rarement les voies génitales.

L'homme peut s'infecter par contact par exemple contamination du nouveau-né lors de son passage dans le tractus génital dans une candidose génitale.

L'infection est d'origine endogène à partir de la flore saprophyte dont le pouvoir pathogène se trouve exacerbé :

- par des facteurs locaux : irritation toxique ou traumatique, macération, corps étrangers (cathéters), lésions pathologiques antérieures,
- par des facteurs généraux :
  - \* âge (prématuré, nouveau-né, vieillard),
  - \* dépression immunitaire congénitale ou acquise (hémopathie traitée, déficit congénital de l'immunité, corticothérapie au long cours, chimiothérapie anticancéreuse et immunosuppressive, malnutrition, radiothérapie, S.I.D.A (Syndrome d'Immuno-Déficienc Acquis) etc.),
  - \* tare métabolique : en particulier le diabète,
  - \* thérapeutique : antibiotique à large spectre,
  - \* héroïnomanie,
  - \* On peut aussi citer des circonstances physiologiques comme la grossesse et la contraception hormonale

Vanbreusegehem et al. (1978).

## 2-4-1-2 Classification des Candidoses

Cette classification a été proposée par Vanbreusegehem et al. en 1978.

- Les Candidoses digestives

Elles peuvent siéger tout le long du tube digestif.

On y rencontre :

- le muguet qui la principale candidose buccale généralement rencontrée chez le nouveau-né, le nourrisson et certaines personnes âgées.

L'infection à H.I.V (Human Immunodeficiency Virus) est devenue un des principaux facteurs favorisant :

- L'Entérite candidosique qui est une cause de diarrhée surtout chez le nourrisson.
- Les colites à *Candida*
- L'anite à *Candida*

- Les Candidoses cutané-phanériennes

- Les intertrigos sont les manifestations les plus fréquentes. Ce sont des lésions des grands plis (axillaires, sous-mammaires, abdominaux, inguinaux, cruraux et fessiers) et des petits plis (rétro-auriculaire, interdigitaux, interdigito-plantaires, sertissure unguéale et commissures labiales).

Ils sont fréquemment rencontrés chez les sujets obèses ou ayant une peau séborrhéique, ainsi que chez les diabétiques.

Ils sont généralement symétriques et leur évolution est centrifuge à partir du foyer initial (bouche, anus, vagin).

- L'Onyxis et le périonyxis à *Candida* qui sont des affections des ongles.

- Les Candidoses génito-urinaires

**Elles sont surtout fréquentes chez la femme (vulvo-vaginite) en particulier lors de la grossesse ou lors d'utilisation d'anovulants.**

**Chez l'homme, la mycose (balano-prostite) est sexuellement transmise sauf chez les diabétiques chez qui elle est souvent spontanée.**

**Dans tous les cas (homme et femme) on peut aussi rencontrer :**

- **les urétrites qui se limitent souvent à une méatite,**
- **des cystites chez les diabétiques et surtout les malades porteurs d'une sonde vésicale à demeure.**

- **Les Candidoses systémiques**

Les candidoses systémiques relèvent de deux mécanismes différents sur le plan physiopathologique. Elles peuvent en effet être la conséquence de contaminations nosocomiales " exogènes " souvent chez des patients ayant des cathéters intravasculaires (produits de perfusion, transmission manuportée). Elles peuvent aussi être consécutive au passage vers le sang et les organes profonds de levures ayant colonisé des sites digestifs et/ou génito-urinaires " endogènes ". Cet évènement est favorisé par la fragilisation des muqueuses après les chimiothérapies et par des traitements antibiotiques prolongés chez des patients neutropéniques (atteints de déficit en certains globules blancs, les neutrophiles). Les facteurs de risque de candidoses systémiques sont nombreux : neutropénie prolongée, allo et autogreffe de moëlle, corticothérapie, chirurgie digestive lourde, réanimation, prématurité, brûlures étendues...

Les localisations rénales et valvulaires sont les plus fréquentes. Le diagnostic des candidoses systémiques est souvent difficile et retardé. Il s'appuie sur la notion de fièvre prolongée résistante aux traitements antibiotiques chez un patient à risque de candidémie. Certains tests sérologiques et surtout la découverte d'une hémoculture positive permettent le diagnostic. Le traitement antifongique doit- être systématique.

#### 2-4-1-3 Les antimycosiques ou antifongiques

Les traitements antimycosiques s'effectuent le plus souvent par application topique, mais il existe également quelques molécules utilisées par voie générale

(mphotéricine, flucytosine et griséofulvine...).

- Les antimycosiques locaux

Le mode d'action de ces substances demeure encore mal connu :

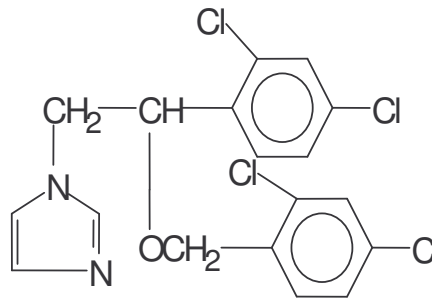
Modification du milieu dans lequel se développent les champignons (pH...) plutôt qu'action fongicide directe.

Exemples :

-Acide undécylénique

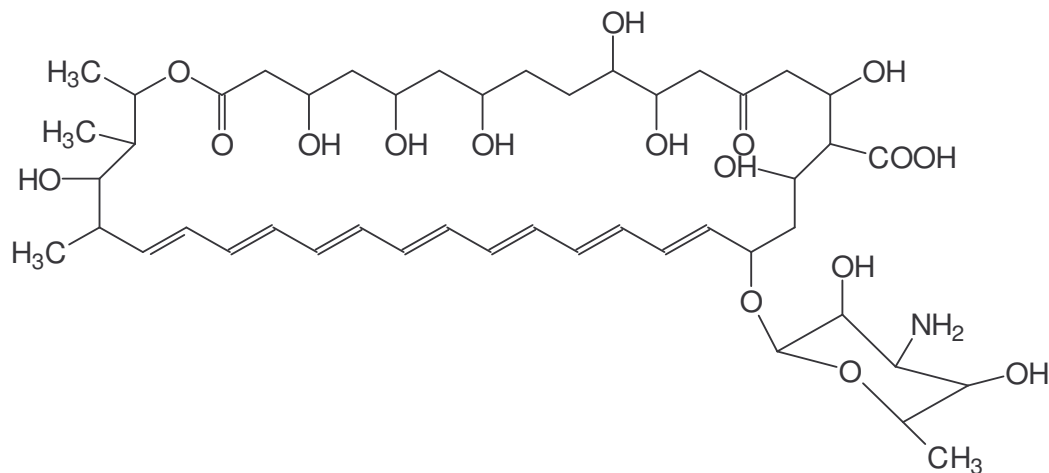


-Miconazole



Miconazole

**-Nystatine:** s'associe aux membranes des champignons en se liant aux stérols contenus dans ces membranes. Cette fixation entraîne une augmentation de la perméabilité membranaire et une perte de petites molécules ( $K^+$ ) entraînant une action fongicide directe.



Nystatine (Mycostatine\*)

## Tableau V : Les antimycosiques locaux

Antimycosiques locaux	
<u>Acides aliphatiques</u> Acide propionique Acide caprylique Acide undécylénique	<b>Dermatomycoses</b>
<u>Acides aromatiques</u> Acide benzoïque Acide salicylique	<b>Dermatomycoses</b> (action kératolytique)
<u>Antibiotique polyène</u> Nystatine Primaricine	<b>Candidoses superficielles</b> <b>Dermatomycoses</b>
<u>Dérivés de l'imidazole</u> Miconazole Econazole Clotrimazole	<b>Antimycosique à spectre large</b>

- Les antimycosiques systémiques

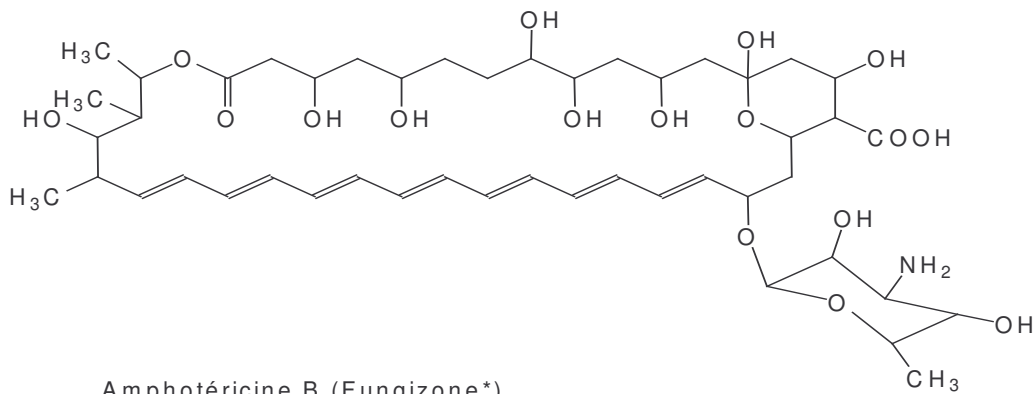
## Amphotéricine B

C'est un antibiotique polyène produit par un champignon actinomycète (*Streptomyces nodosus*).

Son action comme celle de la nystatine se situe au niveau des membranes cellulaires (par augmentation de la perméabilité).

C'est une substance active contre des mycoses profondes ou généralisées (histoplasmoses, blastomycoses, candidoses...).

NB : Pas de phénomène de résistance avéré *in vivo*.

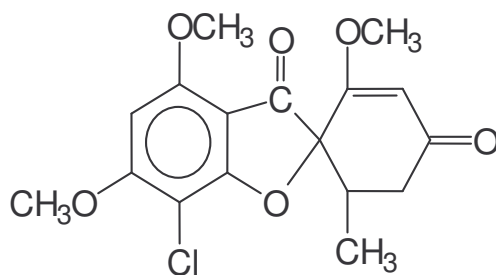


## Griséofulvine

C'est un antibiotique isolé de *Penicillium griseofulvum*.

La griséofulvine absorbée est captée de façon sélective dans les cellules synthétisant la kératine et se retrouve fixée à cette protéine. Ainsi, la peau, les ongles et follicules pileux se trouvent protégés contre les dermatomycoses.

La griséofulvine est une substance exclusivement contre les dermatomycoses provoquées par *Microsporum*, *Trichophyton* et *Dermatophyton*. Elle n'a aucune action sur les autres espèces de champignons.



Griséofulvine

### 2-4-1-4 Méthodes d'étude des antifongiques

Elles sont les mêmes que celles utilisées pour les antibiotiques.

#### 2-4-1-5 Quelques plantes à activité antifongique

**Le tableau VI présente Quelques plantes à activité antifongique selon Pousset, 2004)**

Tableau VI : Quelques plantes à activité antifongique

<b>nom scientifique</b>	<b>Familles</b>	<b>Parties utilisées</b>
<i>Mitracarpus scaber</i>	Rubiaceae	Feuilles
<i>Parkia biglobosa</i>	Mimosaceae	Ecorces de tronc
<i>Cassia alata</i>	Fabaceae	Feuilles fraîches



## **2-5 CALOTROPIS PROCERA (Willdenow) Aiton**

*Asclepias procera* Willdenow  
*Asclepias heterophylla* Decaisne

*Calotropis syriaca* (Gme.) Woodson (Hans- Dieter Neuwinger, 1990)

*Calotropis procera* de son nom vernaculaire fogofogo en Bambara et poutroupouga en mooré, appartient à la famille des Asclépiadacées. C'est une plante répandue dans toute l'Afrique intertropicale, surtout dans les régions sèches ( G.R.I.P.T, 2001).

### **2-5-1 Description Botanique**

C'est un arbuste à latex, à cime irrégulière, de 3 à 5 m de haut, parfois sans branche jusqu'à 2 m. L'écorce est épaisse, liègeuse, crevassée, grise à beige clair, avec la tranche jaune.

Le latex est blanc.

Les rameaux sont finement pubescents et glauques.

Les feuilles sont opposées, sessiles, plus ou moins succulentes, vert glauque sur le dessus et gris-vert en-dessous, largement obovales ou oblongues de 15-30×70 –15cm, à sommet arrondi ou en coin court, à base cordée.

Le limbe comporte des nervures plus ou moins palmées à la base, une nervure centrale épaisse et 8–10 paires de nervures secondaires peu saillantes se raccordant vers le sommet.

Les inflorescences sont à cyme ombelliforme de 10 cm de large, disposée à l'aisselle des feuilles.

Les fleurs sont de couleur blanc-vert et violettes, de 2 à 3 cm de diamètre, à 5 pétales. Les fruits se présentent sous forme de gros follicules renflés, ovoïdes, de la taille d'une mangue, verts, mous et remplis d'air (Arbonnier, 2002).

La graine est aplatie, surmontée à un bout d'une touffe de soies blanches.

La floraison se fait toute l'année, aussi bien en saison sèche qu'en saison des pluies. La reproduction se fait par les graines (Nacoulma, 1996).



**Figure 2** : Photo de *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae)

## 2-5-2 Noms locaux

Français :	arbre à soie ou pomme de sodome
Mooré :	Poutroupouga
Bambara :	Fogofogo, Popopogolo, Ngeyi , Fogofoko
Wolof :	Poftan, faftan, Fafton
Pulaar:	Bawami, Bamambi, Badadi
Diola:	Kakod,Bupumdba, pumb
Mandingue:	Ngeyi, ngoyo
Djerma :	Sageye, Turyia
Haoussa :	Tumfaafra

## 2-5-3 Position dans la systématique

Règne	Végétal
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	Gentianales
Famille	<i>Asclepiadaceae</i>
Genre	<i>Calotropis</i>
Espèce	<i>procera</i>

## 2-5-4 Usages médicaux traditionnels

✓Au Bénin, les feuilles en décoction aqueuse *per os*, sont indiquées pour le traitement de la toux, des filarioses et de l'anasarque.

Le latex est appliqué localement sur la dent malade.

La poudre de racine est conseillée à la femme présentant une dystocie (G.R.I.P.T, 2001).

✓Au Bénin toujours, l'infusion et le décocté des feuilles sont utilisés respectivement dans le traitement de l'hypertension artérielle et de l'œdème (G.R.I.P.T, 2001).

✓Au Togo, les feuilles et les racines de la plante entrent dans de nombreuses médications. En macération aqueuse avec le fruit de *Cola nitida*, les feuilles

sont conseillées en cas de menace d'avortement. Elles sont mâchées et avalées dans les envenimations par morsure de serpent.

Séchées et pulvérisées, elles sont proposées contre les crises d'asthme.

Le décocté aqueux est bu pour traiter la coqueluche et la tuberculose.

Les racines également sont anti-asthmiques seules et entrent dans le traitement de la folie (G.R.I.P.T, 2001).

✓ Au Sénégal, les racines sont absorbées en poudre, dans du lait frais ou caillé comme purgatif, émétique et contre-poison, elles font partie de nombreuses compositions anti-lèpreuses et antisiphilitiques, en usage externe, l'emploi du latex est constant comme antiseptique et sédatif (G.R.I.P.T, 2001).

✓ Au Niger, les propriétés magiques de la plante sont signalées, le latex est utilisé pour cailler le lait (G.R.I.P.T, 2001).

✓ Au Mali, le bois et l'écorce sont donnés aux vaches pour augmenter la lactation.

Le bois très léger donne un charbon de bois pour usages spéciaux. On l'utilise pour allumer le feu ou pour les flotteurs des filets de pêche.

Les perches sont utilisées par endroits dans la construction, pour les toits légers Le bois résiste aux termites (G.R.I.P.T, 2001, Berhaut, 1971).

✓ Au Burkina Faso, les racines de *Calotropis procera* en macération associées aux racines sèches de *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae) et de *Gardenia ternifolia* Schum. (Rubiaceae) en quantités égales, sont utilisées contre les douleurs ostéo-articulaires de la crise drépanocytaire en bain et massage des articulations (Parvais, 2000).

Les feuilles, les écorces et les racines sont employées pour combattre divers maux au plateau mossi : douleurs rhumatismales, céphalées, diarrhées, syphilis, épilepsie, dermatose, asthme etc. (Parvais, 2000, Nacoulma, 1996).

Le latex en usage externe est antiseptique, cicatrisant, antifilariose et antiprotozoose (Nacoulma, 1996).

**2-5-5 Données phytochimiques de *Calotropis procera* Ait.**  
(Hans- Dieter Neuwinger, 1990)

**2-5-5-1 Constituants chimiques des feuilles**

**Tableau VII : Constituants chimiques isolés des feuilles de *Calotropis procera***

Groupe de substances	Substances isolées	Références
Cardénolides	Calotropine 0,165% Calotropagénine 0,087%	<b>Hesse et Reicheneder (1936)</b>
	Uscharine Uscharidine Calotropine Calotoxine Uzarigénine Acide -19 –calotropine	Brüschweiler (1969)
	Proceroside	Qudrat-I-khuda et Amir (1969)
Polysaccharide	D-glucose +D-arabinose + D-glucosamine + L- rhamnose	//

**2-5-5-2 Constituants chimiques des tiges**

**Tableau VIII: constituants chimiques isolés des tiges de *Calotropis procera***

<b>Groupe de substances</b>	<b>de Substances isolées</b>	<b>Références</b>
Glycosides cardiotoniques	Ucharidine Calotropine Proceroside	Erdman (1983)
Cardénolides	Calotoxine Calactine Ascléposide Uzarigénine Calotropagénine Coroglaucigénine	//

### 2-5-5-3 Constituants chimiques des fruits

**Tableau IX : Constituants chimiques isolés des fruits de *Calotropis procera***

Groupe de substances	Substances isolées	Références
Cardénolides	Coroglaucigénine	1%
	Uzarigénine	0,17%
	Calactine	0,17%
	Calotropine	0,08%
	Calotropagénine	0,08%
		Erdman (1983)

#### 2-5-5-4 Composition chimique des racines

**Tableau X: Constituants chimiques isolés des racines de *Calotropis procera***

<b>Groupe substances</b>	<b>de Substances isolées</b>	<b>Références</b>
Glycosides	Mudarine	Duncan (1829)
	Calotoxine Calactine	//
	Glycoside C <sub>21</sub> -stérolique	Chandler et al (1967)
Digitanols	Benzoyllinéolone Benzoylisolinéolone	//
	Rutine 1,66% (quercétine-3-rhamnose)	Saxena et al. (1979)
Triterpène	$\alpha$ -amyrine	//

#### 2-5-5-5 Composition chimique des fleurs de *Calotropis procera* Ait.

**Tableau XI : Constituants chimiques isolés des fleurs de *Calotropis procera* Ait.**

Flavonoïde	Rutine 7,63%	Lal et al (1985)
Anthocyanine	Cyanidine-3-rhamno-glucoside	Khan et al. (1989)
Stérol	Procestérol	//

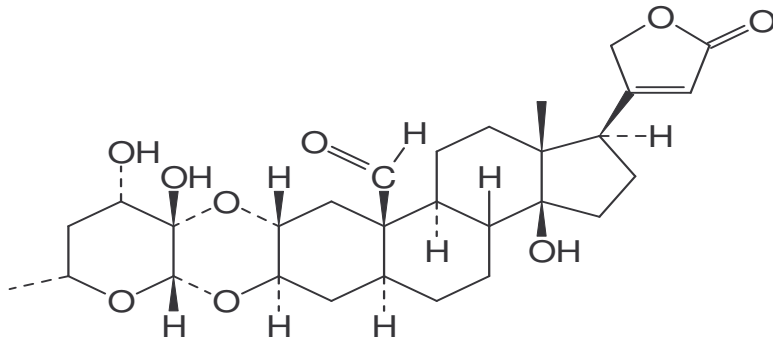
**2-5-5-6 Composition chimique du latex de *Calotropis procera* Ait.**

**Tableau XII : Constituants chimiques isolés du latex de *Calotropis procera***

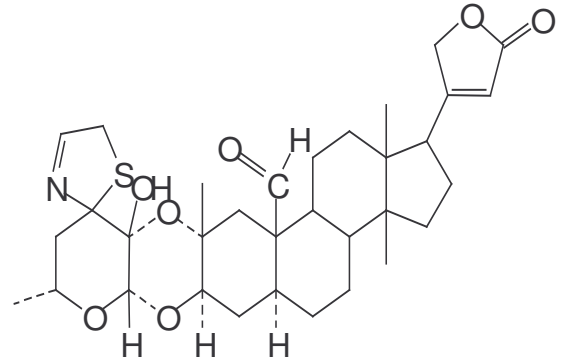
Groupe de substances	Substances isolées	Références
Stérols	Taraxastérol ( $\alpha$ - lactucérol)	Lewin (1913)
	$\beta$ -sitostérol Stigmastérol	Hilal et Youngken (1983)
Acides triterpéniques	Taraxastérol O-acéthyl-taraxastérol	<b>Saber (1968)</b>
	Acide isovalérique Acides pyrotérébiques Acide méthylréductique	Lewin (1913) //
Hétérosides cardénolides	Calotropine Calotropagénine Calotoxine Calactine	Hesse et al. (1941) //
	Alcaloïdes	Uscharine Uscharidine Voruscharine
Triterpènes pentacycliques	Calotoxine Calactine	Brüschweiler (1969)
Alcaloïdes	$\alpha$ -amyrine et $\beta$ -amyrine	Khan (1990)
Protéase	Choline	Atal et Sethi (1962)
Enzyme protéolytique	Calotropaine	//



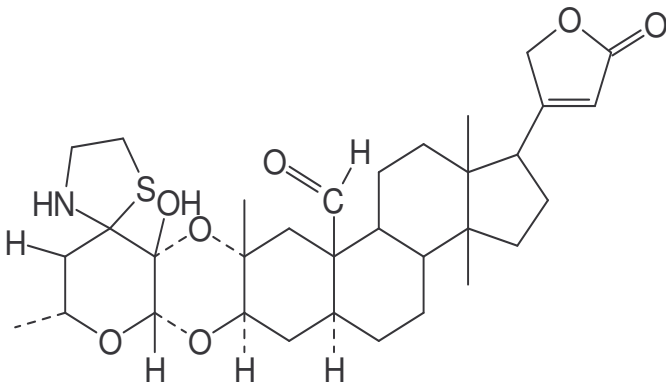
**2-5-5-7 Quelques structures chimiques des composés de *Calotropis procera* (Hans-Dieter Neuwinger, 1990).**



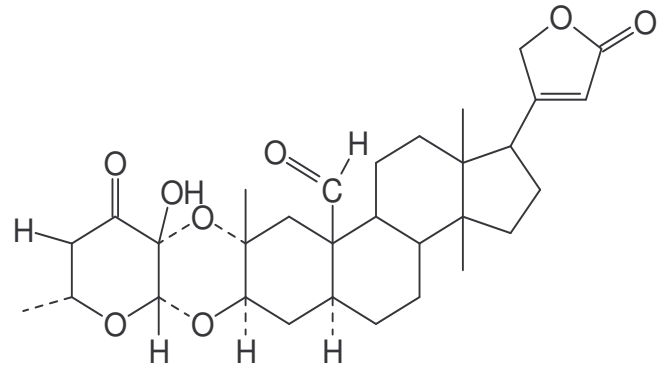
Calotropine



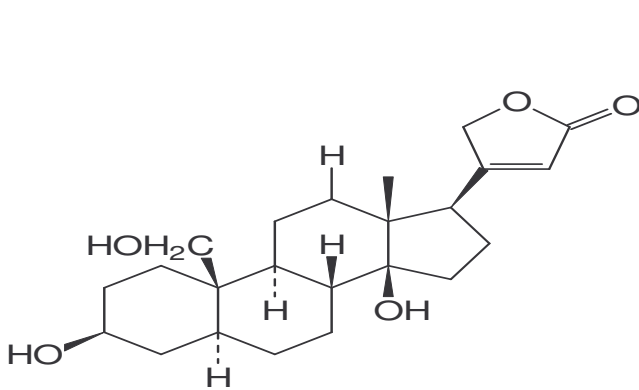
Uscharine



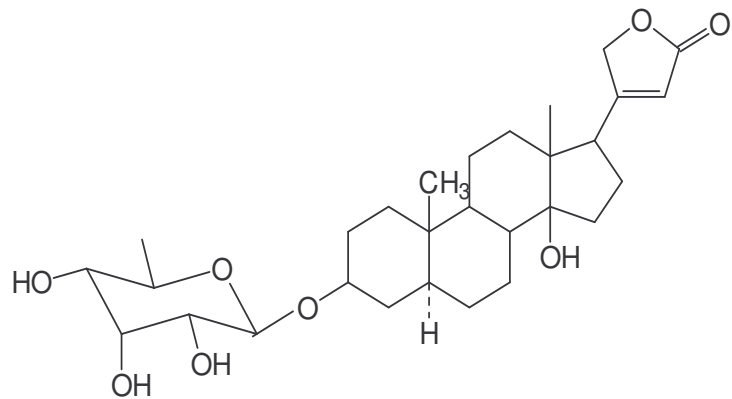
Voruscharine



Uscharidine



Coroglaucigenine



Ascléposide

**2-5-5-8 Données pharmacologiques de *Calotropis procera* Ait.**

- effets anti-inflammatoires

- Les extraits éthanoliques des feuilles et des fleurs se sont révélés comme possédant des propriétés anti-inflammatoires (Mascollo et Coll, 1988 et 1991)
- L'activité anti-inflammatoire du latex de *Calotropis procera* Ait. a été démontrée par Kumar et Coll.( 1994 ).
- L'extrait chloroformique des racines de *Calotropis procera* Ait. inhibe les ulcères gastriques provoqués par l'aspirine, l'indométacine, l'éthanol ou par le stress. Il inhibe par ailleurs le métabolisme de l'acide arachidonique. (Sen et Coll. 1988).
- L'extrait aqueux des écorces de racines a présenté une activité anti-inflammatoire (Ouédraogo, 2001).

- Effets analgésiques – antipyrétiques

- Les extraits éthanoliques des feuilles et des fleurs se sont révélés comme possédant des propriétés antipyrétique, analgésique (Mascollo et Coll, 1988 et 1991).
- Au Burkina Faso, le macéré aqueux des écorces de racines a montré une activité antipyrétique (Koudougou, 2004) et activité antalgique (Koussoubé, 2004).

- Effets antimicrobiens

- Les extraits éthanoliques des feuilles et des fleurs se sont révélés comme possédant des propriétés antimicrobiennes (Mascollo et Coll, 1988 et 1991).
- L'extrait éthanolique des feuilles de *Calotropis procera* Ait. a montré une activité insecticide contre *Sarcophaga haemorrhoidalis* ( LE, 1977 ; Kerharo et Adam, 1994).

- Des extraits organiques des fleurs ont montré une activité antifongique contre *Candida albicans* (Vohora et Coll. 1997).
- L'extrait aqueux des écorces de tige a montré une activité antitussive *per os* chez le cobaye (Dieye et Coll. 1993).
- L'extrait éthanolique des écorces de racines de *Calotropis procera* exerce un effet antibactérien contre *Enterobacter cloacae* (Kerharo et Adam, 1974).
- Effets toxiques
- Les extraits aqueux et alcooliques de racines ne sont pas toxiques contrairement aux feuilles et aux tiges qui renferment du latex dont la toxicité est bien connue et redoutable (Kerharo et Adam, 1974).
- Autres effets
- Les extraits éthanoliques des feuilles et des fleurs bloquent la transmission neuromusculaire. Ils provoquent la contraction de l'intestin isolé de cobaye, laquelle contraction est inhibée par l'atropine (Mossa et Coll. 1991).
- Le macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* a présenté une activité anti-falcémiant (Ouattara, 1991).
- Les extraits aqueux et alcooliques des racines ont une action stimulante sur la respiration et la pression sanguine du chien et ont un effet spasmogène sur les muscles lisses du lapin et du rat, ainsi que sur l'utérus de rate non gestante (Kerharo et Adam, 1974).

- **Chez la souris et le rat l'extrait chloroformique des racines a montré un effet hépatoprotecteur (Kerharo et Adam, 1974).**

#### **2-5-5- 9 Données toxicologiques de *Calotropis procera* Ait.**

La toxicité du latex, ancien ingrédient de poison de flèche, est bien connue et persiste même après coagulation sous l'action de la chaleur qui le transforme en une masse résineuse.

Selon Dalziel, l'application du latex sur les conjonctives, provoque d'abord une congestion et une anesthésie locale, puis des effets plus profonds dus à son absorption (Kerharo et Adam, 1974).

Au Burkina Faso, des études menées sur la toxicité du macéré aqueux des écorces de racines a montré que cet extrait était faiblement toxique (Ouédraogo, 2001).

Des études également menées sur les racines brutes, le fruit séché et les autres composantes de *Calotropis procera* qui étaient utilisés en inhalation pour le traitement de l'asthme, ont montré qu'ils entraînaient à la longue une insuffisance rénale aiguë (Lengani A. et I. P. Guissou, 1997).

Des études menées à Dakar ont montré que le latex est particulièrement toxique pour le rein alors que les écorces des tiges débarrassées de leur suber et les feuilles fraîches séchées étaient atoxiques (Kerharo et Adam, 1974).

## **CHAPITRE III : NOS TRAVAUX**

## **MATERIEL ET METHODES**

### **3-1 CADRE D'ETUDE**

L'étude chimique a été réalisée au Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique à Bamako (Mali).

L'étude pharmacologique a été faite à l'institut de Recherche en Science de la Santé (IRSS) plus précisément dans le département de Médecine-Pharmacopée Traditionnelle et Pharmacie (MEPHATRA/PH) à Ouagadougou.

L'Institut de Recherche en Science de la Santé (IRSS) est l'un des quatre instituts que comporte le Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST) suite à la réorganisation structurelle recommandée par le Plan Stratégie de la recherche scientifique adopté en 1995.

L'IRSS a été créé par arrêté ministériel du 25 avril 1997 à partir du patrimoine de l'Institut de Recherche sur les Substances Naturelles (IRSN) créé en 1978.

L'Institut est organisé en départements interdisciplinaires regroupant des unités de recherche. Ces départements sont au nombre de deux :

- Le département Médecine et Pharmacopée Traditionnelles / Pharmacie (METHATRA/PH)
- Le département Biomédical et Santé Publique (BIOMED/SP)

Le département MEPHTRA/PH dispose d'une infrastructure comportant toute la chaîne d'exploitation des plantes médicinales par des méthodes et techniques modernes. Il a acquis une expertise en matière de production de médicament à base de plantes médicinales et ce en coopération avec le royaume de Belgique en partenariat avec l'Université Libre de Bruxelles (ULB).

Les activités de recherche du département MEPHATRA/PH sont articulées autour d'unités :

- Le laboratoire de phytochimie
- Le laboratoire de biologie (Pharmacologie – Toxicologie – Microbiologie - Biochimie)
- Le laboratoire de galénique et technologie pharmaceutique
- L'unité d'extraction semi- industrielle de produits végétaux

De plus, l'IRSS dispose d'une unité de production de médicaments et phytomédicaments dénommé U-PHARMA.

Les tests antibactériens ont été réalisés au Centre Hospitalo-Universitaire Yalgado Ouédraogo de Ouagadougou (CHU-Y O).

Les tests antifongiques ont été faits au Laboratoire d'Analyses Médicales Sainte Elisabeth à Ouagadougou (Burkina Faso).

### 3-2 MATERIELS DE L'ETUDE

#### 3-2-1 Matériel végétal

Les écorces de racines et les racines de *Calotropis procera* ont été récoltées en Août 2003 à Bacodjicoroni (Bamako).

Elles ont été étalées sur des claies et séchées dans la salle de séchage du DMT à la température ambiante.

Elles ont subis une mondation, puis ont été concassées en morceaux avant d'être pulvérisées à l'aide d'un moulin de type Retsch.



**Figure 3** : Ecorces de racines de *Calotropis procera* Ait. en séchage

Les écorces de racines sont rugueuses et de couleur ocre.

La poudre des écorces de racines a une couleur ocre, une odeur faible et un goût amer.



### **3-2-2 Animaux de l'étude**

Des souris femelles de souches N.M.R .I pesant entre 30 et 45 g ont été utilisées pour l'étude de toxicité. Les souris mâles ont servi à l'étude de l'activité anti-inflammatoire. Ces animaux sont élevés à l'animalerie de l'I.R.S.S à une température ambiante de 23-25 C° et 75 % d'humidité. Ils sont nourris aux granulés à base de céréales et à l'eau courante. Elles subissent un rythme d'éclairage nocturne et d'obscurité diurne pour respecter leur cycle biologique activité – repos inversé par rapport à celui de l'homme.

### **3-2-3 Matériel d'étude phytochimique**

- Balance de précision de type Sartorius
- Rotavapor type Büchi-R-200/205
- Lyophilisateur de type Heto
- Congélateur marque Zanter
- Tasse en aluminium
- Entonnoir
- Cartouche pour soxhlet
- Ballon à fond rond de 1000ml
- un réfrigérant
- Fibres de verre
- Coton hydrophile
- Spatule
- Plaque en aluminium avec support de silicagel 60F<sub>254</sub> (Merck)
- Cuve avec couvercle
- Eprouvettes
- Micropipettes de 5µl
- Lampe UV de type DESAGA
- Séchoir
- Réactif de Dragendorf
- Révélateurs : AlCl<sub>3</sub>, FeCl<sub>3</sub>, DPPH
- Solvants : Butanol, Acétate d'éthyl, Chloroforme, Eau
- Soxhlet
- Billes de verre
- Pompe type Edward
- Thermomètre
- Plaque chauffante
- Flacons

### **3-2-4 Matériel d'étude de pharmacologie expérimentale**

- Une balance électronique de marque Sartorius ( de sensibilité 0 ,1 mg )
- Un pléthysmomètre APELEX 7150
- Un chronomètre
- Des seringues de 1ml graduées au centième
- Une solution de carragénine à 1% dans de l'eau distillée
- De l'eau distillée
- Une Solution de bétaméthasone

### **3-2-5 Matériel d'étude microbiologique**

- Etuve
- Réfrigérateur Fiocchetti
- Milieux de culture
- Boîte de pétri
- Pipette Pasteur
- Eau physiologique
- Tubes stériles
- Souches de références
- Cartouches
- Balance de précision type Sartorius
- Gaz butane
- Bec bunzen
- Embouts pour micropipettes
- Micropipette

### **3-3 METHODES D'ETUDE**

#### **3-3-1 Etude phytochimique**

##### **3-3-1-1 Préparation des différents extraits**

###### **\*Décocté aqueux à 100°C**

100g de poudre des écorces de racines de *Calotropis procera* sont mis à bouillir pendant trois heures sur plaque chauffante dans deux litres d'eau distillée. Au bout des trois heures et après refroidissement, la solution est filtrée.

Le filtrat obtenu a été concentré sous vide à l'aide d'un rotavapor type Büchi-R-200/205 à la température de 55°C puis lyophilisé. Après lyophilisation, une poudre floconneuse de couleur marron est obtenue.

###### **\*Extraction par les solvants organiques et l'eau**

La technique d'extraction utilisée est celle continue par épuisement successif de la drogue végétale au soxhlet avec des solvants de polarité croissante qui sont :

- n-Hexane
- Dichlorométhane
- Méthanol 100%
- Eau à 50°C
- Eau à 100°C

210g (3x70g) de poudre des écorces de racines ont été introduits dans une cartouche puis placés dans un soxhlet de 250ml.

L'extraction est faite dans un premier temps par épuisement avec le n-hexane à 95% (400ml) ;

L'extrait hexanique a été concentré au rotavapor à la température de 45°C et a permis de récupérer un extrait de couleur marron foncé que nous avons conservé dans un flacon ouvert pendant 24 heures afin d'éliminer toute trace de solvant.

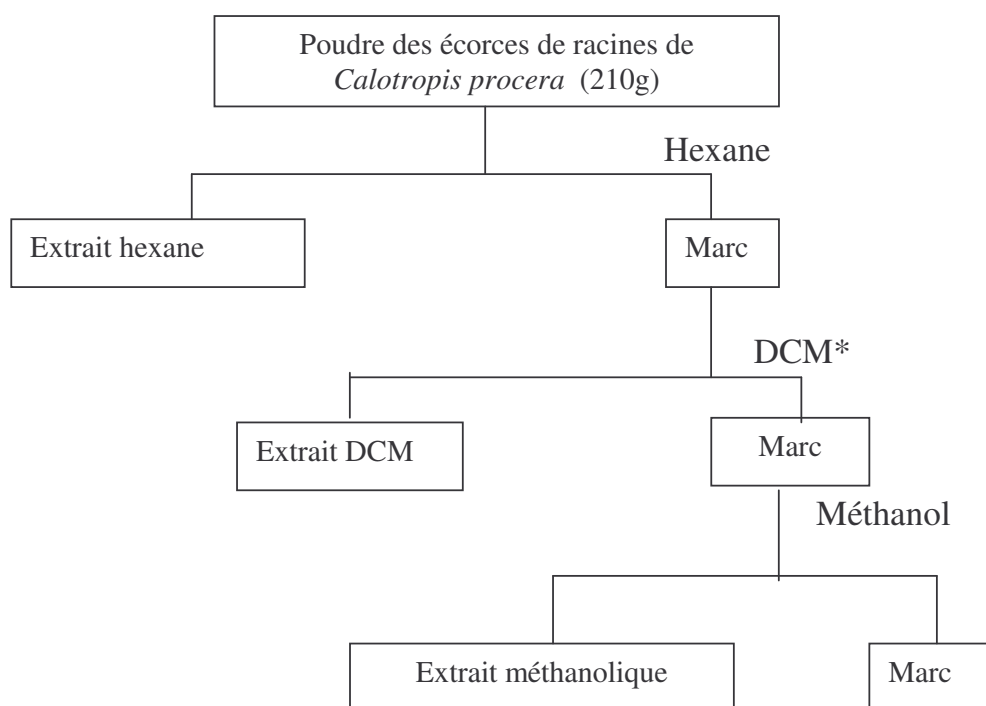
Le marc a été repris avec 400ml de dichlorométhane 100% conformément à la technique utilisée ci-dessus. Nous avons obtenu un extrait au dichlorométhane de couleur marron que nous avons conservé dans un flacon ouvert.

Le marc a été repris avec 400 ml de méthanol 100% conformément aux techniques précédentes.

Après concentration à sec au rotavapor sous vide à la température de 50°C, le résidu a été récupéré avec un peu d'eau puis lyophilisé.

La lyophilisation durant 72 heures a permis d'obtenir une poudre.

Le marc a été séché à la température ambiante du laboratoire puis utilisé pour l'extraction avec l'eau.



**Figure 4:** Schéma d'extraction de la poudre des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. par les solvants organiques.

DCM\* = Dichlorométhane

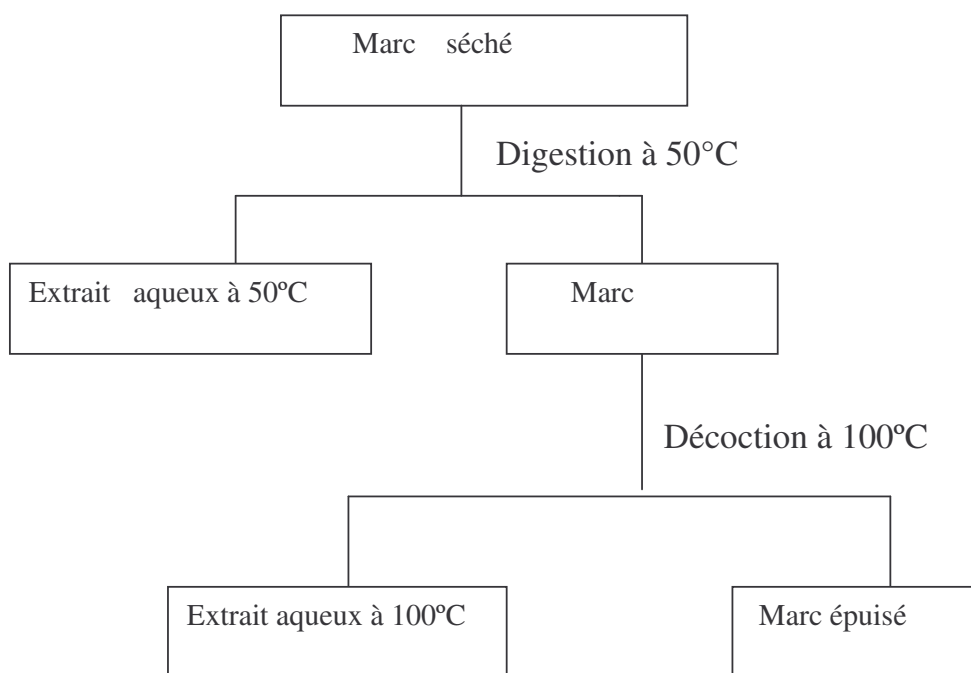
### \*Extraction à l'eau

Le marc d'extraction des solvants organiques, séché, a été introduit dans une tasse en aluminium auquel, nous avons ajouté 1500 ml d'eau distillée. Ce mélange a été extrait par digestion à 50°C sur une plaque chauffante pendant 2 heures. Le filtrat obtenu a été concentré sous pression réduite à l'aide d'un rotavapor à la température de 50°C, puis lyophilisé.

Le marc d'extraction par l'eau à 50°C a été utilisé pour l'extraction à 100°C.

Le procédé d'extraction est identique à celui de l'extraction à 50°C.

Après filtration, l'extrait a été concentré au rotavapor puis lyophilisé.



**Figure 5:** Schéma d'extraction par l'eau du résidu d'extraction par les solvants organiques de Poudre d'écorces de racines de *Calotropis procera* Ait.

### **\* Extraction par macération à l'eau**

50g de poudre introduits dans un erlenmeyer d'un litre a été macéré dans 500ml d'eau sous agitation magnétique pendant 24 heures. Après filtration sur papier Watman, le filtrat a été concentré au rotavapor sous vide à la température de 55°C pour diminuer le volume. Cette opération a été répétée trois fois successivement. Après concentration, les filtrats ont été lyophilisés.

### **\*Extraction par macération à l'éthanol 70%**

50g de la poudre introduits dans un erlenmeyer d'un litre a été macéré dans 500ml d'éthanol 70% sous agitation magnétique pendant 24 heures.

Après filtration sur papier Watman, le filtrat a été concentré à sec au rotavapor sous vide à la température de 55°C. Cette opération a été répétée trois fois successivement. Après filtration sur papier Watman, les filtrats ont été lyophilisés.

Nous avons obtenu une poudre floconneuse de couleur verdâtre que nous avons conservée dans un flacon en verre hermétiquement fermé.

Le marc de la filtration a été séché et conservé dans un sachet en plastique.

### **\*Préparation de l'hydrolyse acide ou Hydrolysat**

25ml de chaque extrait (macéré aqueux, éthanolique, décocté aqueux) sont additionnés de 15ml de HCl à 10% puis chauffés sous reflux pendant 30mn.

Après refroidissement, extraction dans une ampoule à décanter avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

La phase organique est séchée sur du sulfate anhydre de sodium puis filtrée et concentrée sous pression réduite au rotavapor.

Les groupes chimiques recherchés dans la phase organique sont les génines des :

- anthracénosides
- dérivés coumariniques
- glycosides stéroliques (saponines ou cardiotoniques)
- flavonosides

### 3-3-1-2 Réactions de caractérisation

#### \*Réactions de caractérisation des alcaloïdes

Dans un erlenmeyer de 250 ml, ajouter 10g de poudre à 50 ml de  $H_2SO_4$  à 10%. Après agitation, le mélange est macéré 24 heures à la température de laboratoire puis filtré sur papier filtre. Le filtrat est complété à 50 ml avec de l'eau distillée.

Dans deux tubes à essais, introduire 1 ml de filtrat et ajouter 5 gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Dragendorff dans le second. L'apparition d'un précipité confirme la présence d'alcaloïdes.

#### \*Réactions de caractérisation des substances polyphénoliques

5 g de poudre sont ajoutés à 100 ml d'eau bouillante, le tout contenu dans un erlenmeyer de 250 ml. Après infusion de 15 mn, le filtrat est complété à 100 ml avec de l'eau distillée.

#### \*Réactions de caractérisation des tanins

Dans un tube à essais, nous avons introduit 5 ml d'infusé à 5% et ajouté 1 ml de solution aqueuse de  $FeCl_3$  à 1%. En présence de tanin, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

#### - Tanins catéchiques

A 5 ml d'infusé à 5%, nous avons ajouté 5 ml d' $HCl$  concentré. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15 mn puis filtré sur papier filtre. En présence de tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge soluble dans l'alcool isoamylique.

- Tanins galliques : réaction de Stiasny

A 30 ml d'infusé à 5%, nous avons ajouté 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40% et 5 ml d'HCl concentré) ; le mélange est chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 mn environ. Après filtration, le filtrat a été saturé par 5 g d'acétate de sodium pulvérisé. Nous avons ensuite ajouté 1 ml goutte à goutte d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 1%. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins galliques.

Après avoir filtré et saturé 10 ml du filtrat d'acétate de sodium, ; nous avons ajouté quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 1%. Le développement d'une teinte bleu-noir indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

\*Réactions de caractérisation des flavonoïdes

A l'infusé à 5% présentant une coloration plus ou moins foncée, on ajoute un acide (5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 10%) puis une base (NH<sub>4</sub>OH). Si la coloration s'accroît par acidification, puis vire au bleu-violacé en milieu basique, cela permet de conclure à la présence d'anthocyanes.

-Réaction à la cyanidine : introduire dans un tube à essai 5 ml d'infusé à 5% et ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95° alcoolique, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes) ; puis ajouter quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique.

L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones), rose violacée (flavonones) ou rouge (Flavonols, flavonolos) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génines). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques. La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les catéchines et les isoflavones.

-Leucoanthocyanes : la réaction à la cyanidine sans adjonction de copeaux de magnésium a été utilisée puis chauffée au bain-marie pendant 15 mn. En



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

\*Réactions de caractérisation des dérivés anthracéniques

- Anthraquinones libres

A 1 g de poudre sont ajoutés 10 ml de chloroforme puis le tout est chauffé pendant 3 mn au bain-marie. Le filtrat obtenu à chaud, est complété à 10 ml. A 1ml de l'extrait chloroformique obtenu, on a ajouté 1 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  dilué et agité. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

- Anthraquinones combinés

Les *O*-hétérosides : A partir du résidu de la drogue épuisée par le chloroforme, nous avons préparé un hydrolysât auquel ont été ajoutés 10 ml d'eau, 1 ml d'HCl concentré puis le tube à essai est maintenu au bain-marie bouillant pendant 15 mn.

5 ml de l'hydrolysât sont agités avec 5ml de chloroforme. A la phase organique, nous avons ajouté 1 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  dilué ; la présence d'anthraquinones est révélée par la coloration rouge plus ou moins foncée.

La réaction peut-être plus poussée par addition à 5 ml de l'hydrolysât 3 à 4 gouttes de  $\text{FeCl}_3$  à 10%, puis agitation avec 5ml de chloroforme. A la phase chloroformique, nous avons ajouté 1ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  dilué et agiter. En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment.

- *C*-hétérosides : reprendre la phase chloroformique qui a été conservée par 10 ml d'eau et adjonction de 1 ml de  $\text{FeCl}_3$  à 10%. Après ébullition au bain-marie pendant 30 mn, agité avec 5 ml de chloroforme et ajouté à la phase

chloroformique 1 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  dilué. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines C-hétérosides.

- Différenciation des quinones : Réaction de Brissemoret et Combes

1 g de poudre est humecté avec  $\text{H}_2\text{SO}_4$  à 10%, nous avons ajouté 20 ml d'un mélange à volume égal d'éther et de chloroforme. Après macération de 24 heures, 5 ml du filtrat obtenu sont évaporés à l'air, puis le résidu repris par quelques gouttes d'éthanol à 95°. Ensuite, nous avons ajouté goutte à goutte une solution aqueuse d'acétate de nickel à 5%.

\*Réactions de caractérisation des stérols et triterpènes

L'extrait à tester a été obtenu par macération pendant 24 heures avec 1 g de poudre dans 20 ml d'éther, puis filtrés et complétés à 20 ml avec de l'éther. Après avoir évaporé à sec 10 ml de l'extrait, nous avons dissous le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique puis 1 ml de chloroforme. Le mélange est partagé dans deux tubes à essai. L'un servant de témoin, nous avons mis dans le fond du second tube à essai à l'aide d'une pipette 1 à 2 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré. A la zone de contact des deux liquides, il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violet révèle la présence de stérols et triterpènes.

\*Réactions de caractérisation des caroténoïdes

**Après évaporation à sec de 5 ml de l'extrait, ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine dans le chloroforme. Il se**

développe en présence de caroténoïdes une coloration bleue devenant rouge par la suite.

\*Réactions de caractérisation des hétérosides cardiotoniques

1 g de poudre est introduit dans un tube à essai puis on ajoute 10 ml d'éthanol à 60° alcoolique et 5 ml d'une solution d'acétate neutre de plomb à 10%. L'ensemble est porté à ébullition pendant 10 mn. Le filtrat obtenu est porté au bain-marie bouillant pendant 10 mn.

Nous avons agité le filtrat avec 10 ml de  $\text{CHCl}_3$  dans un tube à essai en évitant la formation d'une émulsion (mettre dans une ampoule à décanter). Après décantation, la phase chloroformique a été soutirée à l'aide d'une pipette puis partagée entre trois tubes à essai et évaporée au bain-marie à sec. Les résidus ont été repris avec 0.4 ml d'isopropanol et dans les trois tubes, ont été ajoutés respectivement 1 ml de réactif de Baljet, 1 ml de réactif de Kedde et

1 ml de réactif de Raymond-Marthoud. Ensuite, nous avons introduit dans chaque tube 2 gouttes de KOH à 2% dans l'éthanol et observé après une dizaine de minutes. En présence de cardénolides, les colorations suivantes se développent : tube 1 : orangé ; tube 2 : rouge-violacé ; tube 3 : violet fugace.

\*Réactions de caractérisation des saponosides

Dans un erlenmeyer de 250 ml, y introduire 1 g de poudre, ajouter 100 ml d'eau distillée et porter à ébullition. Maintenir le mélange en ébullition modérée pendant 15 mn. Après filtration, le filtrat est ajusté à 100 ml.

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, nous avons réparti successivement 1, 2,...10 ml du décocté à 1% préparé et ajusté le volume dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Ensuite, chaque tube a été agité dans le sens de la longueur pendant 15 secondes à raison de 2

**agitations par seconde. Après avoir laissé au repos pendant 15mn, nous avons mesuré la hauteur de la mousse dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm indique l'indice de mousse :**

$$\text{Indice de mousse} = \frac{1000}{\text{Numéro du tube}}$$

**\*Réactions de caractérisation des composés réducteurs**

5 ml de décocté aqueux à 10% sont introduits dans un bêcher de 100 ml et évaporés au bain-marie à sec. 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml de réactif A et 0,5 ml de réactif B, mélange extemporané) est ajouté au résidu. L'obtention d'un précipité rouge -brique indique la présence de composés réducteurs.

**\*Réactions de caractérisation des oses et holosides**

5 ml du décocté à 10% contenus dans un bêcher de 100 ml est évaporé au bain-marie à sec. Au résidu, ajouter 2 à 3 gouttes de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. Après 5 mn, ajouter 3 à 4 gouttes d'alcool saturé avec du thymol. Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides.

**\*Réactions de caractérisation des mucilages**

Dans un tube à essai, contenant 1 ml du décocté à 10%, on ajoute 5 ml d'alcool absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilages.

**\*Réactions de caractérisation des coumarines**

5 ml d'extrait éthérique obtenu après une macération de 24 heures sont évaporés à l'air libre, puis repris avec 2 ml d'eau chaude. La solution est partagée entre 2 tubes à essai. La présence de coumarines est révélée après ajout dans l'un des tubes de 0,5 ml de NH<sub>4</sub>OH à 25% et observation de la fluorescence sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense dans le tube où a été ajouté l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

\*Réactions de caractérisation des hétérosides cyanogénétiques

Dans un tube, introduire 1 g de poudre et ajouter 5 ml de toluène et 5 ml d'eau. Après agitation, nettoyer la partie supérieure du tube à essai. Le papier picrosodé fraîchement préparé a été fixé à l'aide d'un bouchon à la partie supérieure du tube. La présence d'hétérosides cyanogénétiques est révélée par la coloration rouge plus ou moins intense du papier picrosodé.

### **3-3-1-3 Dosages d'autres substances**

- Substances extractibles par l'eau

**Nous avons fait une décoction pendant 15 mn avec 1 g de poudre dans 20 ml d'eau distillée. Le filtrat a été mis dans une capsule préalablement tarée et évaporé à sec. La capsule a été ensuite pesée à froid et la masse du résidu déduite.**

- Dosage de la teneur en eau de la poudre d'extraction

\*Méthode gravimétrique

Principe : il consiste à déterminer la perte en masse d'une quantité connue de poudre par dessiccation à l'étuve à la température de 100° C pendant 24 heures.

Mode opératoire : nous avons introduit 5 prises d'essai (1 à 2 g) respectivement dans 5 verres de montre préalablement tarés (T<sub>1</sub> à T<sub>5</sub>). Les masses des prises d'essai plus les tares ont été notées P<sub>1</sub> à P<sub>5</sub>. Après 24 heures de séjour à l'étuve à la température de 103 ± 2° C, nous les avons pesés de nouveau et notés P'<sub>1</sub> à P'<sub>5</sub>. La masse d'eau contenue dans la poudre de chaque verre de montre notée M est donnée par la formule :

$$M = P' - P$$

La masse de la prise d'essai est :

$$PE = P - T$$

Le pourcentage d'eau contenu dans la poudre est :

$$\% \text{ eau} = \frac{M}{PE} \times 100$$

PE : Masse de la prise d'essai.

Nous avons d'abord fait la moyenne des pourcentages d'eau des 5 verres de montre dans les mêmes conditions

\*Méthode de l'entraînement azéotropique

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

Mode opératoire : dans un ballon de 500 ml, nous avons introduit 100 ml de toluène et 1 ml d'eau distillée et porté l'ensemble à ébullition pendant une

heure sous réfrigérant. Après 30mn de repos, nous avons lu le niveau d'eau ( $V_1$ ). Ensuite, nous avons introduit 5 g de poudre dans le contenu du ballon et engagé une ébullition d'une heure. Après 30 mn de refroidissement, nous avons lu le niveau d'eau ( $V_2$ ). Le volume d'eau contenu dans la prise d'essai est calculé selon la formule :

$$V = V_2 - V_1$$

Le pourcentage d'eau est calculé selon la formule :

$$\% \text{ eau} = \frac{V_2 - V_1}{PE} \times 100$$

PE : masse de la prise d'essai.

### 3-3-1-4 Détermination de la teneur en cendres

- Cendres totales

Principe : il repose sur la détermination des substances résiduelles non volatiles contenues dans une drogue lorsque cette dernière est calcinée.

Mode opératoire : Une prise d'essai de la drogue (M) est introduite dans un creuset en silice préalablement taré (T). Après incinération au four à une température d'environ 600°C pendant 6 heures et refroidissement dans un dessiccateur, la masse du creuset contenant la prise d'essai a été déterminée et notée M'.

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

$$MCt = M' - M$$

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

$$PE = M - T$$

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

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

Nous avons réalisé 5 essais de la même manière afin de déterminer un pourcentage moyen.

- Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10%

**La détermination de ces cendres se fait sur les cendres totales.**

**Nous avons introduit les cendres totales dans un erlenmeyer et ajouté 20 ml de HCl à 10%. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15 mn au bain-marie. Après refroidissement, nous avons recueilli et lavé la matière non soluble sur un papier filtre sans cendre, et le filtre a été transféré dans un creuset sec préalablement taré (T). Le creuset contenant le papier filtre a ensuite été séché à l'étuve pendant 24 heures (M) et calciné pendant 6 heures au four à la température de 600 ° C. Après refroidissement dans un dessiccateur, nous avons pesé le creuset contenant le papier filtre calciné (M').**

**Le pourcentage des cendres chlorhydriques (% Cc) est donné par la formule :**

$$\% \text{ Cc} = \frac{m\text{Cc}}{m\text{PE}} \times 100$$

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

$$m\text{Cc} = M - T$$

**La masse de la prise d'essai est donnée par :**

$$m\text{PE} = \text{PE}_1 + \text{PE}_2 + \text{PE}_3 + \text{PE}_4 + \text{PE}_5$$

**PE<sub>1</sub>, PE<sub>2</sub>, PE<sub>3</sub>, PE<sub>4</sub>, PE<sub>5</sub> sont les prises d'essai issues des cendres totales.**

**- Cendres sulfuriques**

**Ces cendres sont les substances résiduelles non volatilisées recueillies lorsque l'échantillon de drogue est calciné avec du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Ces cendres déterminent la quantité de substances inorganiques contenues dans la drogue.**

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

**La poudre a ensuite été humectée avec H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 50% et laissée à l'étuve pendant 24 heures à la température de 100° C, puis le creuset a été porté à**



**calcination dans un four à la température de 600° C pendant 6 heures et pesé ensuite après refroidissement**

**( M' ). La masse des cendres sulfuriques (M Cs) est donnée par la formule :**

$$M \text{ Cs} = M' - T$$

**La masse de la prise d'essai : PE = M – T**

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

$$\% \text{ Cs} = \frac{M \text{ Cs}}{PE} \times 100$$

### **3-3-1-5 Chromatographie sur couche mince (CCM)**

#### **3-3 1-5-1 Principe**

La CCM est une méthode de séparation de substances fixées sur un support en silicagel, par entraînement grâce à un système de solvants approprié.

Elle utilise :

.une phase stationnaire : constituée par la silice 60F<sub>254</sub> d'épaisseur 0,25mm en couche fine sur une plaque d'aluminium.

.une phase mobile : composée par des systèmes de solvants appropriés.

#### **3-3 1-5-2 Technique**

Nous avons fait dissoudre 10mg des extraits lyophilisés du macéré aqueux, de l'extrait hydro-alcoolique et du décocté dans un 1ml d'un mélange eau - méthanol (1 :1). A l'aide d'une micropipette, nous avons déposé 10µl de chaque solution sur une plaque. Les traces du solvant ont été complètement évaporées des dépôts à l'aide du séchoir.

Nous avons ensuite placé les plaques successivement dans les cuves de migration contenant les systèmes de solvants suivants :

-Chloroforme-Acétone (80 :20)

-BAW : Butanol –Acide acétique-Eau (10 :1,25 : 5)

Les extraits aqueux totaux sont élués dans le système BAW (10 :1,25 : 5)

Les extraits aqueux hydrolysés sont élués dans le système

Chloroforme -Acétone (80 : 20)

La migration du solvant d'éluion entraîne les substances en fonction de leurs affinités, il apparaît des tâches caractérisant les substances présentes dans l'extrait.

La distance suffisante pour l'éluion est d'environ 8cm à partir du point de départ.

Les plaques ont été retirées des cuves dès que le front de solvant a atteint 8cm.

Elles ont été séchées et les substances ont été révélées avec le réactif de Dragendorff qui est un réactif spécifique des alcaloïdes et le réactif de Lieberman.

Les plaques ont été ensuite chauffées à la température à l'aide d'un séchoir jusqu'à la révélation des composés (tâches colorées sur fond blanc).

Chaque substance a été identifiée par sa fluorescence sous UV par son facteur de rétention (Rf) dans un système de solvant précis et par sa couleur après révélation au réactif de Godin ou de Dragendorff.

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

### 3-3-2 Etudes pharmacologiques

#### 3-3-2-1 - Etude de la toxicité générale aiguë de l'extrait végétal

##### - Détermination de la DL<sub>50</sub>

Un essai préliminaire de toxicité générale aiguë a été réalisé sur 3 lots de 3 souris aux doses de 100, 500, et 1500 mg / kg de poids corporel de chaque extrait. Après cet essai, 13 lots de 5 souris ont été constitués. Ces lots sont formés d'un lot témoin qui a reçu le solvant d'extraction (eau distillée), de 6 lots ayant reçu le macéré aqueux aux doses respectives de 600, 700, 1000, 1250, 1500, 1750 mg / kg de poids corporel et de 6 lots ayant reçu l'extrait hydro - alcoolique aux doses de 250, 300, 400, 500, 750 et 1000mg/kg.

Ces produits ont été administrés par voie intrapéritonéale. Le nombre de morts dans chaque lot a été dénombré à 2 heures, 24 heures, 48 heures puis à 72 heures après l'administration des produits. Une corrélation entre pourcentages de mortalité et probits a été faite.

La méthode de MILLER et TAINTER peut permettre de déterminer graphiquement la DL<sub>50</sub> en traçant sur du papier log-probit les pourcentages de mortalité par rapport au logarithme de la dose (Claude, 1988).

La méthode de LITCHFIELD et WILCOXON est aussi une méthode de détermination de la DL<sub>50</sub>. Elle consiste à reporter les taux de mortalité sur un graphique <<logarithme-probabilité>> et à tracer la droite la plus probable passant par les points obtenus. On lit ensuite sur le graphique les doses correspondant à 16%, 50%, 84%. Ce sont respectivement les DL<sub>16</sub>, DL<sub>50</sub>, DL<sub>84</sub>.

Le calcul de l'intervalle de confiance de la DL<sub>50</sub> se fait selon les étapes suivantes :

-Calcul de « S » ou pente de la droite :

$$S = \frac{DL_{84} / DL_{50} + DL_{50} / DL_{16}}{2}$$

- Calcul des limites de confiance de la DL<sub>50</sub>

n' = nombre total d'animaux traités dont les taux de mortalité sont compris entre 16% et 84%.

$$e = 2,77 \sqrt{n'}$$

$$fDL_{50} = S^e$$

.limite supérieure de confiance de la DL<sub>50</sub> = DL<sub>50</sub> × fDL<sub>50</sub>

.limite inférieure de confiance de la DL<sub>50</sub> = DL<sub>50</sub> / fDL<sub>50</sub> (COLOT, 1972)

Dans la pratique, la détermination de la DL<sub>50</sub> consiste à utiliser des lots d'animaux homogènes auxquels on administre par une voie choisie une seule dose de substance par lot. Si possible, les doses doivent couvrir des pourcentages de mort de 0 à 100%.

Au bout de 2 heures, 24 heures, 48 heures ou 72 heures, les animaux morts par lot sont dénombrés. La détermination de la DL<sub>50</sub> à 24 heures ou à 48 heures exprime la toxicité immédiate tandis que celle de deux semaines exprime la toxicité retardée. (CLAUDE, 1988).

La détermination de la DL<sub>50</sub> a été réalisée sur un délai de 2 heures.

Les souris mortes sont dénombrées et les valeurs enregistrées sont traitées en utilisant le programme informatique P.C.S (Pharmacological Calculation System) version 4.2 de TALLARIDA et MURRAY (1987) pour les calculs des différents paramètres de la relation Dose- Réponse.

Le programme utilisé, a permis la détermination de la DL<sub>50</sub> ainsi que son intervalle de confiance.

- **Etude qualitative de la toxicité générale aiguë**

Elle a consisté en l'observation du comportement des animaux (symptômes d'intoxication à 2 heures, 24 heures, 48 heures, et à 72 heures après l'administration des produits dans chaque lot).

### **3-3-2-2 Etude de l'activité anti- inflammatoire**

La méthode de l'œdème à la carragénine de WINTER a été utilisée : l'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure d'une souris provoque l'apparition d'un œdème de la région métatarsienne.

Sept (7) lots de six souris mâles ont été constitués :

- un lot témoin blanc recevant de l'eau distillée,
- deux lots témoins de référence recevant de la bétaméthasone à la dose de 2 mg / kg.
- quatre lots tests recevant les extraits aqueux aux doses de 15mg/kg, 45mg /kg, 85 mg/ kg et 170 mg / kg.

Après que chaque lot eut reçu son produit par voie intrapéritonéale, le volume de la patte postérieure est mesuré.

La carragénine (0,05 ml) a été administrée une heure après cette administration. Le volume des pattes a été ensuite mesuré toutes les heures jusqu'à la sixième heure.

L'activité anti-inflammatoire est calculée en pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins.

. Calcul du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (P.M)

Soit  $V_0$  le volume initial de la patte et  $V_{ih}$  le volume de la patte à la  $i$ ème heure après l'injection de la carragénine. Le pourcentage d'augmentation de volume de la patte est :

$$P_iM = (V_{ih} - V_0) \times 100 / V_0$$

. Calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème

Soient  $P_oM$  le pourcentage moyen d'augmentation du volume de la patte du lot témoin blanc et  $P_iM$  le pourcentage d'augmentation du volume de la patte du lot traité à la  $i$ ème heure après l'injection de la carragénine. Soit  $P_iI$  le pourcentage d'inhibition de l'œdème à la  $i$ ème heure.

$$P_iI = (P_oM - P_iM) \times 100 / P_oM$$



**Figure 6:** Photo au laboratoire lors du test anti-inflammatoire avec le pléthysmomètre APELEX 7150.

### **3-3-2-3 Etude de l'activité antioxydante**

Cette étude est basée sur le principe de la réduction des radicaux libres fournis par le 1,1-diphényl- 2- picrylhydrazyle (DPPH).

10  $\mu$ l d'une solution de 10 mg/ ml (M / V) de chaque extrait ont été déposés sur la plaque de Silicagel 60F<sub>254</sub> (Merck ) possédant un support en aluminium.

La migration des plaques a été réalisée dans le système Chloroforme- Acétone (80 : 20).

Après migration, les chromatogrammes ont été séchés à l'aide d'un séchoir électrique puis révélés à l'aide d'une solution de DPPH de 2mg/ml dans le méthanol.

En présence de composés possédant des propriétés antioxydantes, le DPPH réduit passe de la couleur pourpre au jaune. Les zones d'activités antiradicalaires apparaissent jaune-blanc sur fond violet après un temps optimal de 30 mn sur la plaque CCM (Takao et al, 1994).

### **3-3-2-4 Etude de l'activité antibactérienne**

#### **3-3-2-4-1 Souches bactériennes de référence**

Le test est effectué sur les souches bactériennes de référence provenant de l'Institut Pasteur (Paris) :

- *Pseudomonas aeruginosa* 78 cip 100720T
- *Streptococcus pyogenes* dhg 5641T
- *Enterococcus faecalis* dig cip 103015T
- *Staphylococcus aureus* mhh 65.8T

#### **3-3-2-4-2 Extraits**

- le Macéré aqueux
- le Décocté
- l'extrait hydro-alcoolique à 70 % (H<sub>2</sub>O : Alcool (30 : 70))

#### **3-3-2-4-3 Revitalisation des souches**

Les souches de référence étaient conservées dans des ampoules en verre sous forme lyophilisée.

Nous avons ajouté 0,3 ml de Bouillon-Cœur-Cerveau (BCC) conformément aux recommandations de l'Institut Pasteur. Nous les avons ensemencées sur trois milieux différents qui sont :

- le milieu Müeller Hinton (M.H)
- la gélose Columbia

- la gélose chocolat + polyvitex (GC + PVX)

La méthode par stries a été utilisée le repiquage à côté de la flamme. Les milieux de culture ont été incubés à l'étuve pendant 24 heures et en présence d'une atmosphère humide enrichie au CO<sub>2</sub> pour *Streptococcus pyogenes* et *Enterococcus faecalis*.

#### **3-3-2-4-4 Préparation des solutions**

Le macéré, le décocté et l'extrait hydro-alcoolique lyophilisés ont été dissouts dans l'eau distillée. 200 mg de chaque extrait ont été dissouts dans 1 ml d'eau distillée. A partir de la solution- mère de 200 mg/ml, nous avons fait des dilutions au 1/2 ; 1/4.

#### **3-3-2-4-5 Préparation de la suspension bactérienne**

Une colonie bien isolée d'une culture pure a été introduite dans 5ml d'eau physiologique (0,9%) stérile contenue dans un tube à essai. La densité de l'inoculum était de 10<sup>8</sup> bactéries/ml. Cet inoculum a servi à ensemercer les géloses M.H coulées en boîtes de Pétri (Najada, 2000).

#### **3-3-2-4-6 Test bactériologique**

Le milieu Müeller Hinton (M.H) a été utilisé. La gélose a été coulée en boîte de Pétri de 90 mm de diamètre pour obtenir une épaisseur de 4 mm de gélose. Les géloses refroidies sont échauffées à l'étuve à 37°C avant d'être utilisée. Pour l'antibiogramme, la technique de diffusion en milieu gélosé a été utilisée. Des cupules de 6 mm de diamètre sont creusées dans la gélose. Au fond de chacune de ces cupules, une goutte de milieu gélosé stérile, préalablement fondue au bain-marie bouillant, a été déposée pour éviter la diffusion de l'extrait sous la couche de gélose.

**L'ensemencement en gazon a été réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile.**

**50 µl de solution de chaque extrait sont déposés dans les différentes cupules à l'aide d'une micropipette munie d'un embout stérile.**



Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

**La lecture des résultats a été faite après les 24 heures d'incubation à l'étuve.**

### **3-3-2-5 Etude de l'activité antifongique**

#### **3-3-2-5-1 Milieu de culture**

**Nous avons utilisé le milieu de SABOURAUD additionné de chloramphénicol**

**(antibiotiques s'opposant à la prolifération des bactéries contaminantes).**

**(Koudougou K., 2000)**

#### **3-3-2-5-2 Composition**

<b>- Peptone</b>	<b>10 g</b>
- Glucose	20 g
- Agar	15 g
- Chloramphénicol	0,5 g
- Eau distillée stérile Q. S. P.	1000 g

pH : 6,0 ± 0,2

Le mélange est ensuite porté au bain-marie bouillant pendant 15 mn pour être dissous. Après dissolution, le milieu est stérilisé à l'autoclave pendant 15 mn à 118 °C (après contrôle du pH). Le milieu est refroidi et coulé dans des boîtes de pétri stériles de 90 mm de diamètre. Après séchage à la température ambiante du laboratoire (environ 25 °C), les boîtes sont gardées au réfrigérateur jusqu'aux tests biologiques.

#### **3-3-2-5-3 Technique employée**

La technique de diffusion en milieu gélosé est utilisée.

Des cupules d'environ 6mm de diamètre sont creusées dans la gélose à l'aide d'une pipette PASTEUR stérile. Afin d'éviter la diffusion des extraits à tester sous la gélose, on referme le fond des cupules avec une goutte de gélose

préalablement fondue. L'ensemble est ensuite refroidi et conservé au frais pour les tests antifongiques.

#### **3-3-2-5-4 Inoculum**

Il est préparé le jour même de son utilisation. Il est obtenu à partir d'une culture sur gélose inclinée de SABOURAUD.

Une colonie de levures prélevée d'une culture à l'aide d'une anse stérile est homogénéisée dans 10 ml d'eau physiologique (solution de NaCl 0,9%) stérile. Si la suspension obtenue est concentrée, on procède à une dilution 1/10 (1 ml de suspension pour 9ml d'eau physiologique).

La suspension ainsi obtenue, a servi à ensemercer les boîtes de pétri.

#### **3-3-2-5-5 Ensemencement**

La surface entière de la gélose est inondée avec 5 ml d'inoculum. L'excès est aspiré à l'aide d'une pipette stérile. Les boîtes sont ensuite séchées à l'étuve à 37°C pendant 15mn.

#### **3-3-2-5-6 Solubilisation des extraits**

Les extraits méthanolique, macéré et hydro-alcoolique aqueux ont été dissouts dans de l'eau distillée stérile.

#### **3-3-2-5-7 Dépôt des extraits**

**100 µl d'extrait (20mg/ml, 40mg/ml, 80mg/ml, 160mg/ml, 320mg/ml, 640mg/ml correspondant respectivement à 2 ; 4 ; et 8 mg, 16 mg, 32 mg, 64 mg d'extrait séché) est déposé à l'aide d'une micropipette dans les cupules**

Nous avons aussi testé la non-activité du solvant (eau distillée) utilisé pour la dissolution des extraits. Le standard utilisé est le disque d'antibiogramme imprégné de nystatine 100 unités.

### **3-3-2-3-8 Incubation**

Les boîtes sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

**Après les 24 heures, la lecture est faite en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition.**

### 3-3-2-6 Analyse des données

#### 3-3-2-6-1 Etude de la toxicité générale aïgue

La  $DL_{50}$  a été déterminée selon la méthode de LITCHFIELD et WILCOXON (1949).

Le calcul des rapport  $DL_{50} / DL_{99}$  et  $DL_1 / DL_{50}$  ont servi à la validation de la droite de toxicité.

Les  $DL_{50}$  obtenues avec le macéré aqueux et l'extrait hydro-alcoolique de la « drogue » sont classées selon l'échelle de toxicité de HODGE et STERNER (1943).

La détermination de la  $DL_{50}$  a été réalisée selon la méthode de LITCHFIELD et WILCOXON (1949) en utilisant le programme informatique P.C.S. de TALLARIDA et MURRAY (1987).

Le rapport  $DL_{99} / DL_1$  a été calculé afin d'apprécier l'intervalle de sécurité d'utilisation de la drogue.

#### 3-3-2-6-2 Etude de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire est calculée en pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins.

##### . Calcul du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (P.M)

Soit  $V_0$  le volume initial de la patte et  $V_{ih}$  le volume d la patte à la ième heure après l'injection de la carragénine. Le pourcentage d'augmentation de volume de la patte est :

$$PiM = (V_{ih} - V_0) \times 100 / V_0$$

##### . Calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème

Soient  $P_0M$  le pourcentage moyen d'augmentation du volume de la patte du lot témoin blanc, et  $P_iM$  le pourcentage d'augmentation du volume de la patte du lot traité à la ième heure après l'injection de la carragénine. Soit  $P_iI$  le pourcentage d'inhibition de l'œdème à la ième heure.

$$P_iI = (P_0M - P_iM) \times 100 / P_0M$$

### **3-3-2-6-3 Etude de l'activité antioxydante**

Cette activité s'observe sur les plaques CCM par l'apparition de zones d'activités antiradicalaires de couleur jaune-blanc sur fond violet après un temps optimale de 30minutes (Takao et al. 1994).

### **3-3-2-6-4 Lecture des résultats antimicrobiens**

**La lecture est faite en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition avec une règle graduée.**

Les logiciels utilisés pour l'analyse des données : Microsoft Graph, Excel 98, P. C. S (Pharmacological Calculation System) version 4.2 de TALLARIDA, Prism2.01, Chem window.

## **CHAPITRE IV : RESULTATS**

## 4-RESULTATS

### 4-1 PHYTOCHIMIE DES EXTRAITS

#### 4-1-1 Teneur en eau et cendres

Les résultats de dosage de l'eau et des cendres sont indiqués dans le tableau ci - après.

**Tableau XIII :** Résultats des dosages réalisés sur les écorces de racines de *Calotropis procera*

SUBSTANCES	Teneur (%)
Extrait aqueux	10,84
Eau (méthode pondérale)	4 ,94
Eau (méthode azéotrope)	6
Cendres totales	10,17
Cendres sulfuriques	13,78
Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique (HCl)	2

Nous constatons que les pourcentages d'eau déterminés sont inférieurs à 10%. Cela montre que nos poudres peuvent être conservées longtemps.

#### 4-1-2 Groupes chimiques caractérisés

Les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence plusieurs groupes chimiques dans la poudre des écorces de racines de *Calotropis procera*.

Le tableau **XIV** présente les résultats obtenus.

**Tableau XIV** : Résultats des réactions de caractérisation de la poudre des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait.

RECHERCHE	COLORATION	INTERPRETATION
Caroténoïdes	Bleue	+
Oses et holosides	Rouge	+ ++
Polyuronides (mucilages)	Précipité floconneux	+ + +
Stéroïdes	Surnageant vert	+ + +
Hétérosides triterpéniques	Anneau rouge- brunâtre	+ + +
Hétérosides cardiotoniques	Violet fugace	+ + +
Saponosides	Mousse visible	+ +

L'indice de mousse a été de 0,90 donc  $< 100$ .

Les résultats sont exprimés selon :

(+++): Réaction franchement positive

(++) : Réaction moyennement positive

(+) : Traces



### 4-1-3 Rendement d'extraction

Les rendements et les aspects des extractions sont consignés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau XV** : Rendements et aspects des différents extraits des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait.

Extraits	Aspects	Rendement
Macération à l'eau	Marron clair	24,34
Macération à l'éthanol 70%	Ocre jaune clair	15,18
Décocté	Ocre jaune	10,19
N-Hexane	Marron foncé	1,33
DCM	Marron foncé	1,84
Méthanol 100%	Ocre jaune	4,93
Eau 50°C	Marron clair	5,03
Eau 100°C	Ocre jaune	9,67

L'extraction du macéré aqueux, du décocté et de l'extrait hydro-alcoolique, qui sont les formes les plus utilisées, nous ont permis d'obtenir respectivement les rendements de 24,34%, 10,19% et de 15,18%.

## 4-2- SUBSTANCES CHIMIQUES ISOLEES EN CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

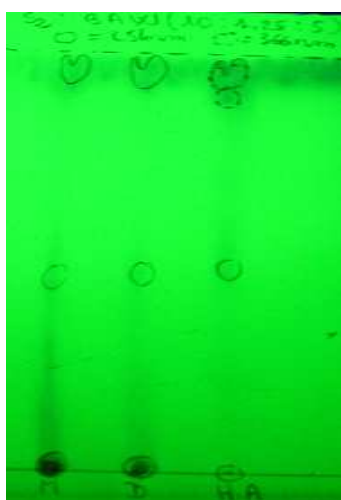
Les résultats de la chromatographie sur couche mince sont indiqués dans les tableaux XIV, XVII et XVIII.

**Tableau XVI, XVII, XVIII:** Résultats de la CCM à 254 nm et à 366 nm dans le système (S2) BAW (10 : 1,25 : 5)

Détection	Extrait	Rf	Couleur
254 nm	Macéré	0,50	Brun intense
		0,87	//
	Hydro-alcoolique	0,52	Brun intense
		0,85	//
	Décocté	0,48	Brun intense
		0,85	//
366 nm	Macéré	0,50	Bleu clair
		0,87	//
	Hydro-alcoolique	0,52	Bleu clair
		0,68	//
	Décocté	0,87	//
		0,48	Bleu clair
		0,85	//

A 254nm, deux (2) spots sont observés avec chacun des extraits (macéré, hydro-alcoolique et décocté) .

A 366nm, deux (2) spots sont observés avec le macéré et le décocté tandis que l'extrait hydro-alcoolique a montré trois spots



(1)

(2)

(3)

- (1) : S2 à 254 nm et 366 nm sans révélation  
 (2) : S2 sous la lampe UV à 254 nm  
 (3) : S2 sous la lampe UV à 366 nm

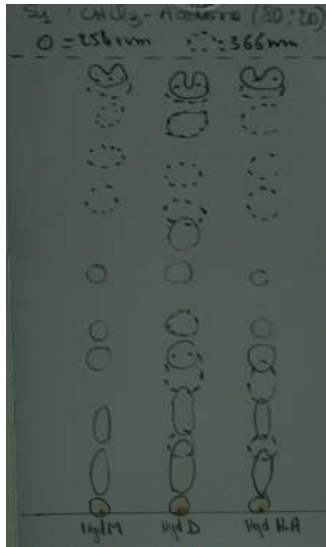
**Tableau XIX :** Résultats de la CCM à 254 nm et à 366 nm dans le système (S1)

Chloroforme- Acétone (80 : 20).

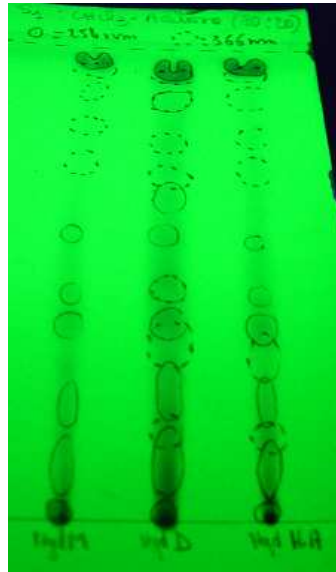
Révélation	Extrait	Rf	Couleur
254 nm	Macéré	0,06	Brun intense
		0,12	//
		0,21	//
		0,27	//
		0,88	//
	Hydro-alcoolique	0,07	Brun intense
		0,12	//
		0,21	//
		0,27	//
0,88		//	
Décocté	0,06	Brun intense	
	0,12	//	
	0,21	//	
	0,28	//	
	0,37	//	
	0,88	//	
366 nm	Macéré	0,03	Bleu brillant
		0,12	//
		0,21	//
		0,31	Bleu
		0,55	Jaune
		0,58	Bleu
	Hydro-alcoolique	0,03	Bleu brillant
		0,12	//
		0,22	//
		0,31	Bleu
		0,62	Jaune
		0,72	Bleu-verdâtre
	Décocté	0,03	Bleu brillant
		0,12	//
		0,25	//
0,31		Bleu	
0,56		//	
0,68		Jaune	
0,72		Bleu-verdâtre	

A 254nm, cinq (5) spots de coloration brune intense de Rf 0,06 ; 0,12 ; 0,21 ; 0,27 et 0,88 sont observés.

A 366nm, six (6) spots avec le macéré et l'extrait hydro-alcoolique et sept (7) spots avec le décocté.



(1)



(2)



(3)

- (1) : S1 à 254 nm et 366 nm sans révélation  
 (2) : S1 sous la lampe UV à 254 nm  
 (3) : S1 sous la lampe UV à 366 nm

## Recherche des stérols – Triterpènes

**Tableau XX:** Résultats de la CCM après révélation par le réactif de Lieberman dans le système Chloroforme – Acétone (80 : 20)

Révélation	Extrait	Rf	Couleur
Réactif de Lieberman	Macéré	0,87	Violette
		0,27	Brune
	Hydro-alcoolique	0,27	Brune
	Décocté	0,88	Violette
0,27		Brune	

Coloration violette = Triterpène

Coloration Brune = Stérols

Témoin utilisé =  $\beta$ -Sitostérol

Les extraits macéré, décocté ont montré chacun deux (2) spots de Rf = 0,27 et 0,88 et de même couleur tandis que l'extrait hydro-alcoolique a montré un seul spot de Rf = 0,27 de couleur brune.

Ces différents solvants ont permis de séparer les différents groupes chimiques. Les trois extraits ont les mêmes constituants chimiques, la différence résidant au niveau des concentrations.

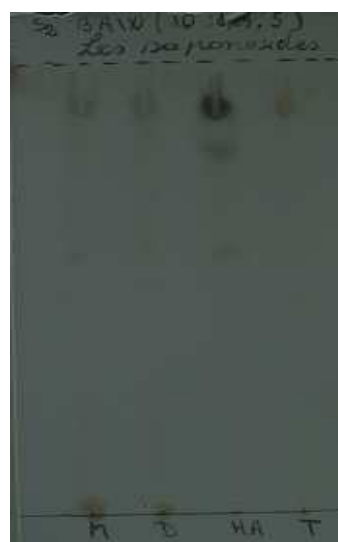


Révélation des stérols et triterpènes avec le réactif de Lieberman dans le système S1

Recherche des glycosides stéroliques



Recherche des saponosides



Révélation des glycosides stéroliques et des saponosides avec le réactif de Lieberman dans le système S2

### 4-3 RESULTATS DES TESTS BIOLOGIQUES

#### 4-3-1 La toxicité de *Calotropis procera*

##### 4-3-1-1 La toxicité générale aiguë

##### 4-3-1-1-1 Valeur de la DL<sub>50</sub> du macéré aqueux

Le tableau **XXI** indique les doses du macéré aqueux et les pourcentages de mortalité des souris à ces doses.

**Tableau XXI** : Evolution du pourcentage de mortalité en fonction de la dose 2 heures après administration du macéré aqueux.

Lots (n=6)	Doses (mg/kg)	Nombre de morts	Pourcentage de mort
Lot témoin	0	0	0
Lot 1	750	0	0
Lot 2	1000	1	16,67
Lot 3	1250	4	66,67
Lot 4	1500	5	83,33
Lot 5	2000	6	100

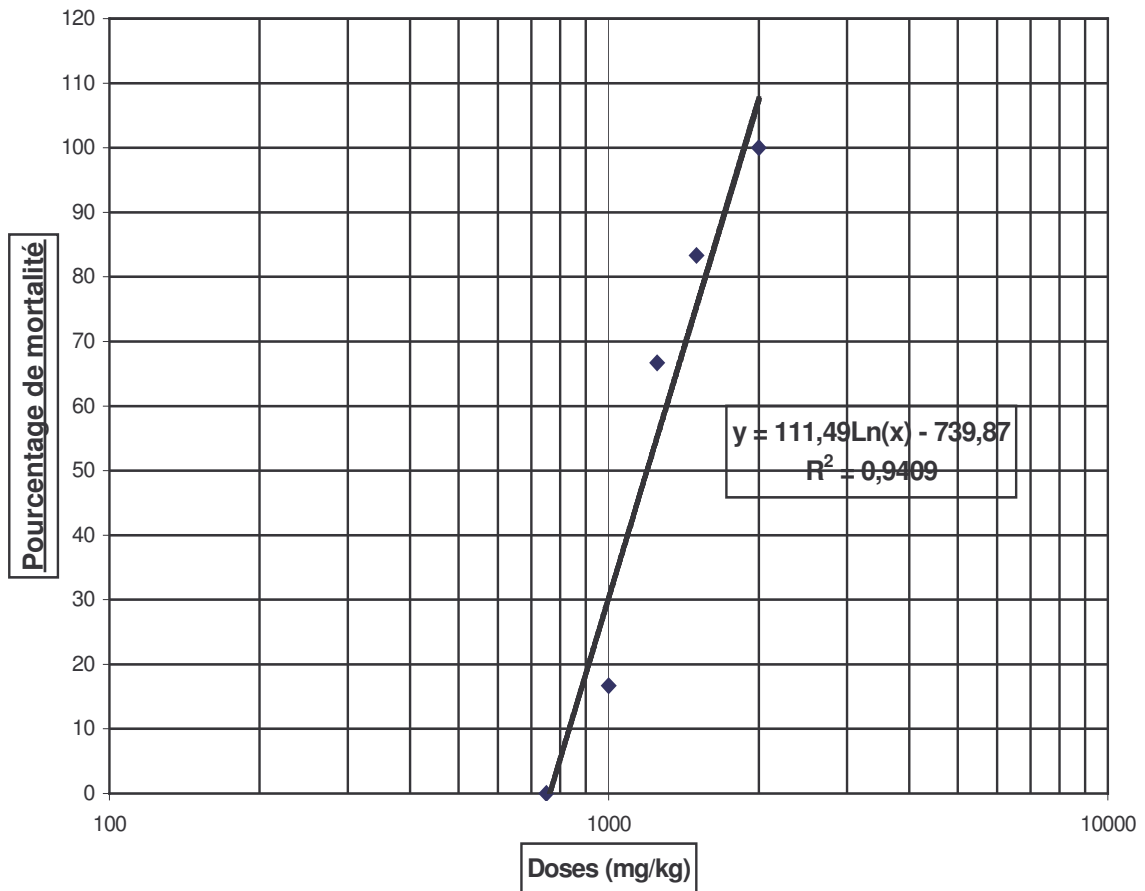
Le tableau **XXII** indique les probits des pourcentages de mortalité en fonction de la dose.

**Tableau XXII** : Evolution du pourcentage de mortalité corrigé (et leur probit) en fonction de la dose 2 heures après administration du macéré aqueux.

<b>Doses (mg/kg)</b>	<b>Log (doses)</b>	<b>Pourcentages de mortalité</b>	<b>Probit</b>
1000	3	16,6666	4,032637
1250	3,09691	66,6666	5,430292
1500	3,176091	83,33334	5,967363

DL<sub>50</sub>= 1197 mg/kg





**Figure 7** : Droite représentant le pourcentage de mortalité des souris en fonction des doses du macéré aqueux.

. Limite inférieure de la  $DL_{50}=1015\text{mg/kg}$

. Limite supérieure de la  $DL_{50}=1411\text{mg/kg}$

d' où

$$1015\text{mg/kg} < DL_{50} > 1411\text{mg/kg}$$

Pour vérifier la validité de la droite, nous avons déterminé :

$$DL_1 = 739\text{mg/kg}$$

$$DL_{50} = 1197\text{ mg/kg}$$

$$DL_{99} = 1938\text{ mg/kg}$$

Pour cela, nous avons vérifié la progression de la pente de la droite de la droite

de régression :

$$DL_{50} / DL_1 = DL_{99} / DL_{50}$$

$$DL_{50} / DL_1 = 1,62$$

$$DL_{99} / DL_{50} = 1,62$$

Pour l'indice de Sécurité (I.S), nous avons vérifié le rapport :

$$DL_{99} / DL_1 = 2,62 \text{ d'où } DL_{99} = 2,62 DL_1 \text{ et } I.S = 2,62$$

I.S = 2,62 indique que le macéré aqueux est difficile à manier car facilement on atteint les doses toxiques.

#### 4-3-1-1-2 Détermination de la $DL_{50}$ de l'extrait hydro-alcoolique

Le tableau **XXIII** indique les doses de l'extrait hydro-alcoolique (70 : 30) et les pourcentages de mortalité des souris à ces doses.

**Tableau XXIII** : Evolution du pourcentage de mortalité en fonction de la dose 2heures après administration de l'extrait hydro-alcoolique.

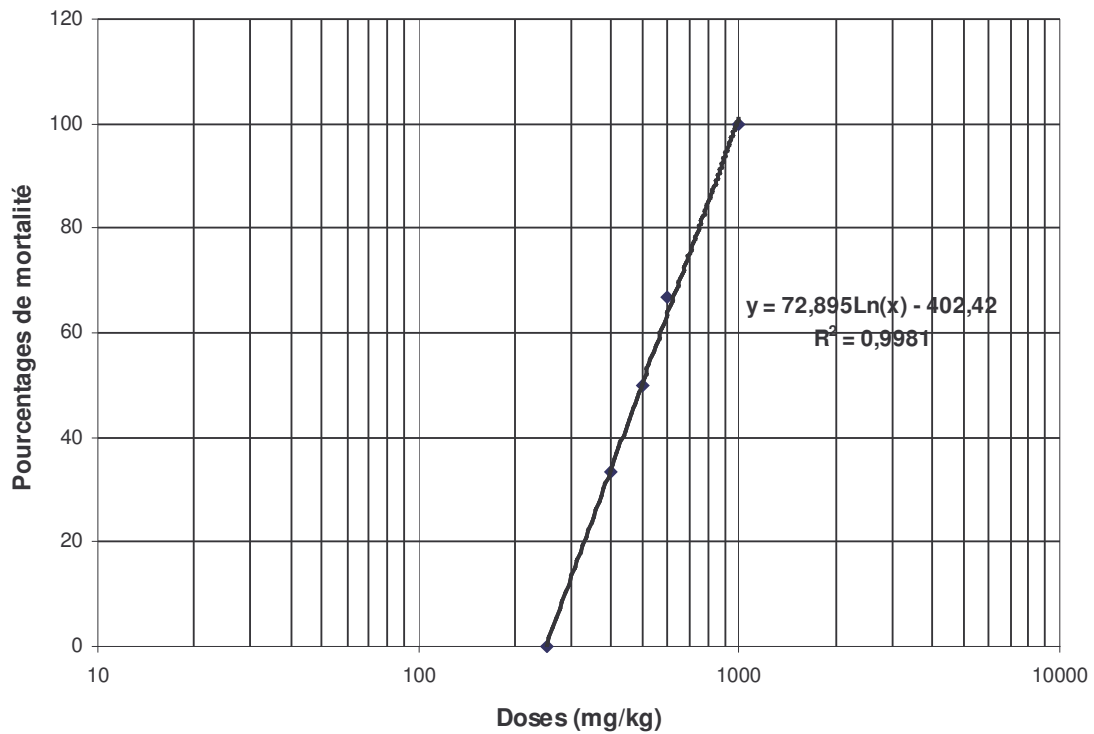
Lots (n=6)	Doses( mg/kg)	Nombre de morts	Pourcentage de mort
Lot témoin	0	0	0
Lot 1	250	0	0
Lot 2	400	2	33,33
Lot 3	500	3	50
Lot 4	600	4	66,67
Lot 5	1000	6	100

Le tableau **XXIV** indique les probits des pourcentages de mortalité en fonction de la dose.

**Tableau XXIV**: Evolution du pourcentage de mortalité corrigé (et leur probit) en fonction de la dose 2heures après administration de l'extrait hydro-alcoolique.

Doses (mg/kg)	Log (doses)	Pourcentage de mortalité	Probit
400	2,60206	33,33333	4,569708
500	2,69897	50	5
600	2,778151	66,6666	5,430292

DL<sub>50</sub> = 493mg/kg



**Figure 8 :** Droite représentant le pourcentage de mortalité de l'extrait hydro-alcoolique en fonction des doses.

.Limite inférieure de la DL<sub>50</sub> = 363 mg/kg

.Limite supérieure de la DL<sub>50</sub> = 670 mg/kg

d' où

$$363 \text{ mg/kg} < DL_{50} > 670 \text{ mg/kg}$$

Pour vérifier la validité de la droite, nous avons déterminé :

$$DL_1 = 164 \text{ mg/kg}$$

$$DL_{50} = 493 \text{ mg/kg}$$

$$DL_{99} = 1482 \text{ mg/kg}$$

Pour cela, nous avons vérifié les rapports:

$$DL_{50} / DL_1 = DL_{99} / DL_{50}$$

$$DL_{50} / DL_1 = 3$$

$$DL_{99} / DL_{50} = 3$$

Pour l'indice de Sécurité (I.S), nous avons vérifié l'égalité :

$$DL_{99} / DL_1 = 9 \quad \text{d'où } DL_{99} = 9 DL_1 \text{ et } I.S = 9$$

I.S = 9 indique que l'extrait hydro-alcoolique est facilement maniable.

#### **4-3-1-2 Toxidrome**

Ces symptômes ont été observés dans chacun des lots ayant reçu les deux extraits (macéré aqueux et l'extrait hydro-alcoolique) sauf au niveau du lot témoin.

Ils se traduisent des signes observés ci-dessous :

- une baisse de l'activité motrice
- des troubles respiratoires de type polypnée
- des torsions avec redressement des poils
- une somnolence
- des convulsions précédant la mort des animaux.

### 4-3-2 Résultats des tests anti-inflammatoires

Pour les tests anti-inflammatoires, nous avons utilisé la méthode de l'œdème de la patte de la souris par injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire.

Les résultats sont consignés dans les tableaux ci-après (nombre d'essai =3).

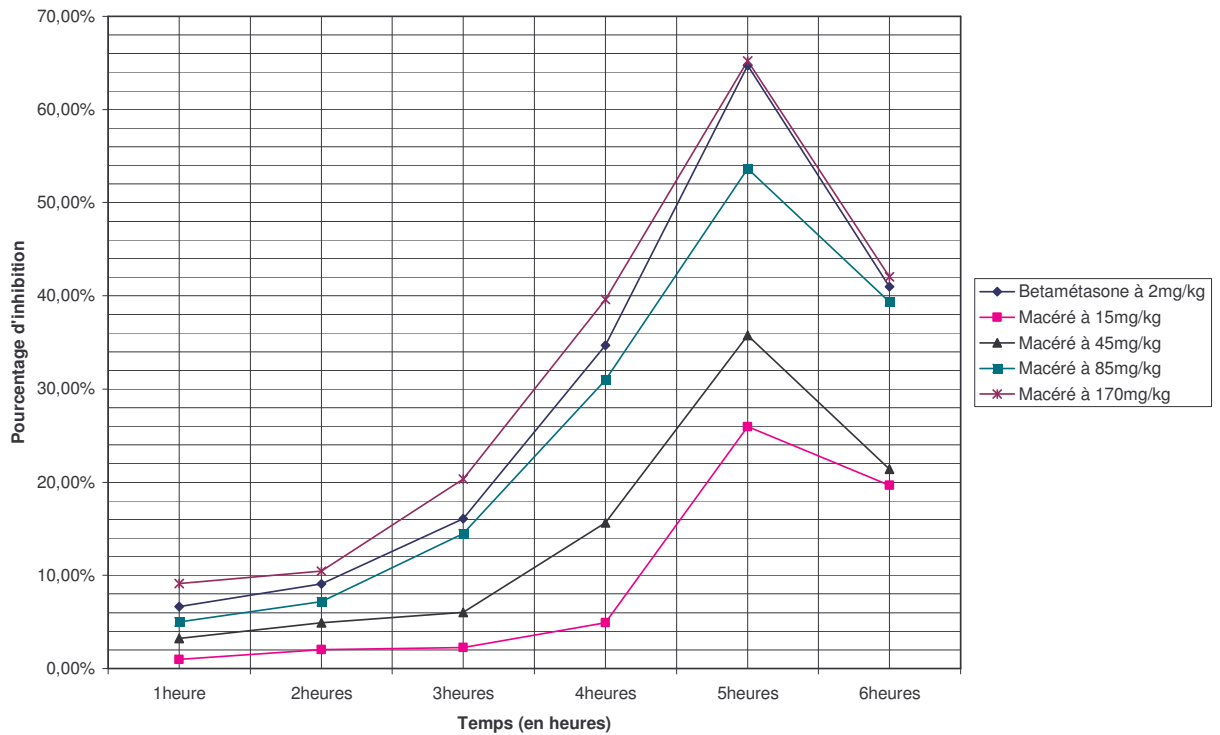
#### 4-3-2-1 Résultats du test anti-inflammatoire du macéré aqueux

**Tableau XXV:** Evolution du pourcentage d'augmentation (PiH) du volume des pattes en fonction du temps (heure) chez tous les lots du macéré aqueux

<b>LOT 1</b> (lot témoin)	Moyenne	<b>P1H</b> 45,49	<b>P2H</b> 51,95	<b>P3H</b> 68,16	<b>P4H</b> 80	<b>P5H</b> 66,2	<b>P6H</b> 48,9
	Ecart-type	16,12	12,29	11,23	16,47	17,51	15,85
<b>LOT 2</b> (lot de référence)	Moyenne	<b>P1H</b> 42,47	<b>P2H</b> 47,27	<b>P3H</b> 57,19	<b>P4H</b> 52,24	<b>P5H</b> 23,36	<b>P6H</b> 28,9
	Ecart-type	3,13	4,05	8,07	6,86	13,89	13,56
<b>LOT 3</b> (Macéré 15mg/kg)	Moyenne	<b>P1H</b> 45,05	<b>P2H</b> 50,89	<b>P3H</b> 66,63	<b>P4H</b> 76,06	<b>P5H</b> 49,02	<b>P6H</b> 39,33
	Ecart-type	8,45	8,89	14,51	17,9	15,39	15,22
<b>LOT 4</b> (Macéré 45mg/kg)	Moyenne	<b>P1H</b> 44,56	<b>P2H</b> 50,37	<b>P3H</b> 65,37	<b>P4H</b> 70,5	<b>P5H</b> 53,42	<b>P6H</b> 40,54
	Ecart-type	8,35	9,5	12,87	14,22	15,06	19,58
<b>LOT 5</b> (Macéré 85mg/kg)	Moyenne	<b>P1H</b> 43,21	<b>P2H</b> 48,23	<b>P3H</b> 58,3	<b>P4H</b> 55,19	<b>P5H</b> 30,69	<b>P6H</b> 32,14
	Ecart-type	24,01	18,3	14,89	13,41	13,71	9,62
<b>LOT 6</b> (Macéré 170mg/kg)	Moyenne	<b>P1H</b> 41,34	<b>P2H</b> 46,52	<b>P3H</b> 54,3	<b>P4H</b> 48,29	<b>P5H</b> 23,03	<b>P6H</b> 28,37
	Ecart-type	8,33	7,89	11,85	11,54	7,16	8,61

**Tableau XXVI: Pourcentages d'inhibition de l'œdème en fonction du temps et des doses**

	1heure	2heures	3heures	4heures	5heures	6heures
<b>Bétamétasone à 2mg/kg</b>	6,64%	9,07%	16,10%	34,69%	64,71%	40,96%
<b>Macéré à 15mg/kg</b>	0,96%	2,05%	2,25%	4,90%	25,94%	19,65%
<b>Macéré à 45mg/kg</b>	3,23%	4,91%	6,02%	15,62%	35,75%	21,40%
<b>Macéré à 85mg/kg</b>	5%	7,16%	14,48%	30,99%	53,63%	39,33%
<b>Macéré à 170mg/kg</b>	9,12%	10,45%	20,34%	39,62%	65,20%	42,04%



**Figure 9:** Courbes des Pourcentages d'inhibition de l'œdème en fonction du temps et des doses avec le macéré aqueux.

### 4-3-2-2 Résultats du test anti-inflammatoire de l'extrait hydro-alcoolique

**Tableau XXVII:** Evolution du pourcentage d'augmentation (PiH) du volume des pattes en fonction du temps

(heure) chez tous les lots de l'extrait hydro- alcoolique (H. A)

		<b>P1H</b>	<b>P2H</b>	<b>P3H</b>	<b>P4H</b>	<b>P5H</b>	<b>P6H</b>
<b>LOT 1</b> (lot témoin)	Moyenne	45,63	57,60	63,40	77,92	66,26	61,20
	Ecart-type	16,79	17,21	16,66	12,77	16,67	19,40

		<b>P1H</b>	<b>P2H</b>	<b>P3H</b>	<b>P4H</b>	<b>P5H</b>	<b>P6H</b>
<b>LOT 2</b> (référence)	Moyenne	41,20	51,42	55,09	46,61	21,70	27,90
	Ecart-type	12,10	10,93	11,00	10,74	18,44	19,12

		<b>P1H</b>	<b>P2H</b>	<b>P3H</b>	<b>P4H</b>	<b>P5H</b>	<b>P6H</b>
<b>LOT 3</b> (H.A 15mg/kg)	Moyenne	47,57	56,44	62,01	73,96	52,39	50,42
	Ecart-type	3,69	10,36	10,24	6,83	9,63	14,68

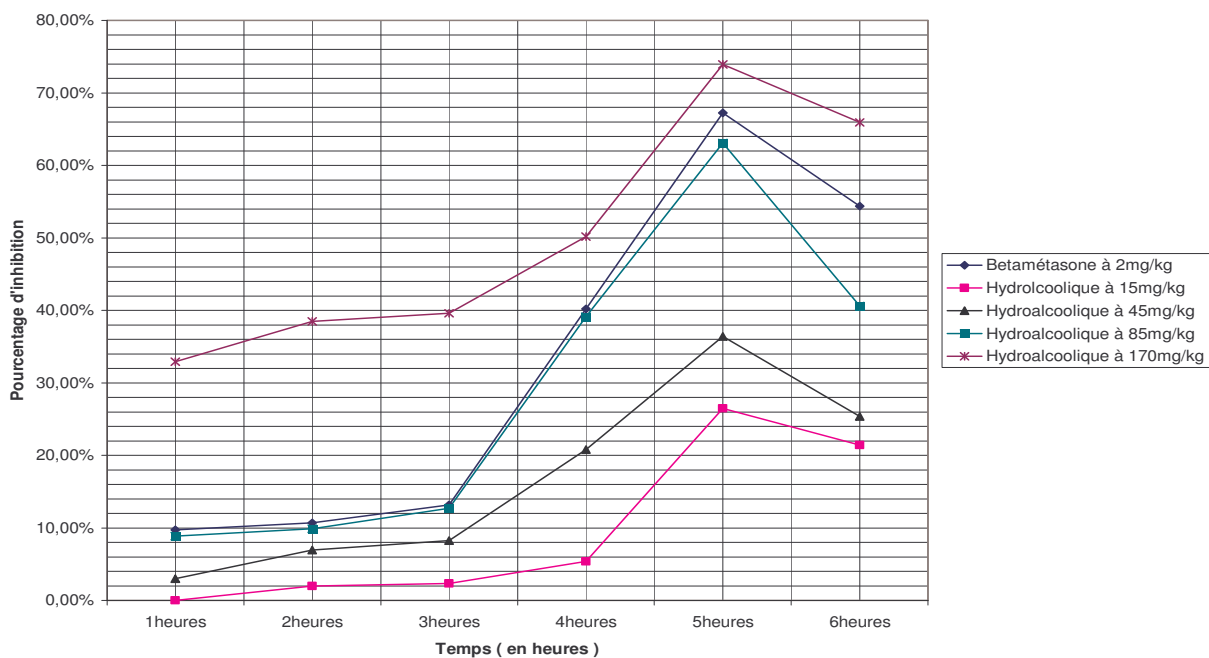
		<b>P1H</b>	<b>P2H</b>	<b>P3H</b>	<b>P4H</b>	<b>P5H</b>	<b>P6H</b>
<b>LOT 4</b> ( H.A 45mg/kg)	Moyenne	44,28	53,57	58,22	61,69	42,15	45,66
	Ecart-type	10,00	9,29	9,43	8,66	11,62	12,35

		<b>P1H</b>	<b>P2H</b>	<b>P3H</b>	<b>P4H</b>	<b>P5H</b>	<b>P6H</b>
<b>LOT 5</b> (H. A 85mg/kg)	Moyenne	41,58	51,90	55,36	47,43	24,47	36,20
	Ecart-type	7,43	4,37	4,81	9,45	10,95	10,20

		<b>P1H</b>	<b>P2H</b>	<b>P3H</b>	<b>P4H</b>	<b>P5H</b>	<b>P6H</b>
<b>LOT 6</b> (H.A 170mg/kg)	Moyenne	30,63	35,40	38,30	38,83	17,24	20,86
	Ecart-type	9,20	9,49	9,28	10,35	12,67	20,86

**Tableau XXVIII : Pourcentages d'inhibition de l'œdème en fonction du temps et des doses**

	1heure	2heures	3heures	4heures	5heures	6heures
<b>Bétamétasone à 2mg/kg</b>	9,71%	10,68%	13,17%	40,18%	67,25%	54,39%
<b>Hydroalcoolique à 15mg/kg</b>	0%	2%	2,31%	5,35%	26,49%	21,43%
<b>Hydroalcoolique à 45mg/kg</b>	2,97%	6,95%	8,23%	20,82%	36,39%	25,37%
<b>Hydroalcoolique à 85mg/kg</b>	8,87%	9,85%	12,73%	39,14%	63,07%	40,63%
<b>Hydroalcoolique à 170mg/kg</b>	32,89%	38,49%	39,60%	50,16%	73,93%	65,91%



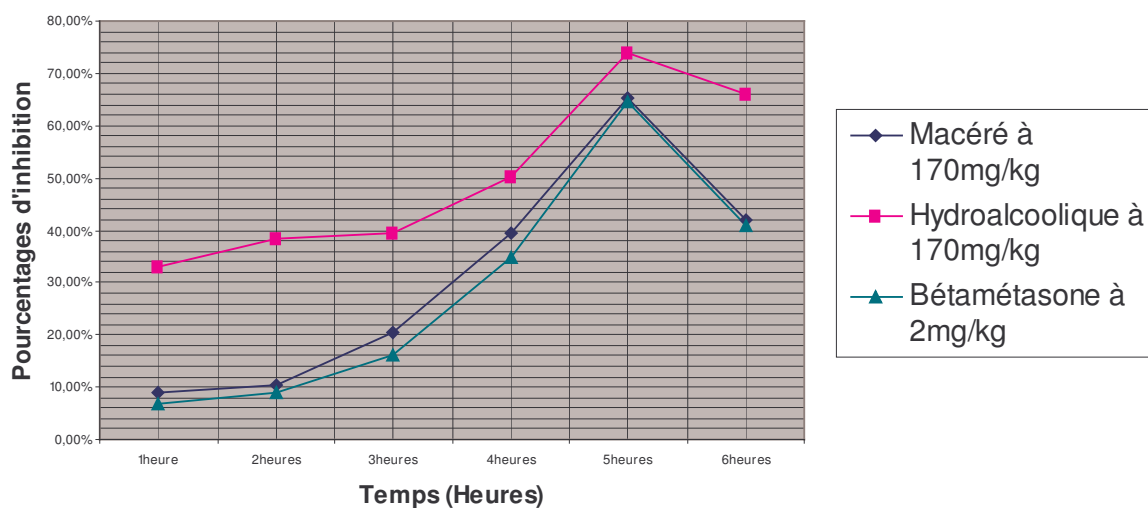
**Figure 10:** Courbes des Pourcentages d'inhibition de l'œdème en fonction du temps et des doses avec l'extrait hydro-alcoolique.



### 4-3-2-3 Pourcentages d'inhibition de l'œdème en fonction du temps et des fortes doses et de la bétaméthasone

**Tableau XXIX:** Pourcentages d'inhibition de l'œdème en fonction du temps et des fortes doses et de la bétaméthasone

	1heure	2heures	3heures	4heures	5heures	6heures
<b>Macéré à 170mg/kg</b>	9,12%	10,45%	20,34%	39,62%	65,20%	42,04%
<b>Hydroalcoolique à 170mg/kg</b>	32,89%	38,49%	39,60%	50,16%	73,93%	65,91%
<b>Bétamétasone à 2mg/kg</b>	6,64%	9,07%	16,10%	34,69%	64,71%	40,96%



**Figure 11:** Courbe d'évolution des pourcentages d'inhibition de l'œdème en fonction du temps des fortes doses comparativement à la bétaméthasone.

L'extrait hydro-alcoolique s'est montré plus actif que la bétaméthasone et le macéré aqueux sur l'œdème car son pourcentage d'inhibition est de 73,93% à la cinquième heure.

1,12 g de matière première sèche correspond à 170 mg d'extrait hydro-alcoolique induisant une activité de 73,93% à la cinquième heure.

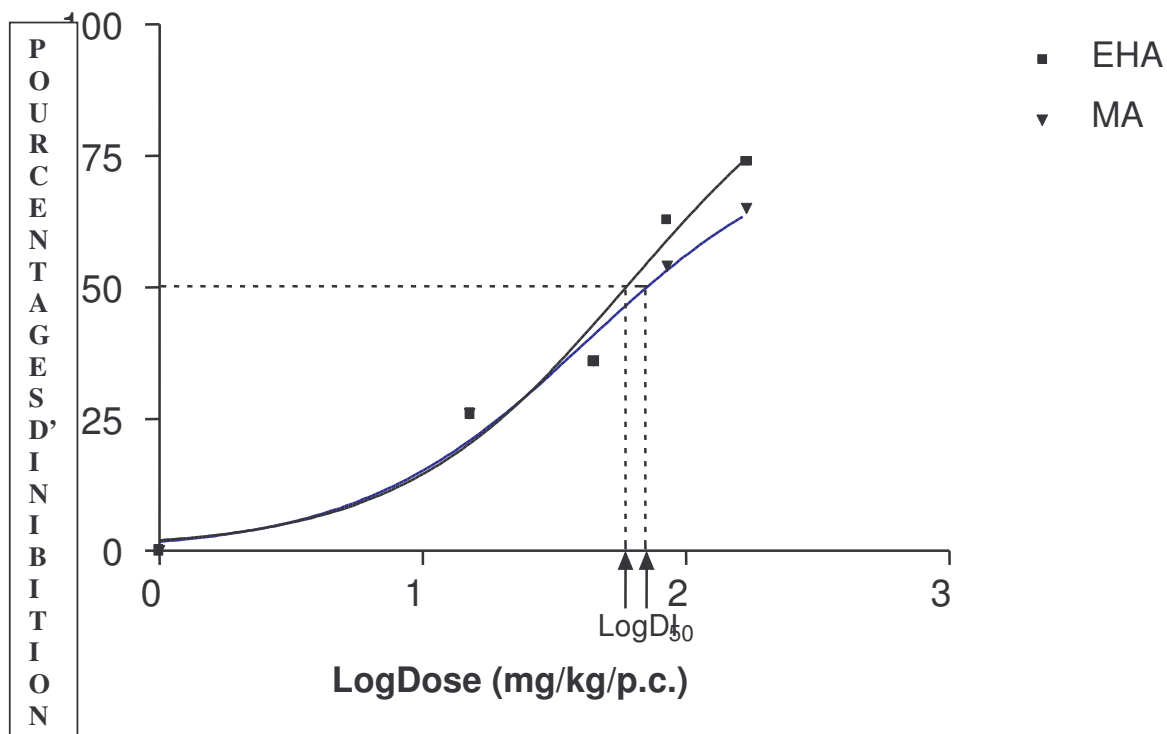
**Tableau XXX:** Pourcentages d'inhibition de l'œdème du macéré aqueux (MA) et l'extrait hydro-alcoolique (EHA) en fonction des doses à la 5<sup>ème</sup> heure

Doses	Log(Doses)	P.I MA ( 5 <sup>ème</sup> heure)	P.I EHA ( 5 <sup>ème</sup> heure)
15 mg/kg	1,18	25,94 %	26,49%
45 mg/kg	1,65	35,75 %	36,39%
85 mg/kg	1,93	53,63 %	63,07%
170 mg/kg	2,23	65,20 %	73,93%

La figure 12 indique les doses inhibitrices 50 (DI<sub>50</sub>)

$$\text{Log DI}_{50} = K_D$$

$K_D$  = Constante de dissociation



**Figure 12:** Effet Dose-Réponse du macéré aqueux (MA) et de l'extrait hydroalcoolique (EHA) à la 5e heure

$$\text{EHA: } \text{LogDI}_{50} = 0,2084; \text{DI}_{50} = 42,20 \text{ mg/kg}; \quad R^2 = 0,9787$$

$$\text{MA: } \text{LogDI}_{50} = 0,2581; \text{DI}_{50} = 61,02 \text{ mg/kg}; \quad R^2 = 0,9715$$

### 4-3-3 Résultats des tests de l'activité antioxydante

Pour l'activité antioxydante les plaques ont été révélées avec le DPPH et nous avons obtenu les résultats suivants :

**Tableau XXXI:** Résultats du test antioxydant des extraits de *Calotropis procera* sur CCM dans le système Chloroforme – Acétone (80 : 20)

Révélation	Extrait hydrolysés	Rf	Couleur
<b>DPPH</b>	Macéré	0,36	Jaune blanc
	Hydro-alcoolique	0,37	Jaune blanc
	Décocté	0,36	Jaune blanc

Les hydrolysats de ces différents extraits aqueux dans le système Chloroforme-Acétone (80:20 ) ont donné des résultats positifs au cours du test au DPPH

#### 4-3-4 Résultats de l'activité antibactérienne

Les résultats de l'activité antibactérienne sont consignés dans le tableau ci- dessous

**Tableau XXXII : Résultats des tests antibactériens**

<u><i>Enterococcus faecalis</i></u>	Antibiotiques		S :SXT, CRO I :GM R : OX
	Macéré aqueux	200 mg/ml 100mg/ml 50mg/ml	R R R
	Hydro-alcoolique	200 mg/ml 100mg/ml 50mg/ml	R R R
	Décocté	200 mg/ml 100mg/ml 50mg/ml	R R R
<u><i>Streptococcus pyogenes</i></u>	Antibiotiques		S :SXT, CRO, C, GM, OX I :0/5 R :0/5
	Macéré aqueux	200 mg/ml 100mg/ml 50mg/ml	R R R
	Hydro-alcoolique	200 mg/ml 100mg/ml 50mg/ml	R R R
	Décocté	200 mg/ml 100mg/ml 50mg/ml	R R R
<u><i>Pseudomonas aeruginosa</i></u>	Antibiotiques		S :Ticar, Cip, GM I :CRO R : OX, C, SXT
	Macéré aqueux	200 mg/ml 100mg/ml 50mg/ml	R R R
	Hydro-alcoolique	200 mg/ml 100mg/ml 50mg/ml	R R R
	Décocté	200 mg/ml 100mg/ml 50mg/ml	R R R
<u><i>Staphylococcus aureus</i></u>	Antibiotiques		S :SXT, CRO, C, AMC, GM I :OX R : 0/6
	Macéré aqueux	200 mg/ml 100mg/ml 50mg/ml	R R R

	Hydro-alcoolique	200 mg/ml	R
		100mg/ml	R
		50mg/ml	R
	Décocté	200 mg/ml	R
		100mg/ml	R
		50mg/ml	R

**S : Sensible I : Intermédiaire R : Résistant**

**Sxt** : Bactrim ( Trimétoprime-sulfamétoazole : 1,25µg + 23,75µg)

**GM** : Gentamicine (10µg) **OX** : Oxacilline (5µg)

**C** : Chloramphénicol (30µg) **CRO** : Rocéphine (30µg) **Ticar** : Ticarcilline (75µg)

**AMC** : Augmentin (Amoxicilline + acide clavulamique : 20µg +10µg) **Cip** : Ciprofloxacine (5µg)

Toutes ces souches ont manifestées une résistance même aux fortes concentrations 200 mg/ml.

Même par contact direct avec les extraits lyophilisés, les souches restent insensibles. Ce qui signifie que ces extraits n'ont aucun effet bactéricide sur ces souches.

#### 4-3-5 Résultats de l'activité antifongique sur *Candida albicans*

Nous avons utilisé une souche de *Candida albicans* isolée d'un prélèvement vaginal et une souche de référence ATCC 10231 de *Candida albicans* provenant de l'Institut Pasteur (Paris).

La Nystatine 100UI a été utilisée comme l'antifongique de référence.

**Les résultats sont indiqués dans les tableaux ci-après.**

**Tableau XXXIII:** Résultats des tests antifongiques avec le macéré aqueux

	Macéré aqueux	Nystatine 100UI	Concentrations					
			20mg/ml	40mg/ml	80mg/ml	160mg/ml	320mg/ml	640mg/ml
<b>Observation</b>	–	+++	–	–	–	–	–	–
<b>Diamètre d'inhibition (mm)</b>	0	15 ± 2	0	0	0	0	0	0

**Tableau XXXIV:** Résultats des tests antifongiques avec l'extrait hydro-alcoolique

	Hydro-alcoolique	Nystatine 100UI	<b>Concentrations</b>					
			20mg/ ml	40mg/ ml	80mg/ ml	160mg/ ml	320mg/ ml	640mg/ ml
<b>Observation</b>	-	+++	-	-	-	-	-	-
<b>Diamètre d'inhibition (mm)</b>	0	15 ± 2	0	0	0	0	0	0

**Tableau XXXV: Résultats des tests antifongiques avec le décocté aqueux**

	Décocté	Nystatine 100UI	Concentrations					
			20mg/ ml	40mg/ ml	80mg/ ml	160mg/ ml	320mg/ ml	640mg/ ml
<b>Observation</b>	-	+++	-	-	-	-	-	-
<b>Diamètre d'inhibition (mm)</b>	0	15 ± 2	0	0	0	0	0	0

**Tableau XXXVI : Résultats du test antifongique avec l'extrait méthanolique**

	Extrait Méthano- lique	Nystatine 100UI	Concentrations					
			20mg/ ml	40mg/ ml	80mg/ ml	160mg/ ml	320mg/ ml	640mg/ ml
<b>Observation</b>	-	+++	-	-	-	-	-	-
<b>Diamètre d'inhibition (mm)</b>	0	15 ± 2	0	0	0	0	0	0

(+++)= Présence d'activité anticandidosique

(-)= Absence d'activité anticandidosique

(0) = Absence de diamètre

La Nystatine 100UI utilisée a donné un diamètre d'inhibition de 15 mm tandis qu'avec nos extraits nous n'avons pas noté d'inhibition.

## **COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS**



# Commentaires et discussions

## I- Limite de l'étude

Par insuffisance d'animaux, notre étude a été limitée à deux extraits pour l'étude pharmacologique. Pour la même raison, le nombre d'essai de l'étude anti-inflammatoire n'a pu être répétée que de trois fois.

## II- Phytochimie

Notre thème de recherche a porté sur l'étude des propriétés pharmaco-chimiques des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) du Mali.

Il a consisté en la recherche des composés chimiques majeurs, des activités toxicologique, anti-inflammatoire antioxydante, antibactérienne, antifongique.

L'étude phytochimique des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait.

récoltées au Mali a révélé la présence de caroténoïdes, de stéroïdes, d'hétérosides cardiotoniques, d'hétérosides triterpéniques, de saponosides, d'oses et d'holosides et de polyuronides (mucilages).

La présence de composés triterpéniques et stéroïdiques a été mise en évidence en utilisant le  $\beta$ -sitostérol comme témoin. La révélation avec le réactif de Lieberman sur plaque CCM.

Les CCM réalisées avec les réactifs appropriés nous ont permis de confirmer les résultats du screening phytochimique.

Contrairement aux résultats rapportés par Al – Yahia (1986), Malick (1979), Salet et al. (1993) que toutes les parties de la plante contiendraient des cardénolides, des alcaloïdes, des saponines, des stérols et triterpènes, des coumarines, des tanins et des flavonoïdes, nous n'avons identifié ni alcaloïdes ni les tanins ni flavonoïdes.

Ouédraogo (2001) a révélé la présence des alcaloïdes, des saponines, des stérols et triterpènes (sous forme hétérosidique) dans le macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* du Burkina Faso.

Cette différence pourrait s'expliquer par les facteurs climatiques et édaphiques c'est-à-dire le milieu ou le sol dans lequel les racines ont été récoltées. Ces facteurs sont d'une importance capitale dans les biosynthèses végétales (Millogo, 1992).

L'absence de certains composés (alcaloïdes, tanins et flavonoïdes) dans les écorces de racines pourrait s'expliquer par la faiblesse de leur teneur dans les racines.

En effet, Lal et al. (1985) rapportent que les racines de *Calotropis procera* contiennent 1,66% de rutine (flavonoïde majeur dans la plante qui est la quercétine 3 – Rutinoside) alors que dans les fleurs et dans le latex, elle représente respectivement 7,63% et 9,74%.

### **III- Les effets toxicologiques aigus**

Les tests ont permis de déterminer la DL<sub>50</sub> des extraits.

La DL<sub>50</sub> du macéré est de 1197 mg/kg en 2 heures. Ce qui nous permet de le classer selon l'échelle de toxicité de Hodge et Sterner (1943) comme étant faiblement toxique. Alors que l'extrait hydro-alcoolique a donné une DL<sub>50</sub> de 493,24 mg/kg en 2 heures d'observation. Cet extrait est classé comme étant moyennement toxique selon la même échelle.

L'effet plus toxique de l'extrait hydro-alcoolique pourrait s'expliquer par le fait que les composés sont plus concentrés dans cet extrait que le macéré.

La DL<sub>50</sub> de *Calotropis procera* du Burkina Faso a été de 973 mg/kg par voie intra-péritonéale pour le macéré aqueux. Ce qui permet de le classer également comme étant faiblement toxique (Ouédraogo, 2001).

Mossa et coll. en 1991 ont trouvé que l'extrait alcoolique des parties aériennes de *calotropis procera Ait.* n'a pas provoqué de mort ou de symptômes d'intoxication jusqu'à la dose de 3g/kg par voie orale.

Les indices de sécurité (IS) des deux types d'extraits, donnés par le rapport  $DL_{99}/DL_1$  étaient respectivement de 2,62 et de 9, indiquant ainsi la difficulté de maniabilité du macéré aqueux par rapport à l'extrait hydro-alcoolique.

La différence de ces résultats d'avec les nôtres, est due à la différence des voies d'administration et des parties utilisées pour l'étude.

La voie intrapéritonéale utilisée dans notre étude assure une meilleure biodisponibilité et serait plus favorable aux intoxications. Cependant, ce n'est pas la voie d'utilisation en traitement au niveau de la médecine traditionnelle.

Les symptômes de l'intoxication ou du toxidrome (sommolence, baisse de toute activité motrice ...) se traduisaient surtout par une atteinte neurobiologique avec une mortalité immédiate.

Le tableau de somnolence observé pourrait être dû à l'action sédatrice de nos extraits. En effet, Anton (1979) a rapporté que les composés terpéniques que nous avons identifiés dans nos extraits étaient doués de propriétés sédatives.

L'activité spasmogène du macéré aux fortes doses pourrait expliquer les convulsions, les dyspnée (peut-être par bronchoconstriction) constatées lors du test de toxicité générale aiguë chez la souris N.M.R.I., et aussi la relative faible activité anticholinergique du macéré (Ouédraogo, 2001).

#### **IV- Les effets anti-inflammatoires et antioxydants**

Pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, nous avons provoqué un œdème par injection d'une solution de carragénine à 1% sous l'aponévrose plantaire des souris.

Les extraits aqueux et hydro-alcoolique aux doses de 15 mg/kg, 45 mg/kg, 85 mg/kg et 170 mg /kg ont montré une activité anti-inflammatoire

dose -dépendante chez la souris. Ces extraits ont inhibé pendant au moins six heures l'œdème induit par la carragénine.

L'inhibition induite par la bétaméthasone à la dose de 2mg / kg a été maximale à la cinquième heure suivant l'administration de la carragénine. Les activités anti-inflammatoires du macéré aqueux et de l'extrait hydro-alcoolique ont la même cinétique d'action que celle de la bétaméthasone (figures 9, 10, 11 et 12).

L'activité anti-inflammatoire des extraits pourrait s'expliquer par la présence des stéroïdes, des triterpènes, des saponosides (Bruneton, 1993 ; Lompo, 1999). Cette activité anti-inflammatoire a été vérifiée sur l'œdème provoqué sur la patte du rat par la carragénine (Kumar, 1994).

Les pourcentages d'inhibition maximale de l'œdème de l'extrait aqueux ont été de 25,94%, 35,75%, 53,63%, 65,20% respectivement aux doses de 15 mg/kg, 45mg/kg, 85 mg/kg et 170 mg/kg. Par contre le pourcentage d'inhibition de la bétaméthasone à la dose de 2 mg/kg a été de 64,71%. Le macéré à 170 mg/kg a un pouvoir anti-inflammatoire légèrement supérieur à celui de la bétaméthasone.

Les pourcentages d'inhibition maximale de l'œdème avec l'extrait hydro-alcoolique ont été 26,49%, 36,39%, 63,07%, 73,93% respectivement aux doses de 15 mg/kg, 45 mg/kg, 85 mg/kg et 170 mg/kg tandis que l'extrait hydro-alcoolique à 170 mg/kg a montré une activité anti-inflammatoire nettement supérieure à celle de la bétaméthasone.

Les  $DI_{50}$  ont été 61,02 mg/kg pour le macéré et de 42,20 mg/kg pour l'extrait hydroalcoolique. L'extrait hydro-alcoolique est plus efficace.

Les  $DI_{50}$  étaient de l'ordre du 50<sup>ème</sup> des  $DL_{50}$  donc acceptable comme anti-inflammatoire.

Comparativement à l'étude faite par Ouédraogo en 2001 sur le macéré aqueux, les pourcentages d'inhibition maximale de l'œdème ont été de 54,60% et de 55,04% pour les doses de 85 mg/kg et de 170 mg/kg et celui de la bétaméthasone de 61,21%.

Nos résultats donnent des pourcentages d'inhibition beaucoup plus élevés que ceux rapportés par Ouédraogo en 2001.

Le macéré aqueux et l'extrait hydro-alcoolique présentent la même cinétique que la bétaméthasone.

Les extraits des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. contiennent des stéroïdes et des triterpènes dans leur constitution. Leur mécanisme d'action correspondrait à celui des AIS qui consiste à l'inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique par blocage de la phospholipase A<sub>2</sub> au niveau des phospholipides membranaires.

Les extraits aqueux (macéré, hydro-alcoolique, décocté) ont réagi positivement au test de l'activité antioxydante avec le DPPH en donnant chacun un spot de Rf voisin 0,3 ; 0,37 ; 0,36.

Cette activité peut -être dûe aux coumarines et aux caroténoïdes.

Les caroténoïdes se retrouvent souvent dans les plantes alimentaires. Le  $\beta$ -carotène qui est le caroténoïde le plus rencontré dans l'alimentation diminuerait les risques de certains cancers (Peto et al. 1981).

Les coumarines et les caroténoïdes réagiraient avec l'oxygène singulet, les radicaux peroxy, et alkoxy en captant les radicaux libres (Krinsky, 1989).

L'activité antioxydante des extraits aqueux de *Calotropis procera* confère à la plante des vertus thérapeutiques contre certaines pathologies telles que le cancer, l'athérosclérose, l'asthme..... (Chevalley, 2000).

Nos extraits ont montré un effet anti-inflammatoire et un effet antioxydant justifiant leur utilisation dans le traitement de la drépanocytose.

## **V- Les effets antimicrobiens**

Notre étude a montré que les extraits aqueux et hydro-alcoolique des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. récolté au Mali, n'ont présenté ni de propriété antibactérienne ni de propriété antifongique sur *Candida albicans*.

Kumar V. L. (2001) rapporte que le latex est utilisé comme antirhumatismal, antifongique, molluscicide, dans le traitement des affections de la peau grâce à sa richesse en composés chimiques.

Les fleurs seraient douées d'activité anti-inflammatoires et antimicrobiologiques.

**Selon le même auteur, les fleurs sont surtout riches en anthocyanosides et en carbures. Ces composés seraient sans doute responsables de l'activité anti-microbiologique. L'absence de ces composés dans nos extraits pourrait expliquer leur inefficacité sur les germes.**

Selon Dieye et coll. (1993) l'extrait aqueux de l'écorce possède un pouvoir antitussif.

Larhsini et Coll. (2001) rapportent l'activité antibactérienne des fleurs.

La différence de nos résultats d'avec la littérature pourrait s'expliquer par la différence des composés chimiques au niveau des organes aériens et des organes souterrains.

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

## CONCLUSION

**L'étude phytochimique des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. récoltées au Mali, a révélé la présence de stéroïdes, d'hétérosides triterpéniques, d'hétérosides cardiotoniques, de coumarines, de caroténoïdes (traces), d'oses, d'holosides et de mucilages.**

Les rendements des extractions de *calotropis procera* Ait. ont été 24,34%, 15,18%, 10,19% pour le macéré aqueux, l'extrait hydro-alcoolique, le Décocté. Les solvants organiques ont donné comme rendement 1,33%, 1,84%, 4,93%, 5,03% et 9,67% respectivement pour l'extrait au n-hexane, l'extrait au dichlorométhane, l'extrait méthanolique, la digestion (eau 50°C) et la décoction (100°C).

Ces données montrent que les formes utilisées par les tradipraticiens donnent les meilleurs rendements.

La dose létale 50% (DL<sub>50</sub>) du macéré chez la souris par voie intrapéritonéale a été de 1197 mg/ kg.

**Cette DL<sub>50</sub> fait du macéré aqueux une substance faiblement toxique selon l'échelle de toxicité de Hodge et Sterner.**

La dose létale 50% (DL<sub>50</sub>) de l'extrait hydro-alcoolique chez la souris par voie intrapéritonéale a été de 493,24 mg/kg. Selon l'échelle de toxicité de Hodge et Sterner, cet extrait se classe comme une substance moyennement toxique.

Les symptômes d'intoxication se sont caractérisés par des signes neurobiologiques.



Le macéré aqueux, l'extrait hydro-alcoolique, le décocté, l'extrait méthanolique des écorces de racines de *calotropis procera* Ait. n'ont présenté ni une activité antibactérienne ni une activité antifongique sur *candida albicans*.

Les extraits ont présenté une faible activité antioxydante.

Les extraits aqueux et hydro-alcoolique des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. ont présenté une activité anti-inflammatoire dose- dépendante.

**La maximale a été atteinte à la cinquième heure après l'administration de la carragénine. Aux doses de 15 mg/kg , 45 mg/kg, 85 mg/kg, 170 mg/kg du macéré aqueux, les pourcentages d'inhibition de l'oedème inflammatoire ont été de 25,94% ; 35,75% ; 53,63% ; 65,20% tandis que l'extrait hydro-alcoolique, aux mêmes doses a donné 26,49% ; 36,39% ; 63,07% ; 73,93%.**

*Calotropis procera* Ait. est une plante utilisée dans le traitement des affections courantes.

C'est ainsi que sur des bases pharmaco-chimiques, les écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. entrent dans la formulation du FACA qui est un phytomédicament antidrèpanocytaire par son activité myorelaxante, antifalcémiant et anti-inflammatoire.

L'activité anti-inflammatoire de *Calotropis procera* Ait. que nous avons mise en évidence contribue à l'activité antidrèpanocytaire du FACA.

Nos résultats montrent que l'activité anti-inflammatoire de *Calotropis procera* Ait. (Mali) semble plus marquée comparativement aux résultats des travaux sur l'activité anti-inflammatoire de *Calotropis procera* Ait. (Burkina).

Comme perspectives, nous suggérons des études complémentaires afin :

- **d'isoler le ou les principe (s) actif (s) responsables des différentes activités pharmacologiques.**

- **d'étudier la toxicité chronique du macéré aqueux et de l'extrait hydro-alcoolique.**
- **d'étudier les activités antibactériennes et antifongiques des extraits organiques**

## **RECOMMANDATIONS**

## RECOMMANDATIONS

- Poursuivre l'étude des propriétés pharmacologiques de *Calotropis procera* du Mali.
- **Envisager la culture des plantes entrant dans la fabrication des phytomédicaments.**
- **Assurer une libre circulation des phytomédicaments au-delà même des frontières en vue du traitement des maladies courantes des populations.**
- Renforcer les politiques nationales en matière de Médecine et Pharmacopée Traditionnelles afin d'encourager la coopération sous - régionale et Africaine.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Adjanohoun E.J., Adjakidje V., Ahyi M.R.A, Aké Assi.L., Dan Dicko L., Daouda H., Delmas M., De Souza S., Garba M., Guinko S., Kayongo A., N'golo D., Raynal J-L. Saadou M. (1985) **Médecine traditionnelle et pharmacopée : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger. 2<sup>ème</sup> édition. Paris: ACCT, 142p.**
- 2- Al-Yahya. M.A. (1986): **Phytochemical studies of the plants used intraditional medicine of Saudi Arabia. Fitoterapia, 179 – 182.**
- 3- Azèle Ferron (1984): **Bactériologie médicale, 12<sup>ème</sup> édition, 376p.**
- 4- Arbonnier (2002) : **Arbres, Arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'ouest, CIRAD, 2<sup>ème</sup> édition, 160-165.**
- 5- Basu A, Sent T, Ray R N, Chaudhuri AK N. (1992): **Hepatoprotective effects of *Calotropis procera* root extract on experimental liver damage in animals. Fitoterapia, Vol.63 (6), 507-514.**
- 6- Berhaut J. (1967): **Flore du Sénégal, 2<sup>e</sup> édition Clairafrique Dakar, 485p.**
- 7- Berhaut J. (1971) : **Flore illustrée du Sénégal, Tome I, Dakar, 626p.**
- 8- Bossokpi Igor Passi Lysette (2002): **Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloïdes* Lam. (Rutaceae). Thèse doctorat de pharmacie, FMPOS de Bamako, 133p.**
- 9- Burkill, H.M. (1991): **The useful plants of west tropical Africa, Royal Botanic. Garden Kew, 2<sup>ème</sup> Edition, Vol 2.**
- 10- Bruneton J. (1993): **Phytochimie, plantes médicinales, 2<sup>ème</sup> éd, Paris, Lavoisier, 915p.**
- 11- Chevalley, I. (2000) : **Contribution à l'étude phytochimique des Saxifracées : isolement d'antioxydants à partir de *Saxifraga stellaris* L. et *Saxifraga cuneifolia* et d'un composé antifongique de *Ribes rubrum* L. Thèse, doctorat, Lausanne, 175p.**
- 12- Cohen Y. (1986) : **Abrégé de pharmacologie Masson 2<sup>e</sup> édition. Mexico, 240-265.**
- 13- Colo, M. (1972) : **Notions et techniques de pharmacologie générale. Ed. Masson et Cie, Paris. 231p.**

- 14- Claude (1988): **Investigations toxicologiques pour un nouveau médicament. Dans : Giroud J. P et Coll., Ed. Pharmacologie clinique / bases de la thérapeutique. 2<sup>ème</sup> édition. Paris : Expansion scientifique française, 3-14.**
- 15- Dembélé M. F. (2001): **Etude pharmacothérapeutique du phytomédicament antidrèpanocytaire FACA : Propriétés pharmacologiques chez l'animal et efficacité thérapeutique chez l'enfant drèpanocytaire au CHN YO de Ouagadougou. Thèse doctorat de pharmacie, UFR/SDS université de Ouagadougou, 106p.**
- 16- Dieye A. M, Tidjani M.A, Diouf A, Bassene E, Faye B. (1993): **Pharmacopée sénégalaise : étude de la toxicité aiguë et de l'activité antitussive de *Calotropis procera* Ait.( Asclepediaceae ). Dakar médical ; 69-72.**
- 17- Devan S., Kumar Set al. (2002): **Antipyretic effect of latex of *Calotropis procera*. Journal of ethnopharmacology, vol 32 (3), 252p.**
- 18- Devan S.Sangraula H. et al. (2000) : **Preliminary studies on the analgesic activity of the latex of *Calotropis procera*. Journal of ethnopharmacology, vol.73, 307-311.**
- 19- Elghozi J., Dominique Duval (1987): **Aide mémoire de pharmacologie, Flammarion, 319p.**
- 20-G.R.I.P.T. (2001) : "Groupe de recherche et d'information sur la pharmacopée et l'environnement Tropical " Association Loi 1901: Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines, Volume 15.**
- .
- 21- Hans - Dieter Neuwinger (1990): Poisons and Drugs: Chemistry- Pharmacology-Toxicology. African Ethnobotany, 2ème Edition, 224-235.**
- 22-Hermann, D. (1992): **Free medical reactions in aging and disease drug. New perspectives 5, 461- 466.**
- 23- Hodge et Sterner (1943): **Determination of substances acute toxicity by LD50. American Industrial Hygien Association 10:93.**
- 24-Kerharo J., Adam J. G.(1974) : **la Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle : plantes médicinales et toxiques. Edition. Vigot Frères, Paris, 1011p.**
- 25- Kerhaut J. (1974): **Flore illustrée du Sénégal, Tome II 1974, 315-316.**

**26-Ki-Zerbo J. (1977) : (Secrétaire général du CAMES): Médecine Traditionnelle et Pharmacopée Africaine, Kigali Rwanda, 318p.**

**27-Koussoubé, (2004) : Etude de l'activité analgésique du phytomédicament FACA en comparaison avec celle de ses composantes : *Fagara zanthoxyloïdes* Lam. (Rutaceae) et *Calotropis pocera* Ait. (Asclepiadaceae). Thèse doctorat de pharmacie, UFR/SDS université de Ouagadougou, 99p.**

**28-Koudougou K. (2000): Etude de la chimie et de l'activité antimycosique des extraits de *Biophytum petersianum* Klotzsch (Oxalidaceae). Thèse doctorat de pharmacie, UFR/SVT université de Ouagadougou, 70p.**

**29-Koudougou, (2004): Etude de l'activité antipyrétique du phytomédicament FACA en comparaison avec celle de ses composantes : *Fagara zanthoxyloïdes* Lam. (Rutaceae) et *Calotropis pocera* Ait. (Asclepiadaceae). Thèse doctorat de pharmacie, UFR/SDS université de Ouagadougou, 80p.**

**30- Kumar V.L.,Basu N.(1994): Anti-inflammatory activity of the latex of of *Calotropis procera*. Journal of ethnopharmacology, Vol. 44 (2)123-125.**

**31-Krinsky, N.I., (1989): Antioxydant functions of carotenoids. Free rad. Biol. Med. 7, 617- 635.**

**32-Larhsini M., Oumoulid (1999): Screening of antibacterial and antipyretic activities of Moroccan medicinal plants. Therapy London. Vol. 54 (6), 763-765.**

**33- LE M. (1997): Insecticidal activity of *Calotropis pocera* extracts of the flesh fly, *Sarcophaga haemorrhoidalis* fallen. J Egypt Soc parasitol ; Vol 27 (2): 505- 514.**

**34- Lengani A., I. P. Guissou : Toxicologie des Remèdes Traditionnels au Burkina Faso : Insuffisance Renale Aiguë et Plantes Médicinales. Annales de l'Université de Ouagadougou, Série B, Vol 5 : 111- 118.**

**35- Lompo M., Guissou I. P., Somé N. (1998) : Evaluation de la toxicité générale aiguë de <<FACA>> antidrépanocytaire. Pharm. Med. Trad. Afr., 10 :55-62**

**36- Mascolo N.,Sharma R.,Jain SC., Cappasso F. (1988) : ethnopharmacology of *Calotropis procera* flowers. Journal of ethnopharmacology ; Vol.22 (2) 211-221.**

- 37- Maydell, Hans-Jürgen von (1990):** Arbres et Arbustes du Sahel : leurs caractéristiques et leurs utilisations. Version française : Jean-Bernard Chappuis...J.-Weikersheim : Margraf, ISBN 3-8236-1197-6.
- 38- Millogo H. (1992) :** Contribution à l'étude chimique et microbiologique de *Holarrhena floribunda* (G. Don) Dur. et Schinz (Apocynaceae) : étude de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes et leur évaluation toxicopharmacologique, thèse de doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. 117p.
- 39- Mossa et Coll. (1991):** Pharmaological studies on aerial parts of *Calotropis procera*. American journal of Chinese medicine ; 19: 223-31.
- 40- Müller, K. (1992):** Freie radicale : Bedeutung in Pathophysiologie und therapie. Dtsch. Apoth. Ztg 132, 1473- 1482.
- 41- Nacoulma née Ouédraogo G. O. (1996):** plantes médicinales et pratiques médicinales traditionnelles au Burkina Faso. Cas du plateau central. Thèse de doctorat ès sciences naturelles. FA.S.T Ouagadougou. Tome I et II, 605p.
- 42- Najada S. (2000):** Etude de l'activité antibactérienne d'*Acacia nilotica* Var *adansonii* (Guill. Et Perr.)-Mimosaceae. Thèse de Doctorat en pharmacie : Ouagadougou, FSS, N°12. Thèse doctorat de pharmacie, UFR/SDS université de Ouagadougou 55p.
- 43- Ouattara Alain (1991):** Approche thérapeutique de la maladie drépanocytaire. Etude préliminaire comparée du traitement par une présentation galénique moderne de deux plantes : *Fagara xanthoxyloïdes* lam. *Calotropis procera* Ait. et d'un médicament usuel de référence : la Dihydroergotoxine au centre hospitalier national Yalgado Ouédraogo de Ouagadougou. Thèse de médecine Ouagadougou. ESSA, 19-97.
- 44- Ouédraogo M. (2001): Etude pharmacochimique du macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. utilisées en phytothérapie de la maladie drépanocytaire au Burkina Faso. Thèse doctorat de pharmacie, UFR/SDS université de Ouagadougou, 89p.**
- 45- Parvais M.P. (2000) :** Etude ethnobotanique de plantes utilisées pour le traitement de la drépanocytose au Burkina Faso. Mém. Pharm. Bruxelles 73p.
- 46- Pousset J. (2004) :** Plantes médicinales d'Afrique : Comment les reconnaître et les utiliser, Secum / Edisud Paris, 287p.



47- Rageau J. (1973): **Travaux et documents de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre-Mer (ORSTOM) N°23 : les plantes médicinales de la Nouvelle-Calédonie, Paris, 139p.**

48- **Rajput ,A. P. (2002):** Screening of active principles from a few medicinal plants. Department of chemistry , jai Hind College, Dhule, India. Asian Journal of chemistry, 14 (2), 795-798.

49- **Rajput, A. P., Yadav, S.S. ( 2001):** Medico-botanical and phytochemical studies on medicinal plants of Dhule and Nandurbar districts of Maharashtra state. Journal of phytological Research, 13 (2), 161-166.

50- **Sangaré A. (1991):** Conduite à tenir devant une crise aiguë drépanocytaire. In : Drépanocytose et santé publique. Paris :Inserm

51- **Schorderet M. (1992) :** Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Editions FRISON – ROCHE. (PARIS) et SLATKINE (GENEVE). 2ème Ed.,529 -561.

52- **Schorderet M. (1998) :** Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Editions FRISON – ROCHE. (PARIS) et SLATKINE (GENEVE). 3ème Ed., 569 -589.

53- **Sen T, Basu A, Chaudhuri A K. (1988):** Studies on the possible mechanism of the gastric mucosal protection by *Calotropis pocera* involvement of 5-lipoxygenase pathway. Fundam clin pharmacol; 12 (1):82- 87.

54- **Sinon Lassane ( 2001 ):** Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de *Dichrostachys cinerea* (L). Wight et ARN (Mimosaceae).Thèse doctorat de pharmacie, UFR/SDS université de Ouagadougou, 80p.

55- **Soma (2002) :** Activité antibactérienne des extraits d'*Euphorbia hirta* (Linn), une plante utilisée traditionnellement dans le traitement des infections urinaires. Thèse de pharmacie, université de Ouagadougou, 2 -27.

56-**Vanbreusegehem R., De Vroey Ch. Tahafhid M. (1978):** guide pratique de mycologie médicale et vétérinaire. Paris. Edition Masson.

57- **Vohora SB, Khanna T, Athar M, Ahmad B. (1997):** Analgesic activity of bacosine, a new triterpene isolated from *Bacopamonnieri*. Fitoterapia ; LXVIII N°4:361- 5.

# ANNEXES

# ANNEXES

## 1- Etude de l'activité anti-inflammatoire du macéré aqueux

Vi = volume initial de la patte avant l'injection de la carragénine.

Vih = Volume de la patte à la i ème heure après l' injection de la carragénine

**Tableau I** : Volume des pattes du lot 1 ou lot témoin témoin

N° Souris	Vi	V1h	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,20	0,28	0,28	0,36	0,39	0,38	0,34
2	0,24	0,33	0,34	0,38	0,43	0,39	0,34
3	0,26	0,38	0,41	0,43	0,44	0,39	0,34
4	0,24	0,36	0,36	0,37	0,39	0,37	0,33
5	0,26	0,32	0,38	0,43	0,44	0,39	0,37
6	0,21	0,37	0,37	0,39	0,43	0,4	0,36
<b>Moyenne</b>	0,24	0,34	0,36	0,39	0,42	0,4	0,3
<b>Ecart-type</b>	0,02	0,03	0,04	0,03	0,02	0,01	0,01

**Tableau II** : Pourcentages d'augmentation du volume des pattes du lot 1 ou lot témoin

N° Souris	Poids (g)	P 1h	P2h	P3h	P4h	P5h	P6h
1	40	40	40	80	95	90	70
2	42	37,5	41,67	58,33	79,2	62,5	41,67
3	42	46,15	57,69	65,38	69,2	50	30,77
4	42	50	50	54,17	62,5	54,17	37,5
5	46	23,08	46,15	65,38	69,2	50	42,31
6	39	76,19	76,19	85,71	104,8	90,48	71,43
<b>Moyenne</b>	41,83	45,49	51,95	68,16	80	66,2	48,9
<b>Ecart-type</b>	2,19	16,12	12,29	11,23	16,47	17,51	15,85

**Tableau III** : Volume des pattes du lot 2 ou lot de référence (Bétaméthasone 2 mg/kg)

N° Souris	Vi	V1h	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,25	0,36	0,36	0,37	0,35	0,33	0,34
2	0,21	0,3	0,3	0,36	0,34	0,3	0,32
3	0,25	0,34	0,34	0,4	0,39	0,33	0,33
4	0,23	0,33	0,33	0,35	0,34	0,28	0,29
5	0,26	0,37	0,37	0,39	0,4	0,27	0,29
6	0,26	0,38	0,38	0,42	0,4	0,28	0,30
<b>Moyenne</b>	0,24	0,35	0,35	0,38	0,4	0,30	0,31
<b>Ecart-type</b>	0,02	0,03	0,03	0,02	0,03	0,02	0,02

**Tableau IV** : Pourcentages d'augmentation du volume des pattes du lot 2 ou lot de référence ( Bétaméthasone à 2mg/kg)

N° Souris	Poids (g)	P 1h	P2h	P3h	P4h	P5h	P6h
<b>1</b>	42,00	44,00	48,00	48,00	40	32	36
<b>2</b>	45,00	42,86	47,62	71,43	61,9	42,86	52,38
<b>3</b>	45,00	36,00	40,00	60,00	56	32	32
<b>4</b>	42,00	46,48	47,83	52,17	47,83	21,74	26,09
<b>5</b>	40,00	42,31	46,15	50	53,85	3,85	11,54
<b>6</b>	39,00	46,15	53,85	61,54	53,85	7,69	15,38
<b>Moyenne</b>	42,16	42,47	47,23	57,19	52,24	23,36	28,9
<b>Ecart-type</b>	2,27	3,13	4,05	8,07	6,86	13,89	13,56

**Tableau V** : Volume des pattes du lot 3 (macéré aqueux à la dose de 15 mg/kg)

N° Souris	Vi	V1h	V2	V3h	V4	V5	V6
<b>1</b>	0,23	0,35	0,36	0,4	0,42	0,36	0,35
<b>2</b>	0,28	0,4	0,42	0,43	0,43	0,35	0,3
<b>3</b>	0,25	0,36	0,38	0,43	0,45	0,39	0,38
<b>4</b>	0,28	0,36	0,37	0,41	0,45	0,38	0,39
<b>5</b>	0,27	0,4	0,42	0,44	0,46	0,4	0,39
<b>6</b>	0,22	0,34	0,35	0,42	0,46	0,38	0,31
<b>Moyenne</b>	0,26	0,37	0,38	0,42	0,43	0,38	0,35
<b>Ecart-type</b>	0,02	0,02	0,03	0,01	0,02	0,02	0,04

**Tableau VI** : Pourcentage d'augmentation des pattes du lot 3 ( macéré aqueux à 15mg/kg)

N° Souris	Poids (g)	P1	P2	P3h	P4h	P5h	P6h
<b>1</b>	46,00	52,17	56,52	73,91	82,61	56,52	52,17
<b>2</b>	48,00	42,86	50,00	53,57	53,57	25,00	7,14
<b>3</b>	39,00	44,00	52,00	72,00	80,00	56,00	52,00
<b>4</b>	45,00	28,57	32,14	46,43	60,710	35,71	39,29
<b>5</b>	46,00	48,15	55,56	62,96	70,37	48,15	44,44
<b>6</b>	40,00	54,55	59,09	90,91	109,09	72,73	40,91
<b>Moyenne</b>	44,00	45,05	50,89	66,63	76,06	49,02	39,33
<b>Ecart-type</b>	3,32	8,45	8,89	14,51	17,9	15,39	15,22

**Tableau VII:** Volume des pattes du lot 4 (macéré aqueux à la dose de 45 mg/kg)

N° Souris	Vi	V1h	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,26	0,36	0,37	0,38	0,39	0,36	0,35
2	0,24	0,32	0,33	0,36	0,37	0,31	0,31
3	0,20	0,32	0,33	0,36	0,38	0,34	0,34
4	0,22	0,32	0,35	0,39	0,4	0,37	0,36
5	0,23	0,34	0,35	0,39	0,4	0,37	0,3
6	0,26	0,37	0,38	0,44	0,45	0,4	0,3
<b>Moyenne</b>	0,24	0,34	0,35	0,39	0,40	0,36	0,33
<b>Ecart-type</b>	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02

**Tableau VIII** Pourcentage d'augmentation des pattes du lot 4 ( macéré aqueux à 45mg/kg)  
:

N° Souris	Poids (g)	P1	P2	P3h	P4h	P5h	P6h
1	47,00	38,46	42,31	46,15	50,00	38,46	34,62
2	42,00	33,33	37,50	50,00	54,17	29,17	29,17
3	39,00	60,00	65,00	80,00	90,00	70,00	70,00
4	44,00	45,45	59,09	77,27	81,82	68,18	63,64
5	44,00	47,83	52,17	69,57	73,91	60,87	30,43
6	44,00	42,31	46,15	69,23	73,08	53,85	15,33
<b>Moyenne</b>	43,33	44,56	50,37	65,37	70,50	53,42	40,54
<b>Ecart-type</b>	2,43	8,35	9,50	12,87	14,22	15,06	19,58

**Tableau IX** : Volume des pattes du lot 5 ( macéré aqueux à la dose de 85mg/kg)

N° Souris	Vi	V1h	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,23	0,28	0,32	0,35	0,36	0,31	0,31
2	0,26	0,45	0,48	0,49	0,47	0,41	0,39
3	0,24	0,3	0,31	0,36	0,35	0,29	0,3
4	0,27	0,47	0,37	0,38	0,37	0,35	0,36
5	0,26	0,3	0,37	0,41	0,4	0,33	0,34
6	0,28	0,42	0,44	0,45	0,44	0,32	0,333
<b>Moyenne</b>	0,26	0,37	0,38	0,41	0,40	0,34	0,34
<b>Ecart-type</b>	0,02	0,08	0,06	0,05	0,04	0,04	0,03

**Tableau X** : Pourcentages d'augmentation du volume des pattes du lot 5 ( macéré aqueux à 85mg/kg)

N° Souris	Poids (g)	P 1h	P2h	P3h	P4h	P5h	P6h
1	40	21,74	39,13	52,17	56,52	34,78	34,78
2	45	73,08	84,62	88,46	80,77	57,69	50
3	40	25	29,17	50	45,83	20,83	25
4	39	74,07	37,04	40,74	37,04	29,63	33,33
5	44	15,38	42,31	57,69	53,85	26,92	30,77
6	45	50	57,14	60,71	57,14	14,29	18,93
<b>Moyenne</b>	42,16	43,21	48,23	58,3	55,19	30,69	32,14
<b>Ecart-type</b>	2,54	24,01	18,3	14,89	13,41	13,71	9,62

**Tableau XI** : volume des pattes du lot 6 (macéré aqueux à la dose de 170mg/kg)

N° Souris	Vi	V1h	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,20	0,3	0,3	0,33	0,32	0,26	0,28
2	0,21	0,28	0,29	0,3	0,29	0,26	0,27
3	0,25	0,35	0,36	0,36	0,34	0,29	0,3
4	0,20	0,31	0,32	0,33	0,31	0,26	0,27
5	0,22	0,3	0,33	0,37	0,36	0,28	0,29
6	0,27	0,36	0,37	0,38	0,37	0,3	0,31
<b>Moyenne</b>	0,23	0,32	0,33	0,35	0,33	0,28	0,29
<b>Ecart-type</b>	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,01

**Tableau XII** : Pourcentage d'augmentation du volume des pattes du lot 6 (macéré aqueux à 170mg/kg)

N° Souris	Poids (g)	P 1h	P2h	P3h	P4h	P5h	P6h
1	40	50	50	65	60	30	40
2	40	33,33	38,1	42,86	38,1	23,81	28,57
3	46	40	44	44	36	16	20
4	40	55	60	65	55	30	35
5	40	36,36	50	68,18	63,64	27,27	31,82
6	44	33,33	37,04	40,74	37,04	11,11	14,81
<b>Moyenne</b>	42,66	41,34	46,52	54,3	48,29	23,03	28,37
<b>Ecart-type</b>	2,46	8,33	7,89	11,85	11,54	7,16	8,61

## 2-Résultats du test anti-inflammatoire avec l'extrait hydro-alcoolique

V<sub>0</sub>= Volume de la patte avant injection de la carragénine.

V<sub>i</sub>= Volum de la patte à la ième heure après injection de la carragénine.

**Tableau XIII:** Evolution du volume des pattes du lot 1 ou témoin témoin

N° Souris	V <sub>i</sub>	V1h	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,25	0,39	0,44	0,46	0,5	0,48	0,48
2	0,29	0,43	0,47	0,49	0,53	0,50	0,49
3	0,3	0,46	0,5	0,52	0,54	0,51	0,5
4	0,29	0,49	0,5	0,5	0,52	0,50	0,48
5	0,27	0,33	0,37	0,39	0,44	0,38	0,36
6	0,32	0,4	0,42	0,44	0,52	0,48	0,45
<b>Moyenne</b>	0,29	0,42	0,45	0,5	0,5	0,48	0,46
<b>Ecart-type</b>	0,02	0,05	0,05	0,04	0,03	0,04	0,05

**Tableau XIV:** Pourcentage d'augmentation du volume des pattes du lot 1 ou du témoin témoin

N° Souris	Poids (g)	P1h	P2h	P3h	P4h	P5h	P6h
1	43,00	56	76,00	84,00	100,00	92,00	92,00
2	47,00	48	62,10	69,00	82,76	72,00	69,00
3	44,00	53	66,70	73,30	80,00	70,00	66,70
4	47,00	69	72,40	72,40	79,31	72,00	65,50
5	43,00	22	37,00	44,40	62,96	41,00	33,30
6	49,00	25	31,30	37,50	62,50	50,00	40,60
<b>Moyenne</b>	45,50	45,63	57,60	63,40	77,92	66,26	61,20
<b>Ecart-type</b>	2,29	16,79	17,21	16,66	12,77	16,67	19,40

**Tableau XV:** Evolution du volume des pattes du lot 2 ou lot de référence (Béthaméthasone à 2mg/kg)

N° Souris	V <sub>i</sub>	V1h	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,26	0,38	0,39	0,4	0,38	0,3	0,32
2	0,26	0,43	0,45	0,46	0,44	0,4	0,42
3	0,28	0,36	0,4	0,41	0,39	0,39	0,4
4	0,28	0,37	0,39	0,4	0,38	0,3	0,32
5	0,27	0,37	0,4	0,41	0,39	0,3	0,33
6	0,29	0,4	0,45	0,46	0,42	0,3	0,3
<b>Moyenne</b>	0,27	0,39	0,41	0,42	0,40	0,33	0,35
<b>Ecart-type</b>	0,01	0,02	0,03	0,03	0,02	0,04	0,04

**Tableau XVI:** Pourcentage d'augmentation du volume des pattes du lot 2 ou lot de référence (Bétaméthasone à 2mg/kg)

N° Souris	Poids (g)	P1h	P2h	P3h	P4h	P5h	P6h
1	45,00	46,15	50,00	53,85	46,15	15,38	23,08
2	41,00	65,38	73,08	76,92	69,23	53,85	61,54
3	45,00	28,57	42,86	46,43	39,29	39,29	42,86
4	46,00	32,14	39,29	42,86	35,71	7,14	14,29
5	42,00	37,04	48,15	51,85	44,44	11,11	22,22
6	44,00	37,93	55,17	58,62	44,83	3,45	3,45
<b>Moyenne</b>	43,83	41,20	51,42	55,09	46,61	21,70	27,90
<b>Ecart-type</b>	1,77	12,10	10,93	11,00	10,74	18,44	19,12

**Tableau XVII:** Volume des pattes du lot 3 (extrait hydro-alcoolique à 15mg/kg)

N° Souris	Vi	V1	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,2	0,29	0,34	0,35	0,36	0,31	0,3
2	0,23	0,34	0,36	0,37	0,38	0,35	0,29
3	0,2	0,29	0,31	0,32	0,34	0,3	0,31
4	0,21	0,32	0,35	0,36	0,39	0,36	0,37
5	0,21	0,32	0,32	0,34	0,36	0,3	0,31
6	0,21	0,3	0,29	0,3	0,36	0,3	0,31
<b>Moyenne</b>	0,21	0,31	0,33	0,34	0,37	0,32	0,32
<b>Ecart-type</b>	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03

**Tableau XVIII:** Pourcentage d'augmentation du volume des pattes du lot 3 (extrait hydro-alcoolique à 15mg/kg)

N° Souris	Poids (g)	P1h	P2h	P3h	P4h	P5h	P6h
1	39,00	45,00	70,00	75,00	80,00	55,00	50,00
2	40,00	47,83	56,52	60,87	65,22	52,17	26,09
3	39,00	45,00	55,00	60,00	70,00	50,00	55,00
4	39,00	52,38	66,67	71,43	85,71	71,43	76,19
5	40,00	52,38	52,38	61,90	71,43	42,86	47,62
6	42,00	42,86	38,10	42,86	71,43	42,86	47,62
<b>Moyenne</b>	39,83	47,57	56,44	62,01	73,96	52,39	50,42
<b>Ecart-type</b>	1,07	3,69	10,36	10,24	6,83	9,63	14,68



**Tableau XIX:** Volume des pattes du lot 4 (extrait hydro-alcoolique à 45mg/kg)

N° Souris	Vi	V1	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,29	0,45	0,48	0,5	0,51	0,48	0,5
2	0,27	0,35	0,38	0,39	0,4	0,35	0,37
3	0,3	0,45	0,48	0,49	0,5	0,43	0,43
4	0,28	0,37	0,4	0,42	0,44	0,39	0,4
5	0,28	0,43	0,45	0,46	0,46	0,40	0,4
6	0,31	0,45	0,47	0,48	0,49	0,41	0,42
<b>Moyenne</b>	0,29	0,42	0,44	0,46	0,47	0,41	0,42
<b>Ecart-type</b>	0,01	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04

**Tableau XX** Pourcentage d'augmentation du volume des pattes du lot 4 (extrait hydro-alcoolique à 45mg/kg)

N° Souris	Poids (g)	P1h	P2h	P3h	P4h	P5h	P6h
1	42,00	55,17	65,52	72,41	75,86	65,52	72,41
2	43,00	29,63	40,74	44,44	48,15	29,63	37,04
3	48,00	50,00	60,00	63,33	66,67	43,33	43,33
4	41,00	32,14	42,86	50,00	57,14	39,29	42,86
5	44,00	53,57	60,71	64,29	64,29	42,86	42,86
6	47,00	45,16	51,61	54,84	58,06	32,26	35,48
<b>Moyenne</b>	44,17	44,28	53,57	58,22	61,69	42,15	45,66
<b>Ecart-type</b>	2,54	10,00	9,29	9,43	8,66	11,62	12,35

**Tableau XXI:** Volume des pattes du lot 5 (extrait hydro-alcoolique à 85mg/kg)

N° Souris	Vi	V1	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,30	0,4	0,46	0,47	0,38	0,31	0,36
2	0,31	0,47	0,49	0,5	0,48	0,42	0,45
3	0,30	0,45	0,47	0,48	0,46	0,39	0,45
4	0,25	0,33	0,37	0,38	0,37	0,3	0,33
5	0,29	0,41	0,43	0,45	0,44	0,39	0,41
6	0,34	0,48	0,5	0,5	0,51	0,42	0,44
<b>Moyenne</b>	0,30	0,42	0,45	0,46	0,44	0,37	0,41
<b>Ecart-type</b>	0,03	0,05	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05

**Tableau XXII:** Pourcentage d'augmentation du volume des pattes du lot 5 (extrait hydro-alcoolique à 85mg/kg)

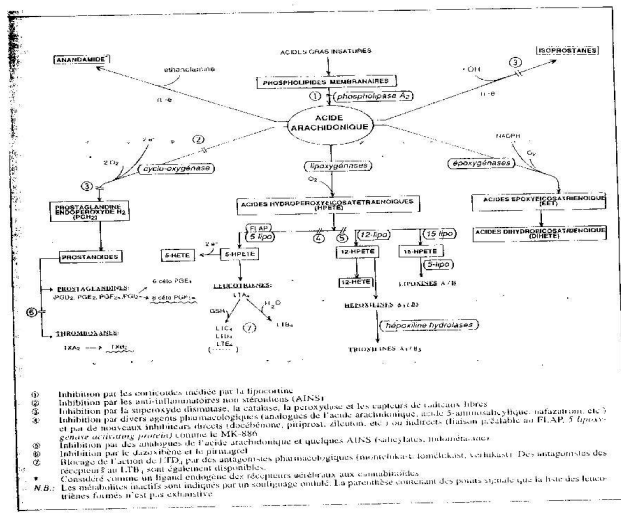
N° Souris	Poids (g)	P1h	P2h	P3h	P4h	P5h	P6h
1	46,00	33,33	53,33	56,67	26,67	3,33	20,00
2	47,00	51,61	58,06	61,29	54,84	35,48	45,20
3	47,00	50,00	56,67	60,00	53,33	30,00	50,00
4	39,00	32,00	48,00	52,00	48,00	20,00	32,00
5	48,00	41,38	48,28	55,17	51,72	34,48	41,40
6	47,00	41,18	47,06	47,06	50,00	23,53	29,40
<b>Moyenne</b>	45,67	41,58	51,90	55,36	47,43	24,47	36,30
<b>Ecart-type</b>	3,04	7,43	4,37	4,81	9,54	10,95	10,20

**Tableau XXIII:** Volume des pattes du lot 6 (extrait hydro-alcoolique à 170mg/kg)

N° Souris	Vi	V1	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,31	0,38	0,4	0,4	0,4	0,32	0,33
2	0,28	0,34	0,35	0,36	0,35	0,29	0,3
3	0,30	0,42	0,42	0,44	0,45	0,4	0,4
4	0,26	0,38	0,4	0,4	0,4	0,35	0,36
5	0,30	0,38	0,39	0,4	0,41	0,34	0,35
6	0,26	0,33	0,35	0,36	0,36	0,3	0,32
<b>Moyenne</b>	0,29	0,37	0,39	0,4	0,4	0,33	0,34
<b>Ecart-type</b>	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03

**Tableau XXIV:** Pourcentage d'augmentation du volume des pattes du lot 6 (extrait hydro-alcoolique à 170mg/kg)

N° Souris	Poids (g)	P1h	P2h	P3h	P4h	P5h	P6h
1	50,00	22,58	29,00	29,03	29,03	3,23	6,45
2	38,00	21,43	25,00	28,57	25,00	3,27	7,14
3	43,00	40,00	40,00	46,67	50,00	33,33	33,33
4	44,00	46,15	53,80	53,85	53,85	34,62	38,46
5	45,00	26,67	30,00	33,33	36,67	13,33	16,67
6	41,00	26,92	34,60	38,46	38,46	15,38	23,08
<b>Moyenne</b>	43,50	30,63	35,40	38,30	38,83	17,24	20,86
<b>Ecart-type</b>	3,69	9,20	9,49	9,28	10,35	12,67	12,14



**Figure 13** : Prostanoides et substances apparentées formées à partir de l'acide arachidonique par voie enzymatique et non enzymatique (n.-e.) (cyclo-oxygénase, lipoxygénases et époxygénases). Sites d'action des agents pharmacologiques et/ ou thérapeutiques (Schorderet M., 1998).

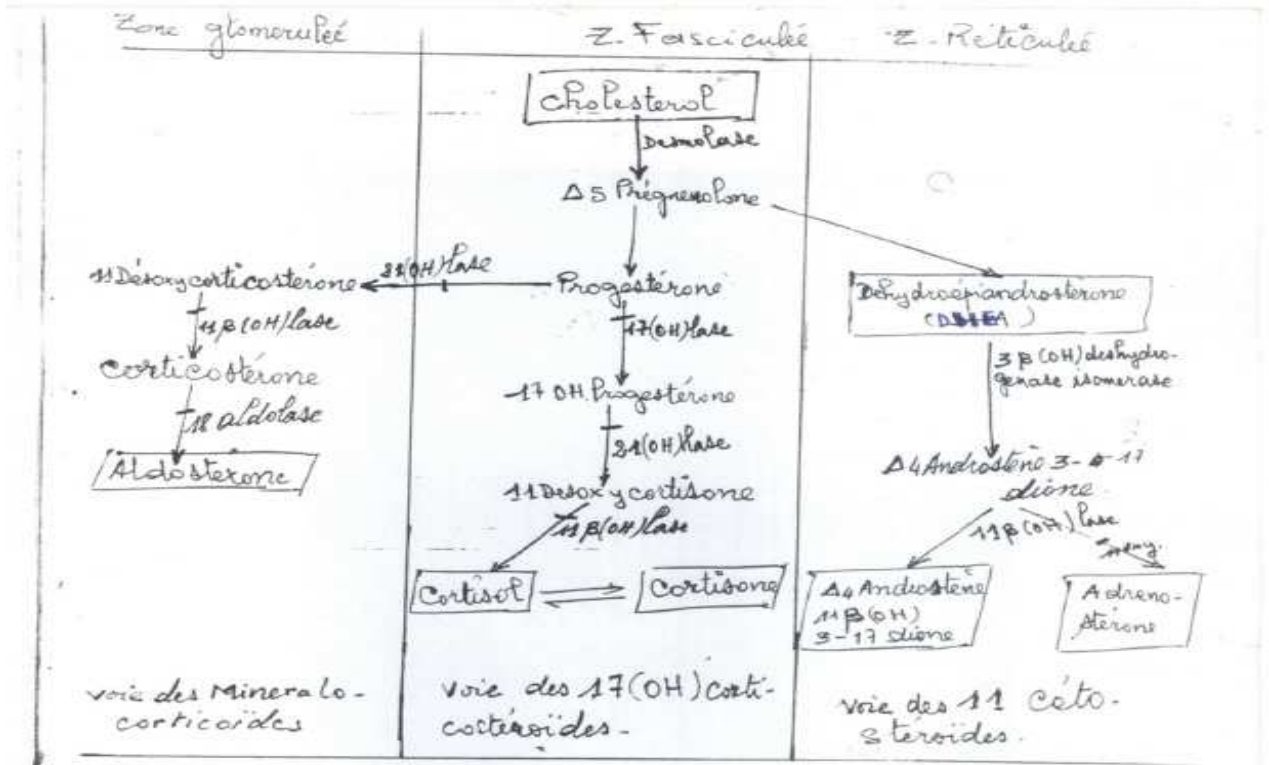


Figure 14 : Schéma de synthèse des corticoïdes

## FICHE SIGNALÉTIQUE

**TITRE :** Etude des propriétés pharmaco-chimiques des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) : Caractéristiques phytochimique, toxicologique, antibactérienne, antifongique et anti-inflammatoire.

**AUTEUR :** W. Patricia Rachel NIKIEMA

**ANNEE :** 2004

**PAYS D'ORIGINE :** Burkina Faso

**VILLE DE SOUTENANCE :** Bamako (Mali)

**LIEU DE DEPOT :** Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS) BP : 1805 Bamako (Mali).

### RESUME

Notre étude a été basée sur la détermination des propriétés pharmaco-chimique des écorces de racines *calotropis procera* Ait. Le screening phytochimique a révélé la présence de stéroïdes, d'hétérosides triterpéniques, d'hétéroïdes cardiotoniques, de coumarines, de caroténoïdes (traces), d'oses, holosides et de mucilages. La détermination de la toxicité par voie intra-péritonéale du macéré aqueux et de l'extrait hydro-alcoolique a permis d'obtenir des DL<sub>50</sub> respectives de 1197 mg/kg et 493,24 mg/kg. Ce qui permet de les classer respectivement comme faiblement et moyennement toxique selon l'échelle de Hodge et Sterner (1943).

Les extraits aqueux et alcooliques n'ont ni inhibé la croissance bactérienne ni la croissance de *Candida albicans*.

**Les extraits aqueux (macéré, décocté) et l'extrait hydro-alcoolique ont montré une faible activité antioxydante.**

**Les extraits aqueux et hydro-alcoolique ont une activité anti-inflammatoire à dose dépendante. Cette activité est plus marquée avec l'extrait hydro-alcoolique**

L'activité anti-inflammatoire mise en évidence justifie l'utilisation et l'efficacité des écorces de racines *Calotropis procera* Ait. sur les crises vaso-occlusives de la drépanocytose.

**Mots clés :** *Calotropis procera* – Phytochimie – Toxicité aiguë - Antibactérien – Antifongique - Antioxydant – Anti-inflammatoire.

## CARD-INDEX SIGNALETIQUE

**TITLE** : **Study of the pharmaco-chemical properties of the bark of roots of *calotropis procera* Ait.(Asclepiadaceae): Characteristics phytochimic, toxicological, antibactery, antifongic and anti-inflammatory drug.**

**AUTHOR:** W. Patricia Rachel NIKIEMA

**YEAR** : 2004

**COUNTRY OF ORIGIN:** Burkina Faso

**TOWN OF DEFENCE** : Bamako (Mali)

**DISCHARGE POINT:** Library of the Faculty of Medicine of Pharmacy and Odonto-Stomatology (FMPOS) BP: 1805 Bamako (MALI).

### SUMMARY

Our study was based on the pharmaco-chemical determination of the properties of the bark of *calotropis procera* Ait. roots. The screening phytochimic revealed the presence of steroids, heterosides triterpenic, heteroides cardiotonics, coumarins, carotenoids (traces), of oses, holosides and of mucilages. The determination of toxicity by way intra-peritoneale of macerated aqueous and of the extract hydro-alcoholic made it possible to obtain from DL<sub>50</sub> respective of 1197mg/kg and 493,24 mg/kg. What makes it possible respectively to classify them like slightly and fairly poison according to the scale of Hodge and Stemer (1949).

The aqueous and alcoholic extracts neither inhibited the bacterial growth nor the growth of *Candida albicans*.

The aqueous extracts (macerated, decocted) and the extracts hydro-alcoholic showed a weak antioxydant activity.

The aqueous extracts and hydro-alcoholic have an anti-inflammatory drug activity with dependent amount. This activity is marked with the extract hydro-alcoholic. The anti-inflammatory drug activity highlighted justifies the use and the effectiveness of the bark of *calotropis procera* Ait. root on the vaso-occlusive crises of the drepanocytose.

Key Words: *Calotropis procera* – Phytochemistry – acute Toxicity – Antibactery -Antifongic – Antioxydant – Anti-inflammatory drug

# SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

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

**Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.**

**Je le jure.**



# SOMMAIRE

## CHAPITRE

<b>I :</b> .....	
.....1	
1-1 INTRODUCTION.....	15
1-2 MOTIVATION DE LA RECHERCHE.....	18
1-3 OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	19
1-3-1 OBJECTIF GENERAL.....	19
1-3 2 OBJECTIFS SPECIFIQUES.....	19

## CHAPITRE II:

<b>GENERALITES.....</b>	<b>7</b>
2-1 LA TOXICITE AIGUE D'UNE DROGUE.....	21
2-2 LES INFLAMMATIONS- LES RADICAUX LIBRES ET LES ANTIOXYDANTS.....	22
2-2-1 Les inflammations.....	23
2-2-2 Les radicaux libres.....	33
2-2-3 Les antioxydants.....	34
2-3 RAPPELS SUR LES INFECTIONS BACTERIENNES.....	37
2-3-1 Rappels sur les bactéries.....	37
2-3-2 Classification des bactéries.....	39
2-3-3-Les infections bactériennes.....	40
2-3-4 TRAITEMENT DES INFECTIONS BACTERIENNES.....	41
2-4 RAPPELS SUR LES MYCOSES.....	48
2-4-1 Cas des Candidoses.....	48
2-5 <i>CALOTROPIS PROCERA</i> AITON.....	57
2-5-1 Description Botanique.....	57
2-5-2 Noms locaux.....	59
2-5-3 Position dans la systématique.....	59
2-5-4 Usages médicaux traditionnels.....	59
2-5-5 Données phytochimiques de <i>Calotropis procera</i> Ait.....	61

## CHAPITRE III: NOS

<b>TRAVAUX.....</b>	<b>54</b>
3-1 CADRE D'ETUDE.....	71
3-2 MATERIELS DE L'ETUDE.....	72
3-2-1 Matériel végétal.....	72
3-2-2 Animaux de l'étude.....	73
3-2-3 Matériel d'étude phytochimique.....	73
3-2-4 Matériel d'étude de pharmacologie expérimentale.....	74
3-2-5 Matériel d'étude microbiologique.....	74
3-3 METHODES D'ETUDE.....	75
3-3-1 Etude phytochimique.....	75
3-3-2 Etudes pharmacologiques.....	91

## CHAPITRE IV: RESULTATS.....87

<b>4-RESULTATS.....</b>	<b>103</b>
4-1 PHYTOCHIMIE DES EXTRAITS.....	103
4-1-1 Teneur en eau et cendres.....	103
4-1-2 Groupes chimiques caractérisés.....	104
4-1-3 Rendement d'extraction.....	105
4-2- SUBSTANCES CHIMIQUES ISOLEES EN CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE.....	106
4-3 RESULTATS DES TESTS BIOLOGIQUES.....	111
4-3-1 La toxicité de <i>Calotropis procera</i> .....	111
4-3-2 Résultats des tests anti-inflammatoires.....	117
4-3-3 Résultats des tests de l'activité antioxydante.....	123
4-3-4 Résultats de l'activité antibactérienne.....	124
4-3-5 Résultats de l'activité antifongique sur <i>Candida albicans</i> .....	125
<b>COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS.....</b>	<b>129</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>136</b>
<b>RECOMMANDATIONS.....</b>	<b>139</b>

<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>141</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>147</b>
<b>RESUME.....</b>	<b>.....</b>
<b>.....</b>	<b>133</b>