

*A tous ces malades,
Qui sont sur leur lit à la maison par faute de moyen
Ou qui sont sur le lit de l'hôpital
Et qui espèrent en un exploit de la science...*

Table de matière

Préface du Président du RA-BIOTECH.....	5
Pr. Alfred S TRAORE.....	6
LISTE DES ABREVIATIONS.....	9
ABSTRACT.....	10
INTRODUCTION.....	14
OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	17
1. Objectif général.....	17
2. Objectifs spécifiques.....	17
CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES.....	18
1. L'ethnopharmacologie.....	18
1.1. DÉFINITION ET DOMAINE.....	18
1.2. BRÈVE HISTORIQUE.....	19
1.3. LES AVANCÉES DE L'ETHNOPHARMACOLOGIE AFRICAINE.....	21
1.3.1. LES ACTIVITÉS ANTIMICROBIENNES.....	21
1.3.2. LES ACTIVITÉS ANTIMALARIQUES.....	23
1.3.3. LES ACTIVITÉS ANTIOXYDANTES.....	25
2. Généralités sur les plantes sélectionnées.....	26
2.1. COMBRETUM MICRANTHUM G. DON. (COMBRETACEAE).....	26
2.1.1. BOTANIQUE.....	26
2.1.2. CHIMIE ET PHARMACOLOGIE.....	27
2.2. KHAYA SENEGALENSIS (DERS.) A. JUSS. (MELIACEAE).....	29
2.2.1. BOTANIQUE.....	29
2.2.2. CHIMIE ET PHARMACOLOGIE.....	30
2.3. PTEROCARPUS ERINACEUS POIR. (FABACEAE).....	31
2.3.1. BOTANIQUE.....	31
2.3.2. CHIMIE ET PHARMACOLOGIE.....	32
2.4. SIDA ACUTA BURM F. (MALVACEAE).....	33
2.4.1. BOTANIQUE.....	33
2.4.2. CHIMIE ET PHARMACOLOGIE.....	33
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	36
1. Les réactifs et les solvants.....	36

2. Le matériel végétal.....	36
3. Les souches bactériennes et les souches parasitaires.....	36
3.1. LES SOUCHES DE PLASMODIUM FALCIPARUM.....	36
3.2. LES SOUCHES BACTÉRIENNES.....	37
4. Les extractions.....	37
4.1. LES EXTRACTIONS HYDROALCOOLIQUES	37
4.2. LE FRACTIONNEMENT DES EXTRAITS HYDROALCOOLIQUES.....	38
4.3. L'EXTRACTION DES ALCALOÏDES.....	38
4.4. L'EXTRACTION DES POLYPHÉNOLS.....	38
5. Le dosage des phénols totaux.....	38
6. L'évaluation de l'activité antioxydante.....	39
6.1. LA RÉDUCTION DU PHOSPHOMOLYBDATE.....	39
6.2. LA DÉCOLORATION DE L'ABTS.....	39
7. Les tests antimicrobiens.....	40
7.1. LES TESTS DE SENSIBILITÉ.....	40
7.2. L'ACTIVITÉ MICROBICIDE.....	40
7.3. LA CINÉTIQUE D'INHIBITION DE LA CROISSANCE BACTÉRIENNE.....	41
8. Les tests antiplasmodiaux	41
9. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	42
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	44
1. Teneurs en composés phénoliques et activités antioxydantes.....	44
2. Les activités antibactériennes.....	47
2.1. LES ACTIVITÉS ANTIBACTÉRIENNES DES EXTRAITS HYDROALCOOLIQUES ET DES POLYPHÉNOLS.....	47
MICROORGANISMES.....	49
Sh. dysenteriae.....	49
K. oxytoca.....	49
2.2. L'ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DES ALCALOÏDES DE S. ACUTA	53
3. Les activités antiplasmodiales	57
4. La synthèse des activités biologiques.....	62

<u>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</u>	<u>65</u>
<u>REFERENCES.....</u>	<u>67</u>
<u>ANNEXES.....</u>	<u>79</u>
<u>PUBLICATIONS.....</u>	<u>82</u>

PRÉFACE DU PRÉSIDENT DU RA-BIOTECH.

L'école Doctorale régionale de Ouagadougou offre une formation doctorale de biotechnologie dans ses options : Biotechnologie microbienne et cellulaire, Biotechnologie Animale et Biotechnologie végétale.

Elle regroupe la plus part des Universités de l'Afrique francophone sub-saharienne en un réseau : le Réseau Ouest Africain de Biotechnologie (RA-BIOTECH) fruit de la coopération inter-universitaire et dont le siège est au CRSBAN, à l'Université de Ouagadougou.

Les Universités et structures de formation des pays ci-dessous constituent les membres fondateurs de ce réseau : Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée-Conakry, Mali, Niger, Togo et d'autres partenaires comme le Centre International de Recherche Développement sur l'Elevage en zone Sub-humide (CIRDES)-Bobo Dioulasso ; l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecines Vétérinaires du Sénégal (EISMV-Sénégal).

Ce réseau sous régional bénéficie de l'appui de plusieurs partenaires de l'enseignement supérieur (Association des Universités Africaines -AUA, UNESCO, Banque Mondiale, CAMES, Agence Universitaire de la Francophonie -AUF, Agence Africaine de Biotechnologie -AAB, etc).

L'école Doctorale que le réseau anime assure une formation de haut niveau à travers une recherche utilitaire sur plusieurs thématiques touchant la vie quotidienne des populations africaines. Cette école a permis au CRSBAN d'être érigé en pôle régional d'excellence en Biotechnologie d'une part par l'AUA et d'autre part par l'AUF. Elle accueille des étudiants de plus de 14 pays d'Afrique centrale et de l'Ouest.

Le réseau bénéficie aussi du soutien de certains spécialistes des biotechnologies des Universités du Nord : Université de la méditerranée (France), Université Louis Pasteur de Strasbourg (France), Centre de Génétique Moléculaire de Gif-sur-Yvette-CNRS (Paris France), Université de liège (Belgique) ; Faculté Universitaire de Gembloux (Belgique), Université de Rome, Université Agronomique de Wageningen .

L'importance des biotechnologies dans la résolution des problèmes de développement socioéconomiques des pays de l'Afrique sub-saharienne (Alimentation, Santé, Environnement, etc.) Justifie amplement la mise en place de cette formation. Elle est cogérée par un comité pédagogique international africain, constitué par des

enseignants, des chercheurs, tous spécialistes dans les divers domaines des biotechnologies.

La mutualisation des expériences par toutes ces compétences est un atout majeur pour la formation des ressources humaines de qualité au profit du continent Africain et de l'humanité.

Pr. Alfred S TRAORE
Professeur titulaire de Biochimie
Microbiologie
CRSBAN/UFR-SVT/Université de
Ouagadougou

REMERCIEMENTS

Le présent travail a été effectué au Burkina Faso au Centre de Recherche en Sciences Biologiques, Alimentaires et Nutritionnelles (CRSBAN) de l'Université de Ouagadougou et au Laboratoire de Biologie Médicale saint Camille de Ouagadougou et en Italie au Département des Sciences et Techniques de l'Université Tor Vergata de Rome. Nous tenons à remercier les institutions suivantes qui ont contribué à la réalisation du travail :

- L'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) à travers le projet LAF 303 qui a financé la partie du travail effectuée à Ouagadougou,*
- L'UNESCO et la FARMACAP qui ont financé la partie du travail réalisée à Rome à travers le Master de Transfert de Technologie en Biomédecine vers les Pays Emergents et en Développement*
- La Banque Mondiale à travers Le Réseau Africain de Biotechnologie (RABIOTEC) pour 10 mois de bourse*
- Le Ministère Français des Affaires Etrangères à travers le projet CORUS dont j'ai bénéficié du soutien matériel*
- L'UEMOA pour son soutien à la finalisation de ce travail à travers six mois de bourse*

Bien de personnes ont été très actives en l'accomplissement de cette oeuvre aussi voudrai-je personnellement leur témoigner ma très grande reconnaissance en ces mots. A l'intention du :

- Professeur Alfred S. TRAORE, Directeur du CRSBAN, et Directeur Académique de cette thèse, pour avoir accepté mon inscription au troisième cycle et dans votre laboratoire et pour avoir bien voulu diriger ce travail,*
- Père Jacques SIMPORE, Directeur du Laboratoire Biomédical de saint Camille et du Centre de Recherche Biomoléculaire (CERBA) pour avoir bien voulu codiriger ce travail et pour avoir initié la collaboration entre l'Université de Ouagadougou et l'Université de Tor Vergata en vue de la réalisation d'une partie de ce travail,*
- Professeur Vittorio COLIZZI, Directeur du Master de Transfert de Technologie en Biomédecine vers les Pays Emergents et en Développement, qui a bien voulu m'accueillir dans son laboratoire à l'Université de Tor Vergata et qui a bien voulu juger ce travail,*

Veillez trouver en ces lignes l'expression de ma profonde gratitude.

A l'intention des rapporteurs et membres du jury :

- Issiaka Z. KABORE, Directeur de Recherche (Membre de jury)*
- Jean Baptiste NIKIEMA, Professeur agrégé à de l'Université de Ouagadougou (Rapporteur)*

– **Joseph I. BOUSSIM**, Maître de Conférences à l'Université de Ouagadougou (Membre de Jury)

Malgré vos multiples occupations vos n'avez ménagé aucun effort pour juger ce travail, merci de l'honneur que vous me faites

Mes remerciements vont également à :

- **Pr. Mamoudou H. DICKO** pour ses conseils pratiques et pour son assistance dans la rédaction des articles
- A l'équipe du Pr. TRAORE : **Pr. Aboubacar S. OUATTARA, Dr Philippe NIKIEMA, Dr Cheick A.T. OUATTARA, Dr Nicolas BARRO, Dr Yves TRAORE, Dr André Jules ILBOUDO, Dr Marcel D BENGALY** qui m'ont initié et donné goût à la recherche à travers leurs enseignements
- A mes aînés du CRSBAN, **Dr Souleymane SANON, Dr Henry N. I. BASSOLE, Dr Aly SAVADOGO, Dr Paul SAWADOGO**, pour leurs conseils et leur bon exemple
- A mes camarades étudiants du troisième cycle de ma promotion et des autres promotion pour leur collaboration franche
- Aux techniciens du CRSBAN : **Aboudoulaye TRAORE, Aziz TRAORE, Daouda TRAORE, Dieudonné KABORE, Ibrahim SANON, Eugène TRAORE, Paul KAGEMBEGA** et au personnel du Laboratoire de Biologie Médicale Saint Camille : **Angèle SANFO, Emmanuel BOUDA, Robert BAKAMBA, Michel COMPAORE, Justine YARA, Fatou NANA, Oscar ZOUNGRANA, Herman SOMDA, Charles DABIRE, Barthélemy NANA, Richard OUEDRAOGO, Hervé KOUDOUGOU, Elise THIOMBIANO** pour leur assistance technique et leur convivialité
- Aux familles **NABA, MOGBANTE, LARE, IDAME, TIEM**, toutes résidant à Ouagadougou et à la famille **SOURABIE** résidant à Rome pour leur soutien affectif
- A mes amis **Dieudonné SOUBEIGA, Didier DJAGBARE, André Lin OUEDRAOGO, Constance NANA, Marie Christelle NADEMBEGA, Idrissa SAMANDOULGOU, Célestin FLINDJOA, Lamoussa MARDJA, Jean BOMBOMA, Armand LABDIEDO, Désiré LABDIEDO, Victoire TAKOUDA, Simplicie BONKOUNGOU, Valentin OUEDRAOGO, Bernard MAPA et Roger BONKOUNGOU** qui me sont restés fidèles dans les moments difficiles
- A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué de quelque manière que ce soit à l'élaboration de cette oeuvre soyez en remerciés.

LISTE DES ABREVIATIONS

- ABTS: 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic) acid
- DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
- HEPES : N-[2-hydroxyethyl] piperazine-N'-[2-ethanesulfonic] acid
- EDTA: Ethylene diamine tetra acetic Acid
- DMSO: Dimethyle sulfoxide
- RPMI: Roswell Park Memorial Institute
- Pen : Pénicilline (10 UI/IE/IU)
- Sulf: Sulfadiazine (0,25mg)
- Spec: Spectinomycine (100µg)
- Alc: Alcaloïdes
- CQP: Chloroquine phosphate
- Asc: Ascorbate
- DHA: Deshydroascorbate
- Cbm : *Combretum micranthum*
- Kse: *Khaya senegalensis* (écorces)
- Ksf: *Khaya senegalensis* (feuilles)
- Pee : *Pterocarpus erinaceus* (écorces)
- Pef : *Pterocarpus erinaceus* (feuilles)
- Sac : *Sida acuta*
- ORAC : Oxygen radical absorbance capacity
- CI₅₀ : Concentration inhibant 50% des parasites
- CMI : Concentration minimale inhibitrice
- CMB : Concentration minimale bactéricide

ABSTRACT

Using plants for medicinal purposes is an important part of the culture and the tradition in Africa, thus up to 80% of the population depend directly on the traditional medicine for their primarily health care. This traditional medicine uses numerous plants. However, as sources of new leads in drug discovery, plants are still understudied, considering the high percentage of plants not yet studied for their chemical composition or for their pharmacological properties in Africa. The present work aimed to investigate for few pharmacological properties of four medicinal plants from Burkina Faso. The following plants screened in the present study were selected according to leads supplied with traditional healers: *Combretum micranthum*, *Khaya senegalensis*, *Pterocarpus erinaceus* and *Sida acuta*. The described activities involved the antioxidant, antibacterial and antiplasmodial activities. The antioxidant activities through free radicals scavenging were performed using the phosphomolybdenum reduction¹ and the ABTS¹ radical cation decolorization assays with trolox as standard antioxidant. The results showed that there was a good correlation between the two methods ($r = 0.9$) and a good free radical scavenging of bark extracts of *K. senegalensis*, *P. erinaceus* and *C. micranthum*. There was also a good correlation between the antioxidant activities and the total phenolic content determined by the Folin-Ciocalteu reagent with gallic acid as standard ($r^1 = 0.94$ and $r^2 = 0.91$). The antimicrobial assays were performed with ethanolic, polyphenols and *S. acuta* alkaloids extracts on clinical and reference strains. The agar well-diffusion and the broth microdilution assays were used to qualify and quantify the antimicrobial activities. The results showed that the activity of the ethanolic extracts was due to polyphenols and this activity was influenced by the conservation duration of the extracts, probably because of the oxidization of the phenolic compounds. The microdilution assay yielded MBC values ranging from 20 to 2000 $\mu\text{g/ml}$ for polyphenols extracts and from 80 to 400 $\mu\text{g/ml}$ for alkaloids. The antiplasmodial activity was performed on fresh clinical isolates of *Plasmodium falciparum* using the *in vitro* semi microtest. The issue of the preliminary with ethanolic extracts tests revealed the *S. acuta* was the most active plant ($\text{IC}_{50} = 4.37 \mu\text{g/ml}$) followed by *P. erinaceus* ($\text{IC}_{50} = 14.63 \mu\text{g/ml}$). Second tests were made with isolated fractions and alkaloids. The results of these tests revealed that the chloroformic fraction of *P. erinaceus* was the most active fraction of

¹ Antioxidant activity monitored by phosphomolybdenum reduction assay

¹² Antioxidant activity monitored by ABTS decolorization assay

the plant with IC₅₀ value of 1.93 µg/ml, while the activity *S. acuta* was related to its alkaloids content. The IC₅₀ of this alkaloid extract was 0.05µg/ml. The gas chromatography-mass spectrometry analysis of the alkaloid extract led to the identification of cryptolepine and quindoline as the major alkaloids of the plant on the basis of their fragmentation data.

Keywords: Medicinal plants; Antiplasmodial; Antimicrobial; Antioxidant; Alkaloids; Polyphenols.

RESUME

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques en Afrique est une partie intégrante de la culture et de la tradition. Ainsi, plus de 80% de la population a-t-elle recours exclusif à la médecine traditionnelle pour les besoins de santé primaires. Cependant, en tant que sources de nouveaux médicaments, les plantes restent encore peu étudiées quand on considère le fort pourcentage de plantes non encore étudiées en Afrique soit pour leur composition chimique, soit pour leurs propriétés pharmacologiques. L'objet du présent travail a été de mettre en évidence les propriétés pharmacologiques de quatre plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Il s'agit des plantes suivantes ; *Combretum micranthum*, *Khaya senegalensis*, *Pterocarpus erinaceus* et *Sida acuta*. Ces plantes ont été sélectionnées sur la base de leur utilisation traditionnelle. Les propriétés recherchées ont été les suivantes : les activités antioxydantes, les activités antimicrobiennes et les activités antiplasmodiales. Les activités antioxydantes ont été évaluées sur des extraits de polyphénols par la réduction des phosphomolybdates¹ et par la décoloration du radical cation ABTS² avec le trolox comme antioxydant standard. Les résultats de ces tests ont montré qu'il y a une excellente corrélation entre les deux méthodes ($r = 0,9$) d'une part et d'autre part que les extraits des écorces de tronc de *K. senegalensis*, de *P. erinaceus* et de *C. micranthum* ont de très bonnes activités antioxydantes. De plus il existe une excellente corrélation entre ces activités et les teneurs en phénols totaux déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu avec l'acide gallique comme standard ($r^1 = 0,94$ et $r^2 = 0,91$; respectivement). Les activités antimicrobiennes ont été évaluées avec les extraits éthanoliques, les extraits de polyphénols et les alcaloïdes de *S. acuta* sur des souches hospitalières et sur des souches de référence. Les tests de sensibilité ont été effectués sur milieu Muller Hinton solide en utilisant la technique des puits tandis que les CMB et les CMI ont été déterminées en utilisant la technique de microdilution. Les résultats ont montré que les activités des extraits alcooliques sont dues aux polyphénols et que ces activités sont fortement influencées par le temps de conservation des extraits, ceci probablement à cause de l'oxydation des composés phénoliques. Les valeurs de CMB obtenues ont variées entre 20 et 2000 $\mu\text{g/ml}$ pour les polyphénols et de 80 à 400 $\mu\text{g/ml}$ pour les alcaloïdes. Les activités antiplasmodiales ont été évaluées sur des souches sauvages de

¹ Activité antioxydante mesurée par la réduction des phosphomolybdates

² Activité antioxydante mesurée par la décoloration de l'ABTS

Plasmodium falciparum en utilisant le semi-microtest optique. A l'issue tests préliminaires avec les extraits hydroalcooliques, *S. acuta* s'est révélée la plante la plus active ($CI_{50} = 4,37 \mu\text{g/ml}$) suivie de *P. erinaceus* ($CI_{50} = 14,63 \mu\text{g/ml}$). Les extraits hydroalcooliques de ces deux plantes ont donc été fractionnés entre l'éther de pétrole, le chloroforme et l'eau puis les alcaloïdes de *S. acuta* ont été extraits de façon sélective, *P. erinaceus* étant dépourvu d'alcaloïdes. Les seconds tests effectués avec les différentes fractions et les alcaloïdes ont révélé que l'activité antiplasmodiale *S. acuta* est due aux alcaloïdes qui ont donné une CI_{50} de $0,05 \mu\text{g/ml}$, tandis que chez *P. erinaceus* c'est la fraction chloroformique qui a été plus active avec une CI_{50} de $1,93 \mu\text{g/ml}$. Une analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a permis d'identifier la cryptolépine et la quindoline comme alcaloïdes majeurs de la plante.

Mots clés : Plantes médicinales, Antiplasmodial, Antimicrobien, Antioxydant, Alcaloïdes, Polyphénols.

INTRODUCTION

L'utilisation des plantes pour se soigner date de la préhistoire et tous les peuples sur tous les continents ont cette vieille tradition. On estime à environ 400 000 à 500 000 le nombre d'espèces végétales sur la surface de la terre. Ceci constitue un vaste réservoir de principes actifs pouvant être utilisés pour soigner de nombreuses pathologies quand on sait qu'une espèce végétale peut produire à elle seule des centaines voire des milliers de molécules différentes (Borris, 1996 ; Moermann, 1996).

Dans les pays en développement qui ne bénéficient presque pas ou pas du tout des avancées technologiques de la médecine moderne et où les médicaments sont rares ou d'un coût relativement trop élevé, plus de 80 % de la population a exclusivement recours aux plantes pour les besoins de santé primaires (Kirby, 1996 ; Hostettman et Marston, 2002). Dans les pays développés par contre, les populations sont surtout soucieuses des prescriptions abusives des médicaments tels que les anti-inflammatoires et les antibiotiques. Ceci a pour conséquence l'apparition des souches multirésistantes, ainsi beaucoup pratiquent de plus en plus une automédication à base de plantes (Eisenberg et al., 1993). En dehors de la fréquente pertinence de ces remèdes traditionnels, plus de 25 % des médicaments prescrits dans les pays industrialisés dérivent directement ou indirectement des plantes (Newman et al., 2000), mais en tant que sources de nouveaux principes actifs, les plantes sont peu exploitées lorsque l'on considère le fort pourcentage d'espèces végétales non encore étudiées soit pour leur composition chimique soit pour leurs propriétés pharmacologiques. On estime à environ 15 % le nombre de plantes qui ont fait l'objet d'une étude systématique en vue de la recherche de composés bioactifs (Cragg et al., 1997). De telles études permettent d'une part de vérifier l'efficacité de ces plantes et d'autre part elles peuvent aboutir à la découverte de nouveaux principes actifs. Ce qui répond bien aux besoins du moment. En effet, dans le contexte sanitaire actuel, il y a un besoin continu de nouvelles molécules pour soigner de nombreuses pathologies, par exemple :

- Le VIH-SIDA : En 2005, l'OMS a estimé à 40,3 millions le nombre de personnes vivant avec le VIH dans le monde. 38 millions sont des adultes dont 17 millions de femmes ; 2,3 millions ont moins de 15 ans. Toujours selon la même source, 3,1 millions de personnes sont mortes de sida en 2005 (WHO, 2005a). Il n'existe pas de vaccin contre la maladie et il n'y a pas un remède qui puisse enrayer totalement l'infection.

– Le paludisme : il n'existe pas encore un vaccin efficace disponible. On assiste à une résistance de plus en plus accrue du parasite aux antimalariques actuellement commercialisés d'une part et des moustiques aux insecticides d'autre part (Oask et al., 1991 ; Olliaro et al., 1996). L'établissement de nouvelles drogues paraît la meilleure stratégie de lutte contre le paludisme pour le moment (Rosenthal, 1998 et 2003). Dans la recherche de nouveaux antimalariques, le point critique reste l'aspect économique et ceci à deux niveaux. Premièrement pour être utile, les médicaments doivent être d'un coût relativement bas et d'accès facile en ce qui concerne les populations des pays en développement qui sont les plus touchées par la maladie. A ce propos, même à un dollar par traitement, le coût reste trop élevé pour ces populations (Rosenthal, 2003). Deuxièmement, le marché des antimalariques étant essentiellement constitué des pays pauvres, la recherche des antimalariques ne bénéficie pas d'importants investissements. La valorisation de la médecine traditionnelle est alors un impératif à ce sujet.

– Les infections bactériennes et fongiques : quelques agents antimicrobiens comme les lichochalcones (Demizu et al., 1988 ; Fukui et al., 1988) la benzoïne et l'émétine (Cox, 1994) ont été isolés à partir des plantes mais la plupart des antibiotiques dérivent des microorganismes et 2 à 3 nouveaux antibiotiques sont mis sur le marché chaque année (Clark, 1996). Cependant, chaque antibiotique a une durée de vie effective limitée au bout de laquelle la majorité des microorganismes développent une résistance, il est donc évident que les agents antimicrobiens d'origine végétale peuvent avoir leur place dans l'arsenal des antibiotiques prescrits par les cliniciens (Cowan, 1999). Dans l'établissement de nouveaux médicaments à partir des plantes, l'utilisation des données ethnopharmacologiques s'avère d'une importance capitale. Le fractionnement bioguidé des extraits de plantes suivant leurs usages traditionnels peut être souvent la base de la découverte de nouveaux principes actifs. Le présent document rapporte l'évaluation de quelques propriétés pharmacologiques de quatre plantes de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Les plantes ont été choisies sur la base de leur utilisation en médecine traditionnelle. En effet les études ethnobotaniques ont révélé que ces plantes sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour soigner de nombreux maux tels la fièvre, les céphalées, les diarrhées la dysenterie etc (Nacoulma/Ouédraogo, 1996, Sanon et al., 2003a). Il s'est agi des plantes suivantes :

- *Combretum micranthum* G. Don. (Combretaceae)
- *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss. (Meliaceae)

- *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae)
- *Sida acuta* Burm. f. (Malvaceae)

Les propriétés pharmacologiques évaluées sont les propriétés antioxydantes, les propriétés antibactériennes et les propriétés antiplasmodiales.

OBJECTIFS DE L'ETUDE

1. Objectif général

Il s'agit d'une validation expérimentale du patrimoine médicinal.

2. Objectifs spécifiques

Il s'agit de :

- Sélectionner les plantes les plus citées contre le paludisme et les infections bactériennes
- Extraire les groupements chimiques des organes de plantes sélectionnés par différentes méthodes
- Effectuer une analyse chimique quantitative et qualitative des extraits
- Evaluer les propriétés pharmacologiques de ces extraits *in vitro*
- Procéder à l'identification des principes actifs par les méthodes chromatographiques.

CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

1. L'ethnopharmacologie

1.1. Définition et domaine

L'ethnopharmacologie est l'étude scientifique pluridisciplinaire de l'ensemble des matières végétales, animales ou minérales et des savoirs ou des pratiques s'y rattachant, que les cultures mettent en œuvre pour modifier les états des organismes vivants, à des fins thérapeutiques, curatives, préventives ou diagnostiques (Bruhnt et Holmstedt, 1981). L'ethnopharmacologie tente de rapprocher deux disciplines qu'à priori tout sépare :

- Les conceptions traditionnelles de la santé et de la maladie, des remèdes, de leur mode d'emploi et de leur efficacité et enfin du retour à l'état d'équilibre ou de santé relèvent de l'ethnologie et s'inscrivent souvent dans le concept de la culture.

- L'identification botanique, zoologique ou minérale des remèdes vernaculaires, l'évaluation de leur impact sur un organisme vivant, la recherche de leur mode d'action, de l'influence de la dose et du mode de préparation des remèdes qui sont des tâches propres à la pharmacologie s'inscrivent dans le domaine des sciences biologiques.

De nos jours, quatre raisons majeures motivent les études ethnopharmacologiques :

- la fréquente pertinence des remèdes traditionnels,
- le besoin accru de nouvelles substances naturelles dotées d'activités pharmacologiques,
- le choix des espèces végétales à étudier pour minimiser les facteurs coût et temps de la recherche,
- la prise de conscience au niveau mondial des problèmes sanitaires demeurés sans solution (VIH-SIDA, paludisme, cancer, etc.) et leur constante aggravation surtout dans les pays en développement (Dos Santos et Fleurentin, 1991).

L'ethnopharmacologie comporte deux volets principaux : un premier volet qui est la recherche pharmacologique tout court et un deuxième volet dont la recherche se fait non sur l'ensemble des matières disponibles dans le monde naturel mais sur celles qui font l'objet d' "usages vernaculaires", tout en considérant ces usages comme étant essentiels pour la recherche

d'"activité" ou plus largement des propriétés de cette matière. On entend par "usages vernaculaires", tous les usages qui ont lieu en dehors de toute formalisation scientifique. Ce terme n'implique nullement qu'ils soient "traditionnels" puisque les usages populaires des pays développés en font partie au même titre que tous les autres (Dos Santos et Fleurentin, 1991).

I.2. Brève historique

L'un des tous premiers principes actifs isolés des substances naturelles est l'aspirine. Sur le papyrus Ebers (1550 avant Jésus Christ), il est mentionné que les Egyptiens antiques utilisaient les feuilles du saule comme antipyrétique. Très tôt la pharmacopée anglaise recommanda la tisane de ses écorces aux mêmes fins thérapeutiques. Plus tard en 1825, un glucoside nommé salicine a été isolé des écorces du saule blanc, *Salix alba* L. (*Salicaceae*). Additionnée à l'alcool, la salicine se dissout pour donner de l'alcool salicylique qui est oxydé pour produire l'acide salicylique utilisé pour préparer l'aspirine, acide acétylsalicylique (figure 1a) (Snedden, 2004). De nos jours encore, l'aspirine est utilisée pour ses propriétés antipyrétique, analgésique, anti-inflammatoire et antiagrégant plaquettaire. L'aspirine a été le premier médicament semi synthétique commercialisé par Bayer en 1899 (Newman et al., 2000).

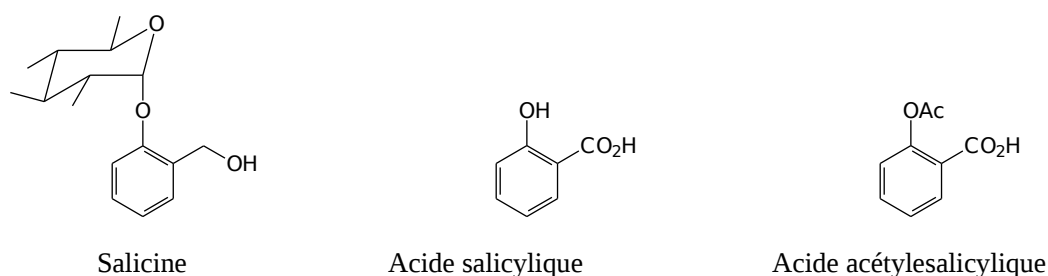


Figure 1 a : Structures moléculaires de composés isolés de plantes médicinales

Lors de l'exploration des Amériques par les Portugais et les Espagnols, ceux-ci ont découvert chez les Indiens du Pérou, l'utilisation des écorces des espèces du genre *Cinchona* ou quinquina («china-china» en indien, ce qui signifie écorce des écorces) pour soigner le paludisme. La première utilisation des ces écorces en Europe remonterait à 1633. Les écorces ont été introduites à Rome 12 années plus tard et on les baptisa d' « écorces des Jésuites ». A cause du différend entre

les protestants et les catholiques, les protestants rejetèrent les écorces et l'on rapporte qu'un éminent protestant, Olivier Cromwell est mort du paludisme pour avoir refusé de prendre la tisane d'écorces. En 1820, la quinine (figure 1b) a été isolée de *Cinchona succirubra* et identifiée comme le principe actif de l'écorce (Snedden, 2004).

Une autre molécule antipaludique, d'ailleurs la plus en vue aujourd'hui est le qinghaosu, l'artémisinine (figure 1b). L'artémisinine est une sesquiterpène qui a été isolée de *Artemisia annua*, une plante connue depuis longtemps des chinois pour ses propriétés antipaludiques (Klayman et al., 1984).



Figure 1 b : Structures moléculaires de composés isolés de plantes médicinales

D'autres molécules ont été isolées à partir des études ethnopharmacologiques. On peut citer les exemples suivants :

- la vincristine (figure 1c) est un alcaloïde qui a été isolé de *Catharanthus roseus* une plante qui a été longtemps utilisée contre le diabète. Aujourd'hui la vincristine est l'un des médicaments les plus utilisés dans les cas de leucémies,
- les alcaloïdes morphiniques comme l'héroïne et la morphine (figure 1c) ont été isolés de *Papaver somniferum*. La morphine a été le premier produit naturel commercialisé par E. Merck en 1825 (Newman et al., 2000).

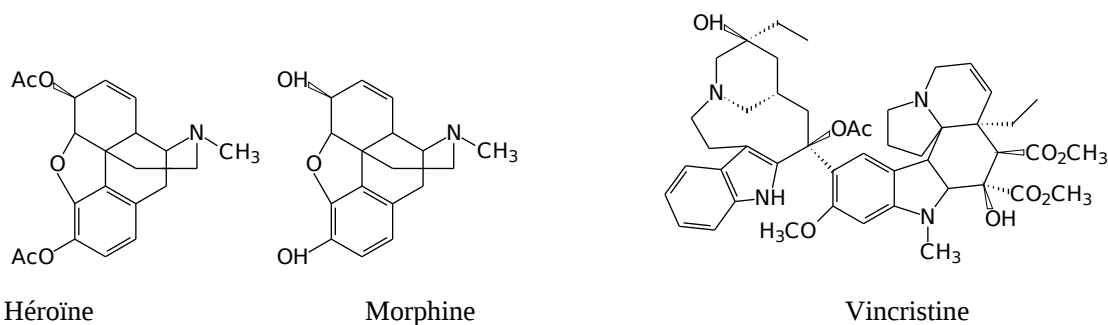


Figure 1 c : Structures moléculaires de composés isolés de plantes médicinales

1.3. Les avancées de l'ethnopharmacologie africaine

L'utilisation des plantes pour se soigner en Afrique fait partie intégrante de la culture. Il convient de rappeler que plus de 80 % de la population africaine est tributaire des plantes pour les besoins de santé primaires (Kirby, 1996 ; Hostettman et Marston, 2002), ceci à cause de la facilité d'accès et du coût modique de ces phytomédicaments. Malheureusement, ces drogues ne bénéficient pas très souvent de contrôle scientifique. Il y a donc un danger permanent en ce qui concerne les doses thérapeutiques d'une part et les doses létales d'autre part, d'où le problème de marge de sécurité. La recherche scientifique devrait non seulement vérifier la pertinence mais aussi moduler l'utilisation de ces produits, d'où l'importance de la validation expérimentale. A ce sujet, des extraits de plantes ont été testés avec succès dans les laboratoires avec parfois l'isolement et la caractérisation des principes actifs. Malgré ces résultats satisfaisants il reste beaucoup à faire dans l'exploration des plantes au point de vue de la validation expérimentale par l'utilisation des techniques modernes d'analyse (physico-chimie, pharmacologie, toxicologie,...).

1.3.1. Les activités antimicrobiennes

Les systèmes de santé inadéquats, le non respect des règles d'hygiène et les thérapies mal appliquées exposent les populations africaines à des infections multiples et variées. Le problème s'est accentué avec l'infection au VIH qui fragilise le système immunitaire. L'organisme devient ainsi vulnérable aux infections opportunistes. Chaque année, plus de 3 millions d'enfants meurent de maladies diarrhéiques dans le monde et l'Afrique au sud du Sahara représente l'une des zones les plus touchées par ces maladies (Murray et Lopez, 1997). Les microorganismes les plus

fréquents sont : *E. coli*, et les genres *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*, rarement *Vibrio cholerae* qui ne se trouve que dans des zones bien définies (Stephen, 2001). Au Burkina Faso, une étude réalisée sur les enfants de 0 à 5 ans hospitalisés ou consultés au Centre Hospitalier National Yalgado Ouédraogo (CHNYO) a révélé que les germes les plus impliqués dans les gastro-entérites infantiles sont *E. coli* et les genres *Shigella* et *Salmonella* (Sanon, 1998). Des résultats similaires ont été enregistrés par Bonfiglio et al. (2002) qui ont travaillé au centre médical saint Camille de Ouagadougou.

Beaucoup de plantes ont été testées *in vitro* pour leurs activités antimicrobiennes en utilisant la diffusion en milieu solide ou la microdilution en milieu liquide. Ces plantes, souvent choisies sur la base de leur utilisation traditionnelle ont montré des activités effectives contre les souches pathogènes testées (Tshibangu et al., 2002 ; Bassole et al., 2003 ; Hamill et al., 2003 ; Erasto et al., 2004 ; Okoli et Iroegbu, 2004). D'une façon générale, les bactéries gram positif se sont souvent révélées les plus sensibles aux extraits végétaux (Fennell et al., 2004 ; Masika et Afolayane, 2002). Cette différence de sensibilité serait liée à la nature de la paroi bactérienne. En effet les gram négatifs ont une membrane externe constituée de phospholipides qui constituent une barrière aux composés apolaires d'une part, tandis que les porines de la membrane plasmique constituent une barrière sélective aux substances polaires avec un facteur d'exclusion limite de 600 Da d'autre part (Nikaido et Vaara, 1985). Les gram positifs ont une paroi constituée du peptidoglycane qui n'est pas une barrière effective contre la pénétration des agents antimicrobiens (Sherrer et Gerhardt, 1971).

Beaucoup d'extraits de plantes ont été testés *in vitro* en vue de rechercher des activités antibactériennes. Travaillant sur des plantes anti-diarrhéiques de la médecine traditionnelle du Burkina Faso, Sourabié et al (1993) ont montré que les alcaloïdes totaux de *Nauclea latifolia* sont dotés d'importante activité antibactérienne. Parmi les extraits à potentialités antimicrobiennes, les huiles essentielles ont reçu une attention particulière à cause de leur aptitude à une extraction sélective relativement facile. Beaucoup d'huiles testées ont montré des activités très intéressantes *in vitro* (Bassole et al., 2003 ; Viljoen et al., 2003).

Quelques molécules antibactériennes (figure 2) ont été isolées des plantes médicinales africaines. Par exemples : la muzigadiale isolée de *Warburgia salutaris* (Bertol. F.) Chiov (*Canellaceae*) (Rabe et Van Staden, 2000), la vernodaline isolée de *Vernonia colorata* (Willd) Darke

(*Asteraceae*) (Reid et al., 2001), la Wighteone de *Erythrina lysitemon* Huch (*Fabaceae*) (Pillay et al., 2001).

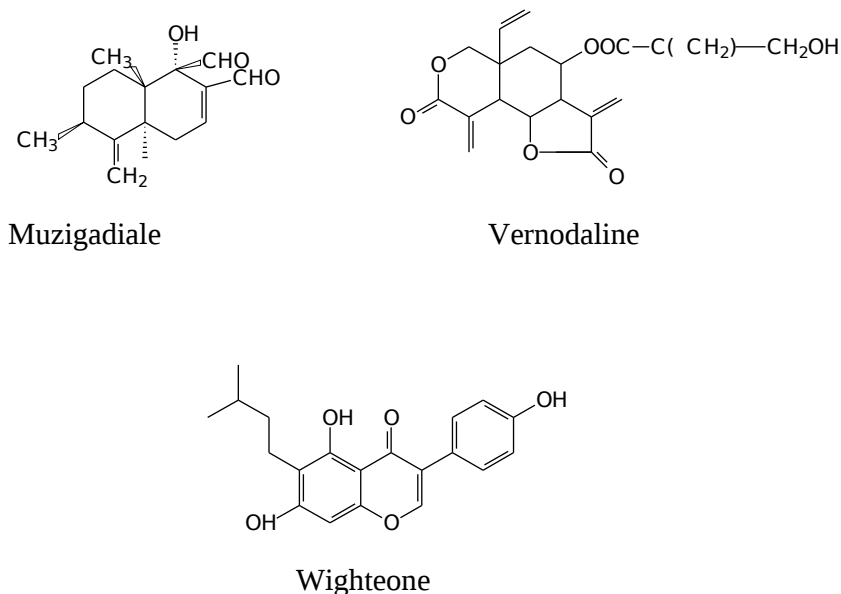


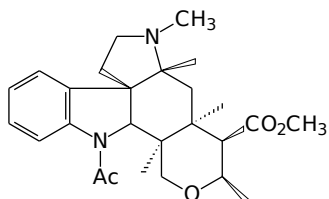
Figure 2 : Structure moléculaire de composés antimicrobiens d'origine végétale

1.3.2. Les activités antimalariques

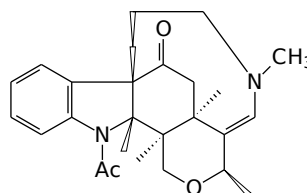
Dans le domaine des plantes médicinales africaines, l'aspect antipaludique a été l'un des plus étudiés, pour la simple raison que le paludisme est l'affection parasitaire qui a causé beaucoup plus de morts sur le continent ces 50 dernières années (WHO, 2005b). Les plantes sont toujours choisies suivant leurs usages traditionnels. Les tests *in vitro* sont effectués sur des souches de *Plasmodium falciparum* prélevées directement chez des patients ou sur des souches de référence de préférence des souches chloroquinorésistantes, la chloroquine (figure3) ayant été l'antimalarique le plus utilisé ces 50 dernières années (Rosenthal, 1998). Les parasites sont toujours cultivés dans du RPMI 1640 suivant la méthode de Trager et Jensen (1976) et les activités évaluées soit par la microscopie optique, le semi microtest optique de Lebras et Deloron (1983), soit par la cytométrie de flux avec incorporation d'un marqueur radioactif (Desjardin et al., 1979 ; Schulze et al., 1997).

Certaines plantes ont montré des activités antiplasmodiales intéressantes *in vitro* avec des perspectives d'établissement de nouvelles drogues antimalariques. Par exemple, travaillant sur des

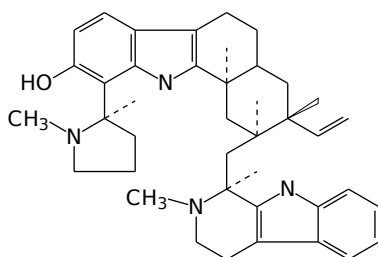
plantes antipaludiques du Burkina Faso, [Sanon et al. \(2003a et b\)](#) ont trouvé une bonne activité antiplasmodiales des alcaloïdes de *Pavetta crassipes* et de *Achanthospermum hispidum*. De même il a été montré que les extraits totaux de *Nauclea latifolia* et de *Gadenia sokotensis* sont très actifs sur les souches de *Plasmodium* ([Coulibaly, 1996](#)). [Banzouzi et al. \(2002 et 2004\)](#) ont montré que les activités antimalariques de *Alchornea cardifolia* et de *Sida acuta* sont dues à l'acide ellagique et à la cryptolépine respectivement.



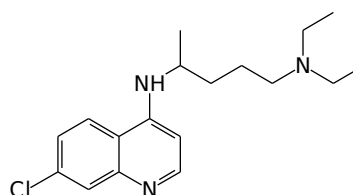
Malagashanine



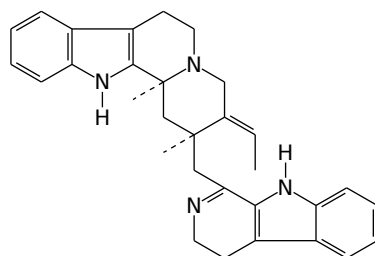
Strychnobraziline



Strychnopentamine



Chloroquine



Dihydrousambarensine

Figure 3 : Structures moléculaires de composés à activité antiplasmodiale

Parmi les plantes à activité antipaludique, le genre *Strychnos* (famille des *Loganiaceae*) a été un des plus étudiés en Afrique à cause de son usage traditionnel et à cause de ses similitudes avec le

genre *Cinchona*. Plus d'une vingtaine d'alcaloïdes ont été isolés des *Strychnos* malgaches. Ces alcaloïdes ont souvent montré de bonnes activités antiplasmodiales *in vitro* aussi bien sur les souches chloroquinosensibles que sur les souches chloroquinorésistantes. La strychnopentamine (figure 3) et un analogue, l'isostrychnopentamine sont très actives sur les souches chloroquinosensibles avec des CI_{50} de l'ordre de 0,15 μ M tandis que la dihydrousambarensine (figure 3) est plus active sur les souches chloroquinorésistantes (avec une CI_{50} de l'ordre de 0,03 μ M) que sur les souches chloroquinosensibles (Federich et al., 1999). En dehors de l'activité antiplasmodiale, il a été décrit chez certains alcaloïdes une activité réversante de la chloroquinorésistance.

La réversion de la chloroquinorésistance est l'apanage des composés dits reversants, qui, combinés à la chloroquine à des concentrations bien inférieures à sa CI_{50} potentialisent sensiblement l'action de ce médicament *in vivo* et *in vitro* sur des modèles expérimentaux utilisant des souches résistantes. C'est l'exemple de la malagashanine (figure 3). La malagashanine est un alcaloïde dépourvu de toute activité antiplasmodiale intrinsèque mais les données expérimentales obtenues suggèrent qu'il libère de l'hématine séquestrée par le parasite favorisant ainsi la formation du complexe chloroquine-hématine toxique pour le parasite (Rosanaïvo et al., 1994). L'action potentialisatrice de la malagashanine serait surtout due à sa liposolubilité car un autre alcaloïde voisin, la strychnobrasiline (figure 3) isolée des mêmes *Strychnos* ne montre pas une action potentialisatrice significative *in vivo*, ceci serait dû au fait qu'au pH physiologique la strychnobrasiline est hydrosoluble (Rafato et al., 2000).

1.3.3. Les activités antioxydantes

La majorité des activités antioxydantes a été étudiée dans le domaine de la nutrition, l'idée étant d'apporter les antioxydants sous la forme de suppléments ou d'additifs alimentaires. L'activité antioxydante est souvent évaluée soit par les tests d'inhibition de la peroxydation des lipides *in vitro*, soit par le piégeage des radicaux libres d'ABTS ou de DPPH (Re et al., 1999), soit par la réduction des phosphomolybdates par les oxydants (Prieto et al., 1999).

Plusieurs plantes comestibles ont montré des activités antioxydantes intéressantes *in vitro*. Par la méthode de peroxydation des lipides, des valeurs d'inhibition supérieures à 70% ont été enregistrées avec *Amaranthus* sp (*Amaranthaceae*), *Sisymbrium thellungii* O.E. Schulz (*Brassicaceae*) et *Urtica dioica* L. (*Urticaceae*) qui sont des plantes utilisées dans la préparation

du « Imfino » un mets sud africain (Lindsey et al., 2002). Le sorgho qui est une céréale très consommée en Afrique au sud du Sahara est bien connu pour ces propriétés antioxydantes à cause des polyphénols que renferment ses graines (Awika et al., 2003 ; Dicko et al., 2005). De même les propriétés antioxydantes du vin rouge sont dues aux polyphénols (Fernández -Pachón et al., 2004). Les activités antioxydantes ont pendant longtemps été l'apanage des sciences de la nutrition, mais de plus en plus, les plantes médicinales sont aussi testées pour leurs éventuelles activités antioxydantes. Ainsi des flavonoïdes dotés d'importantes propriétés antioxydantes ont été isolés de *Botananthus speciosus*, une plante utilisées en Afrique australe pour soigner les douleurs abdominales (Erasto et al. 2004).

2. Généralités sur les plantes sélectionnées

2.1. *Combretum micranthum* G. Don. (Combretaceae)

Nom français : Kinkéliba

Nom mooré : Randéga / Randga

2.1.1. Botanique

Les *Combretum* sont un genre d'arbustes à feuilles simples, généralement opposées. Ce genre se divise en 370 espèces dont douze sont présentes au Burkina Faso (Thiombiano, 2005). C'est sans doute le genre le plus abondant représenté en nombre de pieds existant dans la savane. Les fruits, semblables dans toutes les espèces, sont constitués par une graine assortie de quatre ailes formant deux plans qui se coupent en un angle droit, ce qui est la caractéristique du genre à l'exception de *C. aculeatum*.

Combretum micranthum (figure 4) est très fréquent en zone sahélienne ou soudano-sahélienne. Il s'agit d'une espèce à port arbustif, buissonnant ou sarmenteux. Elle se reconnaît facilement par ses vieux rameaux grisâtres et ses jeunes rameaux rougeâtres à extrémités effilées et fortes. De taille généralement comprise entre 2 et 4 mètres, l'espèce forme souvent des buissons qui peuvent être compacts et presque impénétrables. Les jeunes rameaux sont souvent écailleux, ce qui leur confère une couleur rouille.

Les feuilles opposées, portent des dogmaties sur la face inférieure et sont bien luisantes sur la face supérieure. Les formes sont assez variables, souvent elliptiques ou ovo elliptiques avec un limbe mesurant environ 3 à 8 cm de long et de 2 à 4 cm de large. En dehors des dogmaties situées sur la face inférieure et des nervures quelque fois pubescentes, l'espèce est glabrescente, toutefois de nombreux points écailleux sont bien visibles sur la face inférieure et sur le pétiole. A l'état sec les feuilles prennent une coloration rouille qui est une caractéristique de l'espèce.

Les inflorescences, axillaires de 2 à 4 cm de long en moyenne apparaissent dans les parties terminales des rameaux et portent 25 à 30 petites fleurs chacune. Les axes sont pubescents et bien recouverts d'écailles rouille. Les fleurs blanchâtres figurent parmi les plus petites des Combretaceae. Elles mesurent de 2 à 5 mm de haut. Elles portent des écailles sur toute leur surface extérieure avec une parie intérieure fortement influencée par la corolle bien blanche (à 4 pétales) et un disque glandulaire rougeâtre portant de longs poils. L'ovaire est infère et l'androcée formée de 8 étamines à anthère de couleur jaune et crème. Les fruits sont bien reconnaissables non seulement par leurs dimensions bien réduites mais également par leur coloration rouille surtout dans la zone médiane (en raison de, la forte présence des écailles rouilles). Ils persistent assez longtemps sur les pieds (plusieurs mois voire d'une saison à une autre).

Les graines sont de couleur rouille et mesurent 6 à 8 mm de long sur 2 à 3 mm de large. La floraison intervient en fin de saison sèche à partir du mois d'avril. L'optimum de floraison est vite atteint en fin mai début juin, période à partir de laquelle commence la fructification. Cette dernière prend fin en juillet et la maturation des fruits se poursuit jusqu'à septembre. La feuillaison a lieu quelques semaines après la floraison.

2.1.2. Chimie et pharmacologie

Les premiers travaux effectués sur *C. micranthum* ont montré la présence de tanins, de phlobaphène et d'un sel de nitre (Kérharo et Adam, 1974). Plus tard la vitrexine cristallisée et la saponarétine ont été isolées ainsi que deux alcaloïdes, les combretines A et B, stéréoisomères de la bétonicine (Ogan, 1972 ; Bassene et al., 1986).



Figure 4. Rameaux feuillés de *Combretum micranthum* G. Don (Combretaceae).

Combretum micranthum a beaucoup de propriétés pharmacologiques. Elle figure depuis longtemps au codex pharmaceutique français. Bassene et al. (1981) attribuent ces propriétés pharmacologiques au sorbitol et à l'inositol que la plante contient. L'infusion des feuilles prise au moment des repas aurait des vertus diurétiques hépatoprotectrices et fébrifuges. Des études ont été menées à ce sujet. Ferrea et al. (1993) ont mis en évidence une activité antivirale des extraits méthanoliques de ces feuilles contre les virus 1 et 2 de l'herpes simplex. L'extrait fraîchement préparé est inactif, mais abandonné à l'air libre au bout de sept jours, il devient actif. Les auteurs ont identifié le principe actif à des tanins catéchiques qui par auto oxydation alcaline donnent des acides catéchiques. D'autres propriétés de la plante ont été étudiées, il s'agit notamment de l'activité antiplasmodiale (Benoit et al., 1996 ; Ancolio et al., 2002) et de l'activité anti-inflammatoire (Olajide et al., 2003).

2.2. *Khaya senegalensis* (Ders.) A. Juss. (Meliaceae)

Nom français : Caïlcédrat

Nom mooré : Kuka

2.2.1 Botanique

Khaya senegalensis (figure 5) est sans doute le plus important des grands arbres du Burkina Faso, étant le seul à fournir du bois d'œuvre en quantité industrielle. Son fût peut dépasser 10 mètres de haut et un mètre de diamètre. Sa cime s'élève jusqu'à 25 mètres de haut en sol profond et humide. Généralement, il ne perd pas toutes ses feuilles en saison sèche, bien qu'alors son ombrage ne soit pas très épais.

Les feuilles sont composées, paripennées et alternes. Le rachis est long de 12 à 20 cm et peut porter 4 à 6 paires de folioles oblongues, généralement 2 à 3 fois plus longues que larges. Leur base est cunéiforme et un peu dissymétrique. Leur sommet se termine en une courte pointe brusque et arrondie. Elles possèdent 8 à 10 nervures latérales peu saillantes. Le pétiole, courtement épaissi à la base est long de 3 à 6 cm ou davantage avant la première paire de folioles. Les petiolules sont longs de 4 à 6 mm et légèrement épaissis.

Les fleurs blanches sont groupées en une grande inflorescence axillaire complète appelée panicules. Une observation approfondie fait reconnaître une grappe composée de cymes. La panicule est longue de 15 à 20 cm, peu ramifiée, venant au sommet des rameaux avec les jeunes feuilles. Les fleurs sont tétramères, c'est-à-dire formées de verticilles successifs de 4 pièces florales. Le calice est composé de 4 sépales imbriqués. La corolle est blanche et large de 7 à 8 cm. Elle comporte 4 pétales entourant la couronne staminale étroite et dressée au centre. Les pédicelles mesurent 2 à 4 mm. L'androcée est formé de 8 étamines soudées en un tube lobé au sommet et portant à son intérieur les anthères biloculaires et sessiles. Le pistil comprend un ovaire entouré à sa base d'un disque nectarifère rouge et creusé en 4 loges qui contiennent les ovules superposés. Cet ovaire s'amincit en un style étroit, court et surmonté d'un stigmate épais et discoïde.

Le fruit est une capsule dressée, globuleuse à tégument épais et ligneux. Cette capsule large de 4 à 5 cm est déhissante et s'ouvre par 4 valves en commençant par le sommet et laisse voir les graines plates étroitement appliquées les unes contre les autres. Les graines sont entourées d'une aile membraneuse et contiennent un albumen réduit.

2.2.2. Chimie et pharmacologie

Les travaux effectués sur *K. senegalensis* révèlent la non existence d'alcaloïdes dans la plante (Kerharo et Adam, 1974), mais plusieurs auteurs signalent la présence des limonoïdes dans les fruits, les feuilles et les écorces (Olmo et al., 1996 et 1997 ; Khalid et al., 1998 ; Govindachari et Kumari, 1998).



Figure 5 : Tronc et rameau feuillé de *Khaya senegalensis* (Ders) A. Juss. (Meliaceae)

Les limonoïdes sont des terpénoïdes très riches en oxygène et qui ont la même voie de synthèse que les quassinoides (Connolly, 1983). Ces limonoïdes de types phragmalines pour la plupart ont pour noms : les khayanolides A, B et D ; le khayalactol, le 1-O-acétylkhayanolide A, le 2-hydroxyseneganolide, le méthylangolensate. Ces limonoïdes sont de puissants insecticides mais leur activité antiprotozoaire est modérée (Khalid et al., 1998 ; Nkatani et al., 2000 ; Abdelgaleil et al., 2003).

Plus récemment d'autres limonoïdes de la famille des mexicanolides, le seneganolide A, le 2-hydroxyseneganolide A et le 2-acétoxyseneganolide A ont été isolés des graines de *K.*

senegalensis et leur propriété antifongique *in vitro* a été étudiée sur *Botrytis cinerea* (Abdelgaleil et al., 2004). Les graines de *K. senegalensis* produisent également une huile dont le profil en acides gras est le suivant : 21,90 % d'acide palmitique ; 64,62 % d'acide oléique ; 10,41 % d'acide stéarique et 3,58 % pour les autres acides gras (Okieimen et Eromosele, 1999).

K. senegalensis a fait l'objet de plusieurs screenings pour la recherche de ses propriétés pharmacologiques *in vitro*. Les extraits de graines sont dotés d'une importante activité antiplasmodiale par contre l'activité des écorces est modérée (El Tahir et al., 1999). Khalid et al. (1998) ne trouvent pas une activité antiprotozoaire significative sur *Leishmania donovani* mais Abreu et al. (1999) par contre trouvent une bonne activité sur *L. Major*. L'administration d'extrait éthanolique est suivie de la modification de certains paramètres biochimiques dans la rate de rat. En effet, l'activité de la phosphatase alcaline et le taux de Na⁺ sérique se trouvent réduits tandis que le taux de K⁺ reste constant pour une administration prolongée alors que l'administration sur une courte durée augmente uniquement le taux d'urée sérique (Adébayo et al., 2003). D'autres travaux effectués sur *K. senegalensis* ont révélé que la plante a des propriétés antibactériennes (Koné et al., 2004), hypothermisantes (Lompo et al., 1995) et anti-inflammatoires (Thioune et al., 1999).

2.3. *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae)

Nom français : Santal de Sénégal, Palissandre du Sénégal, Vène

Nom mooré : Nohinka, Noèèga

2.3.1. Botanique

Pterocarpus erinaceus (figure 6) était un élément dominant des anciennes forêts sèches. Elle est fréquente au Burkina Faso au sud du 13^e degré de latitude. Sans être un grand arbre, il atteint 12m de haut. Ses feuilles sont composées (3 à 4 paires de folioles) et sub-opposées (ni alternes, ni opposées). Les fleurs, jaunes et papillonées apparaissent en janvier alors que toutes les feuilles sont tombées. L'arbre se voit ainsi de loin dans la savane sèche tel une boule jaune d'or, pas trop compact cependant. Les fruits sont aussi formés et mûrs avant que les feuilles apparaissent. Ces fruits se présentent sous la forme de samares. Ils sont composés de graines rondes, entourées

d'ailes plates, rondes et jaunâtres de 5 à 6 cm de diamètre. Le fruit est recouvert de petits piquants hirsutes. La fructification est souvent abondante et de loin on croirait voir un arbre en fleurs.

2.3.2. Chimie et pharmacologie

Pterocarpus erinaceus fournit naturellement ou par blessure, un kino formé de tanins catéchiques (plus de 60 %). Ces tanins se trouvent en presque totalité sous forme d'acide kinotannique. Soumis à une distillation sèche, ou à une fusion potassique, celui-ci donne la pyrocatéchine et la phloroglucine. Exposé à l'air, le suc brunit suite à une transformation de l'acide kinotannique en phlobaphène, le rouge de kino, sous l'action d'une oxydase intrinsèque.



Figure 6 : Tronc et rameau feuillé de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae)

Jusqu'à la fin du 19^e siècle, le kino était prescrit comme astringent surtout dans les cas de diarrhées chroniques (Kerharo et Adam, 1974). Plusieurs études ont montré que la plante est aussi dotée d'une activité antigonadotrophique par inhibition de la sécrétion de la LH¹, mais elle serait sans

¹ Hormone Lutéinisante

effet sur la sécrétion de la FSH² (Benie et al., 2003a,b, 2004). Cependant, Abreu et al. (1999) dénotent une certaine toxicité chez la plante.

2.4. *Sida acuta* Burm f. (Malvaceae)

Nom français : Plante à balai

Nom mooré : Zon-raaga

2.4.1. Botanique

Sida acuta (figure 7) est une plante herbacée annuelle, dressée et ramifiée dès la base. Elle pousse en peuplant les endroits humides. Les feuilles stipulées et oblongues sont d'un vert sombre. Le limbe présente une marge dentée et un apex aigu. A la base des feuilles se trouvent deux stipules linéaires. La fleur isolée au sommet d'un mini pédoncule est d'un calice à cinq lobes et d'une corolle jaunâtre ou blanche plus ou moins jaune à la base. Les fruits sont bruns et anguleux.



Figure 7: Rameaux feuillés et bouton floral de *Sida acuta* Burm f. (Malvaceae)

2.4.2. Chimie et pharmacologie

Sida acuta est largement répandu dans la zone intertropicale. Elle est beaucoup utilisée dans la médecine traditionnelle par les populations indigènes. La partie aérienne est la plus utilisée. En

² Hormone Folliculostimulante

Amérique centrale, la plante est utilisée pour soigner l'asthme, les inflammations rénales, la fièvre, les maux de tête, les ulcères et les parasitoses (Caceres et al., 1987 ; Coee et Anderson, 1996). En Afrique de l'ouest particulièrement au Burkina Faso, *S. acuta* encore appelé plante à balai ou *zon-raaga* en Mooré, est utilisé pour soigner beaucoup de maladies telles le paludisme, les infections rénales, les diarrhées, etc (Nacoulma/Ouédraogo, 1996).

Les premiers travaux sur la chimie de *S. acuta* remontent aux années 70 où Ahmad et al. (1976) montrent la présence d'acides gras cyclopropénoides dans les gaines de la plante. Plus tard, sept nouveaux composés dont l'heraclenol, le bêta-sistostérol, l'acanthoside B et le daucoglycoside ont été isolés de la plante (Cao et Qi, 1993). Dianan et al. (2001) signalent la présence dans les graines de phytoecdystéroïdes, composés communs à plusieurs espèces du genre et dont la teneur servirait à les identifier.

En ce qui concerne les propriétés pharmacologiques de la plante, il a été fait cas d'une activité antivenimeuse modérée contre le venin de *Bothrops atrox* (Otero et al., 2000a,b) et d'une activité quinone réductase (Jang et al., 2003). *Sida acuta* possède une activité antiplasmodiale démontrée dont le principe actif est la cryptolépine (Banzouzi et al., 2004).

La cryptolépine, (5-méthylindolo (2-3b)-quinoline) est un alcaloïde naturel qui a été isolé pour la première fois de *Cryptolepis triangularis* (Clinkart, 1929). La molécule a été ensuite isolée d'une plante du même genre, *C. sanguinolenta*, une plante traditionnellement utilisée pour soigner le paludisme en Afrique de l'ouest et en Afrique centrale (Sharaf et al., 1996 ; Cimanga, 1996). Le mode d'action de la cryptolépine contre le *Plasmodium* n'est pas encore clairement élucidé. On pense que la molécule peut agir de deux façons différentes. La cryptolépine est bien connue pour être un agent intercalant dans l'ADN avec une forte affinité pour les séquences riches en guanine et en cytosine (Bonjean et al., 1998 ; Guittat et al., 2003). La molécule pourrait aussi agir suivant le même mode d'action que la chloroquine et les autres dérivées aminoquinolines en inhibant la détoxification de l'hème produite par le parasite dans l'érythrocyte lors de la digestion de l'hémoglobine (Lisgaten et al., 2002 ; Arzel et al., 2001).

En dehors de son activité antimalarique, la cryptolépine ainsi que ses dérivés synthétiques possèdent des activités antibactériennes démontrées (Paulo et al., 1994 ; Gibbon et al., 2003). La molécule est aussi dotée d'une activité cytotoxique bien connue contre les cellules cancéreuses. Ceci a été démontré avec les cellules tumorales du mélanome B 16. En effet, en se liant à l'ADN, la molécule se comporte comme un inhibiteur de la topoisomérase II. Elle stabilise le complexe

ADN-topoisomérase et induit la coupure de l'ADN. C'est ce qui explique ses potentialités anticancéreuses (Bonjean et al., 1998 ; Dassonneville et al., 2000 ; Guittat et al., 2003).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1. Les réactifs et les solvants

Les réactifs utilisés au cours de cette étude ont été obtenus des maisons suivantes : le RPMI 1640, le sérum bovin fœtal, le tampon HEPES, la chloroquine phosphate, l'ABTS, le trolox et l'acide gallique de Sigma chemical company (saint Louis) ; la L-glutamine et la streptomycine/pénicilline de Gibco BRL ; le sodium phosphate, l'ammonium molybdate et le carbonate de sodium de Fischer scientific ; le potassium sulfate de Labosi ; les milieux de culture des bactéries de Bio Mériex ou d'Oxoids, les disques de pénicilline, de sulfadiazine et de spectinomycine de Beckton Dickinson, tous les solvants ont été analytiques et ont été fournis soit par JT Barcker ou par Merck ou SDS.

2. Le matériel végétal

Toutes les plantes ont été récoltées aux alentours de Ouagadougou entre juin et août 2001. Elles ont été identifiées au Département de Biologie et Ecologie Végétales de l'UFR/SVT de l'Université de Ouagadougou. Les échantillons de plantes suivants ont été récoltés sur la base de leur utilisation traditionnelle (Nacoulma-Ouédraogo, 1996) :

- Les rameaux feuillés de *Combretum micranthum* à Gampella
- Les feuilles et les écorces de tronc de *Khaya senegalensis* à Ouagadougou
- Les feuilles et écorces de tronc de *Pterocarpus erinaceus* à Saaba
- La plante entière de *Sida acuta* à Ouagadougou

Les échantillons de plantes récoltés ont été séchés au laboratoire à la température ambiante (20 – 25°C). Ils ont été ensuite réduits en poudre fine qui a servi pour les différentes extractions.

3. Les souches bactériennes et les souches parasitaires

3.1. Les souches de *Plasmodium falciparum*

Les souches de *P. falciparum* ont été prélevées chez des patients venus pour un examen de goutte épaisse au laboratoire de biologie médicale saint Camille de Ouagadougou. Avant d'inclure un patient, on s'assure qu'il n'a suivi aucun traitement antipaludique dans les 72 heures avant le prélèvement. Chez chaque patient sélectionné, 4 ml de sang veineux sont prélevés dans un tube imprégné d'EDTA (Greiner labotechnick). Un frottis est confectionné puis coloré au Giemsa pour identifier l'espèce plasmodiale et pour déterminer la densité parasitaire de chaque échantillon. La densité parasitaire est déterminée en estimant le nombre d'érythrocytes infestés sur un total de 20 000. Sont finalement retenus pour la culture, les échantillons ayant une monoinfestation à *P. falciparum* et ayant une densité parasitaire comprise entre 1 et 2 %.

3.2. Les souches bactériennes

Les tests antimicrobiens ont été effectués sur des souches sauvages et sur des souches de références. Les souches sauvages ont été isolées des produits pathologiques au laboratoire d'analyse du Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo ou au laboratoire de biologie médicale de saint Camille de Ouagadougou, il s'est agi des souches suivantes : *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozenae*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella thyphi*, *Salmonella paratyphi C*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* et *Staphylococcus aureus*. Les souches de références ont été : *Bacillus cereus* LMG 13569, *Enterococcus faecalis* CIP 103907, *Escherichia coli* CIP 105182, *Listeria innocua* LMG 13568, *Shigella dysenteriae* CIP 504051, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 53154 et *Staphylococcus carmonum* LMG 13567

4. Les extractions

4.1. Les extractions hydroalcooliques

La poudre végétale a été extraite par percolation dans de l'éthanol à 70 % (v/v) pendant 24 heures. L'extrait recueilli a été filtré sur papier filtre et l'éthanol évaporé sous vide à 60°C avec un évaporateur rotatif de type Büchi. L'extrait a été ensuite congelé et lyophilisé.

4.2. Le fractionnement des extraits hydroalcooliques

La poudre lyophilisée de l'extrait a été dissoute dans de l'eau distillée et soumise à un partage liquide-liquide entre l'éther de pétrole et l'eau puis entre le chloroforme et l'eau. Trois fractions ont été ainsi obtenues à partir de chaque lyophilisat : une fraction étherée, une fraction chloroformique et une fraction aqueuse. L'éther de pétrole et le chloroforme ont été évaporés à sec des fractions correspondantes tandis que la fraction aqueuse a été lyophilisée.

4.3. L'extraction des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été extraits en utilisant la méthode classique d'extraction des alcaloïdes. La poudre végétale a été délipidée avec de l'éther de pétrole. Elle a été ensuite alcalinisée avec de l'ammoniaque 28% puis extraite avec du chloroforme par percolation pendant 24 heures. L'extrait chloroformique ainsi obtenu a été fractionné entre l'acide chlorhydrique à 5 % et le chloroforme. La phase aqueuse recueillie a été encore alcalinisée jusqu'à un pH compris entre 8 et 9 puis fractionnée entre le chloroforme et l'eau. Le chloroforme a été évaporé à sec de la fraction correspondante pour donner la poudre d'alcaloïdes totaux.

4.4. L'extraction des polyphénols

Les polyphénols ont été extraits à partir de la poudre végétale brute suivant la méthode décrite par [Yu et Dahlgren \(2000\)](#). La poudre végétale a été extraite avec de l'acétone 70 % (v/v) sous agitation continue pendant 2 heures à la température ambiante. L'extrait obtenu a été lavé avec de l'hexane pour éliminer la chlorophylle et les autres pigments jusqu'à l'obtention d'une phase hexane incolore. L'acétone a été alors évaporée et l'extrait lyophilisé.

5. Le dosage des phénols totaux

Les phénols totaux ont été dosés dans les lyophilisats de polyphénols en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu ([Singleton et al., 1999](#)). La méthode a été miniaturisée dans des plaques de 96

puits (Dicko et al., 2002). Pour ce faire, 25 µl du réactif de Folin-Ciocalteu ont été additionnés à 10 µl d'extrait dissout dans de l'eau distillée à 1 mg/ml. Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 5 minutes au bout desquelles, 25 µl de bicarbonate de sodium à 20 % (w/v) ont été ajoutés. Le volume dans chaque puits a été alors complété à 200 µl avec de l'eau distillée. Dans les puits témoins, le réactif a été remplacé par de l'eau distillée. Les plaques ont été ensuite incubées à la température ambiante pour 30 minutes puis les absorbances ont été mesurées à 760 nm avec un lecteur de plaques (µQuant Bio-Tek Instrument Inc USA) couplé à un ordinateur utilisant le logiciel KC junior version 1-31-5 (Bio-teck Instrument Inc USA). Les tests ont été effectués en duplicata. L'acide gallique a été utilisé comme standard et les résultats ont été exprimés en équivalent d'acide gallique par gramme de poudre lyophilisé.

6. L'évaluation de l'activité antioxydante

6.1. La réduction du phosphomolybdate

La réduction du phosphomolybdate a été réalisée suivant la méthode décrite par Prieto et al. (1999). Le réactif au phosphomolybdate a été préparé à partir d'un mélange d'acide sulfurique 0,6 M, de sodium phosphate 28 mM et d'ammonium molybdate 4 mM. Pour le test, 1 ml d'extrait dissout dans de l'eau à une concentration de 100 µg/ml a été additionné à 1 ml de réactif. Le tout a été porté à 95°C pendant 90 minutes au bout desquelles la mixture a été refroidie à la température ambiante et distribuée dans des plaques de 96 puits à raison de 200 µl par puits. Les absorbances ont été mesurées à 695 nm avec le dispositif précédemment décrit. Le trolox a été utilisé comme antioxydant standard et les résultats ont été exprimés en micromoles de trolox équivalent par microgramme d'extrait lyophilisé. Les tests ont été effectués en duplicata.

6.2. La décoloration de l'ABTS

Le stock de radical ABTS (acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) a été préparé comme indiqué par Re et al. (1999). La poudre d'ABTS a été dissoute dans le tampon phosphate à pH 7 et conservée à l'obscurité pendant 24 heures. Ce stock peut ainsi être dilué dans le même tampon à la concentration voulue. Pour la solution de travail, on a mesuré l'absorbance

de la solution à 734 nm. Il a été démontré qu'à cette longueur d'onde, l'absorbance varie linéairement avec la concentration jusqu'à une absorbance maximale de 2 (Re et al., 1999). Pour les tests de décoloration, les absorbances initiales ont été approximativement de 1,5 à 734 nm. Les tests ont été effectués dans des plaques de 96 puits. Dans chaque puits, 10 µl d'extrait (100 µg/ml) ont été additionnés à 250 µl d'ABTS. La cinétique de décoloration de l'ABTS à 734 nm a été suivie avec le dispositif précédemment décrit. La quantité d'ABTS complexée à un temps t correspond à la différence de densités optiques entre les puits avec extraits et les puits sans extraits. Le nombre de moles d'ABTS est évalué en utilisant le coefficient d'extinction molaire de l'ABTS à 734 nm qui est de $12\,867\text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Dans le présent travail, la décoloration a été suivie pendant 30 minutes et les tests ont été effectués en double.

7. Les tests antimicrobiens

7.1. Les tests de sensibilité

Les tests de sensibilité ont été réalisés sur milieu Muller Hinton solide tel que décrit par Perez et al. (1990). Les microorganismes issus d'une culture de 18 à 20 heures incubés à 37°C ont été suspendus dans de l'eau salée (NaCl 0,85% (w/v)) à une turbidité correspondant au Mac Farland 0.5. Cette suspension a été utilisée pour ensemercer des boîtes de Pétri par écouvillonnage. Des puits de 6 mm de diamètre ont été faits dans la gélose et ces puits ont été ensuite inoculés avec 50 µl d'extrait à 5000 µg/ml pour les polyphénols et les extraits hydroalcooliques et à 2000 µg/ml pour les alcaloïdes. Pour les antibiotiques conventionnels les disques ont été déposés directement sur la gélose. Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant une période totale de 24 heures. Les polyphénols ont été dissous dans de l'eau distillée tandis que les extraits hydroalcooliques et les alcaloïdes ont été dissous dans du DMSO et dilués avec de l'eau distillée à une concentration finale de 1% de DMSO. L'activité antimicrobienne a été estimée par la mesure du diamètre d'inhibition autour des puits et des disques.

7.2. L'activité microbicide

Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et les Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) ont été déterminées en utilisant la technique de microdilution avec le bouillon Muller Hinton (NCCLS, 2000). Les suspensions bactériennes ont été diluées avec du bouillon et distribuées dans les plaques de 96 puits contenant une gamme de concentrations d'extraits allant de 10 à 2000 µg/ml pour les polyphénols et de 400 à 3,2 µg/ml pour les alcaloïdes. Les inocula tel que déterminés par le comptage des colonies à partir des puits témoins sans extraits ont été approximativement de 10^5 UFC/ml. Les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. La CMI a été définie comme la concentration minimale d'extrait pour laquelle on n'observe pas de croissance visible à l'œil nu et la CMB comme étant la concentration minimale qui tue 99,99 % de l'inoculum de départ. La CMB a été déterminée en prélevant 100 µl de suspension dans les puits sans croissance visible et en ensemençant de la gélose nutritive. L'incubation s'est faite à 37 °C pendant 48 heures au bout desquelles on a procédé au comptage des colonies.

7.3. La cinétique d'inhibition de la croissance bactérienne

Escherichia coli CIP 105182 et *Shigella dysenteriae* CIP 504051 ont été sélectionnés arbitrairement pour suivre la cinétique d'inhibition de la croissance bactérienne. Les suspensions des deux microorganismes correspondant au Mac Farland 0.5 ont été diluées à 10^5 UFC/ml dans de la gélose nutritive puis les microorganismes ont été mis en culture en présence d'une concentration alcaloïdes correspondant au double de leur CMI. Les cultures ont été ensuite incubées à 37°C sous agitation continue dans une incubateur de type INNOVA™ 4000. Aux temps $t_x = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6$ heures, un aliquote de 100 µl de la suspension a été prélevé et dilué dans 10 ml de milieu stérile pour ensemencher des boîtes de Pétri par écouvillonnage comme précédemment décrit. Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pour une période totale de 48 heures. L'expérience a été effectuée en deux reprises.

8. Les tests antiplasmodiaux

Les parasites ont été cultivés suivant la méthode décrite par Trager et Jensen (1976). Les échantillons de sang prélevés ont été lavés trois fois avec du RPMI 1640 simple pour séparer les érythrocytes des autres composant sanguins. Les érythrocytes ont été ensuite suspendus à un

hématocrite de 5 % dans le milieu de culture complet constitué du RPMI 1640 supplémenté avec la L-glutamine (4,2 mM), le sérum fœtal bovin (10 %), le tampon HEPES (25 mM), la streptomycine (100 µg/ml), la pénicilline (100 UI/ml). Les tests ont été effectués en utilisant le semi microtest optique décrit par [Lebras et Deloron \(1983\)](#).

Les alcaloïdes ont été dissous dans du méthanol, les extraits hydroalcooliques et les fractions isolées ont été dissous dans du DMSO et la chloroquine phosphate dans de l'eau distillée. Les solutions de drogues ont été ensuite diluées dans le milieu de culture de façon à avoir des concentrations finales de 0,5 % et de 0,1 % de DMSO et de méthanol respectivement, dans les premiers puits. Des puits témoins ont été préparés en remplaçant les solutions de drogues par les solvants respectifs pour s'assurer que les concentrations de solvant utilisées sont sans incidence significative sur la maturation des parasites. Les concentrations de drogues dans les puits ont varié de 200 à 1,6 µg/ml pour les extraits hydroalcooliques, de 100 à 1,9 µg/ml pour les fractions isolées, de 1 à 0,03 µg/ml pour les alcaloïdes totaux et de 0,2 à 0,03 µg/ml pour la chloroquine phosphate. Le volume final dans les puits a été de 200 µl. Les plaques ont été incubées à 37 °C pendant une période totale de 36 à 40 heures en utilisant la technique de la jarre à bougie. Les tests ont été réalisés en triple.

La maturation des parasites a été estimée en évaluant le rapport de schizontes matures (schizontes présentant trois noyaux et plus) sur toutes les formes asexuées du parasite pour un total de 20 000 érythrocytes. La maturation est bonne lorsque le pourcentage est supérieur à 20. On construit ensuite les graphes pourcentage de maturation en fonction du logarithme de la concentration. On détermine les CI_{50} à partir de l'équation de la droite de régression. La CI_{50} se définit comme étant la concentration de drogue pour laquelle 50 % des parasites sont inhibés.

9. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

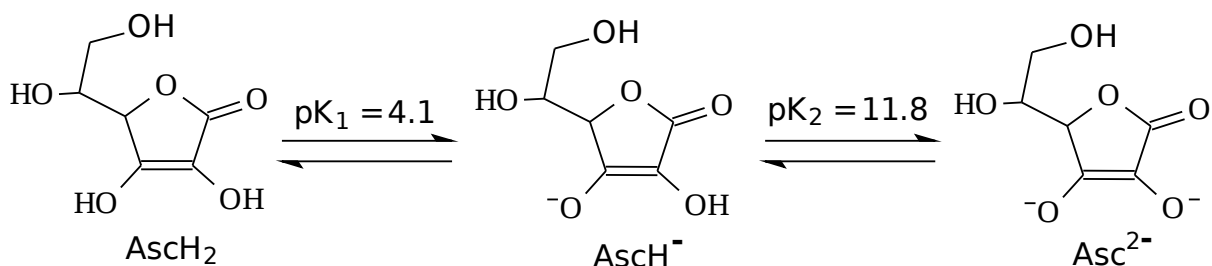
La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a été réalisée grâce à un appareil de type Auto HRGC/MS Carlo Erba instrument avec une colonne capillaire de type SPB5 (30 m/ 0,25 mm/ 0,5 µm). La température d'injection a été fixée à 280 °C et le gradient à 20 °C/min. La pression et la tension ont été de 150 kPa et de 6 eV respectivement. L'hélium a servi de gaz vecteur. Les extraits ont été dissouts à 1 mg/ml dans le méthanol et injectés à raison de 10 µl par course.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

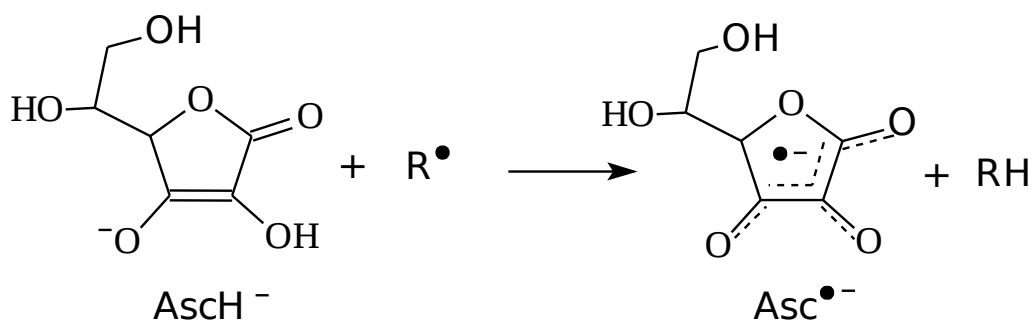
1. Teneurs en composés phénoliques et activités antioxydantes

Le dosage des composés phénoliques et les activités antioxydantes se sont effectués sur les extraits de polyphénols uniquement. Les résultats de ces différents tests sont consignés dans le tableau 1. Ces résultats révèlent que les écorces de tronc de *K. senegalensis* ont la plus grande teneur en composés phénoliques (47,19 µg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait lyophilisé). *S. acuta* a la plus faible teneur (10,11. µg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait lyophilisé)

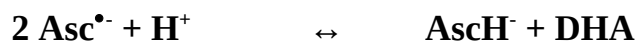
Les polyphénols sont des composés fortement hydroxylés que l'on retrouve dans diverses fractions d'extraits végétaux et dont la caractéristique principale est de précipiter les protéines et les polyamines (Haslam, 1996). Une des propriétés des polyphénols est leur capacité à "absorber" les radicaux libres dans les systèmes biologiques. Ce qui fait de ces composés de potentiels agents antioxydants (Hagerman et al., 1998). Les équations suivantes illustrent l'"absorption" des radicaux libres par l'acide ascorbique, un antioxydant hydrosoluble. Dans les systèmes biologiques, l'acide ascorbique peut se dissocier de la façon suivante :



L'"absorption" proprement dite se déroule en deux étapes. Dans une première étape, l'ascorbate (AsCH⁻) cède un atome d'hydrogène à un radical oxydant (R[•]) avec formation du radical tricarbonyl ascorbate (Asc^{•-}).



Dans une seconde étape, il se produit une dismutation des radicaux ascorbates. Cette réaction met en jeu deux radicaux ascorbates et un proton pour donner l'ion ascorbate et le déhydroascorbate (DHA).



Cette dismutation est la principale voie d'élimination des radicaux ascorbates *in vitro*. *In vivo*, elle se fait grâce aux enzymes réductrices. Elle contribue au recyclage de l'ascorbate (Hossain et Asada, 1985). Dans le présent travail, il a été question d'évaluer l'activité antioxydante des polyphénols en utilisant deux méthodes différentes.

La première méthode est basée sur la réduction du molybdate Mo^{VI} en molybdate Mo^{V} par les composés antioxydants avec la formation d'un complexe vert de phosphomolybdate Mo^{V} qui présente un maximum d'absorption à 695 nm. La méthode s'est révélée très efficace dans la quantification de l'activité antioxydante de la vitamine E (Prieto et al., 1999). Elle a été plus tard appliquée aux polyphénols (Lu et Foo, 2001). Appliquée aux polyphénols dans la présente étude, elle a révélé une bonne activité des écorces de *K. senegalensis* suivies de *C. micranthum* et des écorces de *P. erinaceus* (tableau 1). L'absorbance mesurée avec le trolox à 50 µg/ml à 695 nm a été de $A_{695} = 0,707$. Un rapport effectué entre les activités des extraits ci-dessus cités et le trolox donne un résultat voisin de 60 %. Ceci est un résultat intéressant car obtenu avec des extraits bruts dont la purification des principes actifs pourrait donner des activités supérieures à celle du trolox.

Tableau 1: Teneur en phénols totaux et activités antioxydantes des extraits.

Extraits	Phénols totaux (μg acide gallique /g)	Activités antioxydantes	
		AA ¹ (μmol trolox/ μg)	AA ² (μmol trolox/ μg)
Cbm	37,80 \pm 1,04	2,08 10 ³ \pm 0,02 10 ³	16,37 \pm 0,01
Kse	47,19 \pm 0,13	2,21 10 ³ \pm 0,04 10 ³	21,97 \pm 0,046
Ksf	34,91 \pm 1,88	1,50 10 ³ \pm 0,03 10 ³	15,47 \pm 2,65
Pee	40,80 \pm 1,75	1,89 10 ³ \pm 0,08 10 ³	22,20 \pm 0,29
Pef	28,42 \pm 0,75	1,88 10 ³ \pm 0,03 10 ³	8,08 \pm 0,06
Sac	10,11 \pm 0,29	1,20 10 ³ \pm 0,04 10 ³	6,12 \pm 1,18

AA¹ : activité antioxydante mesurée par la méthode du phosphomolybdate

AA² : Activité antioxydante mesurée par la décoloration de l'ABTS

Cbm : *C. micranthum*, Kse : *K. Senegalensis* écorces, Ksf: *K. senegalensis* feuilles, Pee : *P. erinaceus* écorces, Pef : *P. erinaceus* feuilles Sac : *S. acuta* (valable dans tout le reste du document)

La deuxième méthode a consisté à suivre la décoloration du radical cation ABTS. L'ABTS est radical cation qui se décolore par oxydation avec $E^{\circ}_{(ABTS/ABTS^+)} = 1,72$ mV. Des travaux antérieurs ont montré qu'il y a une excellente corrélation entre la capacité des composés phénoliques à absorber les radicaux d'oxygène (leur ORAC) et leur capacité à complexer les radicaux de l'ABTS et du DPPH. Il a été donc établi que la décoloration de l'ABTS est une méthode fiable pour évaluer l'activité antioxydante de ces composés (Awika et al., 2003 ; Fernández-Pachón et al., 2004).

Les résultats enregistrés avec l'ABTS et ceux enregistrés avec le phosphomolybdate sont similaires (confère tableau 1) en témoigne l'excellente corrélation obtenus entre les deux méthodes (coefficient de corrélation $r = 0,92$).

Par ailleurs, on obtient aussi une bonne corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes ($r = 0,91$ par la décoloration de l'ABTS et $r = 0,94$ par la méthode du phosphomolybdate). Des résultats similaires ont été trouvés par d'autres auteurs qui ont montré qu'il y a une bonne corrélation entre le profil en phénols totaux et l'activité antioxydante des extraits de plantes (Tunalier et al., 2001 ; Fernández-Pachón et al., 2004).

Les radicaux libres sont des molécules non appariées issues de l'oxygène et de l'azote. Leur production est utile parce que ces derniers peuvent aider les cellules du système immunitaire à attaquer les cellules bactériennes, les cellules tumorales et les cellules infectées par les virus.

La formation des radicaux libres dérivés de l'oxygène (le radical superoxyde : $O_2^{\cdot -}$ et le radical hydroxyle OH^{\cdot}) est un processus normal dans les systèmes de respiration aérobie. L'organisme dispose d'un système d'élimination de ces radicaux libres. Le stress oxydatif s'installe lorsqu'il y a un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur élimination. Le stress contribue beaucoup à l'apparition de nombreuses pathologies telles les cancers, les maladies cardiovasculaires et les pathologies dégénératives du système nerveux (Babbs, 1992 ; Aruoma et al., 1998). A ce sujet, des travaux scientifiques ont montré que les antioxydants naturels seraient plus protecteurs que les antioxydants synthétiques (Gey, 1998, Zhu et al., 2004). Les résultats ci-dessus obtenus montrent que les écorces de tronc de *K. senegalensis* et de *P. erinaceus* et les feuilles de *C. micranthum* sont de potentielles sources d'antioxydants naturels.

2. Les activités antibactériennes

2.1. Les activités antibactériennes des extraits hydroalcooliques et des polyphénols

Les résultats des tests de susceptibilité avec les polyphénols et les extraits hydroalcooliques sont consignés dans les tableaux 2 et 3. Les tests ont été effectués deux fois par semaine depuis la solubilisation des extraits (J_0). On a noté une variation des diamètres des zones d'inhibition jusqu'au bout de la troisième semaine (J_{21}) où les diamètres variaient peu. En exemple, dans le cas de *Sh. dysenteriae*, pour ce qui est des extraits phénoliques, avec *S. acuta*, on enregistre un diamètre de 15 mm à J_0 et un diamètre de 25 mm à J_{21} . Pour la même souche, avec *C. micranthum*, on enregistre 25 et 21 mm pour J_0 et J_{21} , respectivement (tableau 3). Les diamètres enregistrés avec les extraits hydroalcooliques et ceux enregistrés avec les extraits de polyphénols sont similaires (tableaux 2 et 3). Ce qui suggère que l'activité des extraits est due aux polyphénols. Une analyse de ces résultats montre que : *K. oxytoca* et les souches de références de *E. coli* et de *Sh. dysenteriae* ne sont inhibées par aucun des extraits à 5000 $\mu\text{g/ml}$. L'extrait fraîchement préparé des feuilles de *P. erinaceus* n'inhibe aucun de nos microorganismes. *Sal. parathyphi* B, *S. aureus*,

et *S. aureus* ATCC 25923 sont plus sensibles aux extraits conservés. *Sh. dysenteriae* est plus sensible aux extraits fraîchement préparés. De plus, la sensibilité aux extraits ne semble pas liée au gram des bactéries. Les plus grands diamètres d'inhibition ont été enregistrés aussi bien avec les gram positifs qu'avec les gram négatifs.

Tableau 2: Diamètres des zones d'inhibition (en millimètres) mesurés avec les extraits hydroalcooliques

Microorganismes	Cbm		Kse		Ksf		Pee		Pef		Sac	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
<i>Sh. dysenteriae</i>	25	20	17	15	14	12	14	12	13	-	12	25
<i>Sh. dysenteriae</i> CIP 504051	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sh. flexneri</i>	18	12	17	12	12	-	12	-	-	-	-	-
<i>Sh. boydii</i>	17	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sal. thyphi</i>	13	-	12	-	12	-	12	-	-	-	-	-
<i>Sal. paratyphi</i> B	-	25	10	22	-	16	-	18	-	13	-	17
<i>Sal. paratyphi</i> C	13	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	15	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. ozenae</i>	14	-	-	15	-	13	-	14	-	-	-	17
<i>K. oxytoca</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	14	24	12	22	-	14	-	12	-	-	-	11
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	15	-	16	-	12	-	14	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	12	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> CIP 105182	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

J₀ : pour les extraits nouvellement solubilisés J₂₁ : pour les extraits conservés après 21 jours (-): pour les diamètres d'inhibition nuls

Tableau 3 : Diamètres zones d'inhibition (en millimètres) mesurés avec les polyphénols

microorganismes	Cbm		Kse		Ksf		Pee		Pef		Sac	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
<i>Sh. dysenteriae</i>	25	21	13	15	10	-	-	-	-	-	15	25
<i>Sh. dysenteriae</i> CIP 504051	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sh. flexneri</i>	20	14	15	11	12	11	-	-	-	-	-	-
<i>Sh. boydii</i>	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sal. thyphi</i>	15	13	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sal. paratyphi</i> B	12	29	11	22	-	16	-	22	-	12	-	16
<i>Sal. paratyphi</i> C	12	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	15	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. ozenae</i>	20	12	-	15	-	15	-	11	-	-	-	18
<i>K. oxytoca</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	15	22	12	18	-	18	-	-	-	-	-	15
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	12	15	12	16	-	15	-	12	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> CIP 105182	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

J₀ : pour les extraits nouvellement solubilisés

J₂₁ : pour les extraits conservés après 21 jours

(-) : pour les diamètres d'inhibition nuls

Il ressort de ces résultats que les activités sont fortement influencées par le temps de conservation des extraits mais, travaillant sur les extraits hydroalcooliques d'*Acacia aroma* Gill ex Hook et Arn, [Arias et al. \(2004\)](#) n'ont enregistré aucune différence d'activité entre extrait fraîchement préparé et extrait conservé. Dans notre cas, l'activité des extraits est due aux polyphénols et elle pourrait de ce fait être liée au degré d'oxydation de ces composés. En effet, les polyphénols sont des composés très susceptibles d'autooxydation en présence de l'oxygène de l'air. Cette oxydation se traduit par une polymérisation des monomères tels les monomères de flavonoïdes pour donner des polymères de poids moléculaires élevés. Il a été démontré que le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes se fait soit par la privation des ions métalliques tels que le fer, soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires (les adhésines) ou les enzymes comme les hydrolases ([Scalbert, 1991](#) ; [Cowan, 1999](#)). Cependant, un important facteur qui régit l'activité antimicrobienne des polyphénols est leur poids moléculaire. Les monomères sont trop petits pour établir assez de pont hydrogènes tandis que les polymères de haut poids moléculaire sont trop grands pour traverser la paroi bactérienne. Le poids moléculaire idéal serait donc celui des oligomères ([Field et Lettinga, 1992](#)). Il a été démontré que l'oxydation des composés phénoliques peut aussi influencer leur activité antivirale. [Ferrea et al. \(1993\)](#) ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles de *C. micranthum* ne devient actif sur les virus 1 et 2 de l'herpes qu'après 7 jours, suite à une autooxydation alcaline des tanins catéchiques.

Tableau 4 : Activité microbicides des polyphénols (µg/ml)

Microorganismes	Cbm		Kse		Ksf		Pee		Pef		Sac	
	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI
<i>Sh. dysenteriae</i>	600	600	-	1000	1000	1000	-	-	-	-	20	20
<i>Sh. dysenteriae</i> CIP 504051	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sh. flexneri</i>	-	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sh. boydii</i>	-	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sal. thyphi</i>	-	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sal. paratyphi</i> B	80	80	80	80	1200	400	400	80	-	-	2000	2000
<i>Sal. paratyphi</i> C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. ozenae</i>	1000	1000	-	-	-	1000	-	-	-	-	-	1000
<i>K. oxytoca</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	50	20	600	600	240	240	-	-	-	-	2000	2000
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	400	600	600	1200	1200	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> CIP 105182	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-): pour les valeurs supérieures à 2000 µg/ml

Dans le but de vérifier si les activités antimicrobiennes observées étaient microbicides ou microbiostatiques, les CMI et les CMB ont été déterminées. Ces valeurs ont été déterminées uniquement avec les polyphénols étant donné que les activités sont dues aux polyphénols. Les valeurs trouvées se trouvent consignées dans le tableau 5. Les CMI et les CMB ont varié de 20 à 2000 µg/ml pour les souches sensibles. Ont été considérés comme microbicides, les extraits dont les rapports CMB/CMI sont équivalents à 1 et microbiostatiques les extraits dont les rapports sont supérieurs à 1. Le récapitulatif de ces différentes activités se trouve consigné dans le tableau 5.

Tableau 5 : Récapitulatif des activités antimicrobiennes observées avec les polyphénols

Extraits	Activité microbicide	Activité microbiostatique
Cbm	<i>Sh. dysenteriae</i> , <i>Sal. parathyphi</i> B, <i>K. ozenae</i>	<i>Sh. flexneri</i> , <i>Sh. boydii</i> , <i>Sal. thyphi</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. aureus</i> ATCC 25923
Kse	<i>Sal. parathyphi</i> B, <i>S. aureus</i> , <i>S. aureus</i> ATCC 25923,	<i>Sh. dysenteriae</i>
Ksf	<i>Sh. dysenteriae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>Sal. parathyphi</i> B, <i>K. ozenae</i> ,
Pee	Néant	<i>Sal. parathyphi</i> B
Pef	Néant	Néant
Sac	<i>Sh. dysenteriae</i> , <i>Sal. parathyphi</i> B, <i>S. aureus</i>	<i>K. ozenae</i>

2.2. L'activité antimicrobienne des alcaloïdes de *S. acuta*

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés plus ou moins basiques rencontrés généralement à l'état naturel sous la forme de sel. Ils ont la propriété de précipiter en présence des sels de métaux lourds tels que le mercuritétraiodure de potassium (réactif de Mayer) ou le tétraiodobismuthate de potassium (réactif de Dragendorff). Les alcaloïdes rencontrés dans *S. acuta* font partie de la famille des indoloquinolines. Cette famille d'alcaloïdes est dotée d'importantes propriétés pharmacologiques parmi lesquelles les propriétés antimicrobiennes. Dans le présent travail, sur milieu solide, les tests de sensibilité ont donné des diamètres variant de 16 à 38 mm

(tableau 6). Les plus grands diamètres ont été enregistrés avec les bactéries gram positif. En exemple on a 38 mm avec *E. faecalis*, 35 mm avec la souche de référence du même germe et 29 mm avec *B. cereus* LMG 13569 et *S. aureus* ATCC 53154.

Toutes les souches se sont révélées résistantes à la sulfadiazine. Il s'agit d'un antibiotique à activité bactériostatique. Il agit comme un antagoniste compétitif de l'acide para-amino-benzoïque en empêchant son incorporation dans l'acide folique qui est un facteur de croissance pour les bactéries. Les bactéries qui en résistent sont perméables à l'acide folique préformé. Elles utilisent donc l'acide folique exogène.

La pénicilline n'a agi que sur quelques bactéries gram positif, les bactéries gram négatif se sont révélées résistantes. Cet antibiotique agit sur la paroi bactérienne lors de la synthèse de la muréine en empêchant la transpeptidation. Ce qui explique que la pénicilline soit surtout active sur les bactéries gram positif.

La spectinomycine a agi sur toutes les bactéries testées avec des diamètres variés. Les plus grands diamètres ont été enregistrés avec *B. cereus* LMG 53659 et *S. aureus* ATCC 53154 (tableau 6). La spectinomycine peut être bactériostatique ou bactéricide. Elle agit par altération du code génétique lors de la synthèse des protéines en se fixant sur la sous unité 30S du ribosome. C'est donc un antibiotique à spectre d'activité large. La résistance à cet antibiotique est extrachromosomique et transférable par le plasmide R chez les entérobactéries par production d'aminoglycoside 3' adényltransférase.

En milieu liquide, les CMI enregistrées avec les alcaloïdes vont de 16 à 240 µg/ml, tandis que les CMB vont de 80 à plus de 400 µg/ml (confère tableau 7). L'action des alcaloïdes sur les bactéries testées est bactériostatique exceptées *E. coli* CIP 105182 et les souches hospitalières de *S. aureus*. Le mode d'action proprement dit des indoloquinolines sur les microbes est encore discuté. A ce sujet, [Sawer et al. \(2005\)](#) ont montré que la cryptolépine provoque la lyse des cellules de *S. aureus* avec des changements morphologiques observables en microscopie électronique. Cependant, les alcaloïdes indoloquinoliniques peuvent agir par d'autres mécanismes quand on sait que la cryptolépine et ses analogues sont des agents intercalants et des agents inhibiteurs de la synthèse de l'ADN ([Bonjean et al., 1998](#) ; [Guittat et al., 2003](#)).

Tableau 6: Moyenne des diamètres d'inhibition (en millimètres) enregistrés avec les alcaloïdes et les antibiotiques conventionnels.

Microorganismes	Gram	Pen	Sulf	Spec	Alc
<i>S. aureus</i> (n = 6)	+	-	-	14±03	25±4
<i>S. aureus</i> (n = 5)	+	39±09	-	16±02	27±7
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	+	-	-	20±00	28
<i>S. aureus</i> ATCC 53154	+	-	-	29	29
<i>S. carmonum</i> LMG 13567	+	40	-	20	20
<i>B. cereus</i> LMG 13569	+	-	-	29	20
<i>L. innocua</i> LMG 13568	+	27	-	20	29
<i>E. faecalis</i> (n = 3)	+	35±05	-	20±00	38±02
<i>E. faecalis</i> CIP 103907	+	30	-	20	35
<i>Sh. boydii</i> (n = 4)	-	-	-	18±01	17±02
<i>Sh. flexneri</i> (n = 5)	-	-	-	20±05	18±7
<i>Sh. dysenteriae</i> (n = 3)	-	-	-	21±02	18±00
<i>Sh. dysenteriae</i> CIP 54051	-	-	-	18	18
<i>Sal. thyphi</i> (n = 3)	-	-	-	18±02	00
<i>Sal parathyphi</i> B (n = 3)	-	-	-	20±01	00
<i>E. coli</i> (n= 4)	-	-	-	16±01	16±04
<i>E. coli</i> CIP 105182.	-	-	-	20	20

Pen : pénicilline (10 UI / IE / IU), Sulf : sulfadiazine (0.25mg), Spec : spectinomycine (100µg), Alc : alcaloïdes (100µg), -: absence de zone d'inhibition

Tableau 7: Activité microbicide des alcaloïdes (µg/ml)

Microorganismes	Gram	CMI	CMB	Effet
<i>S. aureus</i> Pen ⁻ (n = 6)	+	240±00	240±00	Bactéricide
<i>S. aureus</i> Pen ⁺ (n = 5)	+	80±00	80±00	Bactéricide
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	+	400	>400	Bactériostatique
<i>S. aureus</i> ATCC 53154	+	400	>400	Bactériostatique
<i>S. carmonum</i> LMG 13567	+	80	240	Bactériostatique
<i>B. cereus</i> LMG 13569	+	80	>400	Bactériostatique
<i>L. innocua</i> LMG 13568	+	16	240	Bactériostatique
<i>E. faecalis</i> (n = 3)	+	16±00	>400	Bactériostatique
<i>E. faecalis</i> CIP 103907	+	16	>400	Bactériostatique
<i>Sh. boydii</i> (n = 4)	-	80±00	240±00	Bactériostatique
<i>Sh. flexneri</i> (n = 5)	-	80±00	186±54	Bactériostatique
<i>Sh. dysenteriae</i> (n = 3)	-	240±00	400±00	Bactériostatique
<i>Sh. dysenteriae</i> CIP 54051	-	240	400	Bactériostatique
<i>E. coli</i> (n= 4)	-	80±00	240±00	Bactériostatique
<i>E. coli</i> CIP 105182.	-	80	80	Bactéricide

Pen⁻ : *S. aureus* résistant à la pénicilline, Pen⁺ : *S. aureus* sensible à la pénicilline

Afin de suivre l'activité des alcaloïdes en fonction du temps, une étude cinétique a été réalisée sur *E. coli* CIP 105182 et sur *Sh. dysenteriae* CIP 54051 arbitrairement choisies parmi les souches étudiées. Les résultats ont montré qu'après 5 heures d'exposition à une concentration d'alcaloïdes égale au double de leur CMI, il n'y a plus de microorganismes viables dans le milieu (tableau 8). De plus, l'activité est plus rapide sur *E. coli* que sur *Sh. dysenteriae*.

Tableau 8: Viabilité des microorganismes en fonction du temps d'exposition aux alcaloïdes

Temps (heures)	0	1	2	3	4	5	6
<i>E. coli</i> CIP 105182	+ (Ind)	+ (Ind)	20±05	05±02	-	-	-
<i>Sh. dysenteriae</i> CIP 54051	+ (Ind)	+ (Ind)	+ (Ind)	17±04	03±02	-	-

Ind : indénombrable, + : présence de colonies, - : absence de colonies

3. Les activités antiplasmodiales

Un total de 38 isolats a été utilisé pour les différents tests. Quinze isolats ont été testés avec les extraits hydroalcooliques, 13 avec les fractions isolées, 10 avec les alcaloïdes. Tous les isolats ont été testés avec la chloroquine phosphate. Dans toutes les cultures prises en compte pour les interprétations des résultats, le pourcentage de schizontes mûrs a été toujours supérieur à 20. L'observation au microscope des parasites des puits témoins avec solvant uniquement a montré que la présence du DMSO et du méthanol aux concentrations finales de 0,5 et de 0,1 % respectivement, n'ont eu d'influence significative ni sur la maturation des parasites ni sur leur morphologie.

Aux fortes concentrations de drogues, l'observation au microscope a montré des parasites complètement résorbés ou de taille extrêmement réduite. Toutefois, les hématies n'ont pas montré des déformations significatives. La représentation graphique de l'activité en fonction de la concentration de drogue donne des graphes superposables dont l'allure générale est représentée par le graphe de la figure 8.

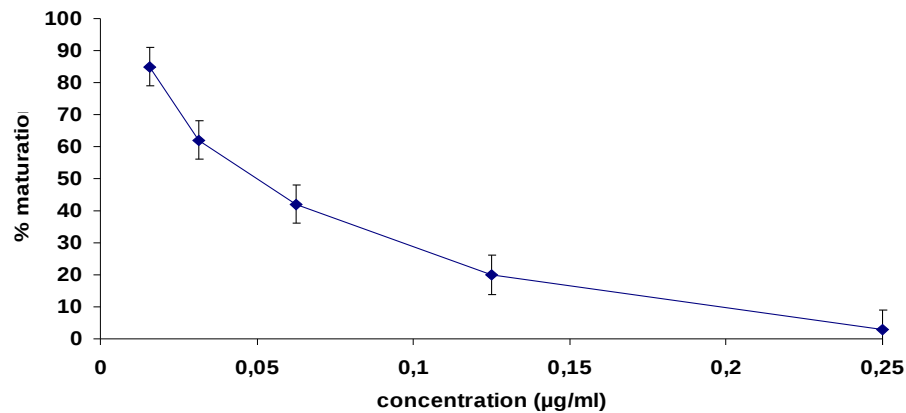


Figure 8: Pourcentage de la maturation des parasites en fonction de la concentration d'alcaloïdes.

Les courbes prennent une allure sigmoïde lorsqu'on passe à l'échelle logarithmique de l'axe des abscisses. La courbe de tendance avec cette échelle logarithmique est une droite d'équation $Y = ax + b$ où a et b sont des coefficients, y le pourcentage d'inhibition et x le logarithme de la concentration. Cette équation permet de déterminer la CI_{50} pour $y = 50$.

Les CI_{50} des extraits hydroalcooliques se trouvent représentées sur l'histogramme ci-dessous (figure 9). Selon les normes établies par [Rosanaivo et al . \(1992\)](#), les extraits très actifs ont une CI_{50} inférieures à $5\mu\text{g}/\text{ml}$ et les extraits modérément actifs des CI_{50} comprises entre 5 et $50\mu\text{g}/\text{ml}$. En fonction des valeurs de CI_{50} trouvées, l'extrait hydroalcoolique de *S. acuta* ($CI_{50} = 4,37\mu\text{g}/\text{ml}$) est très actif, les feuilles de *P. erinaceus* ($CI_{50} = 14,63\mu\text{g}/\text{ml}$) et de *C. micranthum* ($CI_{50} = 33,05\mu\text{g}/\text{ml}$) sont modérément actifs et les extraits de *K. senegalensis* et les écorces de *P. erinaceus* sont sans activité significative sur les souches testées.

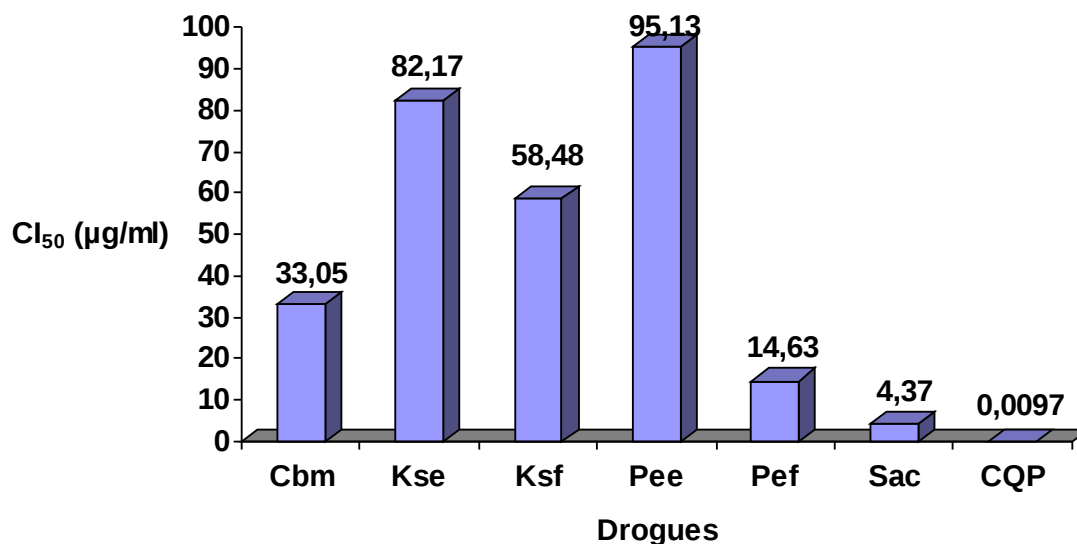


Figure 9: Valeurs des CI₅₀ (µg/ml) des extraits hydroalcooliques

Il s'agit de la première étude qui fait cas de l'activité antiplasmodiale de *P. erinaceus* bien que la plante ait été étudiée pour d'autres propriétés pharmacologiques telle que l'activité antigonadotrophique (Benie et al., 2003 a,b ; 2004). Dans le cas de *C. micranthum* par contre, plusieurs travaux rapportent une bonne activité antiplasmodiale de la plante (Benoit et al., 1996 ; Ancolio et al., 2002). Dans la présente étude, *K. senegalensis* n'a pas montré une activité significative sur les souches testées. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés par El Tahir et al. (1999) qui ont trouvé une activité antiplasmodiale insignifiante de l'extrait méthanolique des écorces mais une bonne activité des extraits de graine de la plante.

Les deux extraits hydroalcooliques les plus actifs, *S. acuta* et les feuilles de *P. erinaceus* ont été dissouts dans de l'eau distillée et soumis à un partage liquide-liquide entre l'éther de pétrole et l'eau puis entre le chloroforme et l'eau. Les fractions ainsi obtenues ont servi pour les seconds tests antiplasmodiaux. Les valeurs des CI₅₀ trouvées sont représentées graphiquement sur l'histogramme de la figure 8.

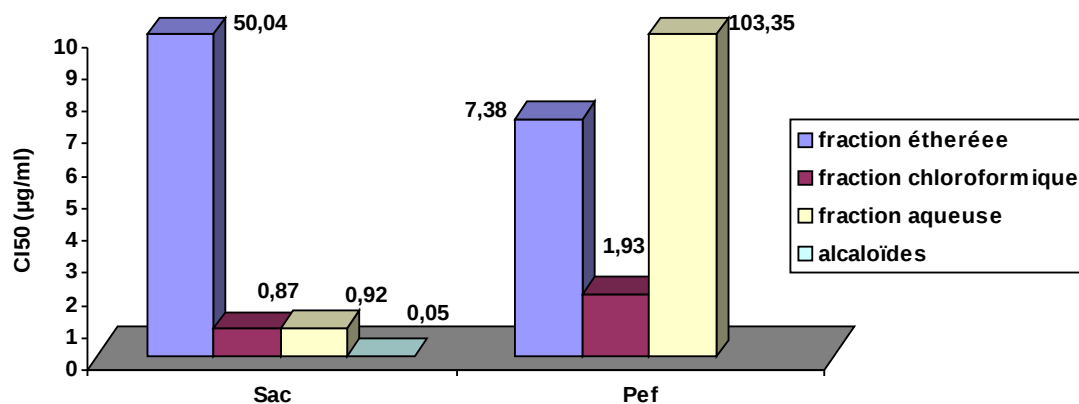


Figure 10: Activité antiplasmodiale des fractions

Pour ce qui concerne les feuilles de *P. erinaceus*, la fraction chloroformique est la plus active, la fraction aqueuse est dépourvue de toute activité antiplasmodiale. Le principe actif est soluble dans les solvants organiques avec une plus grande affinité pour le chloroforme. Chez *S. acuta* par contre, on note une activité antiplasmodiale similaire des fractions chloroformique et aqueuse, la fraction étherée est sans activité. Le principe actif a une bonne solubilité dans le chloroforme et dans l'eau. Ceci a suggéré l'extraction des alcaloïdes car ces composés sont solubles dans l'eau et dans les solvants organiques en fonction du pH et aussi ils sont reconnus pour être de potentiels agents antimalariques. La valeur de la CI_{50} trouvée (0,05 µg/ml) avec les alcaloïdes confirme bien que l'activité antimalarique de *S. acuta* est due aux alcaloïdes. L'analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a donné le chromatogramme de la figure 11. Sur ledit chromatogramme on distingue deux pics majeurs à 15,39 et à 15,72 mn puis deux pics mineurs à 12,87 et à 14,95 mn. Les deux pics majeurs : $t_r = 15,39$ MS (EI/mz) 232 (100%) et $t_r = 15,72$ MS (EI/mz) 218 (100%) ont été identifiés à la cryptolépine et à la quindoline (figure 12) respectivement, sur la base de leurs fragmentations qui sont conformes avec les données de la littérature (Dwuma-Badu et al., 1978 ; Paulo et al., 1995 ; Pousset et al., 1995). Ces deux alcaloïdes ont été retrouvés dans *Sida acuta* et dans d'autres espèces du même genre par d'autres auteurs (Banzouzi et al., 2004 ; Gunatilaka et al., 1980). Les autres pics n'ont pas pu être identifiés sur la base de leurs fragmentations, des données supplémentaires sont nécessaires pour leur identification complète.

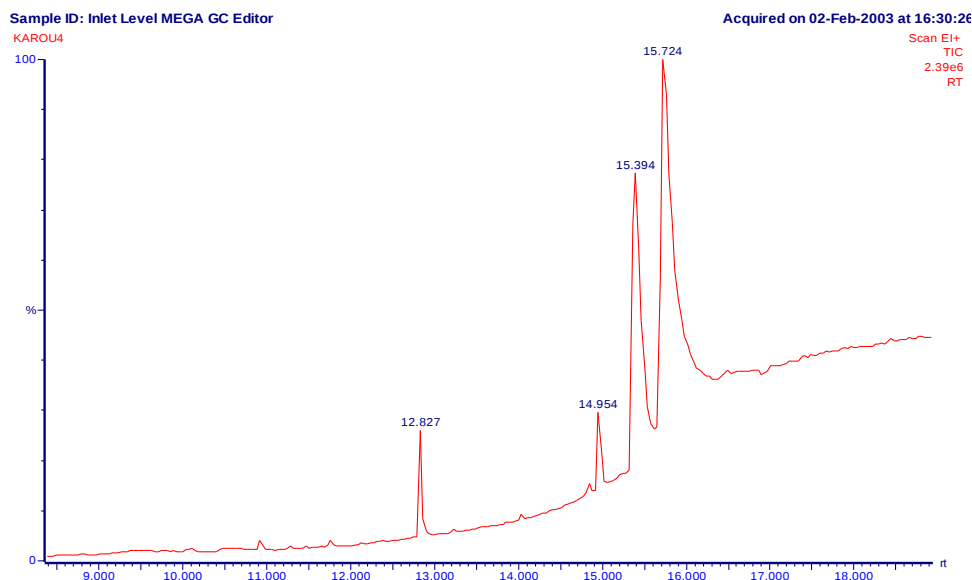
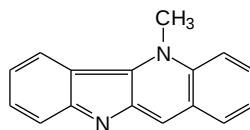
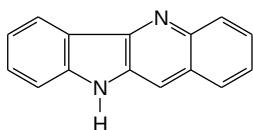


Figure 11: Chromatogramme en phase gazeuse des alcaloïdes de *Sida acuta*

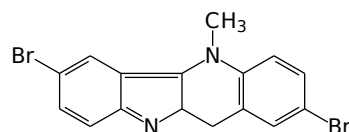
L'activité antimalarique de la cryptolépine est connue depuis longtemps (Cimanga, 1996 ; Wright et al., 2001 ; Banzouzi et al., (2004), mais son mode d'action reste encore non élucidé. A cet effet deux hypothèses peuvent être retenues :

- la cryptolépine peut agir comme un agent intercalant qui s'insère dans la séquence nucléotidique de l'ADN entraînant ainsi une fragmentation de la molécule. En effet, plusieurs travaux ont montré que la cryptolépine s'insère dans l'ADN avec une forte affinité pour les sites riches en cytosine et guanine (Bonjean et al., 1998 ; Guittat et al., 2003).
- la cryptolépine peut aussi agir selon le même mode d'action que la chloroquine et les autres dérivées aminoquinolines en inhibant la détoxification de l'hème produite par la digestion de l'hémoglobine. A ce sujet, des études ont révélé une accumulation de l'hème dans la vacuole digestive du parasite en présence de la cryptolépine (Arzel et al., 2001 ; Lisgarten et al., 2002).



Quindoline

Cryptolépine



2,7-Dibromocryptolépine

Figure 12 : Structures moléculaires de composés identifiés et d'analogues structuraux

Malgré sa très bonne activité antiplasmodiale *in vitro*, la cryptolépine s'est avérée inefficace *in vivo* chez la souris après administration par voie orale. Par contre, par voie intrapéritonéale, la molécule est toxique. Ces observations suggèrent que la cryptolépine n'est pas un bon candidat pour la fabrication d'un médicament antipaludique, mais il devient évident que la molécule exerce ses activités antiplasmodiale et cytotoxique via deux mécanismes bien distincts. Dès lors, il est paru judicieux de synthétiser des analogues structuraux dotés d'une bonne activité antiplasmodiale avec une toxicité bien réduite. Pour le moment la 2,7-dibromocryptolépine (figure 12) est le plus prometteur (Wright et al., 2001). De récentes données expérimentales ont montré que le mode d'action de la molécule implique bien d'autres mécanismes en dehors de l'inhibition de la formation de l'hémozoïne (Onyeibor et al., 2005).

4. La synthèse des activités biologiques

Une analyse comparative des activités étudiées a permis de construire l'histogramme de la figure 13. Le principe de l'analyse a été de considérer l'extrait le plus actif comme ayant 100 % d'activité. Le pourcentage des activités des autres extraits peut ainsi être déduit en faisant le rapport des paramètres considérés dans la quantification desdites activités. Ainsi les CI₅₀ des extraits hydroalcooliques ont été utilisées pour comparer les activités antiplasmodiales des différents extraits. Pour ce qui est de l'activité antioxydante, les rapports ont été déterminés à partir des moyennes arithmétiques du nombre de moles de trolox par les deux méthodes de

quantification de l'activité antioxydante. Quant à l'activité antibactérienne, deux paramètres ont été pris en compte : l'activité antibactérienne en terme de nombre de microbes inhibés par l'extrait polyphénolique sur la base des CMI et l'activité en terme de plus petite valeur de CMB des mêmes extraits.

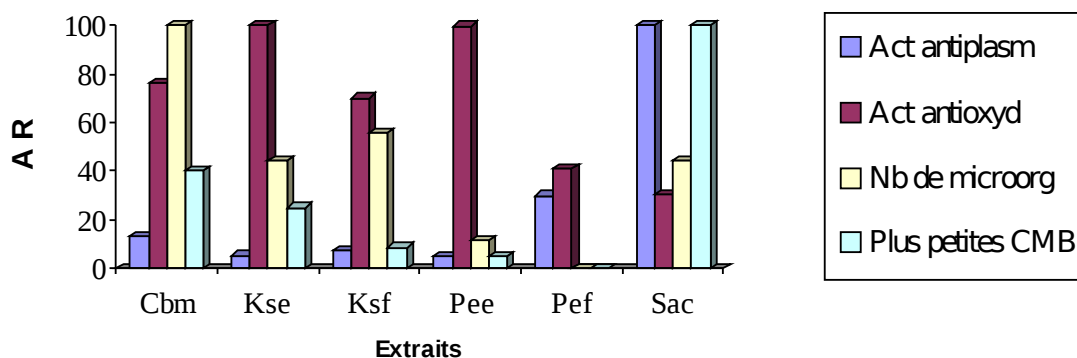


Figure 13 : Activités comparées des extraits.

Act antiplas : Activité antiplasmodiale, Act antioxyd : activité antioxydante, Nb de microorg : nombre de microorganismes inhibés, A R : activités relatives.

L'histogramme montre que *S. acuta* est la plante qui a la plus grande activité antiplasmodiale suivie des feuilles de *P. erinaceus*. Pour ce qui est de l'activité antioxydante, les écorces de *K. senegalensis* et les écorces de *P. erinaceus* ont montré les plus grandes activités. Ces activités sont liées aux fortes teneurs en phénols totaux que renferment ces organes de plantes. L'activité antimicrobienne a été exprimée de deux façons différentes. On remarque deux faits. En terme de nombre de microorganismes inhibés *C. micranthum* a été plus efficace, par contre en terme de plus petite valeur de CMB, *S. acuta* s'est avérée la plante la plus performante. Il va s'en dire que *S. acuta* a une très grande spécificité. Elle n'agit pas sur un grand nombre de microorganismes mais lorsqu'elle agit c'est avec une très grande efficacité.

Ces résultats obtenus *in vitro* peuvent ne pas refléter ce qui se passe *in vivo* avec les patients qui utilisent ces plantes à cause du mode de préparation et du mode d'administration de ces drogues. Il

convient de rappeler que la plupart des plantes sont administrées par voie orale et sous forme de tisane. Théoriquement la préparation de la drogue revient à faire une extraction aqueuse.

Sida acuta par exemple a montré une très bonne activité antiplasmodiale. Les alcaloïdes sont responsables de cette activité. En suivant le mode de préparation traditionnel, l'on ne saurait optimiser l'activité de la plante. Les alcaloïdes sont solubles soit dans l'eau soit dans les solvants organiques en fonction du pH (une chose que les populations ignorent). Ceci a été illustré par les CI_{50} enregistrées de 0,92 et 0,87 $\mu\text{g/ml}$ avec les fractions aqueuse et chloroformique respectivement. Ces valeurs sont à peu près similaires et il est évident que l'activité de la plante se trouve divisée par deux, la CI_{50} de la fraction alcaloïdique proprement dite étant de 0,05 $\mu\text{g/ml}$.

Dans le cas des feuilles de *P. erinaceus* qui ont montré la deuxième bonne activité in vitro, il n'est pas évident que cette plante soit d'une quelconque efficacité avec la méthode traditionnelle de préparation. La fraction aqueuse est dépourvue de toute activité antiplasmodiale intrinsèque.

Un fait important observé au cours de cette étude, c'est l'autooxydation des composés polyphénoliques, lorsque l'extrait solubilisé est mis en contact avec l'oxygène de l'air. il s'agit d'un phénomène qui va beaucoup influencer l'efficacité des préparations traditionnelles. En effet l'autooxydation se traduit par une polymérisation des monomères en polymères de poids moléculaires de plus en plus élevés. Il va s'en dire que lorsque le phénomène n'est pas arrêté à temps le principe actif devient insoluble. Ceci a été d'ailleurs observé avec nos extraits qui après un long temps de conservation ont donné des précipités insolubles dans la phase aqueuse.

Dans la pratique, le point critique devient le délai entre la récolte des plantes et la préparation de la drogue d'une part et le délai entre la préparation de la drogue et son administration d'autre part. Pour ce qui est de la préparation de la drogue, le traitement des échantillons est très important dans l'optimisation de l'extraction. L'idéal serait de préparer les tisanes aussitôt après la récolte des plantes. Il a été démontré que le séchage ou la longue conservation réduit le rendement d'extraction des polyphénols surtout en ce qui concerne les proantocyanidines (Scalbert, 1992). Les tisanes ainsi préparées peuvent être conservées mais une trop longue conservation va entraîner une polymérisation excessive et une perte d'activité.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Quatre plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso : *Combretum micranthum*, *Khaya senegalensis*, *Pterocarpus erinaceus* et *Sida acuta*, toutes choisies sur la base de leur utilisation traditionnelle ont été testées *in vitro* pour trois propriétés pharmacologiques à savoir : les propriétés antioxydantes, antibactériennes et antiplasmodiales. Les résultats ont montré que les polyphénols extraits des écorces de *K. senegalensis*, de *P. erinaceus* et de *C. micranthum* sont dotés d'importantes propriétés antioxydantes. Les polyphénols ont aussi montré des activités antibactériennes diversifiées en fonction des différentes souches, de plus ces activités sont fortement liées au degré d'oxydation des composés phénoliques. Pour ce qui est de l'activité antiplasmodiale, *S. acuta* s'est révélée la plante la plus active sur les souches testées. Cette activité est due aux alcaloïdes indoloquinoliniques que renferme la plante. Ces alcaloïdes ont montré aussi de bonnes activités antibactériennes. Une analyse en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a conduit à l'identification de la cryptolépine et la quindoline sur la base de leur fragmentation.

L'ensemble de ces résultats constitue une justification scientifique de l'usage traditionnel de ces plantes et confirme encore une fois la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreux maux. Mais ces résultats restent insuffisants pour une meilleure utilisation des ces plantes. Aussi serait-il indispensable pour la suite de :

- procéder à la purification et à l'identification des principes actifs à partir des extraits actifs
- procéder à l'étude de la toxicité sur différentes lignées cellulaires (*in vitro*) et sur des modèles utilisant les animaux (*in vivo*) afin de déterminer les doses thérapeutiques et les doses létales car les remèdes traditionnels souffrent beaucoup du problème de dosages
- procéder à l'étude des effets des principes actifs sur le système immunitaire par les tests d'immunostimulation (prolifération lymphocytaire et production de cytokines) *in vitro* car les molécules immunostimulantes sont d'un intérêt capital dans la lutte contre le VIH/SIDA qui s'avère la plus grande pandémie de nos jours.

Cette étude est partie de l'usage traditionnel des plantes, mais aujourd'hui, avec la rapide dégradation de l'environnement suivie de la disparition de nombreuses espèces végétales, les études de pharmacognosie ne doivent plus se contenter uniquement des espèces qui font l'objet d'un usage traditionnel, mais de toutes les espèces disponibles au risque de laisser des molécules

qui resteront à jamais inconnues. Ainsi, le fractionnement bioguidé des extraits qui a toujours prévalu, c'est-à-dire faire un premier screening sur les extraits brutes afin d'identifier la fraction la plus active pour procéder à la purification des principes actifs, devra faire place à un isolement systématique des molécules présentes dans la plante qui à les tester plus tard pour une éventuelle activité biologique.

REFERENCES

1. **Abdelgaleil S.A.M. et Nakatani M.**, 2003. Antifeedant activity of limonoids from *Khaya senegalensis* (Meliaceae). *Journal of Apply Entomology* **127**: 236-239.
2. **Abdelgaleil S.A.M., Iwagawa T., Doe M. et Nakatani M.**, 2004. Antifungal limonoids from the fruits of *Khaya senegalensis*. *Fitoterapia* **75**: 566-572.
3. **Abreu P.M., Martins E.S., Kayser O., Bindseil K.U., Siems K., Seemann A. et Frevert J.**, 1999. Antimicrobial, antitumor and antileishmania screening of medicinal plants from Guinea-Bissau. *Phytomedicine* **6**: 187-195.
4. **Adebayo J.O., Yakubu M.T., Egwim E.C., Owoyele V.B. et Enaibe B.U.**, 2003. Effect of ethanolic extract of *Khaya senegalensis* on some biochemical parameters on rat kidney. *Journal of Ethnopharmacology* **88**: 69-72.
5. **Ahmad, M.U., Husain, S.K, Ahmad, M, et Osman, S.M**, 1976. Cyclopropenoid fatty acids in seed oils of *Sida acuta* and *Sida rhombifolia* (Malvaceae). *Journal of American Oil Chemists Society*. **53**: 698-289.
6. **Ancolio C., Azas N., Mahiou V., Ollivier E., Di Giorgio C., Keita A., Timon-David P., et Balansard G.**,2002. Antimalarial activity of extracts and alkaloids isolated from six plants used in traditional medicine in Mali and Sao Tome. *Phytotherapy Research* **16**: 646-649.
7. **Arias M.E., Gomez J.D., Cudmani N.M., Vattuone M.A. et Isla M.I.**, 2004. Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Acacia aroma* Gill. Ex Hook et Arn. *Life Sciences* **75**: 191-202.
8. **Aruoma O.I.**, 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of American Oil Chemist Society* **75**: 199-212.
9. **Arzel E., Rocca P., Grellier P., Labaeïd M., Frappier F., Gueritte F., Gaspard C., Marais F., Godard A. et Queguiner G.**, 2001. New synthesis of benzo- δ -carboline, cryptolepines and their salts: in vitro cytotoxic, antiplasmodial and antitrypanosomal activities of δ -carboline, benzo- δ -carboline, and cryptolepines. *Journal of Medicinal Chemistry* **44**, 949-960.

10. Awika J.M., Rooney L.M., Wu X., Prior R.L. et Cisneros-Zevallos L., 2003. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 6657-6662.
11. Babbs C.F., 1992. Oxygen radicals in ulcerative colitis. *Free Radical Biology and Medicine* **13**: 169-181.
12. Banzouzi J-T., Prado R., Menan H., Valentin A., Roumestan C., Mallie M., Pelissier Y. et Blache Y., 2002. In vitro antiplasmodial activity of extracts of *Alchornea cordifolia* and identification of an active constituent: ellagic acid. *Journal of Ethnopharmacology* **81**: 399-401.
13. Banzouzi J-T., Prado R., Menan H., Valentin A., Roumestan C., Mallie M., Pelissier Y., et Blache Y., 2004. Studies on medicinal plants of Ivory Coast: investigation of *Sida acuta* for in vitro antiplasmodial activities and identification of an active constituent. *Phytomedicine* **11**: 338-341.
14. Bassene E., Olschwang D. et Pousset J.L., 1981. African medicinal plants I: Characterisation of inositol and sorbitol, probable active principles of kinkeliba (*Combretum micranthum* G. Don). *Dakar Médecine* **26**: 219-225.
15. Bassene E., Olschwang D. et Pousset J.L., 1986. African medicinal plants. Alkaloids of *Combretum micranthum* G. Don (Kinkeliba) *Annale de la Pharmacopée Française* **144**:191-196.
16. Bassole I.N.H., Ouattara A.S., Nebie R., Ouattara C.A.T., Kabore Z.I. et Traore A.S., 2003. Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oils of *Lippia chevalieri* and *Lippia multiflora* from Burkina Faso. *Phytochemistry* **62**: 209-212.
17. Benie T., Duval J. et Thieuland M.L., 2003. Effects of some traditional plant extracts on rat estrous cycle compared with clomid. *Phytotherapy Research* **17**: 748-755.
18. Benie T. and Thieuland M.L., 2003. Interaction of some traditional plant extracts with uterine estrogen or progestin receptors. *Phytotherapy Research* **17**: 756-760.
19. Benie T. et Thieuland M.L., 2004. Mechanisms underlying antigonadotropic effects of some plant extracts in pituitary cell culture. *Phytomedicine* **11**: 157-164.
20. Benoit F., Valentin A., Pelissier Y., Diafouka F., Marion C., Kone-Bamba D., Kone M., Mallie M., Yapo A. et Bastide J.M., 1996. In vitro antimalarial activity of vegetable extracts

- used in West African traditional medicine. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **54**: 67-71.
21. **Bonfiglio G., Simporé J., Pignatelli S., Musumeci S. et Solinas M.L.**, 2002. Epidemiology of bacterial resistance in gastro-intestinal pathogens in a tropical area. *International Journal of antimicrobial agents* **20**: 387-389.
 22. **Bonjean K., De Pauw-Guillet M-C., Defresne M-P., Colson P., Houssier C., Dassonneville L., Bailly C., Greimers R., Wright C., Quetin-Leclerck J., Tits M. et Angenot L.**, 1998. The DNA intercalating alkaloid cryptolepine interferes with topoisomerase II and inhibits to primarily DNA synthesis in B16 melanoma cells. *Biochemistry* **37**: 5136-5146.
 23. **Borris R.P.**, 1996. Natural products research: perspectives for a major pharmaceutical company. *Journal of Ethnopharmacology* **51**: 29-38.
 24. **Bruhn J.G. et Holmstedt B.**, 1981. Ethnopharmacology, objectives, principles and perspectives. *Natural products as medicinal agents*, Stuttgart Hippocrates Verlag. In Beal JL and Reihnard E (Eds) 405-430.
 25. **Caceres, A., Giron, L.M. et Martinez, A.M.**, 1987. Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology* **19**, 233-245.
 26. **Cao J.H. et Qi Y.P.**, 1993. Studies on the chemical constituents of the herb huanghuaren (*Sida acuta* Burm. f.) *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. **18**: 681-682.
 27. **Cimanga K., De Bruyne T., Pieters L., Claeys M., et Vlietinck A.**, 1996. New alkaloids from *Cryptolepis sanguinolenta*. *Tetrahedron letters* **37**: 1703-1706.
 28. **Clark A.M.**, 1996. Natural products as sources for new drugs. *Pharmacology Research* **16**: p1996.
 29. **Clinquart E.D.**, 1929. On the chemical composition of *Cryptolepis triangularis*, plant from the (Belgium) Congo. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine* **9**: 627-635.
 30. **Coe, F.G. et Anderson, G.J.**, 1996. Ethnobotany of the Garifuna of the Eastern Nicaragua. *Economic Botany* **50**, 71-107.
 31. **Connolly D.L.**, 1983. Chemistry of limonoids of the *Meliaceae* and *Cneoraceae*. In: Waterman P.G., Grundron M.F. (Eds) Chemistry and chemical taxonomy of the *Putales*. *Academic Press, London*.

32. **Coulibaly M**, 1996. *Contribution à l'étude in vitro de l'activité antiplasmodique de quelques plantes médicinales du Burkina Faso: Activités des extraits comparées à quelques médicaments de synthèse*. Thèse de Doctorat de troisième cycle, Université de Ouagadougou.
33. **Cowan M.M.**, 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Review* **12**: 564-582.
34. **Cox P.A.**, 1994. The *ethnobotanical approach to drug discovery: strengths and limitations*. In Prance GT (Ed) *Ethnobotany and the search for new drugs*. Wiley Chichester: 25-41.
35. **Cragg G.M., Newman D.J. et Snader K.M.**, 1997. Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Products* **60**: 52-60.
36. **Dassonneville L., Lansiaux A., Wattelet A., Wattez N., Mathieu C., Van Miert S., Pieters L. et Bailly G.**, 2000. Cytotoxicity and cell cycle effects of the plant alkaloids cryptolepine and neocryptolepine: relation to drug-induced apoptosis. *European Journal of Pharmacology* **409**: 9-19.
37. **Demizu S.K., Kajiyama K., Takahashi Y., Hiraga S., Yamamoto Y., Tamura K., Okada T. et Kinoshita T.**, 1998. Antioxidant and antimicrobial constituent of licorice: isolation and structure elucidation of a new benzofurane derivative. *Chemical Pharmacology Bulletin* **36**: 3474-3479.
38. **Desjardin R.E., Canfield C.J., Haynes J.D. et Chulay J.D.**, 1979. Quantitative assessment of antimalarial activity *in vitro* by a semi automated microdilution technique. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **16**: 710-718.
39. **Dicko M.H., Hilhorst R., Gruppen H., Traore A.S., Laane C., Van Berkel W.J.H. et Voragen A.G.J.**, 2002. Comparison of phenolic compounds, polyphenols oxidase, and peroxidase in grains of fifty sorghum varieties from Burkina Faso. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 3780-3788.
40. **Dicko M.H., Gruppen H., Traore AS, van Berkel W.J. et Voragen A.G.**, 2005. Evaluation of the effect of germination on phenolic compounds and antioxidant activities in sorghum varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**: 2581-2588.
41. **Dinan L., Bourne P. et Whiting P.**, 2001. Phytoecdysteroid profiles in seeds of *Sida* spp. (Malvaceae). *Phytochemical Analysis* **12**:110-9.
42. **Dos Santos J.R. et Fleurentin J.**, 1991, *Ethnopharmacologie*. Sources, méthodes, objectifs. Paris Metz Eds Orstom SFE, 493p.

43. Dwuma-Badu, D., Ayin, J.K.S., Fiagbe, N.I.Y., Knapp, J.E., Shiff, P.L. et Slatkin, D.J.J., 1978. Quindoline from *Cryptolepis sanguinolenta*. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **67**: 433-635.
44. Eisenberg D.M., Kessler R.C., Foster C., Norlock F.E., Calkins D.R. et Delbanco T.L., 1993. Unconventional medicine in the United States: Prevalence, cost and pattern of use. *National England Journal of Medicine* **328**: 246-252.
45. El Tahir A., Satti G.M. et Khalid S.A., 1999. Antiplasmodial activity of selected Sudanese medicinal plants with emphasis on *Maytenus senegalensis* (Lam.) Exell. *Journal of Ethnopharmacology* **64**: 227-233.
46. Erasto P., Bojase-Moleta G. et Majinda R.R.T., 2004. Antimicrobial and antioxidant flavonoids from the roots wood of *Bolusanthus spesiosus*. *Phytochemistry* **65**: 875-880.
47. Federich M., Hayette M-P., Tits M., De Mol P. et Angenot L., 1999. In vitro activities of *Strychnos* alkaloids and extracts against *Plasmodium falciparum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **43**: 2328-2331.
48. Fennell C.W., Lindsey K.L., McGaw L.J., Sprag S.G., Stafford G.I., Elgorashi E.E., Grace O.M., et van Staden J., 2004. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: pharmacological screening and toxicity. *Journal of Ethnopharmacology* **94**: 205-217.
49. Fernández-Pachón M.S., Vilaño D., Garcia-Parilla M.C. et Troncoso A.M., 2004. Antioxidant activity of wines in relation with their phenolic composition. *Analytica Chimica Acta* **513**: 113-118.
50. Ferrea G, Canessa A, Sampietro F, Cruciani M, Romussi G et Bassetti D., 1993. In vitro activity of a *Combretum micranthum* extract against herpes simplex virus types 1 and 2. *Antiviral Research*. **21**: 317-25
51. Field J.A. et Lettinga G., 1992. Toxicity of tannic compounds to microorganisms. Plants Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance. *Basic Life Science* **59**: 673-692.
52. Fukui H., Goto K. et Tabata M., 1998. Two antimicrobial flavonoids from the leaves of *Glyzyrrhiza glabra*. *Chemical Pharmacology Bulletin* **36**: 4174-4176.
53. Gey K.F., 1998. Vitamin E plus C and interacting conutrients required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer. *Biofactors* **7**: 113-174.

54. Gibbon S., Fallah F. et Wright CW., 2003. Cryptolepine hydrochloride: a potent antimycobacterial alkaloid derived from *Cryptolepis sanguinolenta*. *Phytotherapy Research* 17: 434-436.
55. Guittat L., Alberti P., Rosu F., Van Miert S., Thetiot E., Pieters L., Gabelica V., De Pauw E., Ottavini A., Riou J-F. et Mergny J-L., 2003. Interaction of cryptolepine and neocryptolepine with unusual DNA structures. *Biochimie* 85: 535-547.
56. Govindachari T.R. et Kumari G.N.K., 1998. Tetranortriterpenoids from *Khaya senegalensis*. *Phytochemistry* 47 (7): 1423-1425.
57. Gunatilaka, A.A.L., Sotheeswaran, S., Balasubramaiah, S., Chandraseka, A.I., et Sriyani, H.T.B., 1980. Studies on medicinal plants of Sri Lanka III. Pharmacologically important alkaloids of some *Sida* species. *Planta Medica* 39, 66-72.
58. Hagerman A.E., Riedl K.M., Jones G.A., Sovik K.N., Ritchard N.T., Hartzfeld P.W. et Riechel T.L., 1998. High molecular weight plant polyphenolic (tannins) as biological antioxidant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 1887-1892.
59. Hamill F.A., Apio S., Mubiru N.K., Mosango M., Bukenya-Ziraba R., Mngani O.W. et Soejarto D.D., 2003. Traditional herbal drugs of western Uganda Part III: isolation and methods for *Rubus apetalus*. *Journal of Ethnopharmacology* 87: 15-19.
60. Haslam, E., 1996. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible mode of action. *Journal of Natural Products* 59: 205-215.
61. Hossain M.A. et Asada K., 1985. Monodehydroascorbate reductase from cucumber is a flavin adenine dinucleotide enzyme. *Journal of Biological Chemistry* 260: 12920-12926.
62. Hostettman K. et Marston A., 2002. Twenty years of research into medicinal plants: results and perspectives. *Phytochemistry Review* 1: 275-285.
63. Jang D.S., Park E.J., Kang Y.H., Su B.N., Hawthorne M.E., Vigo J.S., Graham J.G., Cabieses F., Fong H.H., Mehta R.G., Pezzuto J.M. et Kinghorn A.D., 2003. Compounds obtained from *Sida acuta* with the potential to induce quinone reductase and to inhibit 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced preneoplastic lesions in a mouse mammary organ culture model. *Archive of Pharmacological Research* 26: 585-590.
64. Kerharo J. et Adam JG., 1974. *La pharmacopée sénégalaise traditionnelle: plantes médicinales et toxiques*. Ed Vigot frères Paris ISBN 2 - 7114 - 0646 - 6.

65. **Khalid S.A., Friedrichsen G.M., Kharazmi A., Theander T.G., Olsen C.E. et Christensen S.B.**, 1998. Limonoids from *Khaya senegalensis*. *Phytochemistry* **49** (6): 1769-1772.
66. **Kirby G.C.**, 1996. Medicinal plants and the control of parasites. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **90**: 605-609.
67. **Klayman D.L., Lin A.J., Acton N., Scovill J.P., Hoch J.M., Milhous W.K., Theoharides A.D. et Dobek A.S.**, 1984. Isolation of artemisinin (qinghaosu) from *Artemisia annua* growing in the United States. *Journal of Natural Products* **47**: 715-7.
68. **Kone W.M., Atindehou K.K., Terreaux C., Hostettmann K., Traoré D. et Dosso M.**, 2004. Traditionnal medicine in north Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* **93**: 43-49.
69. **Le Bras J. et Deloron P.**, 1983. In vitro study of drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*: evaluation of a new semi-microtest. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **274**: 14218-14223.
70. **Lindsey K.L., Motsei M.L. et Jäger A.K.**, 2002. Screening of South African food plants for antioxidant activity. *Journal of Food Sciences* **76**: 2129-2131.
71. **Lisgarten, J.N., Coll, M., Portugal, J., Wright et C.W., Aymami, J.**, 2002. The antimalarial and cytotoxic drug cryptolepine intercalates into DNA at cytosine-cytosine sites. *Nature Structural Biology* **9**, 57-60.
72. **Lompo M., Guissou I.P., Kabore Z.I. et Sawadogo M.**, 1995. effet hypothermisant et toxicité générale aiguë chez la souris d'écorces de tronc de *Khaya senegalensis*. *Revue de Médecine et Pharmacopée Africaine* **9** : 99 – 106.
73. **Lu Y. et Foo L.Y.**, 2001. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry* **75**: 197-202.
74. **Masika P.J. et Afolayant A.J.**, 2002. Antimicrobial activity of some plants used for the treatment of livestock diseases in the Eastern Cape, South Africa. *Journal of Ethnopharmacology* **83**: 129-134.
75. **Moerman D.E.**, 1996. An analysis of the food plants and drugs plants of native North America. *Journal of Ethnopharmacology* **52**: 1-22.
76. **Murray C.J.L. et Lopes AD.**, 1997. Mortality by cause for light regions of the world: global burden disease study. *Lancet* **349**: 1269-1276.

77. **Nacoulma/Ouédraogo O.G.**, 1996. *Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso. Cas du plateau central Mossi* Thèse d'Etat. Université de Ouagadougou.
78. **Nakatani M., Abdelgaleil S.A.M., Okamura H., Iwagawa T., Sato A. et Doe M.**, 2000. Khayanolides A and B, new rearranged phragmalin limonoid antifeedants from *Khaya senegalensis*. *Tetrahedron letters* **41**: 6473-6477.
79. **National Committee for Clinical Laboratory Standards**, 2000. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 5th edition volume 17. Approved standards-M7-A4. NCCLS document M7-A4. National Committee for Clinical Laboratory Standard Wayen Pa.
80. **Newman D.J., Cragg G.M. et Snader K.M.**, 2000. The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Product Reports* **17**: 175-285.
81. **Nikaido H. et Vaara M.**, 1985. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiological review* **1**: 1-32.
82. **Oask S.C., Mitchell V.S., Pearson G.W. et Carpenter C.C.J.**, 1991. Malaria: obstacles and opportunities. *National Academic Press. Washington*.
83. **Ogan A.U.**, 1972. The alkaloids in the leaves of *Combretum micranthum*. Studies on West African medicinal plants. VII. *Planta Medica* **21**: 210-217.
84. **Okieimen F.E. et Eromosele C.O.**, 1999. Fatty acids composition of the seeds oil of *Khaya senegalensis*. *Bioresource technology* **69**: 279-280.
85. **Okoli A.S. et Iroegbu C.U.**, 2004. Evaluation of extracts of *Anthocleista djalensis*, *Nauclea latifolia* and *Livaria afzalii* for activity against bacterial isolates from cases of non-gonococcal urethritis. *Journal of Ethnopharmacology* **92**: 135-144.
86. **Olajide, O.A., Makinde, J.M. et Okpako, D.T.**, 2003. Evaluation of the anti-inflammatory property of the extract of *Combretum micranthum* G. Don (Combretaceae). *Inflammopharmacology*. **11**:293-8.
87. **Olliaro P., Cattani J., et Wirth D.**, 1996. Malaria the submerged disease. *Journal of the West American Medical Association* **275**: 230-233.
88. **Olmo L.R.V., Da Silva M.F.G.F., Fo E.R., Vieira P.C., Fernandes J.B., Marsaioli A.J., Pinheiro A.L. et Vilela E.F.**, 1996. Rearranged limonoids from *Khaya senegalensis* *Phytochemistry* **42**: 831-837.

89. Olmo L.R.V., Da Silva M.F.G.F., Fo E.R., Vieira P.C., Fernandes J.B., Pinheiro A.L. et Vilela E.F., 1997. Limonoids from leaves of *Khaya senegalensis* *Phytochemistry* **44**: 1157-1161.
90. Onyeibor O., Croft S.L., Dodson H.I., Feiz-Hadad M., Kendrick H., Millington N., parapini S., Phillips R.M., Seville S., Shnyder S.D., Taramelli D. et Wright C.W., 2005. Synthesis of some cryptolepine analogues, assessment of their antimalarial and cytotoxic activities and consideration of their antimalarial mode of action. *Journal of Medicinal Chemistry* **48**: 2701-2709.
91. Otero R., Nunez V., Jimenez S.L., Fonnegra R., Osorio R.G., Garcia M.E. et Diaz A., 2000. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia: Part II: neutralization of lethal and enzymatic effects of *Bothrops atrox* venom. *Journal of Ethnopharmacology* **71**:505-11.
92. Otero R., Nunez V., Barona J., Fonnegra R., Jimenez S.L., Osorio R.G., Saldarriaga M. et Diaz A, 2000. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia. Part III: neutralization of the haemorrhagic effect of *Bothrops atrox* venom. *Journal of Ethnopharmacology*. **73**: 233-41.
93. Paulo A., Pimental M., Viegas S., Pires I., Duarte A., Cabrata J. et Gomes ET., 1994a. *Cryptolepis sanguinolenta* activity against diarrhoal bacteria. *Journal of Ethnopharmacology* **44**: 73-77.
94. Paulo A., Duarte A. et Gomes ET., 1994b. In vitro antibacterial screening of *Cryptolepis sanguinolenta* alkaloids. *Journal of Ethnopharmacology* **44**: 127-130.
95. Perez C., Pauli M. et Bazerque P., 1990. An antibiotic assay by the agar-well diffusion method. *Acta Biologiae et Medecine Experimentalis* **15**: 113-115.
96. Pillay C.C.N., Jäger A.K., Mulholland D.A. et Van Staden J., 2001. Cyclooxygenase inhibiting and antibacterial activities of South African *Erythrina* species. *Journal of Ethnopharmacology* **74**: 231-237.
97. Pousset K.-L., Martin M.-T., Jossang A. et Bodo B., 1995. Isocryptolepine from *Cryptolepis sanguinolenta*. *Phytochemistry* **39**: 735-736.
98. Prieto P., Pineda M. et Aguilar M., 1999. Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application of vitamin E analytical. *Biochemistry* **269**: 337-341.

99. **Rabe T. et Van Staden J.**, 2000. Isolation of an antibacterial sesquiterpenoid from *Warburgia salutaris*. *Journal of Ethnopharmacology* **73**: 171-174.
100. **Rafato H., Ramanitrahasimbola D., Rosanaivo P., Ratsimamanga-Urverg S., Rakoto-Ratsimamanga A et Frappier F.**, 2000. Reversal activity of naturally occurring chemosensitizer malagashanine in *Plasmodium malaria*. *Biochemical Pharmacology* **59**: 1053-1061.
101. **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. et Rice-Evans C.**, 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* **26**: 1231-1237.
102. **Ried K., Jäger A.K. et Van Staden J.**, 2001. Isolation of the antibacterial vernodaline from traditionally used *Vernonia colorata*. *South African Journal of Botany* **67**: 72-74.
103. **Rosanaivo R, Ratsimamanga-Urverg S. et Rakoto-Rastmamanga A.**, 1992. quatre de recherche en chimiothérapie antipaludique: bilan et perspectives. *Revue de Médecine et de Pharmacopée Africaine* **6** : 95 – 101.
104. **Rosanaivo P., Rastmamanga-Urverg S., Milijoana R., Rafato H., Galeffi M. et Nicoletti M.**, 1994. *In vitro* and *in vivo* chloroquine potentiating action of *Strychnos myrtoides* alkaloids against chloroquinoreistant strains of *Plasmodium malaria*. *Planta Medica* **60**: 13-16.
105. **Rosenthal P.J.**, 1998. Proteases of malaria parasites: new targets for chemotherapy. *Emerging Infectious diseases* **4**: 49-57.
106. **Rosenthal P.J.**, 2003. Antimalarial drug discovery: old and new approaches. *Journal of Experimental Biology* **206**: 3735-3744.
107. **Sanon I.**, 1998. Diarrhée aiguë chez l'enfant: aspects épidémiologique, clinique et évolution en milieu hospitalier pédiatrique à Ouagadougou. *Burkina Medical Journal* **2** (1): 34-39.
108. **Sanon S., Ollivier E., Azas N., Mahiou V., Gasquet M., Oauttara C.T., Nebie I., Traore, S.A., Esposito F., Balansard G., Timon-David P. et Fumoux F.**, 2003a. Ethnobotanical survey and *in vitro* antiplasmodial activity of plants used in traditional medicine in Burkina Faso. *Journal of Ethnopharmacology* **86**, 143-147.
109. **Sanon S., Azas N., Gasquet M., Ollivier E., Mahiou. N., Barro N., Cuzin-ouattara N., Traore S.A., Esposito F., Balansard G. et Timon-David, P.**, 2003b. Antiplasmodial activity

- of alkaloid extracts from *Pavetta crassipes* (K. Schum) and *Acanthospermum hispidum* (DC), two plants used in traditional medicine in Burkina Faso. *Parasitology Research* **90**, 314-317.
110. **Sawer I.K., M.I. Berry et Ford J.L.**, 2005. The killing effect on *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology* **40**: 24-29.
111. **Scalbert, A.**, 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* **30**: 3875-3883.
112. **Scalbert A.**, 1992. Quantitative methods for the estimation tannins in plants tissues. *Plants Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance. Basic Life Science* **59**: 673-692.
113. **Scherrer R. et Gerhardt P.**, 1971. Molecular sieving by the *Bacillum megaterium* cell wall and protoplast. *Journal of Bacteriology* **107**: 718-735.
114. **Schulze D.L.C., Makgatho E.M., Coetzer T.L., Louw A.I., Van Rensburg C.E.J. et Visser L.**, Development and application of a modified flow cytometry procedure for rapid in vitro quantification of malaria parasitemia. *South African Journal of Science* **93**: 156-158.
115. **Sharaf M.H.M., Schiff P.L.Jr., Tackie A.N., Phoebe C.H.Jr. et Martin GE.**, 1996. Two new indoquinoline alkaloids from *Cryptolepis sanguinolenta*: cryptosanguinolentine and cryptotakiene. *Journal of Heterocycle Chemistry* **33**: 239-243.
116. **Singleton V.L., Orthofer R. et Lamuela-Raventos R.M.**, 1999. Analysis of total phenols and oxidization substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods of Enzymology* **299**: 152-177.
117. **Snedden A.T.**, 2004. Natural Products as Medicinally Useful Agents. <http://www.people.vcu.edu/~asnedden/index.htm>
118. **Sourabié S., Guissou I.P. et Kabore Z.I.**, 1993. Mise en évidence d'une activité antibactérienne de *Nauclea latifolia* Sm (Rubiaceae), vis-à-vis d'enterobactéries responsables de gastro_entérites infantiles au Burkina Faso. *Publications Médicales Africaines* **120**: 18-23.
119. **Stephen J.**, 2001. Pathogenesis of infectious diarrhea. *Canadian Journal of Gastroenterology* **15**: 669-683.
120. **Thiombiano A.**, 2005. *Les Combretaceae du Burkina Faso: Taxonomie, Ecologie, Dynamique et Régénération des espèces*. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Ouagadougou.
121. **Thioune O., Pousset J.L. et Lo I.**, 1999. Anti-inflammatory activity of the bark of *Khaya senegalensis* (A Juss). Preliminary research of structure/activity relationship *Dakar Medicine* **44** (1): 12-15.

122. **Trager W., et Jensen J.B.**, 1976. Human malaria parasites in continuous culture. *Sciences* **193**: 673-675.
123. **Tshibangu J.N., Chifundera K., Kaminsky R., Wright A.D. et König G.M.**, 2002. Screening of African medicinal plants for antimicrobial and enzyme inhibition activity. *Journal of Ethnopharmacology* **80**: 25-35.
124. **Tunalier Z., Kosar M., Ozturk N., Baser K.H.C., Duman N. et Kirimer N.**, 2004. Antioxidant properties and phenolic composition of *Sideritis* species. *Chemistry of natural compounds* **40**: 206-210.
125. **Viljoen A., Van Vuuren S., Ernst E., Klepser M., Demirci B., Basser H. et Van Wyk B-E.**, 2003. *Osmitopsis asteriscoides* (Asteraceae) – the antimicrobial and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. *Journal of Ethnopharmacology* **88**: 137-143.
126. **World Health Organisation (W.H.O.)**, 2005a. AIDS epidemic update. http://www.who.int/hiv/epi-update2005_en.pdf
127. **World Health Organisation (W.H.O.)**, 2005b. Malaria in Africa. http://www.rbm.who.int/cmc_upload/0/000/015/370/RBMInfosheet_3.htm
128. **Wright C.W., Addade-Kyereme J., Breen A.G., Brown J.E., Cox M.F., Croft S.L., Gokcek Y., Kendrick H., Phillips R.M. et Pollet M.L.**, 2001. Synthesis and evaluation of cryptolepine analogues for their potential as new antimalarial agents. *Journal of Medicinal Chemistry* **44**: 3187-3194.
129. **Yu Z. et Dahlgren R.A.**, 2000. Evaluation of methods for measuring polyphenols in copper foliage. *Journal of Chemical Ecology* **26**: 2119-2140.
130. **Zhu Y.Z., Huang S.H., Tan B.K.H., Sun J., Whiteman M. et Zhu, Y-C.**, 2004. Antioxidants in Chinese herbal medicines: a biochemical perspective. *Natural Product Reports* **21**: 478-489

ANNEXES

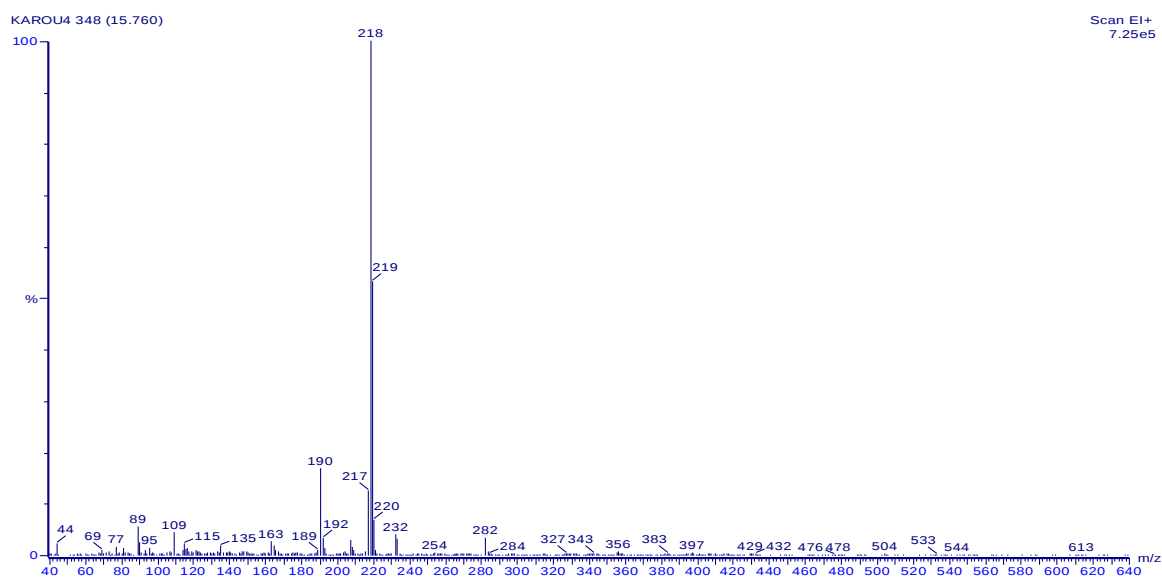


Figure I : Spectre de fragmentation de la quindoline

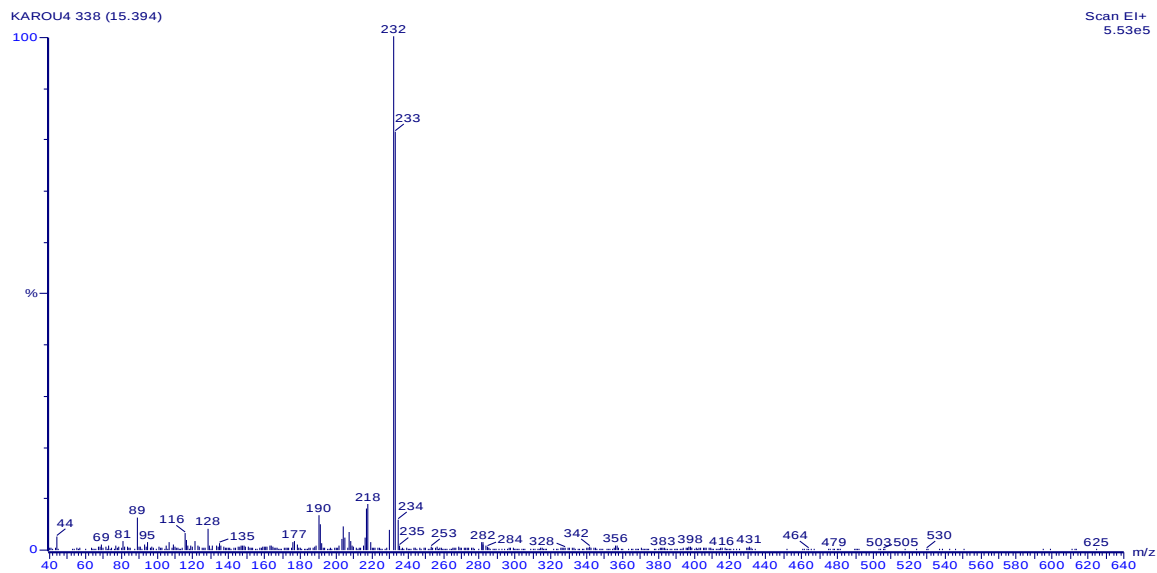


Figure II : Spectre de fragmentation de la cryptolépine

Tableau I : Activités antiplasmodiales relatives des extraits hydroalcooliques

Extraits	CI50 ($\mu\text{g/ml}$)	% Activité
Cbm	33,05	13,22
Kse	82,17	5,32
Ksf	58,48	7,47
Pee	95,13	4,59
Pef	14,63	29,87
Sac	4,37	100

Tableau II : Activités antioxydantes relatives des extraits polyphénoliques

Extraits	AA ¹ $\mu\text{mol trolox}$	AA ² $\mu\text{mol trolox}$	Moyenne	% Activité
Cbm	2,08 10^3	16,37	9,220	76,26
Kse	2,21 10^3	21,97	12,090	100
Ksf	1,50 10^3	15,47	8,485	70,18
Pee	1,89 10^3	22,20	12,045	99,62
Pef	1,88 10^3	8,08	4,980	41,19
Sac	1,20 10^3	6,12	3,660	30,27

AA¹ : Activité mesurée par la méthode des phosphomolybdates

AA² : Activité mesurée par la méthode l'ABTS

Tableau III : Activités antibactériennes des extraits polyphénoliques en terme de nombre de microorganismes inhibés

Extraits	N microorg	% Activité
Cbm	9/14	100
Kse	4/14	44,44
Ksf	5/14	55,55
Pee	1/14	11,11
Pef	0/14	0
Sac	4/14	44,44

N microorg : nombre de microorganismes inhibés

Tableau IV : Activités antibactériennes des extraits polyphénoliques en terme de plus petites valeurs de CMB

Extraits	Plus petite CMB ($\mu\text{g/ml}$)	% Activité
Cbm	50	40
Kse	80	25
Ksf	240	8,33
Pee	400	5
Pef	Néant	0
Sac	20	100

PUBLICATIONS

1. **Karou, D. Dicko, M.H. Sanon S., Simpore J., Traore S.A.**, 2003. Antimalarial activity of *Sida acuta* BURMF L. (Malvaceae) and *Pterocarpus erinaceus* POIR (Fabaceae) *Journal of Ethnopharmacology* **89** (2-3): 291-4.
2. **Karou D., Dicko M.H., Simpore J., Traore A.S.**, 2005. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology* **4** (8): 823-828
3. **Karou D., Savadogo A., Canini A., Yameogo S., Montesano C., Simpore J., Colizzi V., Traore A.S.**, 2006. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology* **8**(2):195-200.
4. **Simpore J., Ilboudo D., Karou D., Pietra V., Granato M., Esposito M., Santarelli R. Pignatelli S., Bere A., Angeloni A.**, 2006. Prevalence of HHV-8 infections associated with HIV, HBV and HCV in pregnant women in Burkina Faso. *Journal of Medicinal Sciences* **6**(1): 93-98.
5. **Karou D., Nadembega W.M.C., Ouattara L., Ilboudo P.D., Canini A., Nikiema J.B., Simpore J., Collizzi V., Traore A.S.**, 2007. African ethnopharmacology and new drugs discovery. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology (In press)*.
6. **Simpore J., Ilboudo D., Karou D., Sawadogo L., Esposito M., Scott B., Nitiema H., Ouedraogo P., Pignatelli S., Nikiema JB.**, 2006. Glucose-6-phosphate Dehydrogenase Deficiency and Sickle Cell Disease in Burkina Faso, *Pakistan Journal of Biological Sciences (In press)*.
7. **Simpore J., Pietra V., Pignatelli S., Karou D., Nadembega W.M.C., Ilboudo D., Ceccherini-Silberstein F., Ghilat-Avoid-Belem W.N., Bellocchi, M.C., Saleri N., Sanou M.J., Ouedraogo C.M., Nikiema JB., Colizzi V., Perno, C.P., Castelli F., Musumeci S.**

2006. Toward the complete eradication of Mother-to-Child transmission of HIV at Centre Medical Saint Camille (CMSC) in Burkina Faso, *Journal of Medical Virology (Submitted)*

8. **Simpore J; Zeba B; Karou D; Ilboudo D; Esposito M; D`Agata A. ;Pignatelli S; Nacoulma OG; Musumeci S**, 2006. Bacterial epidemiology and emergence of multi-drug-resistance in Burkina Faso. *Microbial drug-resistance (submitted)*

9. **Ilboudo D., Karou D., Nadembega W.M.C., Aly Savadogo A., Pignatelli S., Pietra V., Bere A., Simpore J. and Traore A.S.**, 2006. Prevalence of Human Herpes virus-8 and Hepatitis B Virus among HIV seropositive pregnant women and their impact for the mother-to-child transmission of Human Immunodeficiency Virus. *African Journal of Biotechnology (submitted)*