

MINISTÈRE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE, REPUBLIQUE DU MALI
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE **Un Peuple-Un But-Une Foi**

UNIVERSITE DE BAMAKO

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE
ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE (FMPOS)

Année universitaire: 2007-2008

N°...

TITRE

*ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DE CINQ
PLANTES UTILISEES DANS LE TRAITEMENT TRADITIONNEL DU PALUDISME
AU MALI : **Vernonia colorata** Willd. Drake. (**Asteraceae**), **Vernonia kotschyana** Sch.
Bip. (**Asteraceae**), **Vernonia nigritiana** Oliv et Hiern (**Asteraceae**), **Cymbopogon**
giganteus Chiov (**Poaceae**) et **Clerodendrum capitatum** Willd. Schum (**Verbanaceae**)*

THESE

Présentée et soutenue publiquement ledevant la
Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Mali

Par Monsieur BOUBACAR TOUNKARA

Pour obtenir le grade de DOCTEUR en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

JURY

Président : Professeur Elimane Mariko

Membres : Professeur Amagana Dolo

Dr Abdoulaye Djimé

Directeur : Professeur Drissa DIALLO

Dédicaces

Je dédie ce travail tout d'abord à **Allah**

Le tout Miséricordieux, le très Miséricordieux

« ...qui a enseigné par la plume : le calme, a enseigné à l'homme ce qu'il ne savait pas »

Sourate 96 : L'ADHERENCE, verset 4 et 5

« Dis : Est-ce que ceux qui savent et ceux qui ne savent pas ont la même valeur ? »

Sourate 39 : LES GROUPES, verset 9

A mes parents

* Mon tonton **Fanéke Tounkara**, « Homme de principe, de rigueur, de justice, honnête et d'une bonne moralité », tu es plus qu'un tonton pour moi, tu fus la « clef » de la réussite de mon éducation aussi bien sur les principes de la vie sociale qu'à l'école. Ce travail est le produit de mes réactions à tous les conseils et sacrifices. Qu'Allah puisse te compter parmi les élus du paradis.

* Ma grande mère **Fatoumata Maïga** dite **Banta**, ma grande mère chérie, en plus ce rôle, vous aviez été pour moi un père et une mère, tu nous as accordé assistance et grâce à vous la distance qui me séparait des mes parents n'a jamais été un problème pour moi. Tu nous as enseigné toujours les règles de la vie, en nous suivant à la maison et l'école. Ce travail est le fruit de vos efforts, vos sacrifices et vos endurements.

Qu'Allah le Tout puissant vous accorde le paradis.

* Ma mère **Adizatou Maïga** « Femme battante, de sagesse et d'amour », tu as su donné à tous tes enfants le maximum d'attention et d'amour, trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

* Mon père **Facourou Tounkara** « Homme de rigueur et de sagesse », tu m'as donné cette rigueur dans le travail et la vie, puisse Allah t'accorder encore la vie afin que tu jouisses des bienfaits de fils et filles tout au long de la vieillesse.

- * **Mes frères et sœurs** : vous êtes l'une de mes principales raisons de vivre.
- * Ma femme **Habibatou Konaté**, merci de m'avoir accompagné jusqu'à la concrétisation de ce travail. Saches que je t'aime profondément, que Allah, le Clément, le Miséricordieux bénisse notre union.

Mention spéciale

- * A mon pays le **Mali**
- * A l'Institut national de Recherche en Santé Publique (**INRSP**) à travers le Département de Médecine traditionnelle (**DMT**) pour le soutien technique dont nous avons bénéficiés pour la réalisation de ce travail
- * Institut de **Bâle** en Suisse
- * Au professeur **Drissa Diallo** pour son travail sans faille dans la revalorisation de la médecine traditionnelle, et son l'assiduité dans la formation estudiantine encore plus laborieuse aujourd'hui qu'hier qu'il en soit remercie
- * A tout le personnel du DMT : **Famolo Diarra, tante Tapa Fané, Fangnan Sanogo, Adama Camara, N'golo Doumbia, Seydou Dembélé, tonton Kassime**, qui ont été toujours disponible en cas de besoin, qu'Allah vous recompense de ce qu'il ya de mieux pour vous
- * Docteur **Rokia Sanogo** : pour votre aide, et votre apport dans notre formation depuis en classe. Trouve ici l'expression de ma profonde gratitude

Remerciements

Mes remerciements vont à l'endroit de :

- * Tous les **enseignants** qui n'ont encadré de l'école fondamentale à la faculté
- * Tous les frères et sœurs de l'**A-ISLAM** comité PMI Hamdallaye et de la **LIEEMA**
- * A la famille **Maïga** à Hamdallaye et au Point « G », pour tous les soutiens et encouragement
- * A la famille : **Konaté, Koïta, Sidibé, Samaké, Bagayogo, Dembéle**, pour leurs soutiens moraux et matériel
- * A ma tante **Aïssata Maïga** : femme battante
- * Tous mes cadets thésards du DMT : **Salimata Dognoko, Ouassa Dembéle, Esther Coulibaly, Lamine Diarrassouba, Amed Dahafolo Koné, Kaleb Grurou, Ibrim Diallo, Michel** pour leur encouragement et leur soutien morale.
- * Tous les personnels de la pharmacie **Mohamed V** : **Dr Keïta Feyti Toure, Amadou Toure, Yaya Guindo, Seydou Coulibaly, Oumar Dogoni, Dicko, Boré**, pour leur contribution dans ma formation.
- * Tous les personnels de la pharmacie **Khasse** : **Diop, Aboubacar traoré, Aminata Kane, Fatou Camara, Aïssata Camara**, pour leurs soutiens.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A Notre Maître et Président de Jury : Pr Elimane MARIKO

Honorable Maître

C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Recevez ici cher Maître l'expression de notre profonde reconnaissance.

A Nos Maîtres et juges : Pr Amagana DOLO et Dr Abdoulaye DJIMDE

Honorable Maître

Nous avons été très touché par votre accueil et la disponibilité dont vous avez fait preuve à notre égard. A travers ce travail, recevez cher Maître notre profonde gratitude.

A Notre Maître et Directeur de thèse : Pr Drissa Diallo

Honorable Maître

Permettez-nous de vous adresser nos remerciements pour l'honneur que vous nous avez fait en nous guidant dans la réalisation de ce travail.

Puissiez-vous trouver ici, cher Maître le témoignage de notre reconnaissance la plus sincère.

Abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium
AOF : Afrique Ouest Francophone
BAW : butanol- acide acétique- eau
C.c : *Clerodendrum capitatum*
CCM chromatographie sur couche mince
C.gF : les feuilles de *Cymbopogon giganteus*
C.gT : les tiges de *Cymbopogon giganteus*
CHCl₃ : chloroforme
CIVD : coagulation intravasculaire disséminée
Coll : Collaborateurs
CTAs : combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine
DCM : dichlorométhane
De : décocté
DMT : département de médecine traditionnelle
DPPH : 1,1-diphenyl 1,2 picrylhydrazyle
EtOH : éthanol
EDTA : acide éthylène diamine tétracétique
FeCl₃ : Chlorure ferrique
FMPOS : Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
GHSPx : glutathion peroxyde
HCl : acide chlorhydrique
H₂SO₄ : acide sulfurique
IC₅₀ : concentration inhibitrice à 50 %
In : infusé
INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique
IP : Indice parasitaire
MCc : masse de cendres chlorhydriques
MCs : masse de cendres sulfuriques
MCt : masse moyenne en cendre totales
MeOH : méthanol
MRTC : Malaria, Research & Training Center

MTA : Médicament Traditionnel Améliorée

MTI : moustiquaires traitées d'insecticides

NH₄OH : ammoniac

OMS : organisation mondiale de santé

PCR : polymerase chain reaction

PE : prises d'essais

PIB : produit intérieur brut

pLDH : lactates déshydrogénases plasmodiales

PNLP : politique nationale de lutte contre le paludisme

PVE : paludisme viscéral évolutif

QBS : quantitative Buffy Coat

Rf : facteur de rétention

SOD : superoxyde dismutase

V.c : *Vernonia colorata*

Vf : volume final

Vi : volume initial

V.k : *Vernonia kotschyana*

V.n: *Vernonia nigritiana*

Sommaire

INTRODUCTION	1
MOTIVATION.....	4
OBJECTIFS.....	4
TRAVAUX ANTERIEURS.....	5
1- Généralité sur le paludisme.....	6
1-1 Définition.....	6
1-2 Epidémiologie.....	6
1-2-1 Répartition géographique.....	6
1-2-2 Parasite et vecteur.....	7
1-3 Cycle biologique.....	9
1-4 Physiopathologie.....	12
1-5 Anatomo- pathologie.....	13
1-6 Symptomatologie.....	14
1-7 Diagnostic de la maladie.....	21
1-8 Traitement du paludisme.....	25
1-9 Prévention.....	30
1-10 Antioxydants et paludisme.....	31
2- Monographie des plantes.....	34
2-1 <i>Vernonia colorata</i> Willd. Drake.....	34
2-2 <i>Vernonia kotschyana</i> Sch.Bip.....	37
2-3 <i>Vernonia nigritiana</i> Oliv et Hiern.....	40
2-4 <i>Cymbopogon giganteus</i> Chiov.....	42
2-5 <i>Clerodendrum capitatum</i> Willd. Schun.....	45
2-6 Structure de quelques molécules isolées de nos plantes.....	47
TRAVAUX PERSONNELS.....	49
3- Méthodologie.....	50
3-1 Matériel végétal.....	50
3-2 Réactions de caractérisations	50
3-3 Dosages.....	58
3-4 Extractions.....	63
3-4-1 Décoction à 10 %.....	63
3-4-2 Infusion à 10 %	64

3-4-3 Macération à l'eau 10 %	65
3-4-4 Extraction par l'éthanol (70 %)	66
3-4-5 Extraction par les solvants à polarités croissantes.....	66
3-5 chromatographie sur couche mince.....	70
3-6 Tests biologiques des extraits	71
3-6-1 Détermination de l'activité antioxydante.....	71
3-6-2 Détermination de l'activité antiplasmodiale.....	72
RESULTATS.....	74
4- Résultats	75
4-1 Etude phytochimique.....	75
4-1-1 Réaction en tubes	75
4-1-2 Dosages de certains constituants	76
4-1-3 Rendement des extractions	77
4-2 Chromatographie sur couche mince	80
4-3 Tests biologique des extraits	100
4-3-1 Activité anti-radicalaire	100
4-3-2 Test sur le <i>Plasmodium</i>	104
COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....	109
5- Commentaires discussion	110
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	113
6- Conclusion	114
7- Recommandation	112
8- Référence	115
9- Annexe	120

INTRODUCTION

Le paludisme reste en ce début de XXI siècle la première endémie tropicale mondiale. En progression constante, la maladie touche actuellement plus de 90 pays dans le monde et son incidence est estimée par l'OMS entre 300 à 500 millions de cas cliniques par an, avec un nombre de décès de 1,5 à 2,7 millions (Jean-Marie et Coll, 2001).

Le paludisme fait au moins 3000 morts chaque jour dont plus de 90% en Afrique subsaharienne. La plupart des victimes sont des enfants. Le paludisme est l'une des causes d'insuffisance pondérale à la naissance, d'anémie chronique et d'affaiblissement de

l'immunité qui entraîne la mort prématurée de quelques 2 millions de personnes parmi les plus vulnérables. Il est aussi une des principales causes d'absentéisme à l'école et au travail ce qui entrave à la fois l'éducation et le développement économique.

Cette maladie prélève chaque année un tribut sur la croissance économique en Afrique, évaluée à 1,3 % du produit intérieur brut (PIB). Cela signifie que le PIB des pays africains est actuellement de 32 % inférieur du chiffre qu'il aurait pu atteindre si le paludisme avait été maîtrisé il y a deux décennies.

Ce sont les communautés rurales, essentiellement les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes, qui sont les plus touchés parce qu'ils ont moins accès à des traitements efficaces. Les plus pauvres sont plus exposés à la transmission en raison d'une hygiène et d'une alimentation insuffisante et d'un manque d'accès à des moyens de prévention tels que les moustiquaires traitées insecticides (MTI).

Le manque d'éducation, une connaissance insuffisante de la maladie et l'accès limité à une prévention et à des traitements efficaces entraîne une chronicité de la maladie et des morts prématurées, surtout chez les enfants, décès survenant souvent à la maison, sans traitement et souvent non signalés.

Les changements climatiques à l'échelle mondiale, la suspension de nombreux programmes de contrôle des vecteurs de la maladie, la déforestation et l'augmentation du nombre de déplacés ont accru la morbidité. Celle-ci se traduit ensuite par des décès prématurés en raison d'un manque de services de santé et de médicaments efficaces pour la prévention et le traitement, ce qui est à la fois cause et conséquence de la propagation des souches résistantes. Étonnamment, une demi douzaine seulement de médicaments antipaludiques sont disponibles sur le marché et accessibles aux populations concernées. On assiste à un désengagement des

industries pharmaceutiques dans la recherche et le développement de nouveaux antipaludéens. Il est donc urgent d'intensifier d'une part la prospection de nouvelles sources de molécules douées d'activité antipaludique et d'autre part la recherche de molécules et/ou association de molécules telles que les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTAs).

L'expérience a montré que la richesse de la biodiversité végétale et la connaissance des thérapeutiques traditionnelles sont susceptibles comme ce fut le cas pour la quinine et l'artémisinine, d'ouvrir de nouvelles voies pour la thérapeutique antipaludéenne. Ces deux antipaludiques prescrits à l'heure actuelle sont issus de plantes médicinales, traditionnellement utilisées dans leur pays d'origine contre les fièvres et le paludisme; il s'agit de l'écorce d'un arbre originaire des flancs de la cordillère andine (*Cinchona calisaya* et autres espèces de *Cinchona*) et d'une herbacée originaire de Chine, *Artemisia annua*. La recherche de nouvelles molécules antipaludiques pourrait donc être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de l'ethnopharmacologie et de la revue de la littérature. Ces approches permettront de sélectionner les espèces les plus intéressantes pour leur activité antiplasmodiale potentielle. Il faut savoir également que le paludisme est un fléau qui touche particulièrement les pays du sud, dans lesquels la population a des difficultés d'accès aux soins de santé. L'étude des remèdes traditionnels antipaludiques utilisés par la population est donc primordiale et pourrait déboucher sur une validation d'usage traditionnel et/ou la découverte de nouvelles molécules à potentiel antipaludique.

Au Mali, le paludisme est la première cause de morbidité (15,6 %) et de mortalité (13 %) dans la population générale (DAFFE, 2005) donc un problème de santé publique. Il est une des priorités de la politique nationale de santé du Mali, car il est la première cause de morbidité et de mortalité chez les enfants de 0-5 ans. Il constitue la première cause de consultation dans les centres de santé et la première cause d'absentéisme à l'école et au travail. (PNLP, 2006).

Le Mali dispose d'une grande biodiversité floristique à laquelle s'ajoute une tradition séculaire de pharmacopée traditionnelle. Plusieurs plantes sont considérées comme ayant des propriétés antipaludiques et sont utilisées par les populations locales.

Le Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique, centre collaboration de l'OMS a déjà un médicament traditionnel amélioré, le Malarial®, utilisé dans le traitement du paludisme simple est préparé à base de trois plantes :

Cassia occidentalis, Cesalpiniacées (Balanbala): 62 %, les feuilles, antipyrétique

Lippia chevalieri, Verbenacées (N'ganiba) : 32 %, les feuilles, aromatisant

Spilanthes oleraceae, Asteracées (farmani): 6 %, capitules action antipaludique.

Le Maralial à une concentration inhibitrice à 50% (IC50) sur le *Plasmodium falciparum* sensible et résistant respectivement 600 µg/ml et 470 µg/ml (SIDIBE, 2005).

C'est ainsi que nous nous sommes proposés dans cette étude, après une revue de la littérature sur les plantes de la famille des Asteraceae utilisées comme fébrifuge, de choisir parmi celles qui sont utilisées au Mali: *Vernonia colorata*, *Vernonia kotschyana* et *Vernonia nigrifolia*. En plus nous nous sommes intéressés à *Clerodendrum capitatum* vu les risques de confusion que la population fait de cette plante avec *Vernonia nigrifolia*

Enfin cette étude a pris en compte le *Cymbopogon giganteus* utilisé par certaines populations comme fébrifuge et antipaludique.

MOTIVATIONS

La recherche des nouvelles plantes antipaludiques au Mali qui se trouve dans la famille des Asteraceae.

Confirmer l'usage de certaines plantes utilisées comme antipaludique par la population.

Rendre accessible à moindre coût un nouveau médicament traditionnel amélioré (MTA)

OBJECTIFS

OBJECTIF GENERAL:

Etudier la phytochimie et l'activité biologique de cinq plantes maliennes utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme.

OBJECTIFS SPECIFIQUES:

- Identifier les grands groupes chimiques dans nos drogues ;
- Déterminer la teneur en eau des plantes ;
- Déterminer les teneurs en cendres de nos plantes ;
- Identifier les meilleurs solvants d'extractions de nos drogues ;
- Déterminer l'activité antioxydante des différents extraits ;
- Déterminer l'activité antipaludique de nos différents extraits.

TRAVAUX ANTÉRIEURS

1 GENERALITE SUR LE PALUDISME:

1-1 DEFINITION

Le paludisme (palus = marais) ou malaria (= mauvais air) est une érythrocytopathie due à des hématozoaires du genre *Plasmodium* et transmis par des moustiques femelles du genre *Anophèles* (Gentilini, 1996).

1-2 EPIDEMIOLOGIE :

1-2-1 REPARTITION GEOGRAPHIQUE :(Annexe N° 2)

Le paludisme sévit actuellement à la ceinture de pauvreté du monde. Il est surtout redoutable en zone tropicale où existe *Plasmodium falciparum*, agent du paludisme grave.

En Europe, le paludisme a été éradiqué. Des réintroductions temporaires peuvent se produire et des cas isolés survenir (paludisme des aéroports).

Mais c'est essentiellement le paludisme d'importation (paludisme des voyageurs) qui sévit.

En Afrique, le paludisme existe faiblement en Afrique du Nord, où l'on rencontre les espèces *Plasmodium vivax* et *Plasmodium malariae*. Il est largement répandu dans toute l'Afrique inter-tropicale où co-existent *P. falciparum*, *P. malariae* et, pour une moindre part, *P. ovale*. Il en est de même à Madagascar où une véritable épidémie, meurtrière, a sévi en 1987-1988. A la Réunion, l'endémie paraît éteinte, mais elle s'est récemment établie de nouveau à l'Ile Maurice.

En Amérique, l'Amérique du Nord est indemne de paludisme. En revanche, celui-ci existe en Amérique centrale (*P. vivax* surtout) et dans une île des Caraïbes : Haïti. Il n'existe pas de transmission dans les Petites Antilles : Guadeloupe, Martinique. En Amérique du Sud existent d'importants foyers dus *P. falciparum* (résistants aux amino-4-quinoléines) et *P. vivax*.

En Océanie, certaines îles sont atteintes : Nouvelle-Guinée, Iles Salomon, Vanuatu ; d'autres, au contraire, en sont totalement dépourvues : Tahiti, Nouvelle-Calédonie, Iles Loyaut.... ; l'Australie est indemne.

En Asie, comme en Afrique, le paludisme sévit modérément en Asie Mineure (Turquie), péninsule indienne (*P. vivax* surtout) et intensément en Birmanie, Chine du sud, Thaïlande, Viêt-Nam, Cambodge, Laos (*P. falciparum* surtout, avec des souches chimiorésistantes).

1-2-2 PARASITE ET VECTEUR

Parasite du genre *Plasmodium*

En 1878, le médecin militaire Alphonse Laveran fut le premier à démontrer la nature parasitaire du paludisme en détectant des éléments pigmentés dans les globules rouges des malades atteints de fièvres palustres, en décrivant des éléments se présentant sous formes de croissant, de sphères ou de flagelles. Le parasite appartient à l'embranchement des Sporozoaires, parmi lesquels on distingue les Sarcosporidies et les Coccidiomorphes dont fait partie le genre *Plasmodium*. Les *Plasmodium* sont des parasites des hématies; c'est pourquoi on les nomme parfois hématozoaires. Ils appartiennent plus précisément à l'ordre des Hémosporidies ou Hémococcidies et à la famille des Plasmodiidae.

Il existe de nombreuses espèces du genre *Plasmodium* parmi lesquels cinq peuvent être responsables d'une infection chez l'homme. Il s'agit de:

Plasmodium falciparum

Essentiellement retrouvé en Afrique tropicale, en Amérique centrale et du Sud, en Asie du Sud Est, il s'agit de l'espèce la plus dangereuse puisque le paludisme qu'elle occasionne est en général le seul qui puisse entraîner une mortalité importante. De plus, *Plasmodium falciparum* développe aujourd'hui une résistance contre la chloroquine dans de nombreux pays, posant ainsi le problème de la prévention médicamenteuse de la maladie. Il est important de noter que cette chimiorésistance ne cesse de s'étendre géographiquement d'année en année; ceci implique que la chimioprophylaxie pour un pays donné peut varier d'une année à l'autre.

Plasmodium vivax

C'est la deuxième espèce retrouvée en Afrique et surtout en Asie, en Amérique latine et, à un moindre degré, en Afrique de l'Est. Environ 10 à 20% des cas d'infection par *Plasmodium vivax* dans le monde se produisent en Afrique au sud du Sahara. En Afrique australe et orientale, *Plasmodium vivax* représente autour de 10% de cas de malaria mais dans moins de 1% de cas en Afrique centrale occidentale.

Plasmodium malariae

C'est un parasite qui provoque des fièvres quarte puisque les crises cycliques d'infection se produisent toutes les 72 heures. Le *Plasmodium malariae* se range en troisième position dans la prédominance, mais possède une distribution étendue.

Les parasites, dans leurs formes trophozoïtes, se présentent sous un aspect compact prenant l'apparence d'une bande colorée ou la forme d'un panier.

Plasmodium ovale

Rencontré moins fréquemment, *Plasmodium ovale* infecte préférentiellement les globules rouges non matures ce qui limite la parasitémie. Les cellules infectées sont ovales et légèrement plus grandes que les cellules non infectées, et on note la présence de colorant malarique (granulations de Schuffner). Les trophozoïtes sont très souvent amiboïdes.

(Annexes N° 3)

Plasmodium knowlesi

Rencontré en Asie du Sud-est, elle est proche génétiquement, cliniquement et microscopiquement de *Plasmodium malariae*. Elle était connue chez le singe.

[http://infectiologie.iquebec.com\(Fiche%\)20maladies/infections%20parasitaires/Paludisme.htm-100k](http://infectiologie.iquebec.com(Fiche%)20maladies/infections%20parasitaires/Paludisme.htm-100k) (20/06/08)

Vecteur « Anophèles femelles »

Ce sont des moustiques culicidés de la famille des Anophélinés. Les anophèles femelles se reconnaissent à leur position de repos oblique par rapport au support sur lequel ils sont posés et à leurs appendices céphaliques.

Leur reproduction exige du sang, de l'eau et de la chaleur. La femelle fécondée ne peut pondre qu'après un repas sanguin, pris sur l'homme ou sur l'animal. Les gîtes de ponte varient selon l'espèce anophélienne: collections d'eau permanentes ou temporaires (persistant au moins dix jours consécutifs), claires, douces ou saumâtres, ensoleillées ou ombragées. Dans l'eau, les oeufs se transforment en larves puis en nymphes, dont naîtra une nouvelle génération d'adultes. Chaleur et humidité conditionnent également l'activité génitale des femelles : en zone tempérée, les anophèles ne pondent qu'à la belle saison ; en zone équatoriale leur activité est permanente ; en zone tropicale la saison sèche limite la prolifération par réduction du nombre de gîtes. Les femelles vivent environ un mois. Elles piquent surtout au crépuscule et durant la nuit.

La plupart des anophèles ne s'éloignent guère de leur lieu de naissance ; ils sont parfois entraînés à de grande distance par les automobiles, les avions et à un moindre degré par les vents car les anophèles présentent une certaine fragilité. L'anophèle se dirige plus volontiers vers les lieux où la concentration en dioxyde de carbone est la plus importante, c'est-à-dire à l'intérieur des habitations, ou à proximité des humains même à l'extérieur de leurs habitations (LATIFOU, 2005).

1-3 CYCLE BIOLOGIQUE: (Jean-Marie et Coll., 2001).

Le cycle de tous les *Plasmodiums* est essentiellement le même (fig N°1). Il comprend une phase exogène sexuée (sporogonie) avec multiplication chez des anophèles femelles, et une phase endogène asexuée (schizogonie) avec multiplication chez l'homme. Cette dernière phase, où le parasite est constamment haploïde, comprend une phase de développement dans les hépatocytes (schizogonie pré ou exoérythrocytaire) et un cycle de développement dans les érythrocytes (schizogonie érythrocytaire).

Parasite dans l'anophèle :

Les gamétocytes, stade sanguin sexué des *Plasmodiums*, sont ingérés par un anophèle femelle au cours d'un repas sanguin. Par un processus d'exflagellation, un gamétocyte mâle donne en quelques minutes 8 gamètes mâles haploïdes, chacun pouvant fusionner avec un gamète femelle haploïde. Cette fécondation aboutit à la formation d'un ookinète diploïde qui traverse activement la paroi stomacale du moustique et forme, à la surface externe de cette paroi, un oocyste, moins de 24 heures après le repas sanguin. À l'intérieur de cet oocyste, les cellules parasites se multiplient pour libérer près d'un millier de sporozoïtes haploïdes au bout de quelques jours. La durée de cette période diminue quand la température augmente. À 28°C, elle est de 9 à 10 jours pour *P.falciparum*, 8 à 10 jours pour *P.vivax*, 12 à 14 jours pour *P.ovale* et 14 à 16 jours pour *P. malariae*. À 20°C, en revanche, elle est de l'ordre de 3 semaines pour *P. falciparum*. Lorsque la température est inférieure à 18°C, *P.falciparum* n'est généralement plus transmis. Il en est de même pour *P.vivax* et *P.malariae* à des températures inférieures à 15°C. Moins de 25 % des sporozoïtes libérés des oocystes réussissent à gagner les glandes salivaires. Il s'y accumulent (souvent plus d'un millier) et y finissent leur maturation. La plupart des anophèles ayant ingéré des gamétocytes ne deviennent pas infectants à cause d'une durée de vie trop courte ou l'obstacle dans le développement des sporozoïtes. Un anophèle peut s'infecter dès son premier repas sanguin, le jour de son émergence, et peut rester infectant toute sa vie, qui dure le plus souvent quelques semaines, rarement plusieurs mois. Au début d'un repas sanguin, l'anophèle infecté régurgite quelques

dizaines de sporozoïtes dans la peau de l'individu piqué généralement moins de 25, plus de 100 chez seulement 5 à 10 % des anophèles infectés. La multiplication des sporozoïtes injectés, la reproduction sexuée, les recombinaisons méiotiques, ainsi que, à un moindre degré, les mutations ponctuelles et les réarrangements mitotiques sont à l'origine d'une diversité génétique et phénotypique des populations parasites issues d'une seule piqure infectante, même si ces populations ont des liens de parenté étroits.

Parasite chez l'homme :

Les sporozoïtes inoculés restent de quelques minutes à une demi-heure dans la peau, la lymphe puis le sang. Beaucoup sont détruits par les macrophages. Certains (d'un à quelques dizaines) envahissent des hépatocytes. Les sporozoïtes forment alors des schizontes pré-érythrocytaires qui se développent en quelques jours (*P.falciparum* : 5,5-7 jours, *P.vivax* : 6-8 jours, *P.ovale* : 9 jours, *P.malariae* : 14-16 jours) et libèrent des milliers de mérozoïtes dans le sang (*P.falciparum* : 30.000, *P.malariae* et *P.ovale* : 15.000, *P.vivax* : 8.000 à 20.000).

La plupart des mérozoïtes envahissent des érythrocytes en près d'une minute. Certains sont phagocytés. Le délai entre l'infection par les sporozoïtes et la détection des stades sanguins s'appelle la période pré-patente. Elle dure généralement de 9 à 11 jours pour *P.falciparum*, 11 à 13 jours pour *P.vivax*, 10 à 14 jours pour *P.ovale* et 15 à 16 jours pour *P.malariae*.

Seuls *P.vivax* et *P.ovale* peuvent entrer dans une phase dormante (hypnozoïte), au lieu d'évoluer directement en schizonte dans l'hépatocyte. Cette phase dormante peut durer plusieurs mois avant l'entrée schizogonie pré-érythrocytaires et être responsable de rechutes tardives.

Les mérozoïtes envahissent des érythrocytes par invagination de la membrane cellulaire en une vacuole parasitophore. Dans l'érythrocyte, le parasite prend une forme en anneau, le trophozoïte, absorbe l'hémoglobine et libère un pigment appelé l'hémozoïne. Après une période de croissance, le trophozoïte âgé entre dans un processus de division : la schizogonie érythrocytaire. Lorsque les schizontes sont matures, les érythrocytes éclatent et libèrent des mérozoïtes (*P.falciparum* : 8 à 24, en moyenne 16 ; *P.malariae* : 8 ; *P.ovale* : 8 à 10 ; *P.vivax* : 12 à 18) ainsi que de nombreux débris cellulaires et parasites responsables des accès de fièvre. La schizogonie érythrocytaire dure approximativement 48 heures pour *P.falciparum*, *P.vivax* et *P.ovale* et 72 heures pour *P.malariae*. Chez les individus non immuns, le taux de multiplication des stades asexués de *P.falciparum* excède souvent 10 par

cycle, ce qui correspond à une efficacité d'invasion des érythrocytes par les mérozoïtes libérés de l'ordre de 50 % et atteint parfois 20 par cycle.

Le cycle est continu pendant la durée de l'infection et aboutit à une augmentation progressive de la densité parasitaire jusqu'à ce que l'immunité ou le traitement la limitent. Lorsque la densité parasitaire atteint un certain niveau, les manifestations cliniques apparaissent.

Les hématies parasitées par des trophozoïtes âgés de *P.falciparum* disparaissent habituellement de la circulation périphérique vers la 24^e heure du cycle et sont séquestrées dans les capillaires d'organes profonds comme le cerveau, le cœur, la rate, les intestins, la moelle osseuse ou le placenta où se déroule la deuxième moitié du cycle (schizogonie). Dans certaines circonstances, cette séquestration est responsable de formes graves du paludisme. Il est possible que la totalité ou la quasi-totalité du cycle de certaines souches de *P.falciparum* se déroule en état de séquestration dans les capillaires profonds.

Des mérozoïtes ayant envahi des hématies peuvent produire des formes sanguines sexuées (gamétocytes). Bien que tous les mérozoïtes aient capacité, y compris ceux issus de schizontes hépatiques, ce n'est généralement qu'après plusieurs cycles de schizogonie érythrocytaire que les gamétocytes sont produits en grand nombre et deviennent détectable. Avant de pouvoir être infectants pour un anophèle femelle, ils subissent une mutation en macrogamétocyte (femelle) et en microgamétocyte (mâle).

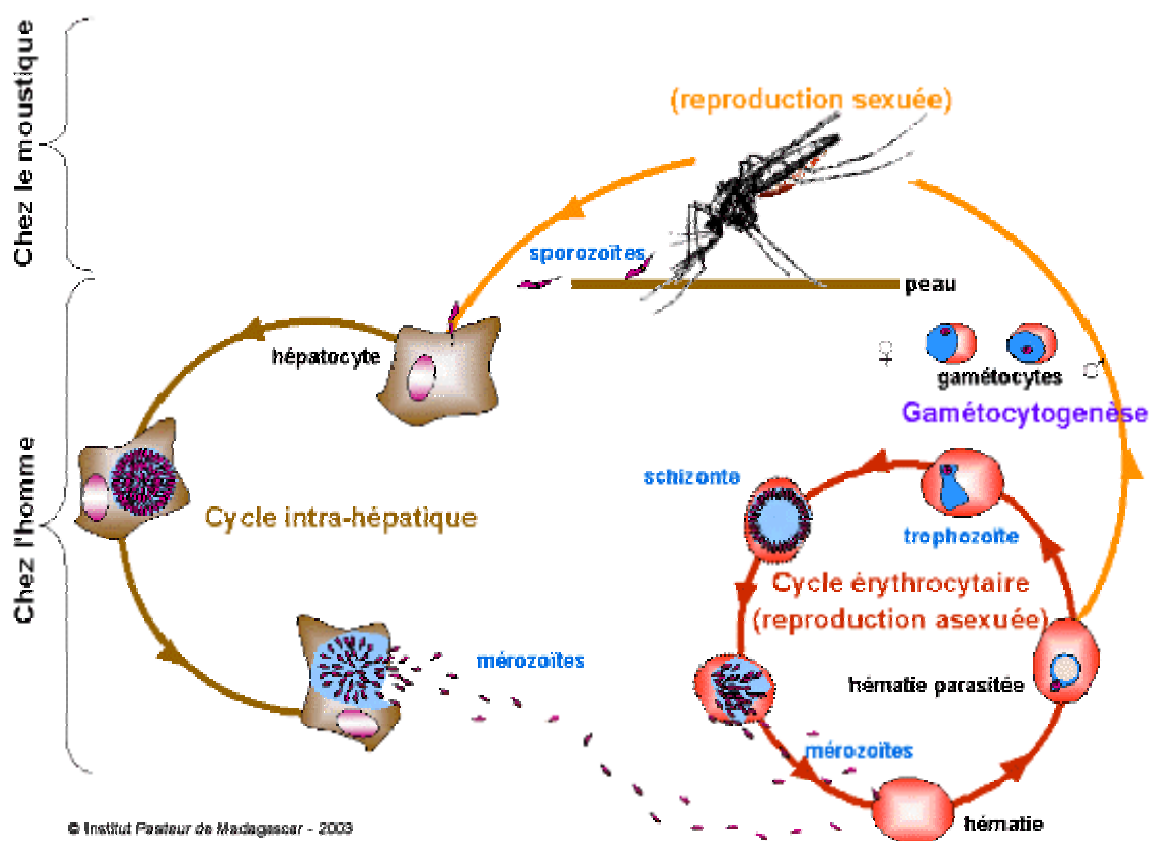


Figure N°1 : Cycle de vie du Plasmodium chez l'homme

Source : www.pasteur.mg/cyclepaludisme.html (08/03/2007)

1-4 PHYSIOPATHOLOGIE (Gentilini, 1996)

Les manifestations du paludisme sont liées directement ou indirectement à la schizogonie érythrocytaire, alors que la schizogonie hépatique est asymptomatique. Leur gravité dépend de l'espèce plasmodiale, de la densité parasitaire, du degré de prémunition de l'hôte.

Accès simple

- **la fièvre** : est due à l'éclatement des rosaces qui libère dans le torrent circulaire du pigment malarique ; celui-ci se comporte comme une substance pyrétogène, dont l'effet est comparable à celui d'une endotoxine injectée à dose infatigable. Si l'éclatement des rosaces est asynchrone, la fièvre est irrégulière ou apparemment continue ; s'il est synchrone, la fièvre est intermittente, tierce ou quarte, selon la périodicité de la schizogonie (48 ou 72 heures).

- **l'anémie** résulte avant tout de la lyse des hématies parasitées (éclatement des rosaces ; érythrophagocytose). Des hématies saines peuvent également être détruites, surtout dans les infections à *P.falciparum*, sans doute par un mécanisme immunologique ; de ce fait, la réaction de Coombs est parfois positive.

- **La rate**, dont le rôle est capital, intervient par ses formations lymphoïdes (synthèse d'anticorps) et ses monocytes-macrophages (phagocytose d'hématieparasitées).

- **Le foie** intervient par l'activité phagocytaire des cellules de Kuppfer, et par la transformation de l'hémoglobine libérée en bilirubine libre, d'où le subictère.

La splénomégalie et l'hépatomégalie, habituelles au bout d'un certain temps d'évolution, témoignent de l'hyperactivité et de la congestion de ces organes (la rate et le foie).

Accès pernicieux

Avec ses manifestations viscérales, neurologiques et rénales notamment, l'accès pernicieux dont la physiopathologie n'est pas élucidée, reste une érythrocythémie parasitaire. Il doit ses particularités symptomatiques à la multiplication rapide de *P.falciparum* dans les capillaires viscéraux qui engendre une anoxie des tissus nobles, prédominant au niveau de l'encéphale, puis des reins, des poumons et du foie, par anémie hémolytique, trouble de la microcirculation et phénomène cytotoxiques.

1-5 ANATOMO-PATHOLOGIE

D'une manière générale, la réaction de l'organisme est une hyperplasie des cellules macrophagiques, visible surtout dans la rate, puis dans le foie et la moelle hématopoïétique. Ces cellules contiennent des granulations noires d'hémozoïne (pigment malarique) qui proviennent de l'hémoglobine dégradée par l'hématozoaire et qui sont spécifiques. On y trouve aussi de l'hémsidérine, colorable par le Perls.

- **La rate** est molle, friable, foncée ou presque noire à la coupe. Les sinus sont gorgés de sang et d'érythrocytes parasités ; les cordons de Billroth, hyperplasiés, sont tatoués d'hémozoïne. Les corpuscules de Malpighi, dépourvus de pigment, présentent une déplétion en lymphocytes B. Les macrocytes contiennent du pigment mélanique et des débris d'hématies parasitées.

Dans le paludisme viscéral évolutif, la rate, d'aspect bantien, est fibrocongestive, avec des follicules hyperplasiés et souvent des nodules sidéro-calcaires.

- **Le foie** présente une hyperplasie Kuppferienne, une dilatation des sinusoides et souvent une surcharge biliaire. L'hémozoïne, d'abord cantonnée aux cellules de Kuppfer, migre ensuite vers les espaces de Kiernan.

- **Le cerveau et ses enveloppes**, chez les sujets décédés d'accès pernicieux, sont oedémateux et hyperhémisés. Dans la substance blanche surtout, les capillaires sont dilatés,

encombrés d'hématies parasitées, et parfois thrombosés. On note des infiltrats périvasculaires, parfois hémorragiques ou nécrotiques.

- **Les reins** ; dans les formes perniciox, les capillaires glomérulaires et interstiels parasités sont turgescents, et contiennent des amas d'érythrocytes parasités ; il existe une hyperplasie endothéliale et un épaississement irrégulier des membranes basales. Dans la fièvre bilieuse hémoglobininurique, on observe des lésions non spécifiques de tubulopathie aiguë : obstruction de la lumière des tubes collecteurs par des dépôts hémoglobine, avec nécrose et desquamation de leurs cellules pariétales. La néphropathie quartane de l'enfant africain est caractérisée par un épaississement fibrillaire irrégulier des capillaires glomérulaires, ainsi que de la membrane basale, avec dépôts d'immuns complexes solubles.

1-6 SYMPTOMATOLOGIE

Certains tableaux cliniques sont communs à toutes les espèces plasmodiales, avec des degrés dans l'intensité des signes selon le parasite. Ce sont les accès simples, c'est-à-dire les accès de primo invasion et les accès de reviviscence schizogonique à fièvre périodique.

De même le paludisme viscéral évolutif peut en principe être causé par toutes les espèces.

Accès de primo invasion

Ce stade apparaît souvent chez un sujet non immun, c'est-à-dire l'enfant de quatre mois à quatre ans ou plus vivant en zones d'endémie, chez l'adulte en provenance d'une zone indemne de paludisme, ou tout sujet ayant perdu sa prémunition. Il est précédé par une incubation cliniquement muette qui dure en moyenne quatorze jours pour *P. vivax* et *P. ovale*, douze jours pour *P. falciparum* et trente jours pour *P. malariae*.

L'invasion

L'invasion est marquée par une fièvre progressivement croissante qui devient continue, en plateau ou à grandes oscillations irrégulières avec plusieurs pics par jours, atteignant 39° ou 40°C. Cette fièvre ne possède à ce stade de périodicité régulière. Elle s'accompagne de myalgies, céphalées, douleurs abdominales souvent au premier plan, parfois vomissements et diarrhée. La rate n'est pas palpable au début. Le foie est parfois augmenté de volume et est sensible. Un bouquet d'herpès labial est souvent associé, ainsi qu'une diminution de la diurèse avec urines foncées contenant des traces de protéines.

A ce stade, le diagnostic sera apportée par le frottis sanguin et la goutte épaisse qui montre le *Plasmodium*. L'évolution est favorable sous traitement bien conduit en quelques jours. En l'absence de traitement, la fièvre persiste avec des rémissions et des recrudescences pendant 8 à 15 jours. La fièvre peut devenir intermittente, tous les deux ou trois jours accompagnée alors

d'une splénomégalie. Le risque de passage à l'accès pernicieux est permanent s'il s'agit d'un *Plasmodium falciparum*. Pour les autres espèces, la guérison est possible, sans pouvoir exclure des accès de reviviscences des mois ou des années plus tard.

Formes cliniques

Les formes cliniques de la primo-invasion ne sont que des variantes symptomatiques. La fièvre rémittente est caractérisée par l'importance des pics fébriles, l'existence de quelques rémissions de quelques heures, un syndrome infectieux sévère et une hépatomégalie. On parle de rémittente bilieuse lorsqu'un ictère s'y ajoute. Ces deux formes cliniques surviennent chez des sujets non immuns qui ont subi une infection massive. A l'inverse, les formes invasives frustres, paucy symptomatiques, rares avec *P.falciparum*, sont fréquentes avec les autres espèces.

Les reviviscences

Les accès palustres à fièvre périodique, dits accès intermittents, sont dus à un «réveil» d'un hypnozoïte intra hépatique (*P. vivax* ou *ovale*), ou à l'exacerbation d'une schizogonie sanguine dans le cas de *P. malariae*. Il peut suivre immédiatement une primo-invasion pour *P. falciparum*. Chaque accès se déroule de manière identique, par la succession de trois stades : frissons, chaleur, sueurs qui se répètent selon un rythme régulier. Cette triade est parfois précédée de prodromes toujours identiques chez un même malade (herpès labial, céphalées, nausées).

Pendant la phase de frissons qui dure environ une heure, la fièvre monte, la rate augmente de volume, la pression artérielle diminue. Lors de la deuxième phase qui dure de 3 à 4 heures, les frissons disparaissent, la peau devient sèche et brûlante, la fièvre s'intensifie et le volume de la rate diminue. Le dernier stade est marqué par un effondrement brutal de la température jusqu'à l'hypothermie, des sueurs abondantes. La pression artérielle augmente, ce stade dure de 2 à 4 heures.

Le paludisme viscéral évolutif (PVE) survient en zone d'endémie chez les sujets soumis à des infestations palustres massives et répétées, ne se soumettant pas à une prophylaxie ou à un traitement efficace et se situent au début de la période d'acquisition de l'immunité. Il s'agit le plus souvent d'enfants des régions d'endémie. Il peut exister des paludismes viscéraux évolutifs chez des adultes expatriés en zone d'endémie depuis longtemps, se soumettant à une chimioprophylaxie ou à des traitements par la chloroquine.

La symptomatologie du PVE est subaiguë ou chronique : elle associe une anémie avec pâleur, asthénie, anorexie, parfois dyspnée, œdème des membres inférieures, souffle systolique anorganique. La splénomégalie, constante chez l'enfant, est volumineuse et sensible.

La température est variable. Ce tableau d'évolution prolongée entraîne chez l'enfant un retard staturopondéral parfois considérable (« cachexie palustre » des Anglo-Saxons). Chez l'adulte, l'anorexie très marquée avec nausées, diarrhées, détermine un amaigrissement rapide ; la splénomégalie est souvent moins importante que chez l'enfant ou peut marquer.

Le rythme des accès

Il est variable selon la durée de la schizogonie sanguine. Ainsi, les accès surviennent tous les deux jours si la schizogonie est de 48 heures et réalise une fièvre tierce. De même, la fièvre quarte est déterminée par des accès se produisant tous les trois jours, avec une schizogonie de 72 heures. Il peut exister des accès moins rythmés.

Par exemple la fièvre quotidienne ou double tierce alternée qui proviendrait de deux cycles schizogoniques décalés de 24 heures.

Particularités symptomatiques liées aux espèces

Paludisme à *Plasmodium falciparum*

P. falciparum peut déterminer des parasitémies élevées et réaliser des phénomènes de séquestration dans les capillaires viscéraux. C'est la seule espèce plasmodiale à pouvoir évoluer vers un accès pernicieux souvent mortel. En revanche, sa longévité ne dépasse pas deux mois.

L'accès « simple » de primo invasion ou de réinvasion ; ne comporte pas de signe de gravité mais peut à tout moment évoluer vers la perniciosité. La fièvre est présente pendant l'invasion, les céphalées, myalgies, troubles digestifs sont intenses. Lors des recrudescences à la suite d'un traitement insuffisant ou à des réinvasions, la fièvre peut prendre un caractère périodique avec un rythme tierce (48 heures) souvent irrégulier parfois plus court (36 heures). La triade frissons, chaleur, sueur n'est pas nettement réalisée.

Accès pernicieux et accès graves ou compliqués ;

Il constitue le grand drame du paludisme et restent responsable, en dépit des traitements, d'un grand nombre de morts. Il se définit par l'existence de signes neurologiques aigus au cours d'un paludisme à *P.falciparum* : c'est un neuropaludisme réalisant une encéphalopathie aiguë fébrile et associe d'autre manifestation de défaillance viscérale. Ces accès graves surviennent préférentiellement chez des sujets non immuns, des enfants ou des adultes récemment soumis à l'infection palustre, mais ne représentent que 6 à 10 % des accès à *P.falciparum* (Gentilini, 1996)

L'accès pernicieux débute soit progressivement, soit brutalement. A début progressif, il est marqué par l'installation d'une fièvre accompagnée des symptômes semblables à ceux de

primo-invasion mais l'examen clinique attentif peut révéler une note neurologique (intensité des céphalées, ou prostration) qui augure mal l'évolution. A début brutal, il foudroie un sujet en pleine santé, souvent un jeune enfant qui, en quelques heures, convulse et sombre dans un coma fébrile.

En phase d'état, elle associe fièvre, troubles neurologiques et d'autres manifestations de défaillance viscérale grave.

- **la fièvre**, quasi constante (elle est exceptionnellement absente le premier jour), atteint 39-40 °C. Elle peut dépasser 41°C dans 1/3 des cas et est alors de mauvais pronostic. Le pouls est accéléré, souvent plus que ne le voudrait la fièvre, mais la pression artérielle est peu modifiée.

- **les signes neurologiques** les plus fréquents sont les troubles de la conscience, de l'obnubilation au coma profond.

- **les convulsions** constituent le deuxième signe neurologique fréquent, surtout chez l'enfant.

- **les autres signes neurologiques** sont variables dans le temps et dans leur localisation, témoignant de la souffrance cérébrale diffuse et jamais d'un déficit focalisé : paralysies fugaces, signes d'atteinte pyramidale variable, abolition de réflexes ostéotendineux, est considérée comme de mauvais pronostic.

- **L'anémie**, toujours présente au cours de l'accès pernicieux, est plus ou moins marquée au début. Elle est particulièrement fréquente et profonde chez l'enfant en Afrique. Elle se traduit alors par dyspnée, tachycardie, bruit de galop et suffit à caractériser un accès grave lorsque l'hématocrite est inférieur à 15 % ou l'hémoglobine est inférieure à 5 g/dl.

- **Les signes de défaillance hépatique** sont parfois présents mais leur interprétation n'est pas univoque. L'ictère ou le subictère conjonctival, fréquemment observé chez l'adulte, relève à la fois de l'hémolyse et d'un trouble des fonctions hépatiques (élévation de la bilirubine libre et conjuguée). On palpe souvent une hépatomégalie sensible chez les adultes non immuns et les enfants. Le taux d'albumine sérique peut s'abaisser, mais la cytolyse est discrète ou absente (transaminases modérément élevées).

- **La splénomégalie** est rarement présente au début d'un accès pernicieux. Elle apparaît secondairement dans un tiers des cas seulement, et constitue alors un signe bon pronostic.

- **L'insuffisance rénale** prend deux aspects : le plus souvent, elle est fonctionnelle avec l'oligurie mais persistance d'une concentration uréique urinaire correcte et cédera sous réhydratation. Plus rarement il s'agit d'une défaillance rénale aiguë organique, avec oligo-anurie et l'élévation de la créatinine.

- **L'œdème pulmonaire** est une complication rare mais grave de l'accès pernicieux. On l'observe plutôt chez l'adulte que chez l'enfant.

- **Le collapsus circulatoire** est également rarement observé au cours de l'accès pernicieux : le système cardiovasculaire résiste remarquablement habituellement, même si les pressions artérielles mesurées sont à la limite inférieure à la normale. Cependant, dans quelques cas, plutôt chez l'adulte, on observe un véritable tableau de choc, qui fait partie de la forme algide de l'accès pernicieux. La température est basse ($\leq 36^{\circ}\text{C}$), la peau cyanosée, une douleur thoraco-abdominale intense est parfois notée.

- **Des signes d'hémorragies diffuses** ou une hémoglobinurie massive sont parfois observés. Saignement gingival, épistaxis, pétéchies, hémorragie sous conjonctivale, associés à des signes coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) sont notés chez moins de 10% des adultes en Asie du Sud-Est, exceptionnellement en Afrique. La thrombopénie, quasi constante et certains patients présentent une hémolyse aiguë.

- **L'hypoglycémie** est beaucoup plus fréquente au cours de l'accès pernicieux. Chez l'enfant, en Afrique elle est présente dans 15 à 30 % des cas, avant tout traitement et constitue un signe de fâcheux pronostic lorsqu'elle est inférieure à 2,2 mmol/l ($< 0,4 \text{ g/l}$). Chez l'adulte, elle est plus rare, mais s'observe cependant, en particulier chez la femme enceinte. Elle est alors souvent déclenchée par la quinine, dont l'effet hyperinsulinomiant est particulièrement net.

Tableau I : Les manifestations d'un accès grave ou compliqué : les trois premiers des 10 manifestations majeurs sont les plus fréquemment observés.

A. Présence de formes asexuées de <i>P.falciparum</i> à l'examen sanguin et d'une ou plusieurs des 10 dix manifestations majeures suivantes : 1. Neuropaludisme. Coma stade II ou plus 2. Crises convulsives généralisées répétées (plus de 2 par 24h ; plus de 15 min de phase post-critique) 3. Anémie grave (normocytaire, hémocrite < 15-20 %, hémoglobine < 5-6g /dl) 4. Insuffisance rénale (diurèse < 400ml ou < 12ml/kg/24h ; créatinine > 265μmol/l) 5. Oedème pulmonaire (ou syndrome de détresse respiratoire aiguë) 6. Hypoglycémie (< 2,2mmol/l ou 0,4 g/l) 7. Collapsus circulatoire 8. Hémorragie diffuse 9. Hémorragie massive 10. Acidose sanguine (pH artériel < 7,25 ; ou bicarbonates < 15 mmol/l)
B. Autres manifestations contingentes ne suffisant pas à elles seules à définir l'accès grave 1. Obnubilation ou prostration moins marquée que le coma stade II 2. Parasitémie élevée (> 5 % chez un sujet non immuns) 3. Ictère (clinique ou bilirubine> 50 μmol/l ou > 30mg/l) 4. Hyperthermie (≥ 41°C) ou hypothermie (≤ 36°C)

Fièvre bilieuse hémoglobininurique

Il s'agit d'un syndrome lié à *P. falciparum*. Observé entre 1910 et 1940 par les malariologues français et anglais, il survient chez des Européens expatriés depuis plusieurs mois ou années en zone tropicale, ayant des antécédents d'accès à *P. falciparum*, et prenant irrégulièrement une prophylaxie et/ou un traitement par de la quinine ou de la méfloquine. Son mécanisme n'a jamais été clairement élucidé.

Le début est brutal avec des lombalgies, une fièvre élevée, une pâleur, puis apparaissent un ictère, une chute tensionnelle, une oligurie avec des urines foncées. Ces symptômes correspondent à une hémolyse intravasculaire aiguë avec hémoglobininurie et leur gravité est fonction de la présence associée d'un état de choc, de la profondeur de l'anémie aiguë et de l'impact de l'insuffisance rénale aiguë souvent oligo-anurique.

Biologiquement, on retrouve une anémie, une insuffisance rénale et une hémoglobinurie. La parasitémie est nulle ou modérée ce qui permet de faire la différence avec un accès pernicieux.

Paludisme à *Plasmodium vivax*

P.vivax détermine habituellement des accès fébriles sans gravité. L'accès de primo-invasion survient après une incubation silencieuse de 12 à 21 jours, parfois de 6 à 9 mois pour certaines souches. La symptomatologie est typique, souvent moins intense que celle déterminée par *P.falciparum*, avec rarement des tableaux de fièvre rémittente. On n'observe jamais d'accès pernicieux ; les manifestations neurologiques attribuées en Chine du Sud à un *P.vivax* multinucleatum ne relèvent peut être pas uniquement du parasite.

Les accès de reviviscence à fièvre périodique sont fréquents, typiques dans leur expression de fièvre tierce bénigne et surviennent en l'absence de traitement radical, à un rythme variable selon les souches : tous les mois et demi, tous les 6 mois, ou les 9-10 mois. On peut les observer 2 à 4 ans après la dernière infection.

Le paludisme viscéral évolutif à *P.vivax* n'a pas de particularité, sauf de ne survenir qu'en l'absence de tout traitement par les quinolones auxquelles le parasite est toujours sensible.

Paludisme à *Plasmodium ovale*

Proche du paludisme à *P.vivax*, il en partage la bénignité. L'incubation varie de 15 jours à plusieurs mois. L'accès de primo-invasion est souvent fruste et ignoré, voire absent. Les accès de reviviscence évoluent sur un rythme de tierce. Ils se répètent rarement en l'absence de réinfection, mais parfois jusqu'à 5 à 7 ans après le dernier séjour en zone d'endémie.

Paludisme à *Plasmodium malariae*

Il est surtout remarquable par le rythme quarte des accès de fièvre périodique. La primo-invasion, fruste, passe souvent inaperçue. En l'absence de traitement, une parasitémie érythrocytaire extrêmement basse, infraclinique et indétectable par les méthodes classiques, peut persister des années, jusqu'à 20 ou 30 ans, et déterminer brusquement, à l'occasion d'un traumatisme ou d'une infection intercurrente, une fièvre quarte.

La néphrite quartane est une néphropathie glomérulaire sévère, révélée, après des années d'infection chronique, par un syndrome néphrotique chez l'enfant, de pronostic réservé malgré un traitement du paludisme et de la néphropathie. C'est la seule complication grave de *P.malariae*.

1-7 DIAGNOSTIC DE LA MALADIE

Le diagnostic de paludisme à *P. falciparum* repose essentiellement sur la mise en évidence du parasite. Ce diagnostic peut-être posé à partir d'un examen clinique ou parasitologique.

Diagnostic clinique

Comme la plupart des cas de paludisme sont encore traités sur la base d'un examen clinique, on ne peut éviter qu'un certain nombre de patients reçoivent des antipaludiques sans être atteints de la maladie. Inversement, le manque de sensibilité des critères cliniques de diagnostic peut conduire à ne pas traiter des patients pourtant malades qui risquent alors de voir leur état s'aggraver jusqu'à l'issue fatale.

Les critères cliniques de diagnostic varient d'une zone à l'autre en fonction de l'intensité de la transmission, de l'espèce parasitaire dominante, de l'incidence des autres causes possibles de fièvre, de la qualification du personnel soignant et de, l'infrastructure médico-sanitaire. En général dans les zones caractérisées par un faible risque de paludisme, le diagnostic du paludisme sans complication repose sur le degré d'exposition au risque, l'existence d'antécédent de fièvre sans signe d'une autre maladie grave. La Prise en charge intégrée des enfants propose des critères cliniques basés sur des données d'origine africaine pour le traitement des enfants peu exposés aux risques. Ces critères sont la fièvre sans écoulement nasal, ni rougeole, ni autre cause de fièvre.

Dans les zones caractérisées par un risque important d'infection palustre, les critères retenus pour l'administration d'un traitement antipalustre sont :

- Jeune enfant de moins de 5 ans ou femme enceinte: antécédents de fièvre ou présence de signes cliniques d'anémie tels que pâleur de la paume, de la main.
- Enfant de plus de 5 ans et la femme non enceinte: Les antécédents de fièvre constituent le seul et unique critère.
- En présence d'une situation à caractère épidémique, il faut traiter toutes les personnes qui ont des antécédents de fièvre.

Diagnostic parasitologique (Jean-Marie et Coll, 2001)

Le diagnostic du paludisme est une urgence et les moyens du diagnostic parasitologique doivent être mis en œuvre le plus rapidement possible par le laboratoire.

Les buts de l'examen sont :

- affirmer la présence de parasites ;
- faire le diagnostic d'espèce, en particulier dans le cas de *P.falciparum* ;
- calculer la parasitémie, principalement pour un suivi de l'efficacité du traitement.

Les techniques sont nombreuses mais aucune n'atteint une sensibilité suffisante pour être utilisée seule en routine.

Frottis sanguin

Le frottis sanguin mince est la technique la plus utilisée par les laboratoires car elle est peu coûteuse, de réalisation facile et ne nécessite pas de matériel particulier. Une goutte de sang est étalée sur la lame de verre puis colorée après séchage d'environ 10-15 min. La coloration classique est le May-Grünwald-Giemsa mais des colorations rapides comme le Diff-Quik ou le RAL, réalisable en quelques minutes, sont fréquemment utilisées. Le seuil de détection est de l'ordre de 200 parasites par mm^3 , ce qui permet le diagnostic de 70 à 80 % des infections. Il n'est donc pas permis d'exclure un diagnostic d'infection palustre sur le seul résultat de cet examen. Afin d'obtenir une sensibilité correcte, il est conseillé de faire effectuer la lecture par deux techniciens pendant environ 20 minutes au fort grossissement ($\times 1000$) avant de rendre un résultat négatif. Le diagnostic d'espèce se fait en fonction des critères morphologiques des parasites. La mise en évidence des infections multiples, qui ne sont pas inhabituelles, est possible. Les *Plasmodium* peuvent paraître déformés si le patient a été traité ou a reçu une prophylaxie. Certains auteurs ont proposé d'améliorer la technique par hémolyse préalable à la saponine mais l'efficacité de cette méthode reste encore à prouver. La quantification parasitaire en pourcentage d'hématies parasitées est classique : on considère que sur une zone bien étale, on a environ 200 hématies au grossissement $\times 1000$.

Goutte épaisse

La goutte épaisse est la technique de concentration la plus ancienne. Elle concentre de 7 à 20 fois par rapport au frottis mince et reste considéré comme la technique de référence par l'OMS. Elle se prépare par étalement d'une goutte de sang, d'un diamètre d'environ 1 cm, au milieu d'une lame de microscope. Après séchage pendant quelques heures, les hématies, qui ne sont pas fixées, sont classiquement colorées par la technique du Giemsa lent. Ce délai est difficilement compatible avec l'urgence. L'examen se fait pendant une vingtaine de minutes au microscope optique au grossissement $\times 1000$ et nécessite un opérateur entraîné car les parasites n'apparaissent plus inclus dans les hématies et sont parfois déformés, ce qui explique les difficultés de lecture et l'impossibilité fréquente de faire un diagnostic d'espèce. Des techniques de séchage rapide au four à micro-ondes permettent de sécher la goutte épaisse et d'obtenir un résultat en moins de 360 minutes. Elle peut être d'un grand apport en urgence. Le seuil de détection est de l'ordre de 10 à 20 parasites par mm^3 et la sensibilité est comprise entre 85 à 95 % en fonction des études. La parasitémie peut être estimée en

rapportant le nombre de parasites observés au nombre de leucocytes dénombrés sur un hémogramme pratiqué simultanément.

Test à l'acridine orange

La méthode de diagnostic utilisant la coloration des acides nucléiques par l'acridine orange a été commercialisée sous le nom de Quantitative Buffy Coat, ou QBC-Malaria® (QBC), il y a un peu plus de 10 ans. Le principe est simple : le sang du malade, prélevé au bout du doigt ou dans un tube anticoagulé par l'EDTA, est récupéré dans un tube capillaire contenant de l'acridine orange. Cette dernière présente une affinité particulière pour l'ADN et se révèle fluorescente en lumière bleue. Elle marque l'ADN des parasites. Le tube est ensuite centrifugé de façon à séparer les globules blancs, les globules rouges, et le sérum, puis observé au microscope à fluorescence sur l'ensemble de sa longueur. Les trophozoïtes apparaissent fluorescents et se recherchent dans la couche des hématies jusqu'à la jonction de la couche leucocytaire. La détection des gamétocytes est plus délicate car ils se retrouvent dans la couche leucocytaire au sein de la fluorescence des noyaux des polynucléaires. Leur recherche se fait en lumière blanche et demande une certaine expérience de l'opérateur. La lecture est rapide, environ 3 à 5 minutes, et le seuil de détection est identique à celui de la goutte épaisse. Cette technique ne permet pas le diagnostic d'espèce ni le calcul de la parasitémie. Les résultats sont très dépendants de l'opérateur et il s'agit donc spécifiquement d'un test à ne placer qu'entre des mains expérimentées. Son utilisation reste l'apanage de laboratoires ayant un recrutement important en raison de son coût, de l'ordre de 4,2euros (2750 CFA) par test en 2001. IL est à noter que la commercialisation du matériel a été arrêtée depuis la fin de l'année 2000 et actuellement seuls les consommables sont encore commercialisés. Cet arrêt de fabrication est regrettable car il s'agit d'un test sensible, spécifique et pratique d'utilisation.

Test recherchant l'antigène HRP-2

Depuis quelques années sont apparus sur le marché des tests sur bandelette permettant la mise en évidence de l'antigène HRP-2, libéré spécifiquement par *P. falciparum* dans le sang des malades (ICT-Malaria®, ParaSight-F®). Il s'agit de kits très sensibles et spécifiques qui permettent le diagnostic d'infection et de l'espèce de *P. falciparum* de façon qualitative. Ils ne permettent pas d'apprécier la parasitémie mais présentent une bonne capacité de détection, même dans les cas des parasitémies faibles avec examen microscopique négatif. La sensibilité est de l'ordre de 95 à 98 %. En raison de la persistance de l'antigénémie pendant parfois plus d'une semaine, ces tests peuvent rester positifs après disparition de la parasitémie. Cette

particularité peut permettre le diagnostic rétrospectif d'accès palustre en cas de traitement présomptif effectué à aveugle.

Les faux négatifs décrits concernent essentiellement les parasitémiées dues à la présence de gamétocytes sans trophozoïtes. Ces cas correspondent essentiellement à des accès palustres en cours de guérison et ne rentrent pas dans le cadre des accès palustres graves.

Les faux positifs (1 à 4 %) se retrouvent chez les patients porteurs de facteurs rhumatoïdes de chez des patients présentant des infections graves avec un fort taux de polynucléaires neutrophiles.

Test recherchant le lactate déshydrogénases parasitaires

Plus récemment, est apparu sous le nom d'OptiMal[®] (laboratoire DIAGAST) un nouveau test immuno-chromatographique sur bandelette permettant le diagnostic de l'infection pour l'ensemble des espèces (*P.falciparum*, *P.vivax*, *P.ovale*, et *P.malariae*). Le test est fondé sur la mise en évidence des lactates déshydrogénases plasmodiales (pLDH) communes à toutes les espèces, couplée à celle d'un isoforme spécifique de *P.falciparum*. Une bande permet le diagnostic de *P.falciparum*, une seconde permet l'identification des trois autres espèces, sans les différencier. Il n'y a pas de réaction croisée avec les pLDH humaines. L'expérience portant sur le paludisme d'importation, le principal problème relevé au cours de l'évaluation de ce test est son manque de sensibilité pour la détection de l'infection à *P.falciparum*. En effet, avec la méthodologie recommandée par le fabricant, les parasitémiées inférieures à 150 par mm³ ne sont pas détectées. Ce test doit être utilisé et interprété avec la plus grande prudence. L'OptiMal[®] est le diagnostic recommandé pour le test rapide du paludisme.

Hybridation

Des techniques d'hybridation ont été développées pour le diagnostic des infections palustres. Elles ne sont actuellement pas utilisables en routine car elles sont mal standardisées et leur sensibilité est très discutée.

Polymerase chain reaction (PCR)

La PCR, qui permet le diagnostic d'infection pour l'ensemble des espèces plasmodiales, est sensible et spécifique. Elle est actuellement devenue l'examen de référence dans de nombreuses études permettant la comparaison des différentes techniques de diagnostic. Elle permet également le diagnostic des faibles infestations chez les donneurs de sang. Malgré ses qualités indéniables, son délai de rendu est beaucoup trop long pour être compatible avec l'urgence. Ce test n'a pas de place dans le diagnostic d'urgence des accès graves. Ce test est utilisé dans le but de la recherche.

Sérologie

Toutes les méthodes immunologiques sont applicables au diagnostic sérologique du paludisme, mais les laboratoires utilisent le plus souvent la réaction d'immunofluorescence indirecte sur lame, qui permet le diagnostic de genre *Plasmodium* mais pas celui de l'espèce infectante. En pratique courante, les antigènes utilisés sont des antigènes de *P.falciparum* obtenus après culture *in vitro*, mais des réactions croisées existent avec les autres espèces plasmodiales. Ce test est également utilisé dans le but de la recherche.

1-8 TRAITEMENT DU PALUDISME

Le traitement du paludisme dépend de plusieurs facteurs notamment de l'espèce de parasite en cause, de la gravité de l'infection, de l'âge de la personne atteinte et du profil de résistance aux médicaments antipaludéens dans la région du monde où la personne a contracté la maladie.

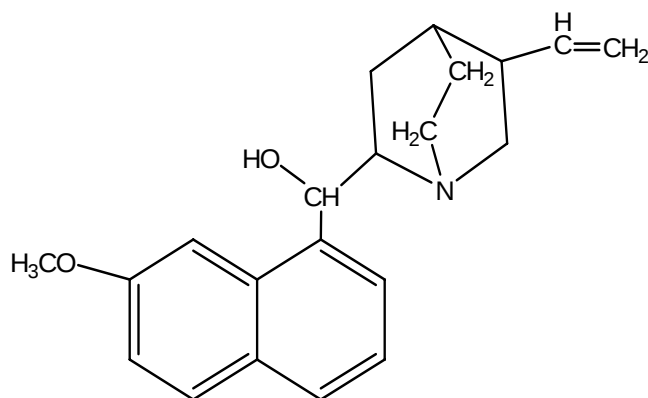
Les produits disponibles

Naturels ou de synthèse, ils appartiennent à différentes classes chimiques qui leur confèrent à chacun des propriétés spécifiques. On distingue deux groupes de médicaments antipaludiques: les schizontocides et les gamétocytocides.

Les schizontocides

Le groupe des schizontocides est séparable en deux parties. Les médicaments de la première partie sont d'action rapide et comprennent la quinine, les dérivés quinoléiques (amino-4-quinoléines et amino-alcools) et l'artémisinine et ses dérivés. La deuxième partie contient des produits d'action plus lente. Il s'agit des antifolates.

• La quinine



Quinine

Alcaloïde naturel du quinquina, la quinine est le plus ancien des ces aminoalcools.

Ses propriétés pharmacologiques et en particulier la possibilité de l'administrer par voie intraveineuse en font le médicament de choix lors du traitement du paludisme grave, d'autant qu'il existe peu de résistances à ce produit (surtout en Asie).

Aux doses thérapeutiques (25 mg/kg/j de quinine base), les effets secondaires sont limités (troubles auditifs avec bourdonnements d'oreilles, vertiges) mais les surdosages entraînent rapidement des troubles cardiaques graves. La voie intramusculaire doit être le plus possible évitée compte tenu des risques de nécrose locale et de paralysie sciatique qui lui sont rattachés ainsi que son manque d'efficacité dans des formes déjà trop évoluées (Jean-Marie et Coll, 2001).

- **Les amino-4-quinoléines de synthèse (chloroquine, amodiaquine)**

Ces molécules de synthèse sont largement distribuées. La large diffusion des résistances de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine est hélas devenue un facteur limitant leur emploi. En plus, des problèmes de prurit sont rencontrés chez les sujets à peau noire. Des troubles oculaires peuvent parfois apparaître après une très longue utilisation. Des agranulocytes et des hépatites ont été signalées lors d'administrations prolongées d'amodiaquine en prophylaxie. Ces molécules restent toutefois la référence thérapeutique de l'accès palustre simple pour la majorité des pays d'endémie.

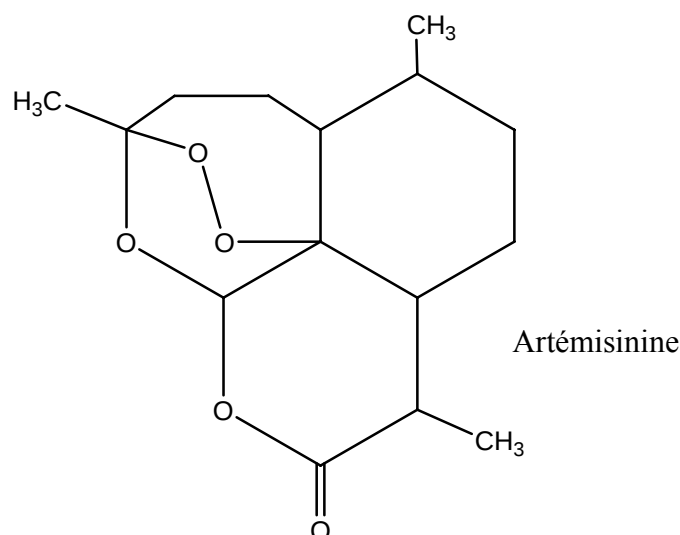
La chloroquine n'est plus autorisée au Mali pour le traitement du paludisme.

- **Les dérivés de synthèse de type amino-alcool: méfloquine, halofantrine, luméfántrine**

L'utilisation de la méfloquine et de l'halofantrine qui avaient suscité de grands espoirs pour le traitement des accès simples à *P. falciparum* chloroquinorésistant est aujourd'hui nuancée du fait de leur coût et du recensement progressif d'effets secondaires préoccupants. Troubles dermatologiques, gastro-intestinaux, cardiologiques, hématologiques et neuropsychiques limitent à présent leur prescription. La très longue demi-vie de la méfloquine reste cependant un atout pour son utilisation en prophylaxie hebdomadaire dans les zones de chloroquinorésistance. L'halofantrine garde l'intérêt d'une assez bonne tolérance et d'une durée de traitement courte qui, en 12 heures, permet une observance bien meilleure que les traitements sur plusieurs jours.

Ces deux médicaments sont contre indiqués chez la femme enceinte et déconseillés chez l'enfant de moins de 10 ou 15 kg. Un autre amino-alcool synthétisé en Chine, le benflumétol ou luméfántrine est en phase de développement en association.

- **L'artémisinine (qinghaosu)**



Active contre les schizontes, l'artémisinine est par contre, inactive contre les formes exo-érythrocytaires et les gamètes. Le produit pénètre rapidement dans les globules rouges et stoppe la maturation des schizontes.

Concentré sur la membrane du parasite, le produit agit au niveau des ribosomes et du réticulum endoplasmique, bloquant la synthèse des protéines.

L'artémisinine et ses dérivés sont présents sur le marché en Asie et dans de nombreux pays d'Afrique. Trois molécules sont utilisées: l'artémisinine et deux dérivés plus actifs, l'artésunate et l'artéméter. L'action rapide de ces molécules ouvre des perspectives précieuses dans le traitement du paludisme grave (Jean-Marie et Coll, 2001).

• Les antifolates

Ils sont répartis en deux familles:

Les antifoliques : Sulfones (Disulone® ou Dapsone®)

Sulfamides (Fanasil® ou Sulfalène®)

Les antifoliniques: Diguanydes (Proguanil et Paludrine®)

Diaminopyrimidine (Piriméthamine, Malocide® et triméthoprime)

Tous ces produits agissent au niveau de la voie de synthèse des folates, qui sont essentiels à la biosynthèse des acides nucléiques du parasite. Les antifoliques inhibent la dihydroptéroate synthétase (DHPS) qui produit l'acide folique, les antifoliniques inhibent la dihydrofolate réductase (DHFR) qui produit l'acide folinique.

Les gamétocytocides

Les gamétocytocides actuellement connus sont les amino-8-quinoléines, toutes toxiques donc peu employées. Les dérivés de l'artémisinine (Artesunate, Artéméter) ont une action

gamétocytocide qui réduit la transmission et limite les risques de voir émerger des résistances.

Les antibiotiques

Certains antibiotiques (cyclines: clindamycine, Doxycycline et azithromycine) sont faiblement et lentement schizontocides. On les associe parfois à la quinine dans certaines régions où la sensibilité de *P. falciparum* à la quinine est diminuée.

Quand aux fluoroquinolones, ils n'ont pas confirmé leur intérêt comme antipaludique jusqu'à présent. La rifamicine, quant à elle, montre une bonne activité, mais risque de sélectionner des résistances bactériennes.

Les associations d'antipaludiques

Un traitement combiné d'antipaludiques consiste à mettre à profit l'association synergique ou additive de deux composés, ou davantage, afin d'améliorer leur efficacité thérapeutique et de retarder l'apparition d'une résistance à chacun des constituants de cette association.

Ce traitement par association consiste dans l'administration simultanée d'au moins deux schizonticides sanguins, dont les modes d'action sont indépendants et dont les cibles biochimiques intraparasitaires sont différentes.

Les nouveaux antimalariques qui ont fait l'objet de développement récents sont tous associés, en bithérapie au moins, et se démarquent de la plus ancienne des associations, la Sulfadoxine-Pyriméthamine (Fansidar®) capable de sélectionner rapidement des mutants résistants. Certaines sont fixes: atovaquone-Proguanil (Malarone®), arthémether-luméfantrine (Coartem, Riamet) et Chlorproguanil-dapsone (Lapdap™), d'autres libres associant toujours un dérivé de l'artémisinine vu la rapidité d'action, l'impact sur la transmission et l'absence de chimiorésistance de *P. falciparum* : Artésunate-méfloquine, artésunate-amodiaquine ou artésunate-sulfadoxinepyriméthamine.

L'arthémether-luméfantrine (Coartem, Riamet) est le traitement de préférence au Mali.

Traitement du paludisme par la médecine traditionnelle

La médecine traditionnelle est définie comme un ensemble comprenant diverses pratiques, approches, connaissances et croyances sanitaires intégrant des médicaments à base de plantes, d'animaux et/ou de minéraux, des traitements spirituels, des techniques manuelles et exercices, appliqués seuls ou en association afin de maintenir le bien-être et traiter, diagnostiquer ou prévenir une maladie. (Organisation Mondiale de la Santé, 2002). Elle est répandue et revêt une importance sanitaire et économique croissante. En Afrique, jusqu'à 80% de la population utilise la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins de santé (Organisation Mondiale de la Santé, 2000). Cet usage répandu de la médecine traditionnelle est souvent attribuable à son accessibilité et à son faible coût compte tenu de la précarité de la

population des pays endémiques. Les recherches effectuées au Ghana, au Kenya et au Mali indiquent qu'un traitement du paludisme peut coûter plusieurs dollars alors que dans ces pays, un habitant ne peut utiliser que 6 dollars par an pour les soins de santé.

Inversement, les médicaments à base de plantes pour le traitement du paludisme sont considérablement moins chers et peuvent parfois même être payés en nature (Organisation Mondiale de la Santé, Genève. 2002).

Dans plusieurs pays, des études réalisées sur l'usage des plantes ont confirmé leur intérêt dans le traitement du paludisme. Parmi ces plantes utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme, nous pouvons citer quelques unes dans le tableau ci dessous.

TableauII : Quelques plantes utilisées dans le traitement du paludisme au Mali (Sangaré, 2003).

Famille	Genre et espèce	Nom bambara
Aizoaceae	<i>Glinus oppositifolius</i>	Balassa
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	Magoro
	<i>Spondias mombin</i> L	Mugon
Boraginaceae	<i>Cordia myxa</i>	N'Tèkè
Caricaceae	<i>Carica papaya</i> L	Madjie
Cesalpiniaceae	<i>Cassia sieberiana</i>	Sindejan
	<i>Bauhinia reticulata</i>	Niama Tienie
	<i>Detarium microcarpum</i>	Tabacouba
Cochospermaceae	<i>Cochlospermum tinctorium</i>	N'Tribaracéni
Combretaceae	<i>Combretum glutinosum</i>	Tchangarable
	<i>Guiera senegalensis</i>	N'kundjé
	<i>Combretum micranthum</i>	N'golobé
Euphorbiaceae	<i>Alchornea cordifolia</i>	Dunfeké
	<i>Chrozophora senegalensis</i>	Dalada
Hypericaceae	<i>Psorospermum guineense</i>	Karidja kouma
Meliaceae	<i>Khaya senegalensis</i>	Djala
Mimosaceae	<i>Acacia albida</i>	Balanzan
Moraceae	<i>Ficus thonnnigii</i>	Doubalè
Opiliaceae	<i>Opilia celtidifolia</i>	Korongohi
Papaveraceae	<i>Argemome mexicana</i>	Sahibagani

Poaceae	<i>Oxytenanthera abyssinica</i>	Munzobo
Rubiaceae	<i>Gardenia ternifolia</i>	Boure tchè
	<i>Mitragyna inermis</i>	Jun
	<i>Nauclea latifolia</i>	Baro
Rutaceae	<i>Citrus limonum</i>	Nemourou
	<i>Fagara zanthoxyloides</i>	Wo
Sapotaceae	<i>Vitellaria paradoxa</i>	Chi

1-9 PREVENTION

Il n'existe pas à l'heure actuelle, de vaccin efficace contre le paludisme. Bien que les travaux se poursuivent dans les deux voies classiques, anti-sporozoïtes et antigamétocytes, rien de réellement nouveau n'est survenu depuis les essais très médiatisés mais hélas décevants chez l'homme du vaccin préventif Spf66 contre *P. falciparum* menés par M. Patarroyo. Un essai américain très préliminaire chez vingt volontaires avec un vaccin à base d'ADN nu bien toléré, et déterminant l'apparition de lymphocytes T cytotoxiques pour le sporozoïte, et un autre vaccin mis au point par Glaxo-Smithkline biologicals et par une équipe de chercheurs barcelonais a suscité l'espoir : le vaccin RTS, S réduirait de 60% le risque d'une infection par le parasite chez des bébés en Mozambique.

[WWW.amigos_de_mocambique.ogr/infos/article_php3?id_article=40_13K_\(29/02/2008\)](http://WWW.amigos_de_mocambique.ogr/infos/article_php3?id_article=40_13K_(29/02/2008))

Une équipe du centre de recherche et de formation sur le paludisme de l'université de Bamako, appuyée par diverses institutions américaines, vient de mener avec de bons résultats des essais cliniques d'un possible vaccin contre le paludisme en pays Dogon, au Mali. L'objectif de ce vaccin, c'est d'empêcher le parasite, au niveau du sang, de pénétrer dans les globules rouges.

[Fr.wikinews.org/wiki/Mali:_essais_prometteurs_d'un_possible_vaccin_contre_le_paludisme_\(20/06/2008\)](http://Fr.wikinews.org/wiki/Mali:_essais_prometteurs_d'un_possible_vaccin_contre_le_paludisme_(20/06/2008))

Les résultats de récentes expérimentations en diverses régions impaludées semblent être très controversés. Le niveau de protection varie de 25 à 60%. Un autre vaccin est en cours d'études aux USA (Walter Reed Army Institute of Research) et en Australie. Les recherches continuent dans le monde mais il faudra probablement attendre encore plusieurs années avant qu'un vaccin, totalement efficace contre le paludisme soit développé. Il faut savoir également que les vaccins ne protègent pas la population à 100%. C'est pourquoi la prophylaxie

antipalustre repose sur une stratégie globale de lutte contre le vecteur et contre le parasite par la prise de médicaments qui est phénomène à tendance d'être abandonné dans certains pays.

Prophylaxie générale

Le but est de contrôler le paludisme sur un territoire. Plusieurs méthodes sont utilisées:

• La lutte anti-vectorielle

Le but est de limiter la population d'anophèles par des mesures d'assainissement telles que la suppression des eaux stagnantes grandes ou petites, luttés anti-lavaire par épandage de pétrole, utilisation d'insecticides solubles répandus à la surface des eaux stagnantes, ensemencement des eaux avec des prédateurs des anophèles (poissons mollusques), utilisation d'insecticides rémanents dans les habitations, dispersion de mâles stériles, utilisation d'écrans biologiques (espèces animales détournant les anophèles de l'homme). Cependant, l'apparition de résistances rend ces mesures peu efficaces. D'autre part, ces mesures ne sont efficaces que si le territoire est limité.

• La lutte anti-plasmodiale chez le sujet porteur

Le diagnostic et le traitement de masse de sujets porteurs est impossible et même nuisible : le traitement inconsideré des porteurs en équilibre avec leur paludisme risque de diminuer leur immunité et d'en faire ensuite la cible d'une souche plus virulente et d'accentuer les chimiorésistances. La découverte d'un vaccin efficace contre la maladie constituera un moyen efficace de prévention.

Prophylaxie individuelle

Elle concerne essentiellement les mesures de protection contre les moustiques.

L'anophèle femelle, vecteur de la maladie pique entre le coucher du soleil et le lever.

Toutefois, le risque est maximum au crépuscule. Il convient donc de concentrer les efforts pour réduire le risque de piqure à cette période de la journée par le port de vêtements clairs, amples et couvrants, par la mise en place des moyens mécaniques de protection, des ouvertures (grillages fins), et individuels pour la nuit (moustiquaire imprégnée d'insecticides), par l'utilisation d'insecticides sous toutes formes, le soir dans le lieu de sommeil (diffuseur électrique avec tablette, flacons de liquide ou spray insecticides).

1-10 ANTIOXYDANTS ET PALUDISME :

Définition de l'antioxydant:

C'est toute substance qui lorsqu'il est présent en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat. Lorsque les espèces réactives de l'oxygène sont générées *in vivo*, de nombreux antioxydants interviennent.

Les sources des antioxydants : On distingue deux principales sources :

- L'alimentation : les vitamines (C, E et A), les polyphénols (Flavonoïdes, tanins, anthocyanes, acides phénoliques, phyto-oestrogène), les oligoéléments (sélénium, manganèse, zinc et cuivre). Ces derniers sont les éléments constitutifs et activateurs des enzymes.
- Sources endogènes : enzymes et protéines.

Rôles et mode d'action des antioxydants :

Les antioxydants réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs. Si l'équilibre entre les radicaux libres et les antioxydants sont perturbés, les radicaux libres peuvent alors causer des dommages à l'organisme. On parle de stress oxydant. Les antioxydants ont divers modes d'action :

- Un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant plus rapidement que celui-ci et en le préservant ainsi de l'oxydation.
- Les antioxydants arrêtent la réaction en chaîne qui préside la multiplication des radicaux libres.
- Le superoxyde dismutase (SOD) transforme l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui sous l'action du catalase donne de l'oxygène (O_2) et de l'eau (H_2O).
- Le glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme qui détruit les peroxydes lipidiques. Il réagit avec le radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras et déclencher une réaction en chaîne oxydante.
- D'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur. Exemple : la bêta carotène, lycopène.

Méthode de mesure des antioxydants :

Test de réduction du DPPH :

Le 1,1 –diphenyl 1, 2-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical stable et présente une absorption spécifique à 517 nm qui confère une coloration violette. Lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux, sa couleur disparaît. L'activité de substances anti-radicalaires est mise en évidence par la révélation sur des chromatogrammes de taches décolorées sur un fond violet à l'aide du DPPH.

Test mesurant l'activité oxydante au moyen de caroténoïdes :

Les plaques CCM sont préparées de la manière que pour le test du DPPH, puis giclées avec une solution chloroformique de bêta carotène. La plaque CCM est ensuite exposée sous une

lame UV à 254 nm jusqu'à décoloration de celle-ci. Les zones antioxydantes apparaissent en jaune sur fond blanc les substances colorées en jaune peuvent donner des faux positifs

Test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosome :

Il consiste en l'oxydation des lysosomes par le 2, 2-azobis, 2-amidinopropène

Antioxydants et paludisme :

Le stress oxydatif est impliqué à plus d'un titre dans les accès palustres. La question est de savoir s'il est protecteur ou vulnérant et le rôle joué par les antioxydants (vitamine A et vitamine E surtout) doit être précisé dans un but de thérapeutique éventuelle. Avec le niveau de malondialdéhyde qui est l'un des principaux marqueurs du stress oxydatif dosable au niveau périphérique, élevé chez les malades et une décroissance des facteurs antioxydants, vitamine A, vitamine E chez les patients le problème est de savoir à qui (le parasite ou l'homme) le stress oxydatif est le plus nuisible au cours du paludisme (Djossou et Coll).

La supplémentation en antioxydant pourrait être contre-indiquée pendant la prise d'artémisinine car l'étude des relations structure-activité du qinghaosu a mis en évidence que l'endopéroxyde est indispensable à l'activité antipaludique. Cette dernière exerce son activité dans l'organisme en créant des radicaux libres, toute substance protégeant des dommages radicalaires pourrait contrarier son activité.

WWW.nutranews.org/article.php3?id_rubrique=24&id_article=170 (29/02/2008)

2 MONOGRAPHIE DES PLANTES :

2-1 *Vernonia colorata* Willd. Drake (Kheraro et Adam, 1974)



Figure N°2 : Photos des feuilles de *Vernonia colorata*

Famille : Asteraceae, Composeae, Synanthereae.

Synonymes: *Eupatorium coloratum* (Willd.), *Vernonia senegalensis* (Less.).

Noms vernaculaires :

Bambara : Kosafiné

Peul : Kosufana

Manléké : Bâtaraburue

Wolof : Zidor

Systématique :

Règne : Végétal

Sous règne : Eucaryotes

Embranchement : Spermatophytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous Classe : Asteridae

Ordre : Astérales

Famille : *Asteraceae*

Sous famille : *Asteroïdeae*

Genre : *Vernonia*

Espèce : *colorata*

Description botanique :

C'est un arbuste de 3 à 4 m de haut, à tige ramifié près de la base, à bois très tendre, blanc, avec de nombreuses branches dressés, évasées, à moelle développée et rameaux couverts d'une pubescente beige lorsqu'ils sont jeunes. Les feuilles obovales de 15 sur 10 cm, pubescence, blanchâtre, courtement cuné et parfois un peu découvert le long du pétiole qui à 20 mm de long et également pubescent.

Les corymbes terminaux ramifiés de capitules de 2 cm de diamètre épanouis, les fleurs blanchâtres, les akènes longues de 3 mm surmontés de soies simples barbelées.

Répartition géographique :

Cette espèce de *Vernonia* est surtout rencontré en Afrique, dans les pays comme le Sénégal, la Gambie, la Guinée Biseau, la Guinée, la Sierra Leone, le Nigeria, le Mali etc.....

Chimie :

Sous la dénomination de *Vernonia senegalensis* on signale dans les racines de l'espèce de l'Ouest africaine la présence d'un alcaloïde ; sous la dénomination de *Vernonia colorata*, des réactions positives ont été trouvées lors de la recherche des alcaloïdes et des saponosides. Mais des études à Paris ont confirmé que ce sont des principes amers (sesquiterpène) et non des alcaloïdes.

D'autre étude menée par Parlet et Rowson sur l'espèce de Nigeria, elles n'ont pas d'alcaloïdes mais des glucosides à action cardiaque (Kheraro et Adam, 1974).

Les acides aminés ont été identifiés dans les feuilles de *Vernonia colorata* dont deux sous formes libres : leucine et isoleucine ; et douze sous formes liés : acide asparique, thréonine, proline, acide glutatanique, glycine, alanine, valine, isoleucine leucine, tyrosine, phenylalanine (Bamba et Coll, 1984).

Les graines de *Vernonia colorata* contiennent des huiles (3,1%) dont 45% d'insaponifiable ; les compositions des glucerides en acides gras sont respectivement 12% d'acide oléique, 15% d'acide linoléique et 38% d'acide gras oxydes (Burkiel, 1985).

Vernonia colorata renfermé des sesquiterpènes lactoniques tels que le 19-hydroxyglaucolide A (Zdero et Coll, 1991) ; vernodoline (Rabe et Coll, 2002) ; 11 β , 13-dihydrovernodalinalin, vernodalol, 11 β , 13-dihydrovernodolide et 11 β , 13, 17, 18-tetrahydrovernodolide (Kralf et Coll, 2003).

La partie aérienne contient des huiles essentielles (Senatore et Coll, 2004).

Pharmacologie :

Les feuilles de *Vernonia colorata* ont des activités anti amibien et anthelmintique (Gasquet et Coll, 1985)

Le vernolide et vernodaline ont une concentration inhibitrice (IC50) égal à 0,1 à 0,5mg/ml sur les bactéries gram positif (Rabe et Coll, 1991)

L'infusion et la décoction de *V.colorata* sont utilisées comme antimalarial (Benoit F et Coll, 1996).

Les extraits aqueux, méthanolique et acétate d'éthyle ont une activité antibactérienne sur les bactéries gram négatives : *Pseudomonas aeruginosa* (Kelmanson, 2000).

L'extrait aqueux de *V.colorata* à une activité pour le *Toxoplasma* supérieure à 10 mg/l avec 16,3mg/l, mais les solvants organiques tels que le dichlorométhane, l'acétone et l'éthanol ont une meilleur activité avec respectivement une IC50 égale à 1,7 ; 2,6 ; 2,9mg/l (Benoit-Vical, 2000).

Les sesquiterpènes lactones : 11 β , 13-dihydrovernodalin, vernodalol, 11 β , 13-dihydrovernolide et 11 β , 13, 17, 18-tetrahydrovernolide ont une activité antiplasmodiale avec IC50 évalués à 1,1- 4,8 μ g/ml (Kralf et Coll, 2003).

Les extraits d'hexane et d'acétone de *V.colorata* ont des effets hypoglycémians (Sy G Y, 2006).

Utilisations :

Utilisations en médecine traditionnelle :

Fébrifuge et antigestralgique

Les sères soumettent les malades sujets aux syncopes ou aux crises épileptiformes aux inhalations du décocté bouillant de feuilles et d'inflorescences, ce même décocté sert également en friction corporelles pour les éruptions cutanées de toutes origines et toutes natures.

Chez les Peuls, *Vernonia colorata* est utilisé dans le traitement de la bilharziose, stérilité, et frigidité, où la préparation est à base d'écorce de tige et de tronc ou de racine, avec presque toujours des épis de maïs variété rouge et quelques fois *Securineaga virosa*, *Combretum glutinosum*, *Acacia sieberiana* (Kerharo et Adam, 1974).

Elle est utilisée dans le traitement des hépatites. (Adjanohoun et Coll, 1981).

Autres usages :

La tige après grattage sert de cure-dents

C'est aussi une plante potagère.

Toxicité :

La toxicité de *V.colorata* pour la souris, la dose 100% mortelles étant de 10g/kg. La toxicité propre du principe amer isolé semble par contre peu élevée sur le chien, par voie intraveineuse l'extrait se montre hypotenseur.

Le test des extraits de feuilles, de racines et de tiges a donné des résultats négatifs pour l'action toxicardiaque et des résultats positifs pour l'action tonocardiaque sur le cœur de crapaud.

Le vernolide présente une activité cytostatique *in vitro*.

2-2 *Vernonia kostchyana* Sch. Bip



Figure N°3: Photos de *Vernonia kotschyana*

Famille : Asteraceae

Synonymes :

Vernonia adoensis Sch.Bip

Vernonia stenostegia (Stapt) Hutch et Dalz

Vernonia tenoreana Oliv.

Noms vernaculaires

Bambara : Buayé

Systématique :

Règne : Végétal

Sous règne : Eucaryotes

Embranchement : Spermatophytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Sous famille : Asteroïdeae

Genre : *Vernonia*

Espèce : *kotschyana*

Description botanique :

Vernonia kotschyana Sch-Bip. Est une plante herbacée annuelle, à souche vivace. C'est un arbuste pouvant atteindre 1-1,5 m de hauteur.

La tige unique ; mais elle se présente souvent en grosses touffes. Elle est mince, de couleur verte. Sa peau est fine et l'écorce est mince.

Les feuilles sont alternes, entières, simples et plus rarement opposées ou en rosette. Le limbe est de forme elliptique ; il est long de 10-15 cm et large de 20-50 mm. Son sommet et sa base sont cunéiformes. Le pétiole est court ; peu distinct. Le goût est amer.

Les fleurs sont en capitules terminaux, larges de 2-3 cm environ, dont l'extérieur est formé de bractées frisées, blanchâtres sur les bords. Elles ne sont jamais jaunes.

Le fruit est un akène linéaire long de 3 mm environ.

Le tubercule est assez gros. Sa forme est allongée, son extrémité est fine. Il est souvent ramifié. Il y a présence de radicelles, l'aspect est blanchâtre.

La pollinisation est entomophile.

La plante pousse à l'état sauvage ; sa culture est effectuée dans le jardin du DMT.

Répartition géographique :

Vernonia kotschyana Sch-Bip est une plante tropicale. Il est rencontré en saison des pluies dans les savanes du Sénégal à l'Ethiopie en passant par le Mali, le nord du Nigeria. Il aime les terres argileuses.

Chimie :

Les études phytochimiques préliminaires effectuées au niveau du DMT sur les extraits de feuilles de *Vernonia kotschyana* ont permis de mettre en évidence les saponosides (indice de mousse varie de 200 à 1000), des tanins catéchiques et galliques, des dérivés triterpéniques

et stéroïdiques, des stérols, des sucres, des mucilages et l'absence d'alcaloïdes (Coulibaly, 2006).

L'étude phytochimique plus approfondie a permis d'isoler de la fraction butanolique de l'extrait méthanolique de *Vernonia kotschyana*, 5 nouveaux glucosides stéroïdiques de types stigmastane, Vernoniosides D1, D2 et D3, F1 et F2 et un nouveau androst-8-en glucoside (Sanogo et Coll, 1997) ; des pectines dont les pectiques arabinogalactane (Nergard et Coll, 2005).

Pharmacologie :

Dans le cadre d'une étude effectuée sur l'ethnomédecine « Kano » au Nigeria, Hussain et Deeni (1994), ont mis en évidence *in vitro* l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique des feuilles et de l'écorce de tronc de *Vernonia kotschyana* sur certains micro-organismes : *Cornebacterium diphteriae*, *Nesseria sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp*, *Streptobacillus sp*, *Streptococcus sp*. Successivement Deeni et Hussain (1994) ont testé quatre différents extraits (hydroalcoolique, hydrométhanolique, hexanique, de chlorure de méthylène, chloroformique) des feuilles de *Vernonia kotschyana* sur des micro-organismes (4 gram positifs, 5 gram négatifs, 2 mycètes), responsables de troubles gastro-intestinaux. Les résultats ont montré que les extraits polaires inhibent surtout les micro-organismes gram-positifs avec une activité bactéricide pour l'extrait hydroalcoolique. L'extrait chloroformique s'est montré surtout efficace contre les micro-organismes gram-négatifs.

L'activité anti-ulcère gastrique de *V.kotschyana*, a été démontrée chez les rats sur différents types d'ulcères gastroduodénaux provoqués par différents agents ulcérigènes (éthanol, indométhécine, stress, acide chlorhydrique et la ligature de pyllore).

Les racines de *Vernonia kotschyana* possèdent des activités sur la fixation du complément et des activités immuno-stimulants (Nergard et Coll, 2005).

Utilisations :

Utilisations en médecine traditionnelle:

Tous les organes de cette plante ont diverses utilisations en médecine traditionnelle.

Vernonia kotschyana Sch-Bip est une Asteraceae, utilisée dans le traitement de la gastrite, de l'ulcère gastroduodénal, dans le traitement de Malaria, de l'asthme, des maux de tête, des déficits sexuels reflux et nausée de la grossesse, schistosomiase ou bilharziose, dysménorrhée et hypertension. Meilleur remède pour la digestion.

Toxicité :

La détermination de la concentration létale (CL50) de l'extrait aqueux de racine de *V.kotschyana*, a été effectuée *in vitro* sur les crevettes d'eau salée, les nauplii d'*Artemia salina*

Leach. A démontré une concentration létale 50 (CL50) supérieur à 1000 µg/ml. Le résultat de l'étude du profil, toxico-pharmacologique de l'extrait aqueux de *V.kotschyana in vivo* n'a donné aucun effet toxique remarquable aux doses de 1 et 2g de drogue sèche par kg de poids corporel. A la dose de 4 g/kg ont été noté une exophtalmie modérée (augmentation de l'ouverture des paupières) dès la première heure d'observation. La DL50 de l'extrait aqueux par voie orale chez les rats est supérieur à 4 g de poudre de racines par kg de poids corporel (Coulibaly, 2006).

Clinique :

L'étude clinique a été effectuée auprès de la section clinique du DMT en collaboration avec le service de gastro-entérologie de l'hôpital du Point G. de Bamako en deux parties : une première en 1984 a donnée 79,96 % de satisfactions et la deuxième partie en 1989 avec 50 % d'amélioration de la symptomatologie et 37,5 de disparition des lésions à la fibroscopie.

2-3 *Vernonia nigritiana* Oliv et Hiern.



Figure N°4 : Photos de la partie aérienne de *Vernonia nigritiana*

Noms vernaculaires:

Bambara: Donoutulu

Manléké: Juba jamba

Wolof : Batalor.

Systématique:

Règne : Végétal

Sous règne : Eucaryotes

Embranchement : Spermatophytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : *Asteraceae*

Sous famille : *Asteroïdeae*

Genre : *Vernonia*

Espèce : *nigritiana*

Description botanique :

C'est une herbe vivace, par sa souche tubérisée, à tiges dressées, laineuses à la base, de 50 à 60 cm de haut. Les feuilles obovales lancéolées, cunées, à la base, acuminées au sommet, de 15 cm sur 5 cm, épaisses, denticulées, scabres sur les deux faces, à pétiole peu distinct.

Les capitules terminaux de 4 à 5 cm avec de grandes bractées rougeâtres lancéolées de 3 à 4 cm de longs réfléchis vers l'extérieur. Les akènes densément tomenteux à pappus jaunâtre.

Répartition géographique :

On rencontre cette espèce au Sénégal, la Guinée Biseau, la Sierra Leone, la Côte d'Ivoire, le Ghana, le Mali.

Chimie :

La racine contient une substance amère glucosidique, la vernonine ($C_{10}H_{24}O_7$) : qui se présente sous forme de poudre blanche, légèrement hygroscopique soluble dans l'eau bouillante, l'alcool dilué, très peu soluble dans l'éther et le chloroforme. Elle se dédouble par hydrolyse en glucose et en un produit résineux ($C_6H_{41}O_3$) prenant au contact de l'acide sulfurique une coloration brune passant au violet pourpre.

Les graines renferment 7,6 % d'huile avec 18 % d'insaponifiable, on retrouve des composants en glycérides et en acide gras : 2% de C14, 18% de C15, 8% de C18, 19% d'acide oléique, 43% d'acide linoléine et 8% d'acide gras oxydes.

La recherche des flavonoïdes a été positive car trois flavonoïdes ont été isolés : quercétine, 3-glucosylquercétine et 3-O-méthylquercétine (Atindehou et Coll, 1993).

Vernonia nigritiana contient de l'huile essentielle (Senatore et Coll, 2004).

Pharmacologie :

L'extrait alcoolique de racine en solution aqueuse, à la dose de quelques centigrammes (cg) paralyse chez la grenouille le membre siège de l'injection. Avec une dose plus forte, le cœur

cesse de battre, 2 cg font naître des troubles cardiaques passagers, 4 cg diminuent les battements du cœur, puis au bout de 45mn le cœur s'arrête, la grenouille succombe 8 h après, 9 ctg provoquent les mêmes phénomènes mais la mort survient au bout de 32 h.

Les expériences faites sur le pigeon donnent les mêmes résultats. C'est la première fois qu'on retrouve dans la famille des Asteraceae un principe analogue à la digitaline à l'intensité d'action près.

Utilisations :

Utilisation médecine traditionnelle :

La racine a des propriétés : émétique, vermifuge, diurétique, antidysentérique, fébrifuge, antirhumatisme et une action aphrodisiaque marquée.

Les guérisseurs de Lassa au Mali, utilisent le décocté de *Vernonia nigritiana* pour faire avorter les femmes enceintes.

Toxicité :

La vernonine se révèle 80 fois moins accusée que celle de la digitaline.

L'extrait de feuilles, de racines et de tiges de *V.nigritiana* dans les mêmes conditions que *V.colorata* sur le cœur de crapaud est cardiotonique, elle n'est pas cardiotoxique.

2-4 Cymbopogon giganteus (Chiov).



Figure N°5 : Photos des tiges et feuilles de *Cymbopogon giganteus*

Famille : Poaceae, Graminaceae, Graminaceae

Synonymes :

Andropogon giganteus (Chiov.) Eytles

Andropogon iwarancusa, Boiss

Andropogon nardus, Linn

Andropogon schoenanthus, Linn

Cymbopogon iwarancusa, Schult.

Cymbopogon martinianus, Schult

Cymbopogon nardus, Rendle

Cymbopogon schoenanthus, Spreng.

Noms vernaculaires :

Bambara : Tièkala, Kiékala

Manléké : Tiékala, Kéékala

Wolof : Benfala.

Systématique (P .Crété, 1965)

Règne : végétal

Sous règne : Eucaryotes

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Monocotylédone

Ordre : Glamiflorales

Famille : *Poaceae*

Genre : *Cymbopogon*

Espèce : *giganteus*.

Description botanique :

C'est une herbe robuste, vivace, dressée, à plusieurs chaumes partant de la souche rhizomateuse ; elle atteint 2-2,50 m et même plus. Les feuilles longuement acuminées, jusqu'à 4 cm de largeur à la base, 30 à 40 cm de longueurs, de couleur verte glauque, souvent recouvertes lorsqu'elles sont jeunes d'une pubérescence farineuse.

Les panicules d'épis dressés, compactes, pouvant atteindre 60 cm de long, des nombreux épillets serrés et chevauchant, entourés par des spathes acuminées avant de se développer, des articulations et pédicelles densément ciliés, donnant une teinte soyeuse argentée à l'inflorescence.

Répartition géographique :

C'est une espèce qu'on rencontre dans les pays comme l'Angola, le Sénégal, la Gambie, la Guinée, la Côte d'Ivoire, le Ghana, le Nigeria, le Niger, le Mali.

Chimie :

Les inflorescences de *C.giganteus* de l'espèce d'Angola renferme; les sucres : glucose, rhamnose ; des composées glycériques : l'acide oléique, l'acide behénique, l'acide lignocérique, l'acide arachidique ; les flavonoïdes : rutoside, quercétine et kaempferol (Cardoso, 1967).

Cymbopogon giganteus est riche en huile essentielle : cis et trans p-mentha-1(7), 8-diene-2-ol ; p-mentha-2-, 8 diene-1-ol ; le isopiperitenol-carveol et des traces de carvone (Sidibé, 2001).

Pharmacologie :

L'effet de *C.giganteus* sur le malaria testé sur *Plasmodium yoelii nigeriensis* est dose dépendante (Kunbi et Coll, 1996).

Cymbopogon giganteus a une activité antiinflammatoire et analgésique avec sans effet sur la cyclooxygenase (Sahouo, 2003).

Utilisation :

Utilisation en médecine traditionnelle :

L'espèce de *C.giganteus* à beaucoup d'usages traditionnels contre la fièvre jaune (en boissons et en frictions corporelles) ; les maladies pulmonaires ; l'hydropisie (décocté des racines et des feuilles avec des écorces de *Sclerocarya bierrea*) ; les gingivites, les aphtes et stomatites des enfants (feuilles sèches en masticatoire), hépatites, dermatose et maladies mentales (Adjanohoun et Coll, 1981).

Elle est également utilisée comme antiictérique, antipaludique, antiblennorragique, défatigant (bain corporel) fébrifuge, diurétique.

Autres usages :

Ingédient stomachique ajouté au moment de la cuisson aux viandes indigestes de carnassiers *Cymbopogon giganteus* entre dans la nutrition des animaux (French, 1932).

2-5 *Clerodendrum capitatum* Willd. Schum. Et Thom. Var. *capitatum*



Figure N°6: Photos de la partie aérienne de *Clerodendrum capitatum*

Famille: Verbanaceae

Synonymes:

Volkameria capitata (Willd.)

Clerodendrum abaneuse (Wernham)

Clerodendrum talbotii (Wernham)

Noms vernaculaires:

Bambara: Foroto-sina

Wolof: Purtul

Systématique (P.créte, 1965)

Règne : végétal

Sous règne : Eucaryotes

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : dicotylédones

Sous classe : Gamopétales

Ordre : Lamiales

Famille : *Verbenaceae*

Genre : *Clerodendrum*

Espèce : *capitatum*.

Description botanique :

C'est un arbuste grimpant à tiges pubescentes, souvent creuses et remplies de moelles entre les nœuds. Les feuilles poilues dessous, ovales, acuminées au sommet, arrondies à la base, de 12cm sur 7 cm, de long pétiole de 2 à 4 cm, coude vers la base.

Les capitules avec de nombreuses fleurs blanches sessiles entourées de plusieurs bractées lancéolées, le calice poilu de 25 mm de longueur sur 8 mm de largeur, les tubes de la corolle grêle de 6 à 7 cm de longueur sur 2 à 3 mm de diamètre, garni de poils glanduleux à l'extérieur avec 5 lobes ovales de 15 mm de longueur.

Les baies de 1cm de diamètre, verdâtres, puis noirâtres à maturité, légèrement quadrilobées, glabres, brillantes, entourées et dépassées par les lobes persistants du calice.

Répartition géographique :

Cet arbuste se rencontre dans les endroits humides ombragés, dans les vallées et les dépressions boisées. En Afrique il se trouve : au Sénégal, la Côte d'Ivoire, le Ghana, la Sierra Leone, le Niger, le Nigeria, le Mali.

Chimie :

L'extrait de Tanganyika contient des alcaloïdes et des saponosides

Clerodendrum capitatum contient des huiles essentielles telles que : 1-octène-3-ol, limonène, sabinène, β -caryophyllène, α -humulène, caryophyllène oxydé et z-nerodidol est le composant majoritaire (Oyedepi et Coll, 2002).

Utilisations :

Utilisations en médecine traditionnelle :

Il est utilisé dans le traitement de la stérilité en association *Zizyphus mucronata* et Waloxur.

Le décocté des feuilles est utilisé comme purgatif, en bain comme fébrifuge, les vapeurs du bain contre les maux de têtes (Burkiel, 1985)

Le décocté est utilisé en Côte d'Ivoire comme emménagogue et contre les troubles urogénitaux

Le décocté des feuilles et des inflorescences est aussi utilisé pour nettoyer les chancres et comme gargarisme contre les maux de dents.

Le décocté de la racine est utilisé pour le traitement de l'orchite et l'éléphantiasis

Le décocté des feuilles est utilisé en lavage en Ubangi pour la raideur

Au Nigeria, les feuilles sont utilisées pour le traitement symptomatique de l'enflure des différentes parties du corps, les maux des têtes et les troubles des yeux

L'infusé des feuilles est indiqué contre l'épilepsie

Autres usages :

Les fleurs réduites en poudre sont utilisées en cosmétique

La plante entière est utilisée par les Yoruba pour le développement de l'intelligence

Les feuilles sous le nom Kumabaladâbo entrent dans la composition d'un poison de fêche des Manléké et Soce du Niombato

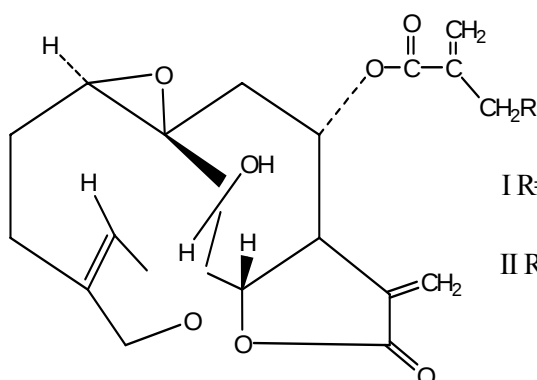
Les baies pleines foncées sont utilisées avec quelques liquides au Togo comme l'encre

Clerodendrum capitatum est utilisée dans l'intensification d'agriculture.

www.Troz.uni-hohenshein.de/research/Thesis/PhDtheser/DifPhDloads/BohlingerFR.pdf

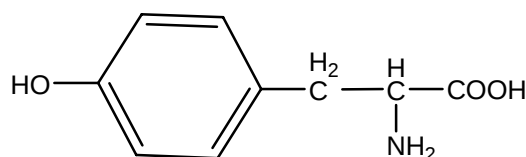
(08/03/2007).

2-6 Structure de quelques molécules isolées de nos plantes

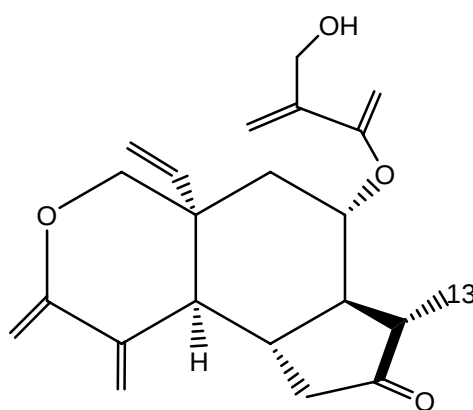


I R=H Vernolide

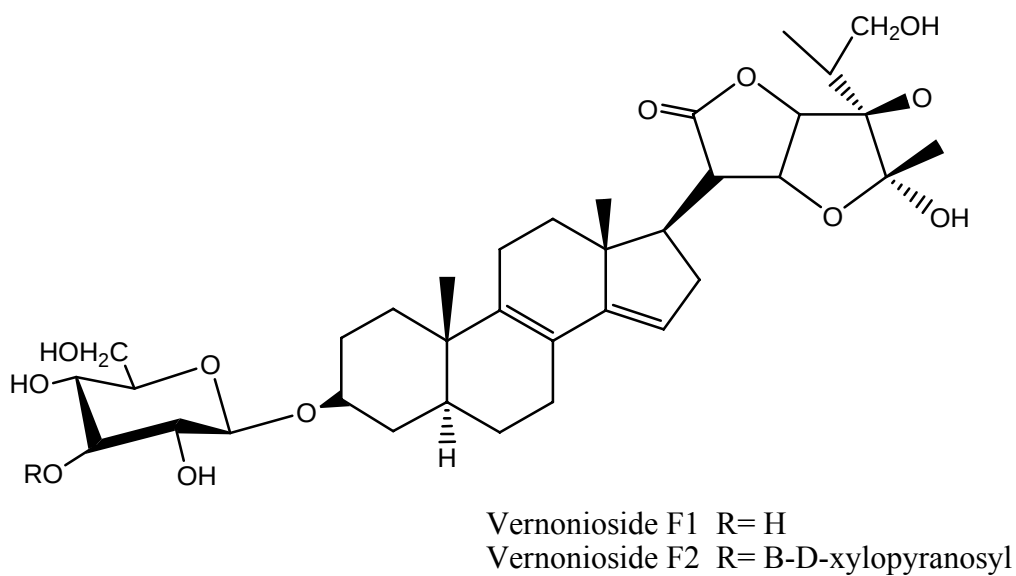
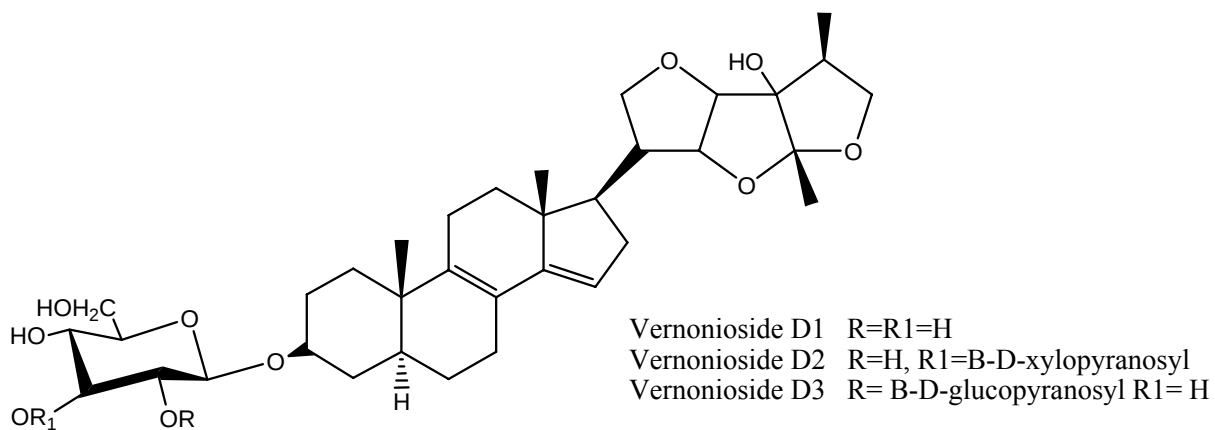
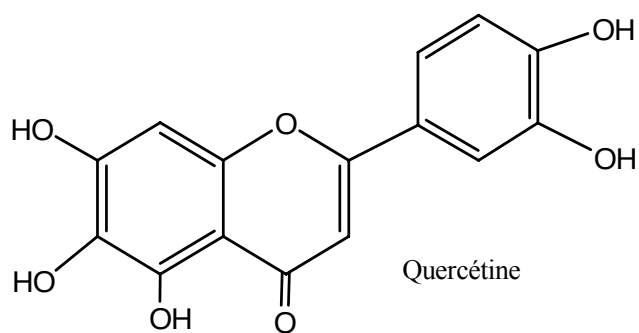
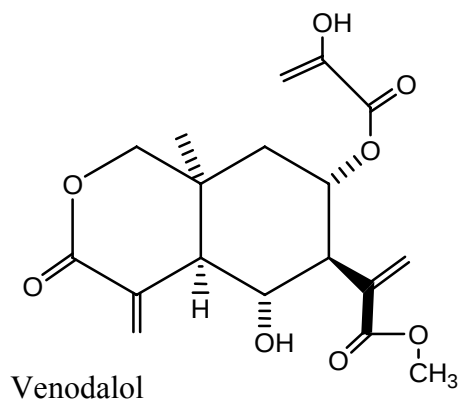
II R=OH hydrovernolide



Tyrosine



11B,13-dihydrovernodaline



TRAVAUX PERSONNELS

3 METHODOLOGIE

3-1 Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué par les feuilles de *Vernonia Colorata*, les feuilles de *Vernonia kotschyana*, la partie aérienne de *Vernonia nigritiana* ; les feuilles, les tiges *Cymbopogon giganteus* et la partie aérienne *Clerodendrum capitatum*. Tous ces échantillons ont été récoltés respectivement le 11, 05, 01, 07 novembre 2006. Les récoltés ont été réalisées pour : *Vernonia colorata* et *Vernonia nigritiana* à KITA à 180 km de Bamako, pour *Clerodendrum capitatum* sur la route de Koulouba et *Cymbopogon giganteus* dans le jardin du DMT. Un spécimen de chaque échantillon est disponible au DMT sous les numéros : N° 2261, 2322, 1396, 2322 et 1999 respectivement pour *V.colorata*, *V. kotschyana*, *V.nigritiana*, *C.giganteus* et *C.capitatum*. Un broyeur Forplex type F1, N° 3139 a été utilisé pour le broyage des drogues après leur séchage (2 semaines) à l'ombre, à la température ambiante du laboratoire du DMT.

Pour notre étude, les extraits des feuilles de *Vernonia kotschyana* ont été seulement utilisés pour le test antiplasmodial.

3-2 REACTIONS DE CARACTERISATION

Les groupes chimiques contenus dans nos échantillons ont été caractérisés par des réactions en tubes.

Les résultats sont classés comme suit :

o réaction franchement positive: + + + +

o réaction positive: + + +

o réaction moyennement positive: + +

o réaction louche: +

o réaction négative: (-) ou 0

Matériels :

- Balance analytique de précision (type SARTORIUS)
- Tubes à essai, éprouvette
- Entonnoir, coton, papier filtre
- Pipettes, erlenmeyer, poire
- Ampoule à décanter
- Bain-marie Buchi 461 water bath

Alcaloïdes

Ils forment un groupe important de substances naturelles d'intérêt thérapeutique par leur diversité structurale et l'éventail de leurs activités pharmacologiques. Ce sont des substances azotées qui agissent comme des bases.

Solution à analyser

Nous avons ajouté à de la poudre végétale (10 g) de l'acide sulfurique dilué au 1/10 (50 ml) dans un erlenmeyer de 250 ml. L'ensemble a été laissé en macération à la température du laboratoire pendant 24 heures puis filtré. Le filtrat a été complété à 50 ml avec de l'eau distillée.

Caractérisation

Nous avons pris 2 tubes à essai dans lesquels nous avons introduit le filtrat (1 ml). Nous avons ajouté 5 gouttes de réactif de Mayer (solution aqueuse de mercuri-iodure de potassium) dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Dragendorff (solution aqueuse d'iodo-bismuthate de potassium) dans le second. La présence d'alcaloïdes est caractérisée par la formation d'un précipité dans chaque tube.

Substances Polyphénoliques

Solution à analyser

La solution à analyser est un infusé à 5 %. Nous avons ajouté à de la poudre végétale (5 g) de l'eau bouillante (100 ml) contenue dans un erlenmeyer de 250 ml. Nous avons arrêté l'ébullition, surmonté d'un entonnoir et laissé infuser 15 mn. Le filtrat a été complété à 100 ml avec de l'eau distillée.

Caractérisation

Tanins

Ce sont des esters de l'acide gallique ou de glucose. Leurs propriétés biologiques sont liées à leur pouvoir de former des complexes avec les macromolécules en particulier les protéines

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

Tanins catéchiques

A infusé à 5 % (5ml), nous avons ajouté 1 ml d'alcool chlorhydrique (5 ml d'alcool 95°, 5ml d'eau distillée, 5ml d'HCl concentré). Nous avons porté à ébullition pendant 15 minutes.

En présence de tanins catéchiques, il y a formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique.

A 30 ml d'infusé à 5 % nous avons ajouté 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40 %, 15 ml d'acide chlorhydrique concentré). Nous avons chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 minutes. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques.

Tanins galliques

Filtrer et saturer le filtrat d'acétate de sodium pulvérisé. Ajouter 1 ml goutte à goutte d'une solution de FeCl_3 à 1 %. Le développement d'une teinte bleu noir montre la présence de tanins galliques.

Flavonoïdes

Ce sont les pigments universels des végétaux responsables de la coloration des fruits, des fleurs et souvent des feuilles.

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

Réaction à la cyanidine

Nous avons introduit dans un tube à essai 5 ml de l'infusé à 5 % (5ml), ajouté 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95 %, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes) (5ml); puis quelques copeaux de magnésium et 1 ml de l'alcool isoamylique (1ml). L'apparition d'une coloration rose orangé (flavones) ou rose violacée (flavanones) ou rouge (flavonols, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques.

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

Leucoanthocyanes

Nous avons effectué la réaction à la cyanidine sans ajouter les copeaux de magnésium et chauffé pendant 15 mn au bain-marie.

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

Dérivés anthracéniques

Ils appartiennent au groupe des quinones. Ils se caractérisent par leur pouvoir oxydant élevé.

Anthracéniques libres

Solution à analyser

A de la poudre végétale (1 g), nous avons ajouté du chloroforme (10 ml) et chauffé pendant 3 minutes. Nous avons filtré à chaud et complété à 10 ml si nécessaire.

Caractérisation

A 1 ml de l'extrait chloroformique obtenu nous avons ajouté 1 ml d'ammoniaque dilué au 1/2 et agité.

La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

Anthracéniques combinés

O-hétérosides

Nous avons préparé un hydrolysât à partir du résidu de la drogue épuisée par le chloroforme auquel nous avons ajouté 10 ml d'eau et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré. Nous avons maintenu le tube à essai au bain-marie bouillant pendant 15 minutes. Nous avons filtré et complété le filtrat à 10 ml.

Nous avons agité de l'hydrolysate (5ml) avec 5 ml du chloroforme (5ml). Nous avons soutiré la phase organique et l'avons introduite dans un tube à essai. Nous avons gardé la phase aqueuse

A la phase organique, nous avons ajouté 1 ml d'ammoniaque dilué au 1/2. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence d'anthraquinones.

En cas de réaction négative ou faiblement positive, nous avons recherché les O-hétérosides à génine réduite.

Nous avons prélevé 5 ml l'hydrolysate (5 ml) et ajouté 3 à 4 gouttes de FeCl_3 à 10 %. Nous avons chauffé pendant 5 mn au bain-marie puis refroidi sous courant d'eau. Nous avons agité avec du chloroforme (5 ml) puis soutiré la phase chloroformique. Nous l'avons introduite dans un tube à essai. Nous avons ajouté 1 ml d'ammoniaque dilué et agité.

En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment.

C-hétérosides

La solution à analyser est la phase aqueuse obtenue avec la solution à analyser des

O-hétérosides. A cette solution nous avons ajouté de l'eau (10 ml) et du FeCl_3 (1 ml). Le tube à essai a été maintenu au bain-marie pendant 30 mn puis refroidi sous un courant d'eau. Nous avons agité avec du CHCl_3 (5 ml) puis soutiré la phase chloroformique. Nous y avons ajouté de l'ammoniaque diluée au $\frac{1}{2}$ (1 ml).

L'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de C-hétérosides.

Quinones

A de la poudre de drogue végétale (1 g) humectée avec de l'acide sulfurique à 10 % nous avons ajouté un mélange à volume égal d'éther et de chloroforme (20 ml). Après une macération de 24 heures, 5 ml du filtrat obtenu ont été évaporés à l'air, puis le résidu a été repris par quelques gouttes d'éthanol à 95 %. Nous avons ajouté goutte à goutte une solution aqueuse d'acétate de nickel à 5 %.

La réaction positive se caractérise par une coloration rouge.

Stérols, triterpènes et caroténoïdes

Solution à analyser

L'extrait à tester a été obtenu à partir de la poudre de drogue végétale (1 g) et de l'éther (20 ml) laissés en macération pendant 24 heures. Nous avons filtré et complété à 20 ml avec de l'éther.

Caractérisations

Stérols et triterpènes

Nous avons évaporé à sec dans un tube à essai 10 ml d'extrait, puis fait dissoudre le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique et dans 1 ml de chloroforme. Nous avons partagé dans deux tubes à essai, l'un servant de témoin puis avons mis dans le fond du second tube à l'aide d'une pipette 1 à 2 ml d'acide sulfurique concentré.

A la zone de contact des deux liquides il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageant devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et triterpènes.

Caroténoïdes

Après évaporation jusqu'à sec de 5 ml d'extrait, nous avons ajouté 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine dans le chloroforme. Il se développe en présence de caroténoïdes une coloration bleue devenant rouge par la suite.

Hétérosides cardiotoniques

Ils forment un groupe homogène possédant un intérêt thérapeutique réel. Ils demeurent des médicaments majeurs de l'insuffisance cardiaque.

Solution à analyser :

Nous avons introduit de poudre végétale (1g) dans de l'alcool à 60 % (10ml) et une solution d'acétate neutre de plomb à 10 % dans un tube à essai puis porté à ébullition au bain-marie bouillant pendant 10 minutes (5ml). Nous avons filtré sur coton.

Caractérisation

La phase chloroformique obtenue après agitation du filtrat avec 10 ml de chloroforme a été partagée entre 3 tubes à essai et évaporée au bain-marie bouillant jusqu'à sec. Les résidus ont été repris avec 0,4 ml d'isopropanol et dans les 3 tubes nous avons ajouté respectivement 1 ml de réactif de Baljet, 1 ml de réactif de Kedde, 1 ml de réactif de Raymond-Marthoud. Nous

avons introduit dans chaque tube 5 gouttes de KOH à 5 % dans l'éthanol et observé après 10 minutes environ.

En présence d'hétérosides cardiotoniques, les colorations suivantes se sont développées :

Tube 1 : orangé

Tube 2 : rouge violacé

Tube 3 : violet fugace

Saponosides

Ce sont des hétérosides caractérisés par leurs propriétés tensioactives.

Solution à analyser

La solution à analyser est un décocté à 1 %. Nous avons porté à ébullition dans un erlenmeyer de l'eau distillée (100 ml) et y avons projeté de la poudre de drogue végétale (1g). Une ébullition modérée a été maintenue pendant 15 mn. Nous avons filtré et après refroidissement ajusté à 100 ml.

Caractérisation

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, nous avons réparti successivement 1, 2,10 ml du décocté à 1%. Le volume de chaque tube a été ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube a été agité pendant 15 secondes dans le sens de la longueur puis laissé au repos pendant 15 minutes puis la hauteur de la mousse a été mesurée.

L'indice de mousse (I.M.) a été calculé à partir du tube dans lequel la hauteur de la mousse a été de 1 cm (N).

$$\text{Indice de mousse} = \frac{1000}{N}$$

Autres caractérisations

Composés réducteurs

Le décocté aqueux à 10 % (5 ml) a été évaporé au bain-marie jusqu'à sec. Nous avons ajouté au résidu 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml réactif A + 0,5 ml réactif B, mélange extemporané).

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

Oses et holosides

Le décocté aqueux à 10 % (5 ml) a été évaporé à sec. Nous avons ajouté au résidu 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré, puis après 5 minutes 3 à 5 gouttes d'alcool saturé avec du thymol.

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

Mucilages

Nous avons ajouté à 1 ml de décocté à 10 % de l'éthanol absolu (5 ml).

L'obtention d'un précipité floconneux, par mélange, indique la présence de mucilages.

Coumarines

Nous avons évaporé à sec l'extrait éthéré (5 ml) obtenu après une macération de 24 heures, puis avons repris le résidu avec de l'eau chaude (2 ml). Nous avons partagé la solution entre deux tubes à essai. Nous avons ajouté dans l'un des tubes de l'ammoniaque à 25 % (0,5 ml) et observé la fluorescence sous UV 366 nm.

Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

Hétérosides cyanogénétiques

Nous avons ajouté à de la poudre végétale (1g), un mélange à volume égal d'eau et de toluène (5 ml). Nous avons bien agité, nettoyé la partie supérieure du tube à essai et y avons fixé à l'aide d'un bouchon le papier picrosodé fraîchement préparé.

La présence d'hétérosides cyanogénétiques est indiquée par la coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé.

3-3 DOSAGES :

Teneur en eau

Deux méthodes ont été utilisées pour le dosage de l'eau :

Méthode gravimétrique

Principe

C'est une méthode pondérale qui consiste en la détermination de la perte en masse d'une quantité connue de poudre par dessiccation à l'étuve ou au four réglé à la température de $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24 h.

Matériel :

- Balance analytique de précision (type SARTORIUS)
- Four (type Nabertherm-MORE THAN HEAT 30-3000°C)
- Pince
- Spatule métallique
- Verre de montre (ou creuset)
- Dessiccateur

Technique

Nous avons taré cinq verres de montre et y avons introduit des prises d'essai (PE) de 1 à 2 g (pesées au mg près). Nous avons ensuite pesé les verres de montre contenant les poudres

avant de les introduire dans le four réglé à 103 ± 2 °C pour une dessiccation pendant 24 h. Au sortir du four nous avons refroidi les poudres dans un dessiccateur contenant un desséchant (chlorure de calcium, anhydride phosphorique) et les avons ensuite pesées.

Le calcul suivant permet d'obtenir le pourcentage en eau :

Calcul: Masse prise d'essai = masse avant four - tare

Masse eau = masse avant four – masse après four

$$\% \text{ eau} = (\text{masse eau} \div \text{masse PE}) \times 100$$

Méthode azéotropique

Principe

Cette méthode encore appelée méthode volumétrique consiste à mesurer le volume d'eau entraîné par distillation à température constante d'un solvant non miscible à l'eau auquel une masse de drogue végétale est ajoutée. L'eau se condense dans la partie inférieure du tube collecteur gradué et son volume est lu.

Matériel et solvants :

- Ballon de 250 millilitres en verre.
- Réfrigérant à reflux tube droit de 20 centimètres de long
- Tube collecteur gradué surmonté d'un tube cylindrique de condensation
- Source de chaleur (chauffe-ballon)
- Eau distillée
- Solvant non miscible à l'eau (toluène)

Technique

Nous avons introduit dans un ballon sec de l'eau distillée (1 ml) et du toluène (100 ml).

Nous avons distillé pendant une heure (1 h) et avons laissé reposer pendant trente minutes (30 mn).

Le volume initial (V_i) d'eau distillée a été lu.

Nous avons ensuite introduit dans le ballon une prise d'essai (PE) de 5 g de poudre de drogue et avons fait bouillir l'ensemble pendant 1h. Nous avons laissé reposer pendant 30 mn.

Le volume final (V_f) d'eau dans l'appareil a été lu.

Nous avons recherché le pourcentage d'eau dans la drogue par le calcul suivant.

$$\text{Calcul : \% d'eau dans la drogue} = \frac{(V_f - V_i) \times 100}{\text{PE (prise d'essai)}}$$

Substances extractibles par l'eau

Nous avons fait une décoction pendant 15 mn avec de la poudre végétale (1 g) dans de l'eau distillée (20 ml). Le filtrat a été mis dans une capsule ou dans un ballon préalablement taré puis évaporé à sec. Nous avons ensuite pesé la capsule ou le ballon à froid et déduit la masse du résidu.

Cendres

Matériel

- Balance analytique de précision (type SARTORIUS)
- Four (type Nabertherm-MORE THAN HEAT 30-3000°C)
- Creusets en porcelaine ou en fer
- Spatule métallique
- Dessiccateur
- Pince

Cendres totales

Les cendres proviennent des tissus de la plante ou des éléments étrangers (sable, terre...) adhérant à la drogue végétale. Elles sont obtenues par calcination complète de la matière végétale dans l'air.

La teneur en cendres est obtenue par dosage pondéral des cendres blanches obtenues par calcination de la drogue végétale dans un four.

• Mode opératoire

Nous avons pesé 3 prises d'essai de la drogue (M) dans 3 creusets en silice préalablement tarée (T).

Après incinération au four à une température d'environ 600 °C pendant 6 h, et refroidissement dans un dessiccateur, nous avons déterminé la masse des creusets contenant les prises d'essai et les avons noté M'_1 , M'_2 et M'_3 .

La masse moyenne en cendres totales (MCt) contenues dans le creuset est donnée par la formule :

$$MCt = \frac{(M'_1 - T_1) + (M'_2 - T_2) + (M'_3 - T_3)}{3}$$

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

$$PE = \frac{(M_1 + M_2 + M_3)}{3}$$

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

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

Détermination de la teneur en cendres sulfuriques

C'est une méthode d'évaluation des substances inorganiques de la drogue végétale. Les cendres sulfuriques sont obtenues après une attaque de la drogue par l'acide sulfurique.

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

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

Nous avons ensuite humecté la poudre avec une quantité suffisante d'acide sulfurique dilué au 1/2 et trituré avec une baguette.

Le creuset a été laissé à l'étuve jusqu'à évaporation à sec puis au four à la température de 600 °C pendant 6 heures. Nous avons pesé le creuset après refroidissement (M'). La masse des cendres sulfuriques (MCs) s'obtient comme suit :

$$MCs = M' - T$$

La masse de la prise d'essai est : $PE = M - T$

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

$$\% Cs = 100 \times \frac{MCs}{PE}$$

Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %

C'est une évaluation du contenu en constituants siliceux de la matière végétale. Les cendres sont obtenues à partir de l'action de l'acide chlorhydrique dilué à 10 % sur les cendres totales.

Nous avons introduit les cendres totales dans un erlenmeyer et ajouté 20 ml d'acide chlorhydrique à 10 %. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15 mn au bain-marie. Après refroidissement, nous avons recueilli, lavé la matière non soluble sur un papier filtre sans cendre, puis transféré le filtre dans un creuset sec préalablement taré (T).

Le creuset contenant le papier filtre a ensuite été séché à l'étuve pendant 24 heures et calciné pendant 6 heures au four à la température de 600°C. Après refroidissement dans un dessiccateur, nous avons pesé le creuset contenant les cendres (M').

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

$$MCc \text{ (masse cendre chlorhydrique)} = M' - T$$

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

$$PE \text{ (prise d'essai)} = M' - T$$

La prise d'essai est la masse de matériel végétal qui a servi au dosage des cendres totales.

Le pourcentage des cendres chlorhydriques (% Cc) s'obtient de la manière suivante :

$$\% Cc = 100 \times \frac{MCc \text{ (masse cendre chlorhydrique)}}{PE \text{ (Prise d'essai)}}$$

3-4 EXTRACTIONS

3-4-1 Décoction à 10 %

Le principe est de faire une décoction pendant 15 mn afin de récupérer les substances extractibles par l'eau chaude.

- 50 g de poudre de chacune des 5 drogues ont été bouillis avec 500ml d'eau (décoction 10%).
 - Nous avons refroidi, filtré le décocté, puis nous avons procédé à la concentration sous vide du filtrat au rotavapor à la température de 50°C.
 - Le concentré obtenu a été lyophilisé et conservé dans des flacons stériles hermétiquement fermés après les différentes pesées.
 - **Formule de calcul du rendement :**

$$\text{Rendement} = \frac{\text{Masse de lyophilisat}}{\text{Masse de la poudre}} \times 100$$

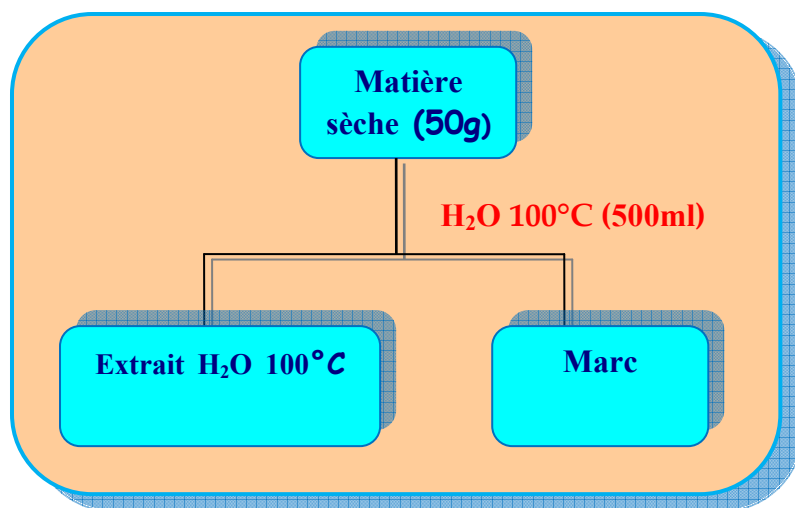


Figure N° 7: Schéma de l'extraction par décoction

3-4-2 Infusion à 10 %

Le principe est de faire une infusion pendant 15 mn afin de récupérer les substances extractibles par les vapeurs d'eau.

- 50 g de poudre de chacune des 5 drogues ont été bouillis avec 500ml d'eau (infusion à 10%).
 - Nous avons refroidi, filtré le décocté, puis nous avons procédé à la concentration sous vide du filtrat au rotavapor à la température de 50°C.
 - Le concentré obtenu a été lyophilisé et conservé dans des flacons stériles hermétiquement fermés après les différentes pesées.

• Formule de calcul du rendement :

$$\text{Rendement} = \frac{\text{Masse de lyophilisat}}{\text{Masse de la poudre}} \times 100$$

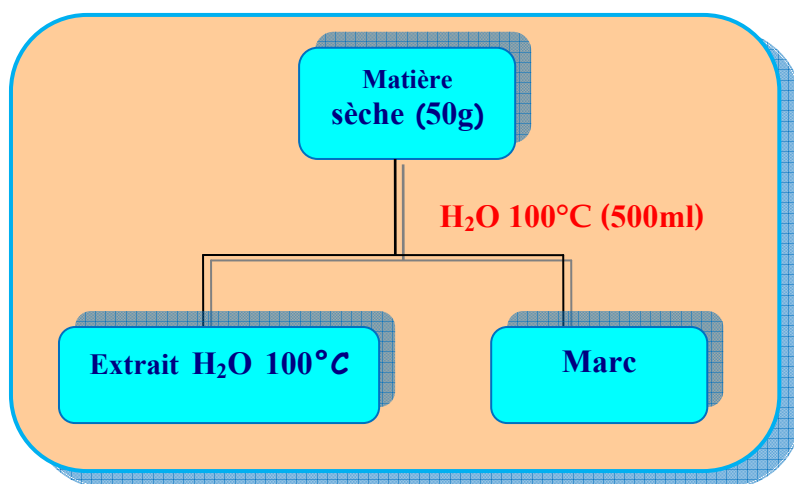


Figure N°8 : Schéma de l'extraction par infusion

3-4-3 Macération à l'eau 10 %:

La poudre végétale (50ml) a été introduite dans un ballon (1 litre), puis macérée dans l'eau (500ml) sous agitation magnétique pendant 24h. Nous avons répété cette opération successivement 3 fois à des intervalles de 24h en renouvelant à chaque fois le solvant dans les proportions indiquées. Les macérés obtenus ont été filtrés sur des compresses puis concentré au rotavapor à sec sous vide à 50°C. Le concentré obtenu a été lyophilisé et conservé dans des flacons stériles hermétiquement fermés.

A chaque fois le rendement de l'extraction a été évalué.

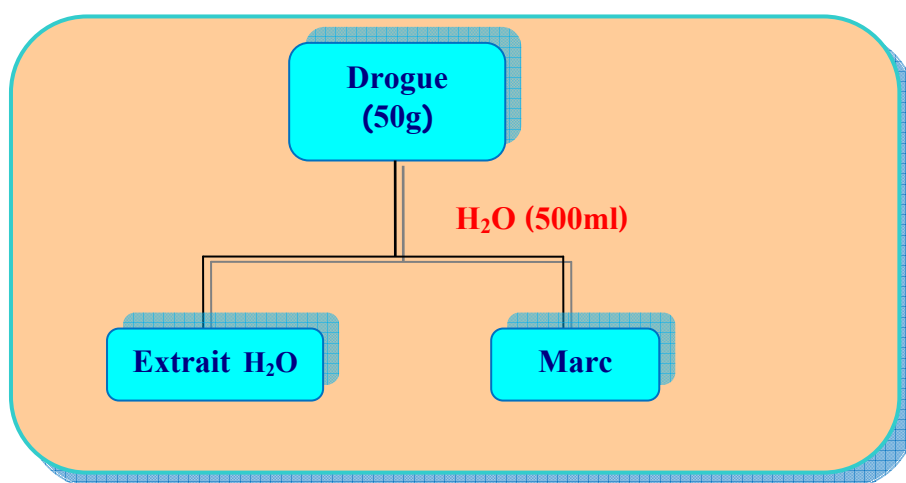


Figure N°9 : Schéma d'extraction par macération à l'eau

3-4-4 Extraction par l'éthanol (70%):

Nous avons préparé un extrait par macération 50 g de poudre de chaque drogue avec 500 ml d'ETOH à 70% pendant de 24H.

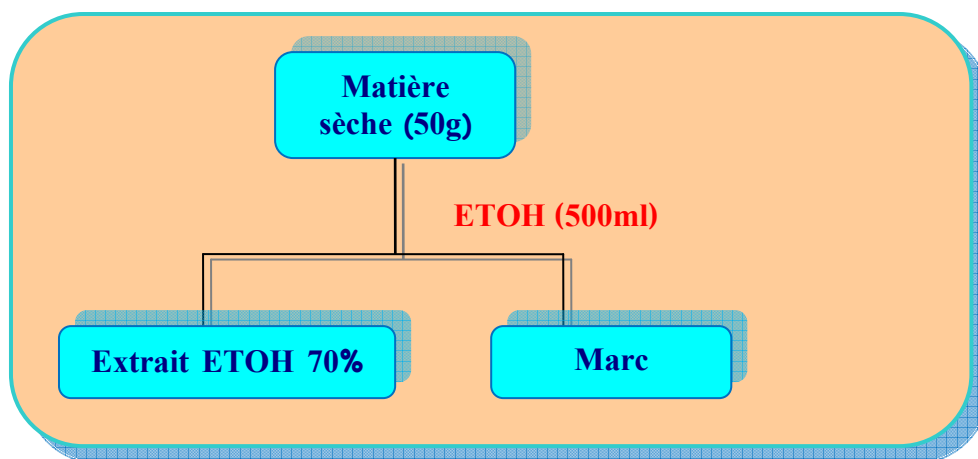


Figure N°10 : Schéma d'extraction par macération avec l'éthanol à 70 %

3-4-5 Extraction par les solvants à polarité croissante

Le Soxhlet a été utilisé pour l'extraction par les solvants à polarité croissante. Pour ce faire, les solvants suivants ont été utilisés: l'hexane, le dichlorométhane et le méthanol.

La poudre végétale (20g) a été introduite dans une cartouche placée dans le Soxhlet surmonté d'un réfrigérant et porté par un ballon contenant le solvant d'extraction (140 - 200 ml). Une série de plusieurs siphonages a permis l'extraction jusqu'à épuisement de la poudre par chacun des solvants utilisés.

Le marc (résidu) a été séché (1 heure) et utilisé pour une digestion puis une décoction. Les extraits polaires ont été évaporés au Rotavapor, récupérés dans des ballons préalablement tarés en vue d'une lyophilisation. Les extraits apolaires ont été évaporés à l'air libre dans des flacons tarés.

Les extraits secs obtenus ont été pesés par la suite afin de déduire le rendement de l'extraction ; ils ont ensuite été conservés dans des flacons en verre hermétiquement fermés.

Ces extraits secs ont été utilisés pour les investigations ultérieures.

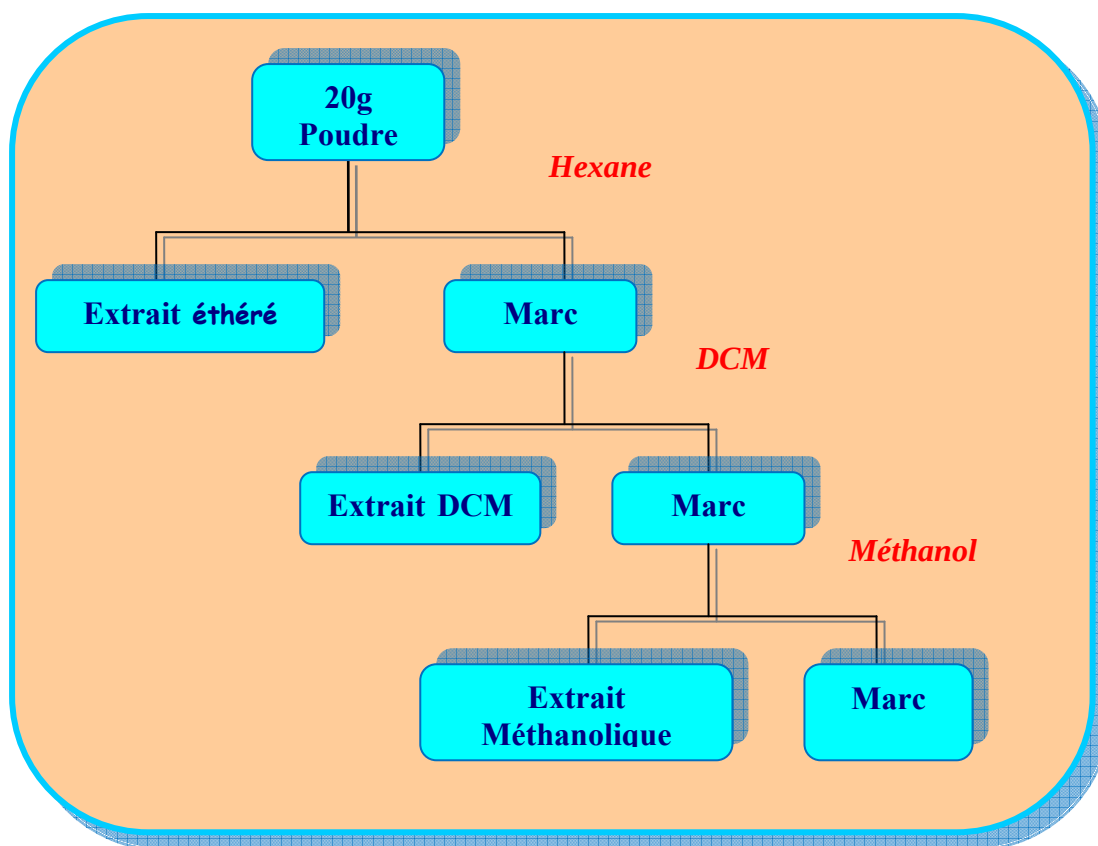


Figure N°11: Schéma d'extraction par les solvants à polarités croissantes des poudres végétales des différentes plantes

Digestion et décoction des marcs obtenus

Après l'extraction avec les solvants à polarité croissante, le marc a été séché pendant 1 h. Ce résidu séché a été utilisé pour la digestion à 50 °C et la décoction.

Digestion :

Au marc obtenu de l'épuisement par les solvants organiques à polarité croissante, nous avons ajouté de l'eau distillée (100ml) dans un ballon de 500 ml qui a été maintenu au bain-marie réglé à 50° C pendant 1 h. La solution obtenue est filtrée sur une compresse.

Décoction :

Le marc du digesté a été repris avec de l'eau distillée (100ml) puis portée à 100°C pendant 15 mn. De même la solution obtenue sera filtrée sur une compresse.

Les filtrats obtenus ont été concentrés au rotavapor sous pression réduite à une température comprise de 50°C, puis lyophilisés.

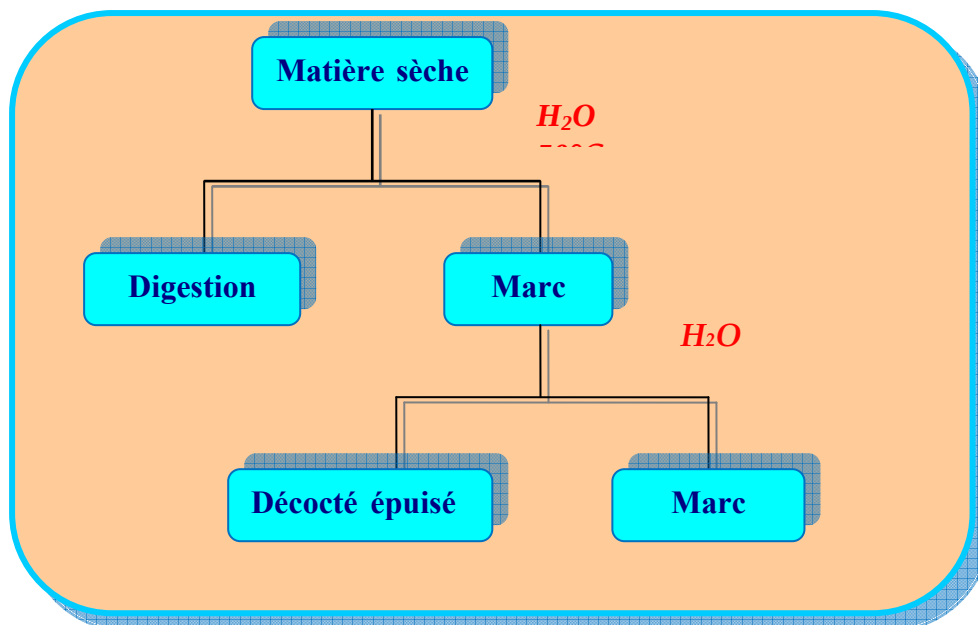


Figure N°12 : *Schéma d'extraction par digestion et décoction*

– **Matériels de travail :**

- Bain-marie
- Balance analytique de type SARTORUS
- Ballon en verre de 1000 ml avec un col de 29/32
- Cartouche en tissu (6 cm x 30 cm),
- Eprouvette graduée de 250 ml,
- Réfrigérant avec un col 29/32
- Solvants : éther de pétrole, dichlorométhane, méthanol,
- SOXHLET NS 29/32

- **Mode opératoire :**

Nous avons pris 20 g de poudre de chaque drogue et 100 - 200 ml de chaque solvant par polarité croissante.

- **Montage du dispositif :**

Dans un bain-marie, il a été introduit un ballon contenant la cartouche remplie de drogue, l'ensemble est surmonté par le réfrigérant. Le robinet a été ouvert, et réglé ; la température du bain-marie sera celle d'ébullition du solvant d'extraction correspondant. La drogue a été extraite par les vapeurs du solvant ainsi formées tombant dans la cartouche.

Quand le SOXHLET se remplit jusqu'à la partie supérieure du siphon, le solvant riche en produit se déverse dans le ballon : c'est le siphonage, et le mécanisme reprend.

Après épuisement de la drogue, l'extrait obtenu est concentré et conservé dans un flacon bien fermé. Le marc est séché et repris par le solvant suivant. Nous avons opéré de cette manière pour les 3 solvants, le résidu sera repris par l'eau.

Dans le tableau ci dessous nous reportons les conditions de l'extraction au Soxhlet

TABLEAU III: Conditions de l'extraction des drogues avec les solvants à polarité croissante : les nombres de siphonages et les durées respectives d'épuisement en heure (h, mn) le décimal désignant les minutes.

Solvants (130 à 200 ml)	Nombres de siphonages	Durée d'extraction (h, mn)
Hexane (70°C) :		
Feuilles de <i>V.colorata</i>	62	3,05
Partie aérienne de <i>V.nigritiana</i>	192	4,00
Feuilles de <i>C.giganteus</i>	53	1,45
Tiges de <i>C.gigantues</i>	15	0,30
Partie aérienne de <i>C.capitatum</i>	173	5,45
DCM (50°C) :		
Feuilles de <i>V.colorata</i>	95	4,45
Partie aérienne de <i>V.nigritiana</i>	129	2,48
Feuilles de <i>C.giganteus</i>	90	4,30
Tiges de <i>C.giganteus</i>	10	0,30
Partie aérienne de <i>C.capitatum</i>	180	4,30
MeTOH (70°C) :		
Feuilles de <i>V.colorata</i>	120	6,00
Partie aérienne de <i>V.nigritiana</i>	31	1,37
Feuilles de <i>C.giganteus</i>	143	9,30
Tiges de <i>C.gigantues</i>	8	0,30
Partie aérienne de <i>C.capitatum</i>	75	3,45

3-5 CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE :

Principe

La chromatographie sur couche mince est une méthode physico-chimique rapide de contrôle dont l'absorbant ou phase stationnaire est constituée d'une couche mince et uniforme de 0,25 mm d'épaisseur, d'une substance séchée et finement pulvérisée, appliquée sur support approprié (dans notre cas, nous avons utilisé une feuille d'aluminium). La phase mobile ou éluant migre à la surface de la plaque par capillarité. C'est une méthode analytique de contrôle qui, à chaque stade de séparation permet de :

- Suivre l'efficacité des extractions avec différents solvants,
- Suivre la composition des différentes fractions obtenues au cours des séparations,
- Faire le meilleur choix des solvants d'élution des colonnes,
- Vérifier la pureté des produits isolés.

La CCM peut être définie comme une méthode de séparation de constituants présents dans un extrait à partir de leur force de migration dans un système de solvant approprié et leur affinité pour le silicagel.

Elle utilise :

- Une phase stationnaire, comme la silice 60 F254 (gel de silice avec indicateur de fluorescence) d'épaisseur 0,25 mm en couche fine fixé sur une plaque d'aluminium (Merck)
- Une phase mobile composée par des systèmes de solvants appropriés, mis dans une cuve de migration.

Matériels : spatule, flacons, pince, crayon, règle, cutter, balance de type Sartorius, micropipettes, cuves avec couvercle, pulvérisateurs, plaque de Silice G 60 F₂₅₄, lampe UV.

Solvants :

▪ De dissolution :

Mélange méthanol : eau (1 : 1) pour les extraits aqueux.

L'hexane ou dichlorométhane pour les extraits apolaires (extrait d'hexane et dichlorométhane).

Méthanol pour les extraits méthanolique et éthanolique.

▪ De migration :

Le système de solvants éther de pétrole : Acétate d'éthyle (2 :1) a été employé pour les extraits apolaires et le système Butanol : Acide acétique : Eau (60:15:25) pour les extraits polaires.

Dépôts :

Nous avons déposé 10 µl des solutions à analyser à l'aide des micropipettes.

Observation :

Après migration, les plaques ont été séchées à l'air, puis observées sous la lampe UV à 254 nm et à 366nm.

A 254 nm les tâches ont été encerclées en trait plein.

A 366 nm elles ont été encerclées en pointillés.

Révélation :

Nous avons ensuite pulvérisé les plaques avec les révélateurs suivants :

Le réactif de Godin, réactif polyvalent,

Le chlorure d'aluminium (AlCl₃) spécifique des flavonoïdes,

Le chlorure ferrique (FeCl₃) spécifique des tanins,

DPPH : antioxydant

Les substances qui ont réagi après la révélation ont été marquées en crochets.

Calcul de R_f (facteur de rétention) :

Pour chaque tâche, nous avons calculé le facteur de rétention (R_f) qui est égale à la distance parcourue par chaque constituant par rapport à la distance parcourue par le solvant selon la formule ci-dessous :

$$R_f = \frac{dx \text{ (distance parcourue par la substance x)}}{ds \text{ (distance parcourue par le front du solvant)}}$$

3-6 TESTS BIOLOGIQUES:

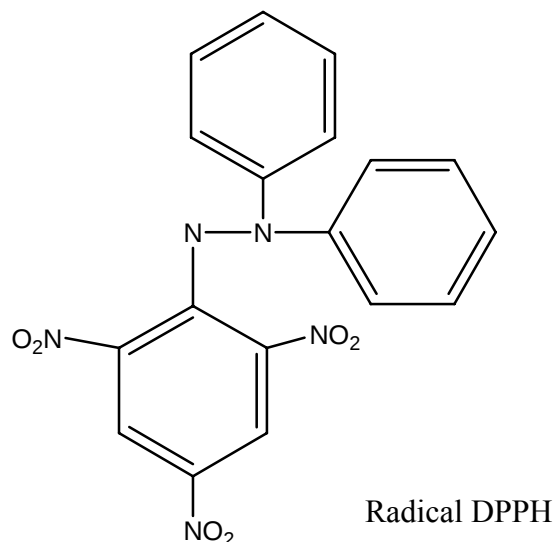
3-6-1 Détermination de l'activité antioxydante :

Nous avons utilisé la CCM pour déceler les composés à activités antioxydantes dans les extraits.

Ce test est basé sur le principe de la réduction d'un radical stable ; le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) qui présente une absorption spécifique à 517 nm ce qui lui confère une couleur violette. Lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux, sa couleur disparaît, les composés actifs apparaissant sous forme de tâches jaunes sur fond violet.

Nous avons utilisé des plaques de silicagel et déposés 10 µl d'une solution de 10 mg d'extrait dans 1 ml de solvants de mélanges : le méthanol et le mélange méthanol-eau (1 :1).

Le développement des plaques a été réalisé dans le système de solvant Butanol-acide acétique-eau (BAW : 60 :15 :25). Après migration, les plaques ont été révélées avec la solution de DPPH à 2 mg/ml dans le méthanol. Un résultat positif se traduit par des spots de couleur jaune blanc sur fond violet.



3-6-1 Détermination de l'activité antiplasmodiale *in vitro* :

La détermination de l'activité antiplasmodiale *in vitro* a été réalisée à l'institut des maladies tropicales de Bâle en Suisse.

Matériels :

- Espèce standard : la souche K1 de *Plasmodium falciparum*.
- Médicament témoin : Artémisinine
- Conditions standard
- ° Milieu de culture : RPMI1640 avec 5 % d'albumax
- ° Plaque : CosterTM 96
- ° Incubation : Chambre humide contenant du CO₂ ; O₂ ; N₂ à la proportion (4 ; 3 ; 93) à 37°C
- ° Hypoxanthine (3H) avec une radioactivité de 0,5 µCi
- ° Betaplate TM liquid scintillation counter (Wallac, Zurich, Switzerland)
- ° Fibre de verre
- Les extraits ont été dissous dans de l'eau distillée en raison de 2 mg/ml
- Le bain-marie ultrason

Le test de modification de l'incorporation de (3H)-Hypoxanthine a été utilisé.

Mode opératoire

La plaque de microdilution utilisée est constituée de 96 puits arrangés dans une matrice de 8 rangées (A à H) et 12 colonnes (1 à 12). Le milieu de culture a été introduit dans chaque puits de la plaque. 100µl de la solution d'extrait préparée est versée dans l'un des puits adjacents dans la rangée B de la plaque, un système de dilution automatique est utilisé pour former des doubles séries de dilution dans chaque colonne. Six autres composés sont accommodés ainsi avec chaque plaque. A la fin, la rangée A reste libre de toute drogue et chaque extrait est présente en double dans les colonnes avec 7 concentrations de la rangée B à H. Les concentrations les plus élevées se trouvent dans la rangée B et les plus faibles se trouvent dans la rangée H. Un volume constant de suspension de globules rouges humains infectés par des souches K1 de *Plasmodium falciparum* est ajouté à chaque puits du microtitreur excepté les 4 derniers puits de la rangée A qui ne contenant ni drogue ni parasites servent de contrôle d'érythrocytes non infestés.

Les plaques sont ensuite incubées pendant 48h à 37°C. Après cette période d'incubation 100µl de l'isotope (Hypoxanthine (3H)) est ajouté à chaque puits et les plaques sont remises en incubation pendant 24h à 37 °C. Les acides nucléiques sont ensuite collectionnés et la radioactivité est calculée en utilisant la Betaplate TM. L'incorporation de l'hypoxanthine est utilisée comme un index de multiplication des parasites. Pour des raisons de disponibilité des extraits, nous n'avons pas déterminé la IC50 parce que nous avons deux concentrations. Pour ce faire l'activité antiplasmodiale est déterminée par le pourcentage d'inhibition de la viabilité des parasites par la mesure de l'activité du 3H et est calculé par la formule suivant :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{Activité radioactive du témoin} - \text{Activité radioactive de l'extrait}}{\text{Activité radioactive du témoin}} \times 100$$

RÉSULTATS

4 RESULTATS :**4-1 Etude phytochimique :****4-1-1 Réaction en tubes****Tableau IV : Les groupes chimiques caractérisés dans les différentes drogues.**

Recherches			Résultats	Interprétation				
				V.c	V.n	C.gF	C.gT	C.c
Caroténoïdes				+	+	-	-	-
Coumarines		Fluorescence verte		++	++	++	-	++
Flavonoïdes				++	++	++	-	++
Hétérosides	Baljet	Coloration orange		++	++	+++	+++	++
Cardiotonique	Kedde	Coloration rouge orange		+	+	++	++	+
	Raymond-Marthoud	Coloration violet fugace		++	++	+++	+++	++
Oses et holosides		Coloration rouge		++	++	+++	+++	++
Mucilages		Précipités floconneux		++	+	-	-	-
Saponosides		Mousse		++++	-	++	-	++
Stérols et triterpènes		Couche surnageante		-	-	++	-	-
		Verdâtre						
Tanins FeCl ₃		Précipités bleu noirâtre		++	+++	++	-	++
	Galliques	teinte bleu noir		+++	++	++	-	+
	Catéchiques	Précipitées rouges		-	-	+	-	-

V.c : les feuilles de *Vernonia colorata*V.n : la partie aérienne de *Vernonia nigritiana*C.gF : les feuilles de *Cymbopogon giganteus*C.gT : les tiges de *Cymbopogon giganteus*C.c : la partie aérienne de *Clerodendrum capitaum*

Les caroténoïdes, les coumarines, les flavonoïdes, les hétérosides cardiotoniques, les oses et holosides, les mucilages, les saponosides et les tanins ont été présents dans les feuilles de *Vernonia colorata*, et surtout une réaction très positive observe avec les saponosides.

Les caroténoïdes, les coumarines, les flavonoïdes, les hétérosides cardiotoniques, les oses et holosides, les mucilages, et les tanins ont été présents dans la partie aérienne de *Vernonia nigritiana*.

Les coumarines, les flavonoïdes, les hétérosides cardiotoniques, les oses et holosides, les saponosides, les stérols et triperpènes, et les tanins (FeCl_3 et Galliques) ont été présents dans les feuilles de *Cymbopogon giganteus*.

Les hétérosides cardiotoniques et les oses et holosides ont été positifs dans les tiges de *Cymbopogon giganteus*.

Les coumarines, les flavonoïdes, les hétérosides cardiotoniques, les oses et holosides, les saponosides, et les tanins (FeCl_3 et Galliques) ont été présents dans la partie aérienne de *Clerodendrum capitatum*.

Les recherches ont été négatives pour les alcaloïdes, les dérivés anthracéniques, les hétérosides cyanogénétiques, les anthocyanes et les leucoanthocyanes dans nos plantes.

4-1-2 Dosages de certains constituants :

Tableau V : Pourcentage de certains constituants dans les différentes drogues

Pourcentage de certains constituants (%)	V.c	V.n	C.gF	C.gT	C.c
Par la méthode gravimétrique (%)	6,13	5,70	5,49	3,56	5,24
Eau					
Par la méthode volumétrique (%)	6,00	6,00	4,00	4,00	6,00
Cendre totale (%)	10,03	13,38	9,08	6,05	9,57
Cendre chlorhydrique (%)	0,70	3,91	5,04	2,68	0,70
Cendre sulfurique (%)	14,50	18,00	12,50	7,00	13,50
Indice de mousse	1000	-	125	-	111
Substances extractibles par eau (%)	9,00	13,00	4,00	4,00	12,00

V.c : les feuilles de *Vernonia colorata*

V.n : la partie aérienne de *Vernonia nigritiana*

C.gF : les feuilles de *Cymbopogon giganteus*

C.gT : les tiges de *Cymbopogon giganteus*

C.c : la partie aérienne de *Clerodendrum capitatum*

Les teneurs en eau sont toutes inférieures à 10 %, quelle que soit la méthode utilisée (entre 3,56 et 6,13 %), ce qui empêcherait les réactions d'oxydations, de fermentation et la formation des moisissures dans nos drogues.

Le taux des cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique est moins élevé dans toutes nos drogues, avec les plus faibles étant observés avec *Vernonia Colorata* et *Clerodendrum capitatum* (0,70 %).

4-1-3 Rendement des extractions

Tableau VI : Rendements, aspect et couleurs des extraits obtenus à partir V.colorata

Extraits	Rendement (%)	Aspect	Couleur
Hexane	2,55	Collant	verdâtre
DCM	3,20	Granuleux	Noire
MeOH	14,75	Granuleux	Verdâtre
Eau50	11,15	Poudre	Brune
Eau100	3,80	Poudre	Brune
ME	27,82	Granuleux	Brun fonce
MEtOH70%	29,00	Granuleux	Verdâtres
De	17,24	Granuleux	Brune
In	21,68	Granuleux	Brune

Le rendement le plus élevé a été obtenu avec le macéré éthanolique de *Vernonia colorata* soit 29 %, le plus faible étant l'extrait d'hexane avec 2,55 %.

Tableau VI I: Rendement, aspect, couleurs des extraits obtenus à partir *V.nigritiana*

Extraits	Rendement (%)	Aspect	Couleur
Hexane	1,47	Collant	Verdâtre
DCM	0,66	Collant	Noire verdâtre
MeOH	7,26	Collant	Brunâtre
Eau50	13,87	Poudre	Noire
Eau100	4,00	Poudre	Noire
ME	25,96	Granuleux	Noire
MEtOH70%	26,56	Granuleux	Verdâtre
De	20,52	Granuleux	Vert noirâtre
In	20,54	Granuleux	Noire

Le rendement le plus élevé a été obtenu avec le macéré éthanolique de *Vernonia nigritiana* soit 26,56 %, le plus faible étant l'extrait dichlorométhane avec 0,66 %.

Tableau VIII : Rendement, aspect, couleur des extraits obtenus à partir des feuilles de *C.giganteus*.

Extraits	Rendement (%)	Aspect	Couleur
Hexane	4,90	Poudre	Verdâtre
DCM	2,10	Collant	Noire
MeOH	9,65	Collant	Jaune brunâtre
Eau50	7,95	Floconne	Brune
Eau100	3,90	Poudre	Brune
ME	18,84	Granuleux	Verdâtre
MEtOH70%	21,12	Granuleux	Verdâtre
De	14,26	Floconne	Brune
In	13,02	Granuleux	Brune

Le rendement le plus élevé a été obtenu avec le macéré éthanolique des feuilles de *Cymbopogon giganteus* soit 21,12 %, le plus faible étant l'extrait dichlorométhane avec 2,10 %.

Tableau IX : Rendement, aspect, couleur des extraits obtenus à partir des tiges de *C.giganteus*.

Extrtraits	Rendement (%)	Aspect	Couleur
Hexane	1,21	Floconne	Verte
DCM	1,42	Collant	Brune
MeOH	0,50	Granuleux	Jaunâtre
Eau50	5,64	Granuleux	Brune
Eau100	2,64	Granuleux	Brune
ME	5,48	Granuleux	Brune
MEtOH70%	12,88	Poudre	Jaune verdâtre
De	7,42	Granuleux	Brune
In	7,02	Granuleux	Brune

Le rendement le plus élevé a été obtenu avec le macéré éthanolique des tiges de *Cymbopogon giganteus* soit 12,88 %, le plus faible étant l'extrait méthanolique avec 0,50 %.

Tableau X : Rendement, aspect, couleur des extraits obtenus à partir de *C. capitatum*.

Extraits	Rendement (%)	Aspect	Couleur
Hexane	2,65	Collant	Verdâtre
DCM	1,00	Collant	Verdâtre
MeOH	4,95	Granule	Jaune verdâtre
Eau50	7,25	Poudre	Brune
Eau100	4,70	Poudre	Brune
ME	24,12	Floconne	Brune
MEtOH70%	19,62	Poudre	Verdâtre
De	14,60	Granule	Brune
In	30,36	Granule	Brune

Le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'infusé de *Clerodendrum capitatum* soit 30,06 %, le plus faible étant l'extrait dichlorométhane avec 1 %.

4-2 Chromatographie sur couche mince (CCM) :**Tableau XI : Résultats de la CCM des extraits polaires de *V.colorata* dans le système de solvant Butanol : Acide acétique : Eau (60 : 15 : 25)**

Extraits	Rf (Cm)	Uv254nm	Uv366nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
MeOH de Vc	0,00	Visible	Bleu	-	-	-
	0,24	-	-	Vert	-	-
	0,30	-	-	Vert	-	Noir
	0,32	-	-	-	Jaune	-
	0,35	Visible	Bleu	-	-	Noir
	0,39	-	-	Vert	-	-
	0,71	-	-	-	-	Noir
	0,75	-	-	Bleu	-	Noir
	0,78	Visible	Bleu	-	Jaune	-
	0,96	Visible	Rouge	Rouge	Rouge	-
Digesté de Vc	0,00	Visible	Jaune	-	-	-
	0,06	Visible	Bleu	-	-	-
	0,25	Visible	Bleu	-	-	Noir
	0,30	-	Bleu	Vert	-	-
	0,32	-	-	-	Jaune	-
	0,35	Visible	-	Vert	-	Noir
	0,68	-	-	-	-	Noir
	0,71	Visible	-	-	-	-
	0,74	-	-	Vert	-	-
	0,95	Visible	-	-	-	-
Décocté de Vc (Soxhlet)	0,00	Visible	Jaune	-	-	-
	0,06	Visible	Bleu	-	-	-
	0,25	Visible	Bleu	-	-	Noir
	0,30	-	Bleu	-	-	-
	0,32	-	-	Bleu	Jaune	-
	0,35	Visible	Bleu	-	-	Noir

	0,68	-	-	-	-	Noir
	0,71	-	-	Vert	Bleu	-
	0,78	Visible	-	-	Bleu	-
	0,95	Visible	-	-	-	-
Macère de Vc						
	0,00	Visible	Jaune	-	-	-
	0,32	-	-	-	Bleu	-
	0,66	-	-	Bleu	-	-
	0,80	Visible	-	-	-	-
	0,96	Rouge	-	Rouge	-	-
ETOH à 70% de Vc						
	0,00	Visible	Jaune	-	-	-
	0,25	Visible	Bleu	-	-	Noir
	0,31	-	-	-	Jaune	-
	0,35	Visible	Bleu	Vert	-	Noir
	0,66	-	-	-	-	Noir
	0,72	-	-	Bleu	-	-
	0,96	Visible	Rouge	-	Rouge	-
Décocté de Vc						
	0,00	Visible	Jaune	-	-	-
	0,06	Visible	Bleu	-	-	-
	0,25	Visible	Bleu	-	-	-
	0,35	Visible	Bleu	Vert	Jaune	Noir
	0,52	-	-	Bleu	-	-
	0,66	-	-	-	-	Noir
	0,69	Visible	Bleu	-	-	Noir
	0,72	-	-	Bleu	-	-
	0,80	Visible	-	-	-	-
	0,96	Visible	Rouge	-	Rouge	-

Infusé de Vc

0,00	Visible	Jaune	-	-	-
0,06	Visible	Bleu	-	-	-
0,25	Visible	Bleu	Vert	Bleu	Noir
0,35	Visible	Bleu	Vert	Bleu	Noir
0,52	-	-	Bleu	-	-
0,66	-	-	-	-	Noir
0,70	Visible	-	-	-	-
0,80	Visible	-	-	-	-
0,96	Visible	Rouge	-	Rouge	-

Certains composants des extraits de *Vernonia colorata* ont été visibles à 254nm et à 366 nm. Les colorations jaunes et noires orientent vers la présence respectivement des flavonoïdes et des tanins.

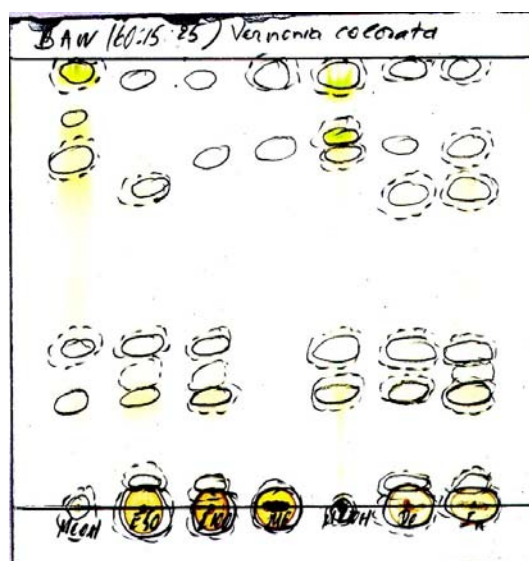
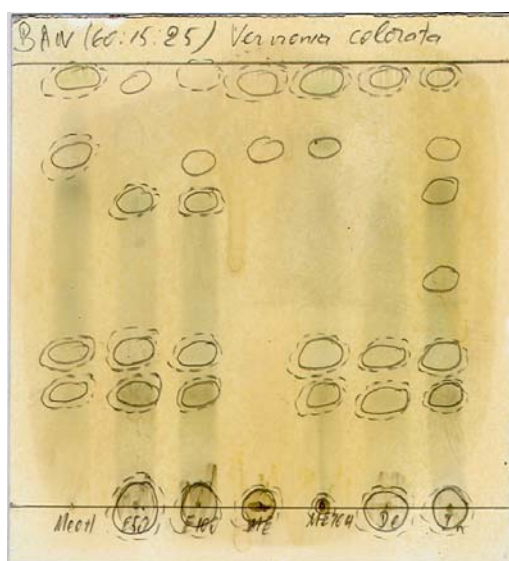


Figure N°13 : Chromatogramme des extraits polaires des feuilles de *Vernonia colorata*.

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de Silice
G60F254 en aluminium

Dépôt : 10 µl

Eluant : BAW (60 :15 :25)

Révéléteur : FeCl₃

Front du solvant : 8 cm

Support : Plaque de Silice G60F254
en aluminium

Dépôt : 10µl

Eluant : BAW (60 :15 : 25)

Révéléteur : AlCl₃

Tableau XII : Résultats de la CCM des extraits apolaires de *V. colorata* dans le système de solvant éther de pétrole : acétate d'éthyle (2 : 1)

Extraits	Rf (Cm)	Uv254nm	Uv366nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
Hexane de Vc						
	0,00	Visible	Jaune	-	Jaune	-
	0,19	Visible	-	-	-	-
	0,25	Visible	Rouge	-	-	-
	0,65	Visible	Rouge	-	Rouge	-
	0,72	-	Rouge	-	-	-
	0,79	Visible	-	-	-	-
	0,90	Visible	Jaune	Rouge verdâtre	Bleu	-
DCM de Vc						
	0,00	Visible	Jaune	-	Jaune	-
	0,19	Visible	Rouge	-	-	-
	0,35	Visible	-	-	-	-
	0,92	Visible	Rouge	-	-	-

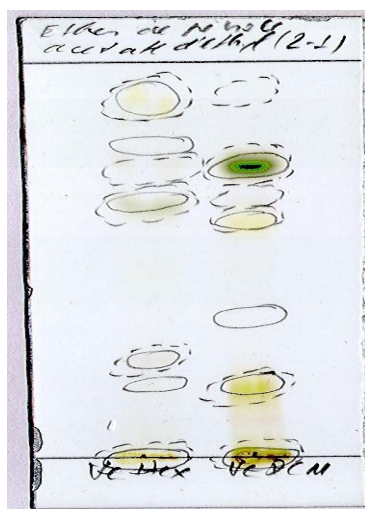


Figure N°14 : Chromatogramme des extraits apolaires des feuilles de *Vernonia colorata*.

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10 µl

Eluant : éther de pétrole : acétate d'éthyle (2 :1)

Révélateur : AlCl₃

Tableau XIII : Résultats de la CCM des extraits de *V.nigritiana* dans le système
Butanol : Acide acétique : Eau (60 :15 :25)

Extraits	Rf (Cm)	Uv254nm	Uv366nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
MeOH de V.n						
	0,21	-	Bleu	-	Bleu	-
	0,34	-	Bleu	-	Bleu	-
	0,41	Visible	Bleu	-	Bleu	-
	0,48	-	-	Noir	-	Noir
	0,50	Visible	Bleu	-	Jaune	-
	0,55	-	-	Noir	-	Noir
	0,60	Visible	Bleu	-	Jaune	-
	0,62	-	-	Noir	-	Noir
	0,66	Visible	-	-	Bleu	-
	0,71	-	-	-	Bleu	-
	0,78	-	-	-	-	Noir
	0,82	Visible	Gris	-	Jaune	-
	0,88	Visible	Rouge	-	Rouge	-
Digesté de V.n						
	0,00	-	Jaune	-	-	-
	0,15	-	Bleu	-	-	-
	0,22	Visible	Bleu	-	-	-
	0,41	Visible	Bleu	-	Bleu	-
	0,45	-	-	Noir	Jaune	-
	0,48	Visible	Brun	-	-	Noir
	0,51	-	-	Noir	Jaune	-
	0,58	Visible	-	-	-	-
	0,60	-	-	Noir	-	-
	0,64	-	Bleu	-	Bleu	-
Décocté de V.n (Soxhlet)						
	0,00	-	Jaune	-	-	-
	0,15	-	Bleu	-	-	-
	0,22	Visible	Bleu	-	-	-

0,32	-	-	-	Bleu	-
0,38	-	Bleu	-	Bleu	-
0,48	-	Bleu	-	-	-
Macère d'eau de V.n					
0,00	Visible	Jaune	-	-	-
0,15	-	Bleu	-	-	-
0,28	-	-	-	Bleu	-
0,32	-	Bleu	-	-	-
0,64	-	-	-	Bleu	-
0,66	-	-	-	Bleu	-
0,75	-	-	Noir	-	Noir
0,79	Visible	Brun	-	Bleu	-
0,89	Visible	Rouge	-	Rouge	-
ETOH à 70% de V.n					
0,00	-	Jaune	-	-	-
0,04	-	-	-	Jaune	-
0,10	-	-	-	Jaune	-
0,12	-	Bleu	-	-	-
0,20	-	Bleu	-	-	-
0,28	-	-	Noir	-	-
0,39	-	Bleu	-	-	-
0,44	-	-	-	-	-
0,48	-	-	-	Bleu	-
0,52	-	-	Noir	-	-
0,58	Visible	-	Noir	Bleu	-
0,64	-	-	-	Bleu	-
0,66	Visible	Bleu	-	-	-
0,79	Visible	Brun	Noir	-	-
0,88	-	Rouge	-	Rouge	-
Décocté de V.n					
0,06	-	Bleu	-	Bleu	-
0,12	-	-	-	Bleu	-
0,15	-	Bleu	-	Bleu	-

0,22	Visible	Bleu	-	Bleu	-
0,27	-	-	-	Bleu	-
0,31	-	Bleu	-	-	-
0,34	-	-	-	Bleu	-
0,39	Visible	Bleu	-	-	-
0,45	-	-	-	Jaune	-
0,49	Visible	Brun	-	-	-
0,52	-	-	Noir	-	-
0,59	Visible	-	Noir	-	-
0,64	-	-	-	Bleu	-
0,66	Visible	Brun	-	-	-
0,89	-	Rouge	-	-	-
Infusé de V.n					
0,00	Visible	-	-	-	-
0,05	-	-	-	Bleu	-
0,15	-	Bleu	-	Bleu	-
0,22	Visible	Bleu	-	Bleu	-
0,30	-	Bleu	-	Bleu	-
0,35	-	-	-	Bleu	-
0,40	Visible	Bleu	-	Bleu	-
0,49	Visible	Brun	-	Jaune	-
0,58	Visible	-	-	Jaune	-
0,66	Visible	Bleu	-	Jaune	-
0,79	-	-	-	Bleu	-
0,89	-	Rouge	-	-	-

Certains composants des extraits de *Vernonia nigritiana* visibles à 254nm et à 366 nm.

Les colorations jaunes et noires orientent vers la présence respectivement des flavonoïdes et des tanins.

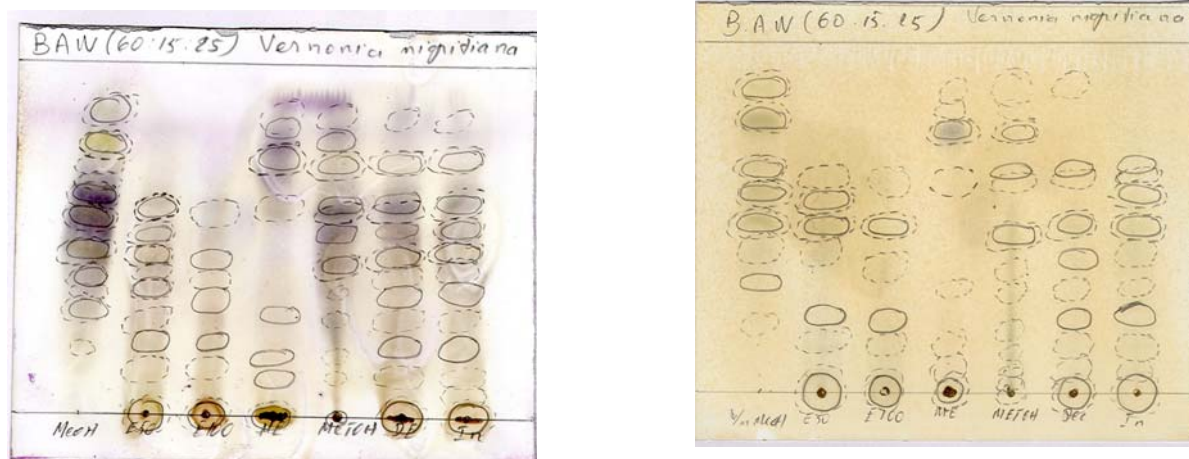


Figure N°15 : Chromatogramme extraits polaires de la partie aérienne de *Vernonia nigritiana*.

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10 µl

Eluant : BAW (60 :15 :25)

Révélateur : Godin

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10µl

Eluant : BAW (60 : 15 : 25)

Révélateur : FeCl₃

Tableau XIV: Résultats de la CCM des extraits apolaire de *V.nigritiana* dans le système de solvant éther de pétrole : acétate d'éthyle (2 : 1)

Extraits	Rf (Cm)	Uv254nm	Uv366nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
Hexane de V.n						
	0,00	Visible	Bleu	-	Bleu	-
	0,70	-	Bleu	-	-	-
	0,80	Visible	Rouge	-	Rouge	-
DCM de V.n						
	0,00	Visible	Jaune	-	Jaune	-
	0,22	Visible	Rouge	-	-	-
	0,36	Visible	Jaune	-	-	-
	0,54	Visible	Rouge	-	-	-
	0,60	Visible	Rouge	-	-	-
	0,75	Visible	Rouge	-	-	-
	0,79	-	-	-	Bleu	-

0,81	Visible	Rouge	Noir verdâtre	Rouge	-
0,84	-	-	-	Bleu	-

Certains composants de nos extraits de ont été visible à UV 254 nm et 366 nm.



Figure N°16 : Chromatogramme des extraits apolaires de la partie aérienne de *Vernonia nigritiana*.

Front du solvant : 8 cm

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de Silice

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10 µl

Dépôt : 10µl

Eluant : éther de pétrole : acétate d'éthyle (2 : 1)

Eluant : éther de pétrole : acétate d'éthyle

Révélateur : sans révélation

Révélateur : FeCl₃

Tableau XV : Résultats de la CCM des extraits des feuilles de *C.giganteus* dans le système de solvant Butanol : Acide acétique : Eau (60 : 15 : 25)

Extraits	Rf (Cm)	Uv254nm	Uv366nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
MeOH des C.gF						
	0,38	-	-	-	Jaune	-
	0,42	Visible	Brun	-	-	-
	0,44	-	-	-	Bleu	-
	0,53	-	-	-	-	Noir
	0,55	-	-	Jaune	-	-

	0,58	-	-	-	jaune	-
	0,64	-	-	Jaune	-	-
	0,68	Visible	Brun	-	-	-
	0,70	-	-	-	Bleu	-
	0,72	Visible	Bleu	-	-	-
	0,79	-	-	Jaune	-	-
	0,84	-	-	-	Bleu	-
	0,94	Visible	Rouge	Rouge	Rouge	-
Digesté de C.gF						
	0,00	Visible	-	-	-	-
	0,12	Visible	-	-	-	-
	0,40	Visible	Brun	Jaune	Jaune	-
	0,44	-	-	-	Bleu	-
	0,56	Visible	Brun	Jaune	Jaune	-
	0,64	-	-	-	Bleu	-
	0,72	Visible	Bleu	-	-	-
	0,94	Visible	Bleu	-	-	-
Décocté de C.gF (Soxhlet)						
	0,00	Visible	-	Jaune	-	-
	0,12	Visible	-	-	-	-
	0,26	Visible	-	-	-	-
	0,40	Visible	Brun	Jaune	Jaune	Noir
	0,46	-	-	-	Bleu	-
	0,54	Visible	Brun	Jaune	Jaune	-
	0,64	Visible	Brun	Jaune	Jaune	-
	0,72	Visible	Bleu	-	-	-
Macère d'eau C.gF						
	0,00	Visible	-	-	-	-
	0,54	Visible	Bleu	-	-	-
	0,61	Visible	Bleu	-	-	-
	0,76	-	-	Orange	-	-
	0,84	-	-	Orange	-	-

0,94	Visible	Rouge	-	-	-
ETOH à 70% de C.gF					
0,00	Visible	-	-	-	-
0,40	Visible	Brun	Jaune	Jaune	Noir
0,52	Visible	Bleu	-	Bleu	Noir
0,55	-	-	Jaune	-	-
0,61	-	-	Jaune	-	-
0,64	Visible	Brun	-	Jaune	Noir
0,71	Visible	Bleu	Jaune	-	-
0,78	-	-	Orange	-	-
0,86	-	-	-	-	-
0,96	Visible	Rouge	Rouge	-	-
Décocté de C.gF					
0,00	Visible	-	-	-	-
0,25	Visible	Bleu	-	-	-
0,34	-	-	Jaune	-	-
0,39	Visible	Brun	Jaune	Jaune	Noir
0,44	-	-	-	Bleu	-
0,52	Visible	Brun	-	-	-
0,56	-	-	Jaune	-	-
0,64	-	-	-	Jaune	-
0,71	Visible	Bleu	-	-	-
0,79	-	-	Orange	-	-
0,89	-	-	Orange	-	-
Infusé de C.gF					
0,00	Visible	-	-	-	-
0,25	Visible	Bleu	-	-	-
0,36	-	-	Jaune	Bleu	-
0,39	Visible	Brun	-	-	Noir
0,44	-	-	Jaune	Bleu	-
0,50	-	-	Jaune	-	-
0,52	Visible	Bleu	-	-	-
0,56	-	-	-	Bleu	-

0,64	-	-	Jaune	-	-
0,66	Visible	Brun	-	-	-
0,72	Visible	Bleu	Orange	-	-
0,88	-	-	Orange	-	-

Certains composants des extraits des feuilles *Cymbopogon giganteus* ont été visibles à UV254nm et à UV366nm.

Les colorations jaunes et noires orientent vers la présence respectivement des flavonoïdes et des tanins.

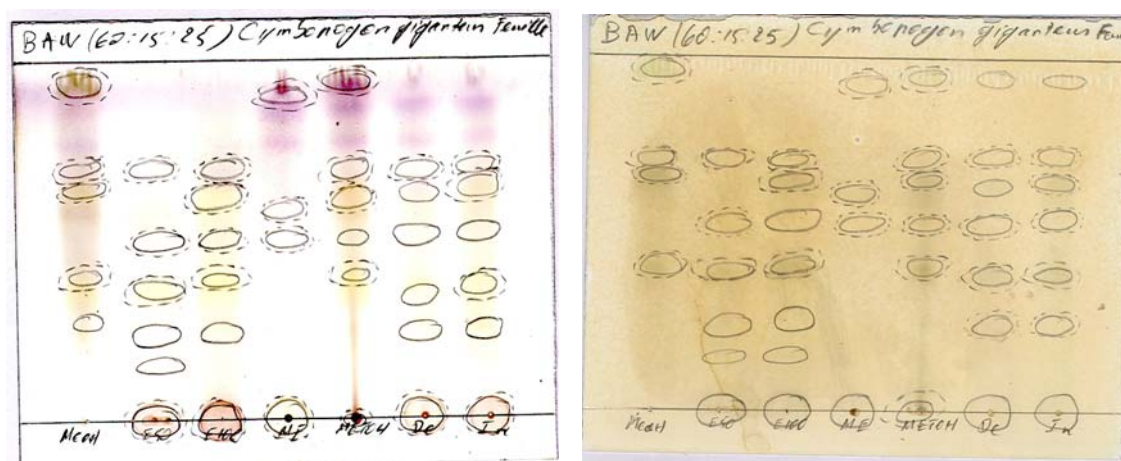


Figure N°17 : Chromatogramme des extraits polaires des feuilles de *Cymbopogon giganteus*.

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10 µl

Eluant : BAW (60 : 15 : 25)

Révéléteur : Godin

Front de solvant : 8cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10µl

Eluant : BAW (60 : 15 : 25)

Révéléteur : FeCl₃

TableauXVI: Résultats de la CCM des extraits apolaires des feuilles de *C.giganteus* dans le système de solvant éther de pétrole : acétate d'éthyle (2 : 1)

Extraits	Rf (Cm)	Uv254nm	Uv366nm	Godin	AcCl ₃	FeCl ₃
Hexane de C.gF						
	0,00	Visible	Bleu	-	Bleu	-
	0,25	Visible	Rouge	-	-	-
	0,66	Visible	Rouge	-	-	-
	0,78	Visible	Rouge	-	-	-
	0,89	-	Rouge	-	-	-
	0,92	Visible	Rouge	Noir	Bleu	-
DCM de C.gF						
	0,00	Visible	Jaune	-	Jaune	-
	0,25	Visible	-	-	-	-
	0,35	Visible	-	-	-	-
	0,60	Visible	-	Rouge	-	-
	0,75	Visible	Rouge	Rouge	-	-
	0,92	Visible	Rouge	-	-	-
	0,98	Visible	-	Noir	-	-

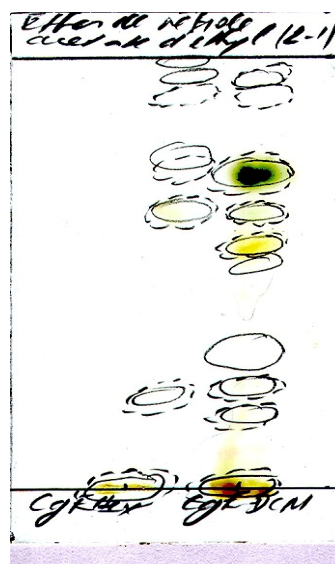
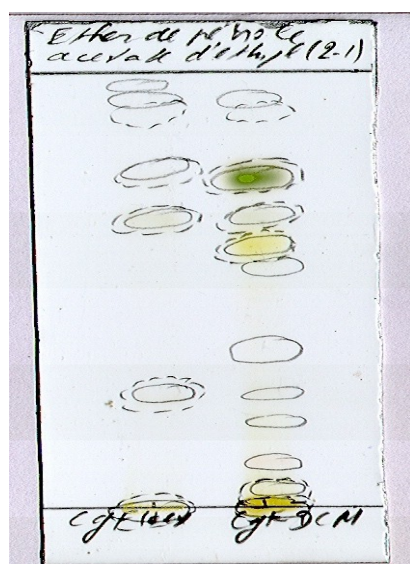


Figure N° 18: Chromatogramme des extraits apolaires des feuilles de *Cymbopogon giganteus*.

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Front de solvant : 8cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10 µl

Dépôt : 10µl

Eluant : éther de pétrole : acétate d'éthyle (2 : 1)

Eluant : éther de pétrole : acétate d'éthyle

Révélateur : sans révélation

Révélateur : AlCl₃**TableauXVII : Résultats de la CCM des extraits polaires des tiges de *C.giganteus* dans le système de solvant butanol : Acide acétique : Eau (60 : 15 : 25)**

Extraits	Rf (Cm)	Uv254nm	Uv366nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
MeOH De C.gT						
	0,00	Visible	Bleu	-	-	-
	0,38	-	-	Jaune	-	-
	0,49	-	-	Jaune	Bleu	-
	0,51	Visible	-	-	-	-
	0,58	-	-	Jaune	-	-
	0,70	Visible	-	-	-	-
	0,81	-	-	Orange	-	-
	0,91	Visible	Rouge	Rouge	-	-
Digesté de C.gT						
	0,00	Visible	-	-	-	-
	0,22	Visible	-	-	-	-
	0,36	-	-	Jaune	-	-
	0,45	-	-	Jaune	-	-
	0,48	-	-	-	Bleu	-
	0,51	Visible	-	-	-	-
	0,56	-	-	Jaune	-	-
	0,60	-	-	-	Bleu	-
	0,70	Visible	-	-	-	-
	0,91	Visible	-	-	-	-
Décocté de C.gT (Soxhlet)						
	0,00	Visible	-	-	-	-
	0,22	Visible	-	-	-	-
	0,38	-	-	Jaune	-	-
	0,45	-	-	Jaune	-	-
	0,51	Visible	-	-	-	-
	0,56	-	-	Jaune	-	-

0,70	Visible	-	-	-	-
0,88	Visible	-	-	-	-
Macère d'eau C.gT					
0,00	Visible	-	-	-	-
0,18	Visible	-	-	-	-
0,35	-	-	Jaune	-	-
0,46	-	-	Jaune	-	-
0,51	Visible	-	-	-	-
0,58	Visible	Bleu	Bleu	-	-
0,81	-	-	Jaune	-	-
0,91	Visible	-	-	-	-

Certains composants des extraits de C.g ont été visibles à UV254nm et à UV366nm.

Les colorations jaunes orientent vers la présence des flavonoïdes.

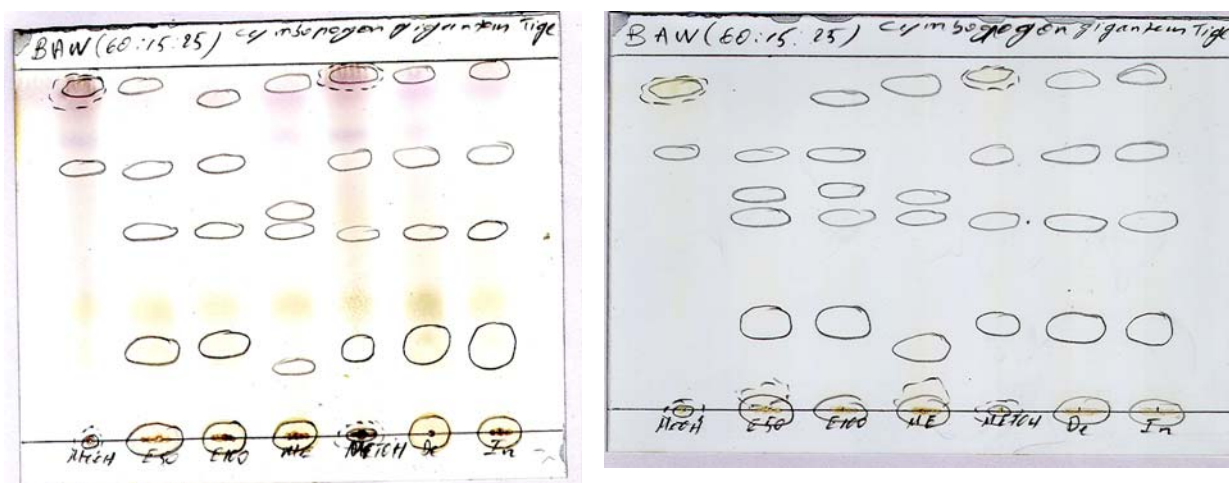


Figure N°19 : Chromatogramme des extraits polaires des tiges de *Cymbopogon giganteus*.

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10 µl

Eluant : BAW (60 :15 :25)

Révéléateur : Godin

Front du solvant : 8cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10µl

Eluant : BAW (60 : 15 : 25)

Révélation : sans révélation

TableauXVIII: Résultats de la CCM des extraits apolaire des tiges de *C.giganteus* dans le système de solvant éther de pétrole : acétate (2 : 1)

Extraits	Rf (Cm)	Uv254nm	Uv366nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
Hexane de C.gT						
	0,00	Visible	jaune	-	Jaune	-
	0,56	Visible	-	-	-	-
	0,75	-	-	Rouge	-	-
	0,80	-	Bleu	-	-	-
	0,82	Visible	-	-	-	-
	0,98	Visible	-	Rouge	-	-
DCM de C.gT						
	0,00	Visible	Jaune	Jaune	Jaune	-
	0,06	Visible	-	Bleu	-	-
	0,10	Visible	-	Bleu	Bleu	-
	0,22	Visible	Rouge	-	-	-
	0,44	Visible	-	-	-	-
	0,59	Visible	Bleu	-	-	-
	0,66	Visible	-	-	-	-
	0,75	Visible	Bleu	Noir	-	-
	0,80	-	Bleu	-	-	-
	0,89	-	Rouge	Rouge	-	-

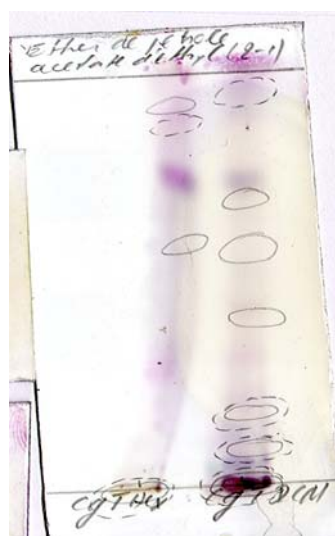
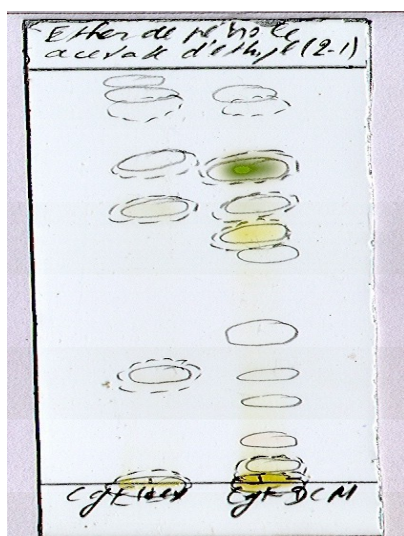


Figure N°20 : Chromatogramme des extraits apolaires des tiges de *Cymbopogon giganteus*.

Front du solvant : 8 cm

Front du solvant : 8cm

Support : plaque de Silice

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10 µl

Dépôt : 10µl

Eluant : éther de pétrole : acétate d'éthyle (2 : 1)

Eluant : éther de pétrole : acétate d'éthyle

Révélateur : sans révélation

Révélateur : Godin

TableauXIX : Résultats de la CCM des extraits polaires *C.capitatum* dans le système de solvant Butanol : Acide acétique : Eau (60 : 15 : 25)

Extraits	Rf(Cm)	Uv254nm	Uv366nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
MeOH de C.c						
	0,11	Visible	Bleu	-	-	-
	0,34	-	Bleu	Noir	-	-
	0,40	-	-	Noir	-	-
	0,46	-	-	-	Jaune	-
	0,48	-	-	Rouge	-	-
	0,50	Visible	Brun	-	-	-
	0,56	-	-	Vert	-	-
	0,58	-	-	-	Jaune	-
	0,69	Visible	Bleu	-	-	-
	0,76	Visible	Bleu	-	-	-
	0,89	Visible	Rouge	Rouge	Rouge	-
Digesté de C.c						
	0,00	Visible	Jaune	-	-	-
	0,28	Visible	Bleu	-	-	-
	0,38	-	-	Noir	-	-
	0,40	-	-	Noir	-	-
	0,46	-	-	-	Jaune	Noir
	0,48	-	-	Rouge	-	-
	0,50	Visible	-	-	-	-
	0,56	-	-	Vert	Jaune	-
	0,58	Visible	Brun	-	-	-
	0,89	Visible	Brun	-	-	-

Décocté de C.c (Soxhlet)

0,00	Visible	Jaune	-	-	-
0,26	Visible	Bleu	-	-	-
0,34	-	-	Noir	-	-
0,40	-	-	Noir	-	-
0,58	-	-	-	Jaune	-
0,84	Visible	Brun	-	-	-

ETOH à 70% de C.c

0,00	Visible	Jaune	-	-	-
0,26	Visible	Bleu	-	-	-
0,34	-	-	Noir	-	-
0,40	-	-	Noir	-	Noir
0,46	-	-	-	Jaune	-
0,50	Visible	Brun	-	-	-
0,56	-	-	vert	-	-
0,58	-	-	-	Jaune	-
0,84	Visible	Brun	-	-	-
0,90	-	Rouge	Rouge	Rouge	-

Décocté de C.c

0,00	Visible	Jaune	-	-	-
0,26	Visible	Bleu	-	-	-
0,34	-	Noir	-	-	-
0,40	-	Noir	-	-	-
0,46	-	-	-	Jaune	-
0,50	Visible	Brun	-	-	-
0,56	-	-	-	Jaune	-
0,84	Visible	Brun	-	-	-

Infusé de C.c

0,00	Visible	Bleu	-	-	-
0,24	Visible	Bleu	Noir	-	-
0,31	Visible	Bleu	-	-	-
0,39	Visible	Brun	-	-	-
0,51	Visible	Bleu	-	-	-

0,62	Visible	Brun	-	-	-
0,70	Visible	Brun	-	-	-

Certains composants des extraits de *Clerodendrum capitatum* ont été visibles à UV254 nm et à 366 nm.

Les colorations jaunes et noires orientent vers la présence respectivement des flavonoïdes et des tanins.



Figure N° 21: Chromatogramme des extraits polaires de *Clerodendrum capitatum*.

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10 µl

Eluant : BAW (60 :15 :25)

Révéléteur : Godin

Front du solvant : 8cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10µl

Eluant : BAW (60 : 15 : 25)

Révéléteur : FeCl₃

TableauXX: Résultats de la CCM des extraits apolaires *C.capitatum* dans le système de solvant éther de pétrole : acétate d'éthyle (2 : 1)

Extraits	Rf(Cm)	Uv254nm	Uv366nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
Hexane de C.c						
	0,00	Visible	Jaune	-	Bleu	-
	0,45	-	Rouge	-	Rouge	-
	0,62	-	-	Noir	Rouge	-
	0,82	-	-	-	Bleu	-
	0,86	Visible	Rouge	-	Rouge	-
	0,92	Visible	Jaune	-	-	-

0,94	-	-	Noir	-	-
0,96	-	-	-	Bleu	-
DCM de C.c					
0,33	Visible	Jaune	-	Jaune	-
0,40	Visible	Rouge	-	Rouge	-
0,56	Visible	Bleu	-	Bleu	-
0,70	Visible	Rouge	-	-	-
0,81	-	-	Noir	Rouge	-
0,91	-	-	Vert	Rouge	-

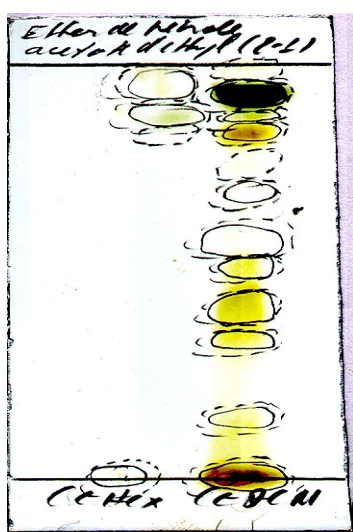


Figure N°22 : Chromatogramme des extraits apolaires de *Clerodendrum capitatum*.

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10 µl

Eluant : éther de pétrole : acétate d'éthyle (2 : 1)

Révélateur : $AlCl_3$

Front de solvant : 8cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10µl

Eluant : éther de pétrole : acétate d'éthyle

Révélateur : $FeCl_3$

4-3 Tests biologiques des extraits

4-3-1 Activité anti-radicalaire.

Les extraits migrés sur une plaque de silicagel avec comme système de solvant butanol : acide acétique : eau (60 :15 :25) ont été révélées au DPPH.

Tableau XXI: Activité anti-radicalaire de *Vernonia colorata*

Rf (cm)	V.cMeOH	V.cE50	V.cE100	V.cME	V.cMEtOH	V.cDe	V.cIn
0,00	jaune	jaune	jaune	jaune	-	jaune	jaune
0,06	-	jaune	-	-	-	-	-
0,22	jaune	-	-	-	-	-	-
0,25	-	jaune	jaune	-	jaune	jaune	jaune
0,30	-	jaune	jaune	-	-	-	jaune
0,35	jaune	jaune	jaune	-	jaune	jaune	jaune
0,69	-	jaune	-	-	-	jaune	jaune
0,78	jaune	-	-	-	-	-	-
0,86	jaune	-	-	-	-	-	-

V.cMeOH : extrait méthanolique de *Vernonia colorata*

V.cE50 : digeste de *Vernonia colorata*

V.cE100 : décocté de *Vernonia colorata* (Soxhlet)

V.cME : macéré de *Vernonia colorata*

V.cMEtOH : extrait éthanolique de *Vernonia colorata*

V.cDe : décocté de *Vernonia colorata*

V.cIn : infusé de *Vernonia colorata*.

Au Rf 0,35 l'activité est visible dans tous les extraits aqueux et hydroalcooliques sauf au macéré où il n'existe pas d'activité. Cette activité est visible (coloration jaune sur fond violet).



Figure N°23 : Chromatogramme présentant les résultats du test antioxydant (DPPH) réalisé sur les extraits polaires de *Vernonia colorata*.

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de Silice

G60F254 en aluminium

Dépôt : 10 µl

Eluant : BAW (60 :15 :25)

Révélateur : DPPH

Tableau XXII : Activité anti-radicalaire de *Vernonia nigrifolia*

Rf (cm)	V.nMeOH	V.nE50	V.nE100	V.nME	V.nMEtOH	V.nDe	V.nIn
0,40	jaune	jaune	-	-	-	jaune	jaune
0,50	jaune	jaune	-	-	-	jaune	-
0,58	jaune	-	-	-	-	-	-
0,65	jaune	-	-	-	-	-	-
0,71	jaune	-	-	-	-	-	-
0,79	-	-	-	jaune	jaune	-	-
0,81	jaune	-	-	-	-	-	-

V.nMeOH : extrait méthanolique de *Vernonia nigrifolia*

V.nE50 : digeste de *Vernonia nigrifolia*

V.nE100 : décocté de *Vernonia nigrifolia* (Soxhlet)

V.nME : macéré de *Vernonia nigrifolia*

V.nMEtOH : extrait éthanolique de *Vernonia nigrifolia*

V.nDe : décocté de *Vernonia nigritiana*

V.nIn : infusé de *Vernonia nigritiana*

L'activité anti-radicalaire est surtout visible avec l'extrait méthanolique de *Vernonia nigritiana*.

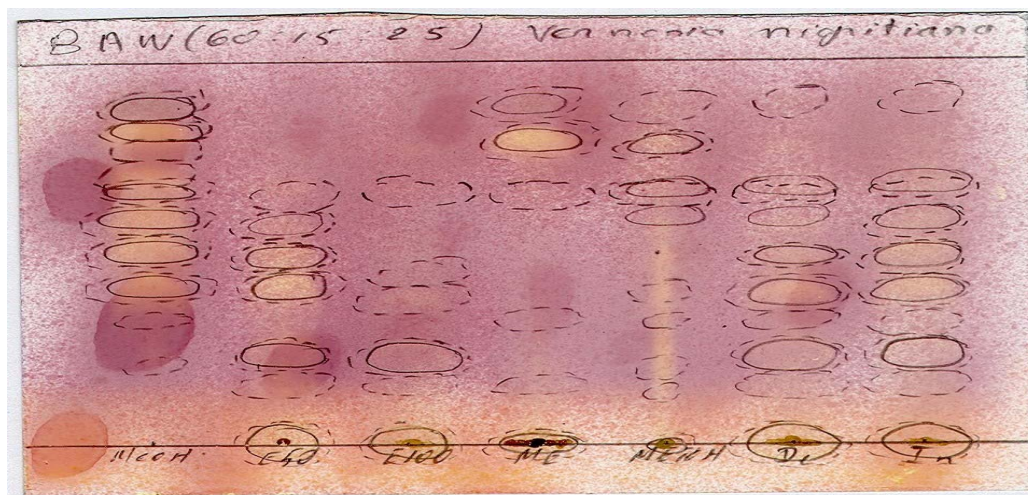


Figure N°24 : Chromatogramme présentant les résultats du test antioxydant (DPPH) réalisé sur les extraits polaires de *Vernonia nigritiana*..

Tableau XXIII: Activité anti-radicalaire de *Clerodendrum capitatum*

Rf (cm)	C.cMeOH	C.cE50	C.cE100	C.cME	C.cMEtOH	C.cDe	C.cIn
0,39	-	-	-	-	-	-	jaune
0,45	-	-	-	-	jaune	jaune	-
0,50	jaune	jaune	jaune	-	-	-	-
0,62	-	-	-	-	-	-	jaune

C.cMeOH : extrait méthanolique de *Clerodendrum capitatum*

C.cE50 : digeste de *Clerodendrum capitatum*

C.cE100 : décocté de *Clerodendrum capitatum* (Soxhlet)

C.cME : macéré de *Clerodendrum capitatum*

C.cMEtOH : extrait éthanolique de *Clerodendrum capitatum*

C.cDe : décocté de *Clerodendrum capitatum*

C.cIn : infusé de *Clerodendrum capitatum*.

Au Rf 0,50 cm l'activité est un peu visible pour les extraits : méthanolique, le digeste, le décocté (Soxhlet) ; de même au Rf 0,45 cm pour l'extrait éthanolique et le décocté.



Figure N°25 : Chromatogramme présentant les résultats du test antioxydant (DPPH) réalisé sur les extraits polaires de *Clerodendron capitatum*.

Tableau XXIV : Activité anti-radicalaire des feuilles de *Cymbopogon giganteus*

Rf (cm)	C.gMeOH	C.gE50	C.gE100	C.gME	C.gMEtOH	C.gDe	C.gIn
0,40	-	jaune	jaune	-	jaune	jaune	jaune
0,42	jaune	-	-	-	-	-	-
0,52	-	-	-	-	jaune	-	jaune
0,64	-	-	jaune	-	jaune	-	-
0,66	-	-	-	-	-	-	jaune
0,68	jaune	-	-	-	-	-	-

C.gMeOH : extrait méthanolique de *Cymbopogon giganteus*

C.gE50 : digeste de *Cymbopogon giganteus*

C.gE100 : décocté de *Cymbopogon giganteus* (Soxhlet)

C.gME : macéré de *Cymbopogon giganteus*

C.gMEtOH : extrait éthanolique de *Cymbopogon giganteus*

C.gDe : décocté de *Cymbopogon giganteus*

C.gIn : Infusé de *Cymbopogon giganteus*.

Au Rf 0,40 cm l'activité est peu visible pour les extraits : le digeste, le décocté (Soxhlet), l'éthanolique, le décocté et l'infusé.



Figure N°26 : Chromatogramme présentant les résultats du test antioxydant (DPPH) réalisé sur les extraits polaires de *Cymbopogon giganteus*.

4-3-2 Test sur *Plasmodium in vitro*

Tableau XXV: Pourcentages inhibition des extraits de *Vernonia colorata* sur *Plasmodium falciparum*.

Extraits	Pourcentages d'inhibition	
	9,7µg/ml	1,6 µg/ml
Hexane	99,5	46,2
DCM	100,0	75,3
MeOH	39,6	5,7
Eau à 50°C	24,4	-
Eau à 100°C	25,7	-
ME	17,9	-
MEtOH	28,3	-
De	29,1	-
In	37,1	-

A la concentration de 9,7 µg/ml, l'extrait d'hexane et de DCM de *Vernonia colorata* ont été les plus actifs, alors que à la concentration de 1,6 µg/ml c'est l'extrait DCM de *Vernonia colorata* est le plus actif.

ME : macéré d'eau

MEtOH : macéré d'éthanol à 70 %

De : décocté

In : infusé

Tableau XXVI: Pourcentages inhibition des extraits de *Vernonia kotschyana* sur *Plasmodium falciparum*

Extraits	Pourcentages d'inhibition	
	9,7µg/ml	1,6 µg/ml
De des feuilles âgées	18,8	-
In des feuilles jeunes	14,2	-
MEtOH des feuilles âgées après floraison	15,8	-
MEtOH des feuilles âgées	15,6	-
MEtOH des feuilles jeunes	21,5	-
In des feuilles âgées	12,8	-
De des feuilles jeunes	10,9	-
De des feuilles âgées après floraison	12,0	-
De des feuilles jeunes après floraison	13,1	-

Les feuilles n'ont pas manifesté une inhibition importante sur le *Plasmodium falciparum* en *in vitro*.

Tableau XXVII: Pourcentages inhibition des extraits de *Vernonia nigritiana* sur *Plasmodium falciparum*

Extraits	Pourcentages d'inhibition	
	9,7µg/ml	1,6 µg/ml
Hexane	100,0	87,1
DCM	89,7	17,9
MeOH	78,3	63,1
Eau à 50°C	58,2	11,0
Eau à 100°C	18,7	-
ME	12,9	0,8
MEtOH	16,6	-
De	22,3	-
In	35,0	-

A la concentration de 9,7 µg/ml, l'extrait d'hexane, de dichlorométhane et de méthanol de *Vernonia nigritiana* ont été les plus actifs, alors qu'à la concentration de 1,6 µg/ml l'extrait d'hexane et de méthanol ont donné une meilleure inhibition le *Plasmodium*

Tableau XXVIII: Pourcentages inhibition des extraits des feuilles de *Cymbopogon giganteus* sur *Plasmodium falciparum*.

Extraits	Pourcentages d'inhibition	
	9,7µg/ml	1,6 µg/ml
Hexane	48,5	-
DCM	95,6	25,0
MeOH	32,6	1,6
Eau à 50°C	7,7	-
Eau à 100°C	17,7	-
ME	16,4	-
De	16,5	-

Le seul extrait des feuilles de *Cymbopogon giganteus* qui a un pourcentage d'inhibition importante sur *Plasmodium in vitro* est le dichlorométhane à la concentration de 9,7 µg/ml.

Tableau XXIX: Pourcentages inhibition des extraits des tiges de *Cymbopogon giganteus* sur *Plasmodium falciparum*

Extraits	Pourcentages d'inhibition	
	9,7µg/ml	1,6 µg/ml
Hexane	35,9	-
DCM	36,6	-
MeOH	93,8	34,2
Eau à 50°C	10,7	-
Eau à 100°C	15,1	-
MEtOH	90,8	32,9
De	21,4	-
In	21,2	-

L'extrait de méthanol et le macéré éthanolique à 70 % des tiges de *Cymbopogon giganteus* ont été les plus actifs à la concentration de 9,7 µg/ml.

Tableau XXX: Pourcentages inhibition des extraits de *Clerodendrum capitatum* sur *Plasmodium falciparum*.

Extraits	Pourcentages d'inhibition	
	9,7µg/ml	1,6 µg/ml
Hexane	100,0	85,7
DCM	89,6	34,5
MeOH	15,4	-
Eau à 50°C	8,8	-
Eau à 100°C	9,6	-
ME	14,6	-
MEtOH	14,7	-
De	14,1	-
In	10,6	-

A la concentration de 9,7 µg/ml, l'extrait d'hexane et de dichlorométhane de *Clerodendrum capitatum* ont été les plus actifs, alors qu'à la concentration de 1,6 µg/ml l'extrait d'hexane a été le plus actif *Plasmodium falciparum in vitro*.

Tableau XXXI: Les extraits les plus actifs de nos échantillons sur *Plasmodium falciparum*

Extraits	Pourcentages d'inhibitions	
	9,7µg/ml	1,6 µg/ml
Hexane de <i>V. colorata</i>	99,5	46,2
DCM de <i>V. colorata</i>	100,0	75,3
Hexane de <i>V. nigrifolia</i>	100,0	87,1
DCM de <i>V. nigrifolia</i>	89,7	-
MeOH de <i>V. nigrifolia</i>	78,8	63,1
DCM des feuilles de <i>C. giganteus</i>	95,6	-
MeOH des tiges de <i>C. giganteus</i>	93,6	-
MEtOH des tiges <i>C. giganteus</i>	90,8	-
Hexane de <i>C. capitatum</i>	100,0	85,7
DCM de <i>C. capitatum</i>	89,6	-

A la concentration de 9,7 µg/ml, nous avons 100 % d'inhibition avec le DCM de *V. colorata*, hexane de *V. nigrifolia* et de *C. capitatum*, tandis qu'à la concentration de 1,6 µg/ml les meilleurs extraits ont été : le DCM de *V. colorata*, hexane de *V. nigrifolia* et de *C. capitatum*.

Temoin : Artémisinine

Concentration de l'Artémisinine : 0,012 µg/ml et 0,002 µg/ml

Pourcentage d'inhibition l'artémisinine : 100,0 % et 69,1%

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

5 Commentaires et discussion

L'étude s'est déroulée en deux parties ; une première partie au Département de Médecine Traditionnelle (D.M.T) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (I.N.R.S.P) et une deuxième partie à Bâle en Suisse.

Elle a consisté à effectuer une revue de la littérature, un screening phytochimique et un criblage biologique sur certaines plantes de la famille des *Asteraceae* utilisées au Mali comme fébrifuge, aussi sur *Cymbopogon giganteus* à cause de son utilisation par certaine population pour traiter la fièvre et le paludisme et enfin sur *Clerodendrum capitatum* car souvent confondu par les herboristes avec *V. nigrifolia*. La revue de la littérature a permis de choisir deux (2) plantes : *Vernonia colorata* et *Vernonia nigrifolia*.

Nos études phytochimiques ont permis de mettre en évidence la richesse de nos plantes en coumarines, en flavonoïdes, en hétérosides cardiotoniques, en oses et holosides, en saponosides et en tanins (surtout les tanins galliques).

Nous avons observé une réaction positive très franche avec des saponosides pour *V. colorata* avec l'indice de mousse égal à 1000, dont la présence a été déjà signalée par Kheraro et Adams en 1974.

Les flavonoïdes retrouvés dans *V.nigrifolia* et *Cymbopogon giganteus* confirment respectivement les études menées par Atindehou et Coll en 1993 et Cardoso en 1967.

Les oses et holosides ont été positifs dans toutes nos plantes, ceux qui pourraient être un avantage pour la prise en charge de certaines formes de paludisme compliqué tel que le paludisme associé à une hypoglycémie et surtout *Cymbopogon giganteus* où il a été signalé la présence du sucre : glucose et rhamnose (Cardoso, 1967).

La teneur en eau a été inférieure à 10% dans toutes nos plantes, elle est comprise entre 3,56 % et 6,13 %. Cela permet une bonne conservation de nos drogues.

Les cendres totales traduisent la charge minérale des matières végétales. Elles ont été de 10,83 % ; 13,38 % ; 9,08 % ; 6,05 % et 9,57 % respectivement pour *Vernonia colorata*, *Vernonia nigrifolia*, les feuilles de *Cymbopogon giganteus*, les tiges de *Cymbopogon giganteus* et *Clerodendrum capitatum*.

Les cendres chlorhydriques ont donné 0,70 % ; 3,91 % ; 5,04 % ; 2,68 % et 0,70 % respectivement pour *Vernonia colorata*, *Vernonia nigrifolia*, les feuilles de *Cymbopogon giganteus*, les tiges de *Cymbopogon giganteus* et *Clerodendrum capitatum*.

Ces cendres correspondent à la présence dans ces drogues des éléments siliceux.

Nous avons réalisé cinq (5) types d'extractions : l'extraction à polarité croissante, la macération à l'eau ou l'éthanol à 70 % ; cette opération a été répétée trois fois 24 heures pour chacune des plantes, l'infusion 10 % et la décoction à 10 %.

L'éthanol semble être le meilleur solvant pour les feuilles de *Vernonia colorata* (29,00 %), la partie aérienne de *Vernonia nigritiana* (26,56 %), les feuilles de *Cymbopogon giganteus* (21,12 %) les tiges de *Cymbopogon giganteus* (12,88 %) alors que l'eau (infusion) a donné le plus grand rendement avec *Clerodendrum capitatum* (30,36 %).

Nos plus faibles rendements d'extractions ont été obtenus avec des extraits d'hexane, de diclorométhane et de méthanol.

Les chromatographies sur couche mince que nous avons effectué sur nos différents extraits ont permis de confirmer la présence de certains groupes chimiques tels que les flavonoïdes et les tanins.

Le test antioxydant que nous avons réalisé sur plaques de CCM a donné des tâches anti-radicalaires pour certains de nos différents extraits. L'activité antioxydante de ces extraits pourrait s'expliquer par la présence des substances polyphénoliques : des flavonoïdes et des tanins (Bruneton, 1993).

Pour l'activité antiplasmodiale, à la concentration de 9,7 µg/ml tous nos extraits ont donné un pourcentage d'inhibition sur la souche K1 de *Plasmodium* testé. Nous avons observé les meilleures activités avec les extraits apolaires : hexane de *Vernonia colorata* (99,5%), DCM de *Vernonia colorata* (100,0 %), hexane de *Vernonia nigritiana* (100,0 %), DCM de *V. nigritiana* (89,7 %), , DCM des feuilles *Cymbopogon giganteus* (95,6 %), hexane de *Clerodendrum capitatum* (100,0 %) et DCM de *Clerodendrum. capitatum* (89,6 %) , les extraits alcooliques ont également été actifs : des extraits méthanoliques de *Vernonia nigritiana*(78,3 %) et des tiges de *Cymbopogon. giganteus* (93,8 %) et le macéré éthanolique des tiges de *Cymbopogon giganteus* (90,8 %).

Les extraits aqueux ont été moins actifs. L'infusion et la décoction de *Vernonia colorata* ont donné à la concentration de 9,7 µg/ml respectivement 37,1 % et 29,1 %, cet effet sur le *Plasmodium falciparum* déjà signalé par Benoit et Coll en 1996 avec un pourcentage d'inhibition compris entre 1,1-4,8 µg/ml.

A la concentration de 1,6 µg/ml, les extraits les plus actifs ont été les suivants : DCM de *Vernonia colorata* (75,3 %), hexane de *Vernonia nigritiana* (87,1 %), MeOH de *Vernonia nigritiana* (63,1 %) et hexane de *Clerodendrum capitatum* (85,7 %).

Les autres extraits n'ont pas manifesté une inhibition importante de la croissance de *P. falciparum* à cette concentration.

Les extraits de *Cymbopogon giganteus* à la concentration de 9,7 µg/ml ont tous réagi sur *Plasmodium falciparum*, mais à la concentration de 1,6 µg/ml très peu d'extraits ont manifesté une inhibition sur la croissance du *Plasmodium falciparum*. Cet effet dose dépendant est déjà signalé Kunbi et Coll, 1996.

Les principes actifs antiplasmodiaux d'origine végétale sont de trois types : les alcaloïdes, les terpènes et les quinones, les composés phénoliques et autres produits secondaires.

Dans notre étude les extraits les plus actifs ont été des échantillons apolaires et alcooliques, donc l'activité antipaludique de nos extraits pourrait être liée à la présence des terpènes, des composés (flavonoïdes et tanins).

Les risques de confusion par la population entre *Vernonia nigritiana* et *Clerodendrum capitatum* peuvent être expliqués sur différents points :

Sur le plan botanique :

- Les deux plantes présentent les feuilles ovales, cunées au sommet, mais les feuilles de *Clerodendrum capitatum* sont poilues.
- Leurs fleurs portent des capitules avec des bractées lancéolées, à la différence que les bractées sont rouges pour *Vernonia nigritiana* et blanches pour *Clerodendrum capitatum*.

Sur le plan chimique :

La partie aérienne des deux espèces contiennent : les coumarines, les flavonoïdes, les hétérosides cardiotoniques, les oses et holosides, les saponosides et les tanins. Nous avons noté l'absence de caroténoïdes et des mucillages dans l'espèce de *Clerodendrum capitatum* alors qu'ils sont présents chez *Vernonia nigritiana*.

Sur le plan des activités biologiques :

- Pour l'activité anti-radicalaire, elle est peu visible sur les plaques de CCM pour les deux plantes.
- Pour l'activité antiplasmodiale, il semble n'y avoir pas de différence entre les deux plantes sur le *Plasmodium falciparum* pour les extraits apolaires aux concentrations de 9,7 µg/ml et de 1,6 µg/ml. Mais pour les extraits aqueux et alcooliques il existe une différence entre le pourcentage d'inhibition.

CONCLUSION

ET

RECOMMANDATIONS

Conclusion

Au terme de notre étude, il ressort que nos plantes possèdent des vertus thérapeutiques qui peuvent justifier leurs utilisations en médecine traditionnelle.

L'eau et l'éthanol à 70 % ont donné des meilleurs rendements.

A travers des études phytochimiques, de nombreux composés ont été identifiés tels que les coumarines, les flavonoïdes, les hétérosides cardiotoniques, les oses et holosides, les saponosides et les tanins.

La teneur en eau dans tous nos échantillons a été inférieure à 10%.

Dans les conditions expérimentales l'activité antioxydante a été peu importante.

Pour l'activité antiplasmodiale, les extraits apolaires et méthanoliques sont très actifs *in vitro* sur *Plasmodium falciparum*.

Nous espérons par ce travail avoir marqué un point de départ vers la mise au point des médicaments indiqués dans le traitement du paludisme, après approfondissement de certains aspects de la présente étude et la réalisation d'essai clinique.

Recommandations

- Au DMT :

De continuer les investigations sur les extraits : Hexane et dichlorométhane de *Vernonia colorata*, l'hexane et DCM de *Vernonia nigritiana*, méthanolique de *Vernonia nigritiana*, hexane de *Clerodendrum capitatum* et DCM des feuilles de *Cymbopogon giganteus*.

- Au ministère de la santé :

De développer la collaboration entre le PNLP, les associations de tradipraticiens, MRTC et le DMT pour l'évaluation de l'activité biologiques des plantes antipaludiques.

Référence

- 1- Adjanohou E., Ahyi A.M.; Ake Assi L., Floret J.; Guindo S.; Koumaré M.; Raynal J. (1981).** Médecine traditionnelle et pharmacopée contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali. 3^e édition.
- 2- Atindehou, K.K ; Reynaud, J. ; Koukona, G; Nuguessan, Y.T.; Anona, G.; Fournnier, J. (1993).** Phytochemical study of *Vernonia nigritiana* Olive et Hiern (Compositae). *Plantes Medicinales et Phytotherapie*, 26(4), 355-61.
- 3- Bamba, D; Balansard, G. ; Maillard,C.; Gayte-Sorbier, A. (1984).** Study of amino acids from *Vernonia colorata* (Willd) Drake leaves. *Plantes Medicinales et Phytotherapie*, 18(3), 159-169.
- 4- Bruneton J (1993).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, Edition Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 915p
- 5- Burkil H.M. (1985).** The useful plants west tropical of Africa. Volume N°1. Familles A-D. Royal Botanic. Gardens Kew. 960p
- 6- Burkil H.M. (1985).** The useful plants west tropical of Africa. Volume N°2. Familles E-I. Royal Botanic. Gardens Kew. 636p.
- 7- Burkil H.M. (1985).** The useful plants west tropical of Africa. Volume N°5. Famille S-Z. Royal Botanic. Gardens Kew. 686p.
- 8- Benoit, F.; Valentin, A.; Pelissier, Y. ; Diofouka, F. ; Marion, C. ; Kone-Bamba. D; Kone, M. ; Mallie, M. ;Yapo A ; Bastide J.M. (1996).** *In vitro* antimalarial activity of vegetal extracts used in West African traditional medicine. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 54(1). 67-71.
- 9- Benoit-Vical F; Santillana-haya M; Kone-Bamba D; Mallie M; Derouin. (2000).** Anti-toxoplasma activity of vegetal extracts used In West African traditional medicine; laboratoire d'immunologie et prasinologie, Faculte de Pharmacie, Montpellier Parasite, 47(1) , 03-07.

10- Cardose do Vale, Jose Bacta; Proenca da Cunha, Antonio. (1967).

Comparative chemical study of the inflorescence of *Cymbopogon densiflorus* and *Cymbopogon giganteum* from Angola. Journal written in Portuguese 27, 17-51.

11- Coulibaly A. (2006). Etude de la Phytochimie et des activités biologiques des feuilles de *Vernonia kotschyana* Sch. Bip (Asteraceae), thèse de pharmacie de la Faculté de médecine de pharmacie et d'odonto-stomatologie de Bamako. 138p.

12- Cycle du paludisme chez l'homme.

Source : www.pasteur.mg/cycle palidisme.html (08/O3/2007)

13-Daffe .M, Samouny. (2005). Connaissance, attitudes et pratiques des populations face au paludisme dans l'aire de santé de FINKOLO (Sikasso) Mali. Thèse de Médecine, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Otonto-Stomatologie de Bamako. 60p.

14- Deeni, Y.Y. ; Hussain, H.S.N (1994). Screening of *Vernonia kotschyana* for antimicrobial activity and alkaloid. International Journal of Pharmacognosy 32(4), 388-395.

15- Djossou, F. ; Receveier, M.C ; Peichan, TE ; Monlunie ; Clerc ; Longy-Boursier ; LE Bras, M. Stress oxydant et paludisme : A propos de Stress de 24 observations de paludisme à *Plasmodium falciparum*.

Source : [h//p://cat-inist-fr :?aModele=afficheN=cpsidt=317771](http://cat-inist-fr :?aModele=afficheN=cpsidt=317771) (29/02/08)

16-Gasquet, Monique ; Bamba, Dieneba ; Babadjamian, Andre ; Balansard, Guy ; Tinar-david, Pierre ; Metzger, Jacques. (1985).

Ameobocidal and anthelmintic activity of Vernolide and hydroxyvernolide isolated from *Vernonia colorata* (Willd) Drake leaves. European Journal of Medicinal Chemistry 20(2), 111-115.

17- Gentilini, Marc (1996). Médecine tropicale. Médecine-science (flammarion). Paris. 91-122.

- 18- Jean-Marie Saïssy ; CARM, Arnette ;F. Burneel, J-D. Cavallo ; T. Debord ; B.Gachot ; P. Imbert, D.Mennocier ; C.Rogier ; B. Souweine, J.E Touze, Arnette (2001).** Paludisme grave. Groupe Liaison S.A.Belin. 262p.
- 19- Kelmanson, J.E. ; Jager, A.K. ; Var Staden, J. (2000).** Zulu medicinal plants with antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology. 69(2), 211-214.
- 20- Kerharo J., Adams J.G. (1974).** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle plantes médicinales et toxiques. Edition Vigot et frères, Paris. 1011p.
- 21- Kimbi H K ; Fagbenro-Beyioku A F. (1996).** Efficacy of *Cymbopogon giganteus* and *Emantia chrantha* against chloroquine resistant *Plasmodium yoelii* nigeriensis. Journal written in English. 73(10) , 636-637.
- 22- Kraff, Carola, Jenett-Siems, Kristina; Siems,Karten, Jakupovic, Josmin; Mavi, Steven; Bienzle, Ulrich; Eich, Eckart. (2003).** Herbal remedies traditionally used against malaria. *In vitro* antiplasmodial evaluation of medicinal plants from Zimbabwe. Phytotherapy Research, 17(2) ,123-128.
- 23- Latifou L. (2005).** Etude Phytochimique et Activité biologique des substances naturelles isolées de plantes Beninoises, Faculté de pharmacie de Strasbourg, 248p.
- 24- Nergard, Cecilie Sogn ; Mastsumoto, Tsukasa ; Inngjerdingen, Marit ; Inngjerdingen, kari; Hokputasa, Sanya; Harding, Stephen E.; Michaelsen, Terje E.; Diallo, Drissa; Kiyohara, Hiroki; Paulsen, Berit Smestad; Yamada, Haruki. (2005).** Structural and immunological studies of a pectin and a pectic arabinogalactan from *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. Ex Walp. (Asteraceae). Carbohydrate Research, 340 (1), 115-130.
- 25- Organisation Mondiale de la Santé; (2000).** La situation actuelle du paludisme dans le monde ; comité OMS expert du paludisme. Genève. 3p.
- 26- Organisation Mondiale de la Santé ; (2002) ;** Stratégie de l’OMS pour la Médecine Traditionnelle ; Genève, 65p.

- 27- Oyedeji, O A; Koenig, W.A.** (2001). Volatile constituents of the leaves of *Clerodendrum capitatum* L. Journal of Essential Oil-Bearing Plants, 5(1). 8-13.
- 28- P. Crété** (1965). Précis de botanique systématique des Angiospermes. **Tome II.** Masson-Paris. 429p.
- 29- Politique Nationale De lutte Contre le Paludisme** (28/07/06)
- 30- Rabe, T.; Mullholland, D.; Van Staden, J.** (2002). Isolation and identification of antibacterial compounds from *Vernonia colorata* leaves. Journal of ethnopharmacology. 80(1), 91-94.
- 31- Sangare, D.** (2003). Etude de la prise en charge du paludisme par les thérapeutes traditionnels dans les aires de santé de Kendie (Bandiagara) et de FINKOLO (Sikasso). These de pharmacie, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Otonto-Stomatologie de Bamako. 95p.
- 32- Sahouo, G. Bedi; Tonzibo, Z.F.; Boti, B.; Chopard, C.; Mahy, J.P.; N'guessan, Yao, T.** (2003). Anti-inflammatory and analgesic activities: chemical constituents of essential oils of *Ocimum gratissimum*; *Eucalyptus citriodora* and *Cymbopogon giganteus* inhibited lipoxygenaseL-1 and cyclooxygenase of PGHS. Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia , 17(2) 191-197.
- 33- Sanogo, Rokia; Germano, Maria Paola; De Tommasi, Nunziatina; Pizza, Cosimo; Aquino, Rita.** (1997). Vernoniosides and androstane glucosides from *Vernonia kotschyana*. Phytochemistry, Volume 47 (1), 73-78.
- 34- Senatore, Felice; Formisano, C.; Sanogo, Rokia** (2004). Essential oil from aerial parts of *Vernonia colorata* Drake and *Vernonia nigritiana* Oliver et Hiern. (Asteraceae) growing in Mali. Journal of Essential oil-Bearing plants, 7(3), 267-274.
- 35- Sidibé, Lassine; Chalchat, Jean-claude; Garry, Raymond-Phillippe; Lacombe, Luce; Harama, Moussa.** (2001). Aromatic plants of Mali (IV): Chemical composition of essential oils of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf and

Cymbopogon giganteus (Hochst.) Chiov. Journal of Essential oil Research, 13(2) 110-112.

36- Sidibé O. (2005). Etude de *Argemone mexicana* Linn dans le traitement traditionnel du paludisme non compliqué dans le village de Missidougou région de Sikasso-Mali. Thèse de pharmacie, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Bamako. 137p.

37- Sy G Y; Nongonierma R .B; Sarr M; Cisse A; Faye B. (2004). Antidiabetic activity of the leaves of *Vernonia colorata* (Willd.) Drake (Compositae) in alloxan-induced diabetic rats. Dakar medical, 49(1), 36-39.

38- WWW.Trozuni-hohenshen-de/research/Thesis/PhDtheser/DifPhDloads/Bohlinger.Fr.pd (08/03/2007)

39- WWW.nutranews.org/article.php3?id_rubrique=24&id_article=170 (29/02/2008)

40- WWW.amigos_de_mocambique.org/infos/article_php_3?id_article=40_13K (29/02/2008)

41- WWW. Infectiologie.iquebec.com (Fiche %20maladies/infections%20parasitaires/Paludisme.htm (20/06/2008)

42- [WWW.fr.wikinews.org/wiki/Mali : essais prometteurs d'un possible vaccin contre le paludisme](http://WWW.fr.wikinews.org/wiki/Mali:_essais_prometteurs_d'un_possible_vaccin_contre_le_paludisme) (20/06/2008)

43- Zdero, C.; Bohlman, F.; Wasshausen, D.; Mungau, M.G. (1991). Glaucolides from old world *Vernonia* species. Phytochemistry, 30(12), 4025-08p.

Annexes

Annexe N°1 : Composition des réactifs

► Réactif de BALJET

Acide picrique.....1 g
Ethanol à 50° QSP.....100 cc

► Réactif de DRAGENDORFF

Nitrate de bismuth pulvérisé.....20,80 g
Iode.....38,10g
Iodure de sodium anhydre.....200 g
Eau distillée QSP1000 CC
Agiter pendant 30 mn

► Réactifs du DPPH

1,1diphényl 2 picrylhydrazyle en solution méthanolique à 2 mg/ ml (M/V).

► Réactifs de FEHLING

Solution A :

CuSO₄.....35 g
Eau distillée.....500cc
H₂SO₄.....5 cc
Laisser refroidir et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.

Solution B :

Sel de Seignette150 g
Eau distillée.....500 cc
Refroidir et ajouter 300 cc de lessive non carbonatée à 1 litre avec de l'eau distillée.

NB : Mélanger les deux solutions à volume égal au moment de l'emploi.

► Réactifs de GODIN

Solution A :

Vanilline.....1 g

Ethanol à 95° alcoolique..... 1000 ml

Solution B :

Acide perchlorique.....3 cc

Eau distillée.....100 cc

Mélanger les deux solutions au moment de l'emploi, ensuite pulvériser sur les plaques CCM avec une solution de H₂SO₄ à 4 %.

► **Réactifs de GUIGNARD (Papier picrosodé)**

Acide picrique.....1 g

Carbonate de sodium.....10 g

Eau distillée QSP100 cc

► **Réactifs de KEDDE**

Acide dinitro 3,5 benzoïque.....1 g

Ethanol à 95° alcoolique QSP.....100 cc

► **Réactifs de MAYER**

Iodure de potassium.....25 g

Chlorure mercurique.....6,77 g

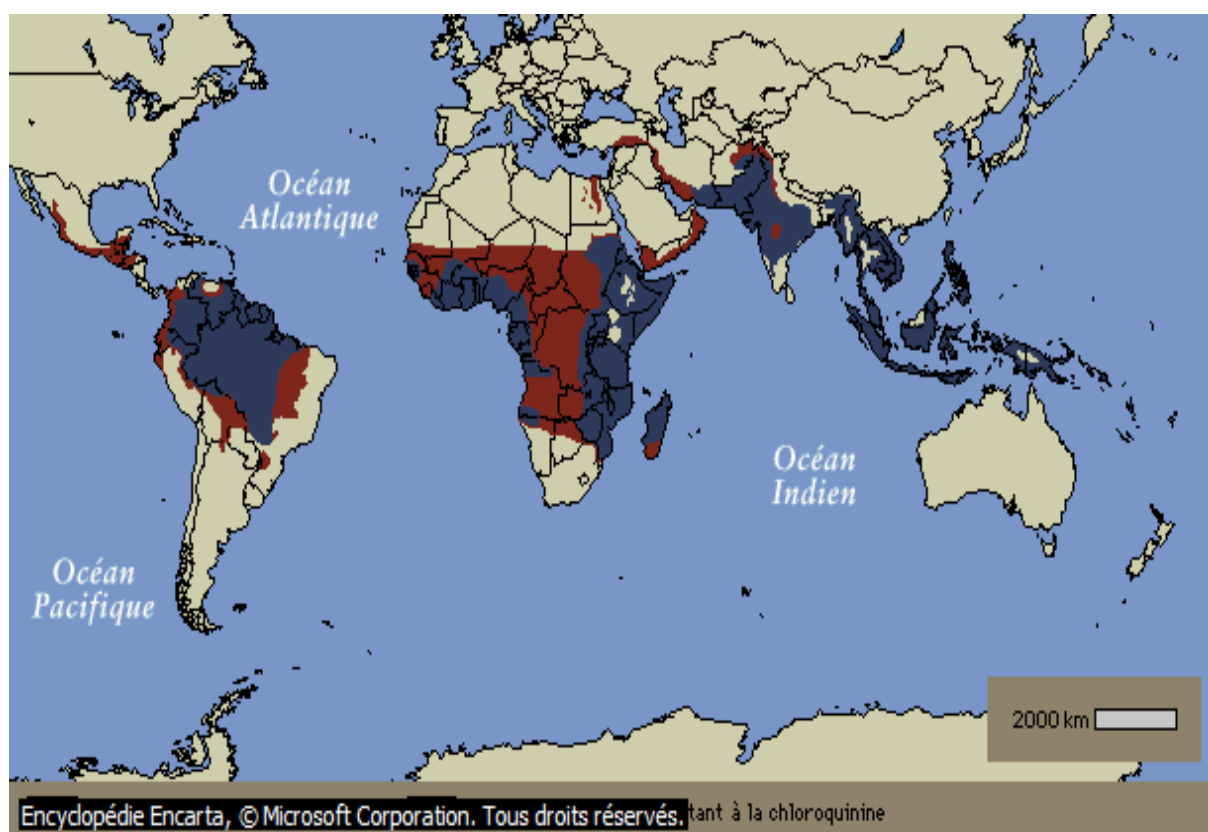
Eau distillée QSP.....50 cc

► **Réactifs de RAYMOND MARTHOUD**

1,3 dinitrobenzène.....1 g

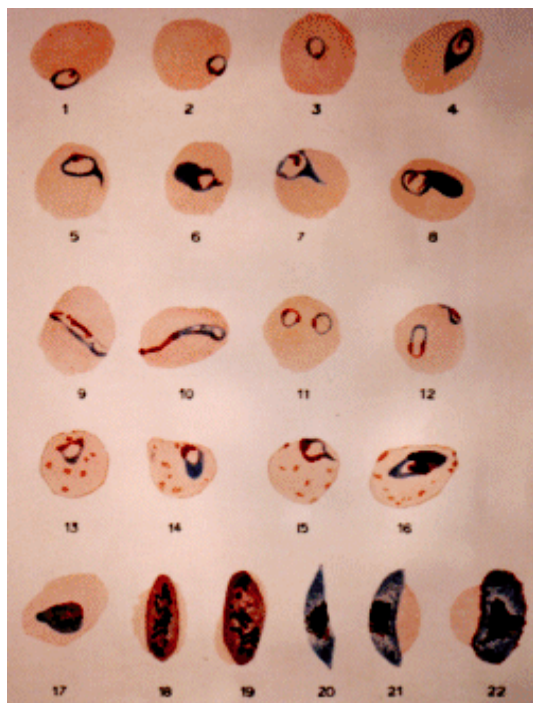
Ethanol à 96° alcoolique QSP100 ml

Annexe N°2 : La répartition géographique du paludisme dans le monde

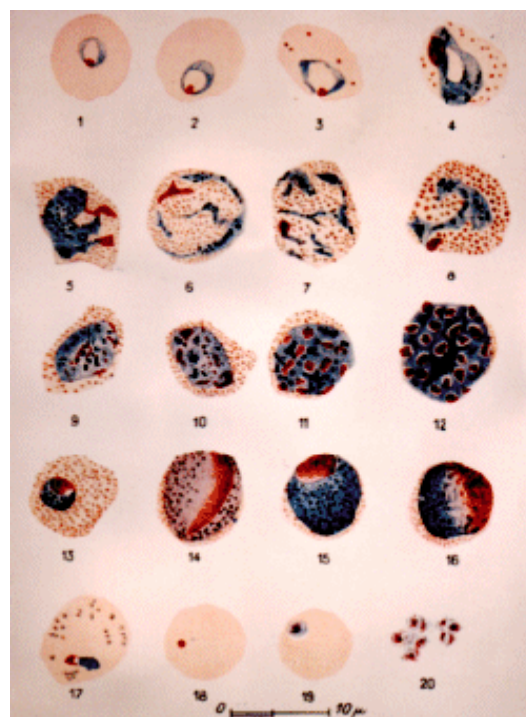


Annexe N°3 : Les différentes espèces plasmodiales pathogènes pour l'homme.

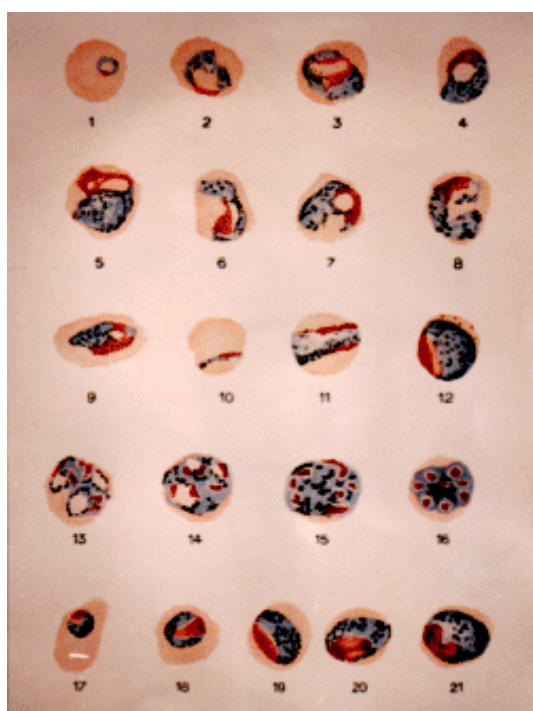
Plasmodium falciparum



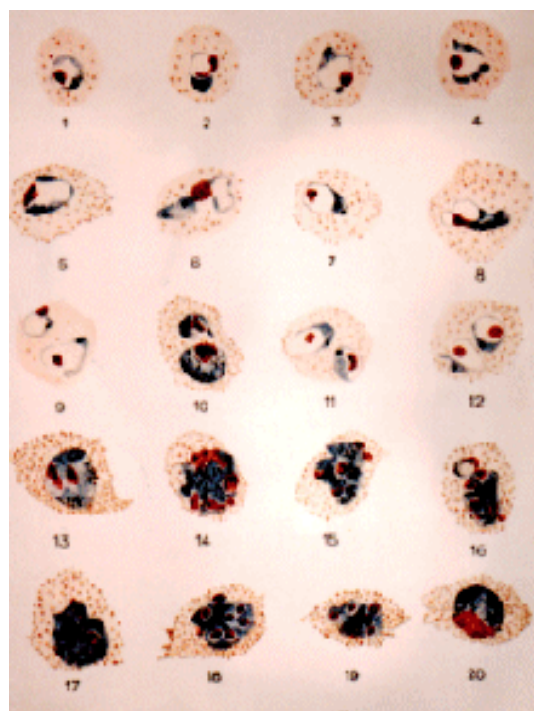
Plasmodium vivax



Plasmodium malariae



Plasmodium ovale



FICHE SIGNALÉTIQUE

NOM : TOUNKARA

PRENOM : BOUBACAR

TITRE DE LA THESE : Etude phytochimique et des activités biologiques de cinq plantes utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme au Mali : *Vernonia colorata* Willd. Drake. (Asteraceae), *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. (Asteraceae), *Vernonia nigritiana* Oliv et Hiern (Asteraceae), *Cymbopogon giganteus* Chiov (Poaceae) et *Clerodendrum capitatum* Willd. Schum (Verbanaceae)

ANNEE : 2007-2008

VILLE DE SOUTENANCE : BAMAKO

PAYS D'ORIGINE : MALI

LIEU DE DEPOT : bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (F.M.P.O.S.).

SECTEUR D'INTERET : Médecine traditionnelle

Résumé :

Notre travail a porté sur l'étude phytochimique et des activités biologiques de cinq plantes utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme au Mali :

Vernonia colorata, *Vernonia kotschyana*, *Vernonia nigritiana*, *Cymbopogon giganteus* et *Clerodendrum capitatum*.

Du point de vue screening phytochimiques, nous avons retrouvé les coumarines, les flavonoïdes, les hétérosides cardiotoniques, les oses et holosides, les saponosides et les tanins.

La teneur en eau et des cendres ont permis d'apprécier la bonne qualité de nos échantillons

Certains extraits ont présentés une activité antioxydanté. Les extraits apolaires et méthanoliques sont les plus actifs *in vitro* sur le *Plasmodium* : Hexane et dichlorométhane de *Vernonia colorata*, l'hexane et DCM de *Vernonia nigritiana*, méthanolique de *Vernonia nigritiana*, hexane de *Clerodendrum capitatum* et DCM des feuilles de *C. giganteus*

Mots clés : Médecine traditionnelle, *Vernonia colorata*, *Vernonia nigritiana*, *Vernonia kotschyana*, *Cymbopogon giganteus*, *Clerodendrum capitatum*, Paludisme, Phytochimie, Antioxydant, Mali.

Description Sheet

Name : TOUNKARA

Surname : BOUBACAR

These Title “PHYTOCHEMISTRY STUDY AND FIVE PLANTS USED IN
MALARIA TREATMENT IN MALI BIOLOGICAL ACTIVITY”

Year: 2007-2008

City of presentation: BAMAKO

Country/Stade: Mali

Deposit venue: The Medecin and Pharmacology and Ondotology and
Stomatology Faculty (FMPOS)

Interest field: Traditional Medecin

Summary:

Our Study has been based on the study of phytochemistry and five plants
biological activity in the malaria treatment in Mali.

As screening is concerned on phytochemistry, we find the presence of coumarins,
flavonoids, cardiotonic heterosides, osides et holosides, saponosides, and the tannins.
The water content and ashes allowed us to appreciate the good quality of our
plants.

Some extracts have presented an anti-oxidation activity.

Apolar extract and alcoholic are the most active in-vitro on the Plasmodium.

Key words: Traditional Medecin, *Vernonia Colorata*, *Vernonia kotschyana*,
Vernonia nigritiana, *Cymbopogon giganteus*, *Clerodendrum capitatum*, malaria,
phytochemistry, anti-oxidation, Mali

Serment de Galien

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

- **D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;**
- **D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**
- **De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et de sa dignité humaine.**
- **En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.**
- **Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.**
- **Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.**

Je le jure !