

UNIVERSITE DE BAMAKO

Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Année universitaire 2007-2008



N°...

THESE

ETUDE DE LA PHYTOCHIMIE ET DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DE TROIS (03) PLANTES : *Terminalia avicennioides* Guill. Perr (*Combretaceae*), *Combretum molle* G. Don (*Combretaceae*), *Securinega virosa* Baill. (*Euphorbiaceae*).

Présentée et soutenue publiquement le devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par Monsieur : **MORY ELIMANE MARIKO**

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

JURY

Président :	Professeur	Moussa	HARAMA
Membres :	Professeur	Benoît Y.	KOUMARE
	Docteur	Sekou	BAH
Directeur :	Professeur	Drissa	DIALLO

SOMMAIRE

SOMMAIRE

SOMMAIRE.....	II
DEDICACES & HOMMAGES	IV
REMERCIEMENTS	VII
RESUME	XII
LISTE DES FIGURES	XIV
LISTE DES TABLEAUX	XV
SIGLES ET ABREVIATIONS	XVI
INTRODUCTION	1
MOTIVATIONS	4
OBJECTIFS.....	4
GENERALITES	5
1. Rappel sur les Antioxydants.....	6
1-1- Les radicaux libres	6
1-2- Les antioxydants de l'organisme	7
1-3- Rôle des antioxydants dans la lutte contre le vih et le sida.....	8
1-4- Méthodes d'étude des antioxydants	8
2. Rappel sur le système immunitaire	10
2-1- Définition de l'immunité :	10
2-2- Différents types de réponse de l'immunité :.....	10
2-3- Immunostimulation – Immunomodulation :	11
2-4- Le système du Complément.....	11
4- Rappel sur le système cholinergique	16
4-1- Parasympathomimétiques directs.....	16
4-2- Parasympathomimétiques Indirects	17
4-3- Quelques structures chimiques.....	18
5- Monographie des plantes :.....	19

TRAVAUX PERSONNELS	31
1. METHODOLOGIE :.....	32
1.1. ETUDE PHYTOCHIMIQUE :.....	32
1.2. DOSAGES :.....	39
1.3. EXTRACTIONS.....	43
1.4. CHROMATOGRAPHIE	48
2. ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES.....	50
2.1. DETERMINATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	50
2.2. DETERMINATION DE L'ACTIVITE DE FIXATION DU COMPLEMENT	50
2.3. DETERMINATION DE L'ACTIVITE ANTI-CHOLINESTERASE.....	52
3. RESULTATS :	55
3.1. ETUDES PHYTOCHIMIQUES :	55
3.2. TESTS BIOLOGIQUES	66
4. ANALYSES ET DISCUSSION	70
5. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	76
6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	82
7. GLOSSAIRE.....	86
8. FICHE SIGNALETIQUE	89

DEDICACES & HOMMAGES

Je Dédie Ce Travail

A ALLAH

« Au nom de Dieu le miséricordieux le tout miséricordieux louange à Dieu, seigneur des mondes, le très miséricordieux le miséricordieux. Maître du jour de la Rétribution.

C'est toi que nous adorons et c'est toi dont nous implorons secours. Guide-nous dans le droit chemin, le chemin de ceux que tu as comblé de bienfaits, non pas ceux qui ont encouru ta colère, ni des égarés »

Mon Dieu la grâce infinie est à toi qui m'as permis d'arriver à ce stade. Ne m'oublie pas pour le reste afin que ma vie est tout son sens car tu nous as crée dans le seul but de t'adorer.

Reprends, ô mon Dieu, ta grâce infinie, ta miséricorde non calculable, Ta clémence grande sur l'humanité pour éradiquer le SIDA.

Amine !

A mon père Professeur Pharmacien Colonel Elimane MARIKO

Papa, tu nous as inculqués le sens du travail bien fait, de l'honneur, de la dignité, de la rigueur du courage, de la persévérance le respect de soi et surtout de la discipline etc.

Tu nous as toujours dit ceci « ne pense jamais du mal de ton prochain, et tu iras loin »

Tu nous as toujours assisté dans les épreuves difficiles, tu n'as ménagé aucun effort pour que nous accédions à une instruction meilleure. Cher père, tu fais notre fierté aujourd'hui.

Puisse ce travail soit une grande satisfaction pour toi, c'est la réalisation d'un des profonds vœux que tu formules à l'égard de tes enfants.

Puisse dieu t'accorde une bonne santé et longue vie

A ma mère Siridiè dite Awa MARIKO

Maman, c'est ici le lieu de te remercier en notre nom à tous les quatre pour les prières, bénédictions et les sacrifices par toi endurés afin de nous faire droits. Tu nous as assisté pendant nos épreuves préscolaire, scolaire, et étudiante. Attentive, compréhensive, modeste, généreuse, pleine d'amour et de sérénité. Tu n'as ménagé aucun effort à mettre à ma disposition les maigres Moyens pour me permettre de réussir. On ne peut jamais assez remercier une mère. Aujourd'hui maman je pense que tu es une mère comblée. Que dieu te garde longtemps parmi nous dans la santé.

Je t'aime maman

A ma Marâtre Aminata KONE

Le métier de Sage-femme que tu exerces fait en réalité de toi ta dignité. Ta compréhension et ton soutien n'ont jamais fait défaut. Tes conseils, bénédictions et ton affection m'ont toujours accompagné tout au long de l'élaboration de ce travail.

Puisse Allah t'accorder bonne santé et longévité. Amen.

A mes frères Issiaka, Ibrahim Bénogo, Mamadou, et Adama MARIKO

J'espère que malgré le temps que m'a pris la préparation de cette thèse, j'ai su vous donner l'attention que vous méritez. Que ce travail vous serve d'exemple.

Je souhaite beaucoup de réussite dans toutes vos entreprises.

REMERCIEMENTS

Ma patrie, la Nation Malienne

Pour l'effort pour ma formation

A tonton Dr. Mantala SANGARE.

A tous les travailleurs de l'Officine Coura,

A mes tontons du groupe CTSP, Tonton Oumar et Famille

A mes jeunes frères du groupe OUT-LAOUZ,

A tante Dabel

A tante Colonel Sali

Au Dr. Maïmouna OULOGUEM, Dr. Patomo Dominique HARAMA

A tante Kadiatou SYLLA depuis Marseille

A mes tantes Djeneba GUSSE, Atouma, Mamou FANE, Bassira KEITA, Assan DIAKITE, Awa FOFANA, Assetou, Mariam SAMAKE dite Barico

A la famille de l'Adjudant chef Major N'tio COULIBALY ex base-aérienne et Tonton N'tiééré

A la famille du Colonel Chaka DIARRA au quartier du fleuve tante Korotoumou COULIBALY,

A la famille du Général Bréhima Coulibaly à la cité des officiers tante Adja, Awa, Issa, Kadi COULIBALY.

A la famille du Colonel Alassane TRAORE

A la famille du Général Tiécoura DOUMBIA,

A la famille de feu Colonel KOUREICH, tante Ouley Fatoumata, Aïché, Abdoul Kader, Mamoutou, Boubacar, KOUREICH.

A la famille de feu Colonel Boubacar BA, tanti Mah DOUGARA

A la famille de tonton Djibril Sangaré, tante Assan, Abdoulaye Bassiriki, Seydou cheick, Abou Aboubacar.

A la famille du Colonel Boubacar KONATE (fanfare)

A la famille du Colonel Nouhoum SANGARE

A la famille du Lt Colonel Ousmane D MAIGA merci pour votre aide précieuse

Au Pharmacien Lt. Alassane BA grand frère de tous les temps, tu as toujours répondu présent, merci pour tes conseils.

A mon Ami et frère Lt. Salif Diarra plus qu'un ami tu as été un frère pour moi, que dieu te donne une vie longue.

Au Lt. Moussa DIALLO et Famille, Cdt. Ousmane OUELE, Cpt. Issa Kaya, Wintin et Famille, KOUYATE, Seydou DIARRA, Seydou FOFANA, Bébé.

A amis Siriki KOUMA, Fousseni COULIBALY, Mody Diallo, Macane COULIBALY, EOA GAUCHE, merci mille fois pour cette ambiance studieuse que nous continuons d'entretenir.

A mes amies, Saran DANSOKO, Fanta DABO, Awa SARR, Alima DIAWARA, Chantale, Hendati DOUCOURE, Fatoumata KONTA, Kadiatou Boly KEITA, Mariam TOURE dite Aïya, Mariam B DOUMBIA dite Baka, Bernadette COULIBALY, Marte & Giselle SOMBORO, Ouelymatou KONATE, Adiarra BISSA, Djoukou GNIATAO .

A mes sœurs, Douco KONARE, Coumba DIALLO, Afoussatou DIRRA, Korotoumou HAIDARA, Aiché Ben NIAMBELE.

A mes camarades internes au DMT

Boubacar TOUNKARA, Samba SANOGO, Mahamane HAIDARA dit smdos, Ana chirfi MAIGA, Mariam DIAKITE, Armelle LOKO, Abdoulaye Z SANGARE, ATTAHERE Ag Mohamed, Floran DACOOU.

A mes cadets internes du DMT

Sali, Ester, Ahmed, Ouassa, Iamine. Phillip, Persévérance, courage et plein de succès.

A tous enseignants du Lycée Technique de Bamako

A mes Professeurs de la FMPOS

Au personnel du Département Médecine Traditionnelle : avec vous j'étais en famille ; merci pour vos conseils de tous les jours.

A mes camarades de promotion de la FMPOS

Pour ces années de travail, pour tous les moments de joie et de peine.

Puisse le Seigneur nous permettre d'œuvrer pour le développement, la paix et la santé dans nos différents pays et dans le monde.

A tous ceux qui de près ou loin m'ont aidé à réaliser ce travail.

A tous ceux qui seront frustrés quand t'ils ne verront pas leur nom. Ce travail est aussi le votre.

MENTION SPECIALE

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

Au Professeur Drissa Diallo pour la formation reçue

Au Professeur Moussa Harama, Gaoussou Kanouté et Amadou Diallo

Au Dr Rokia Sanogo pour ses conseils et critiques

Au Dr Boubou SANGHO pour votre aide et conseils.

Au Professeur Albert Yénnémigué Dembélé, Amadou Diallo pour leur soutien Morale et encouragement.

Au personnel du Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) :

A mon ami, mon chef et surveillant général du DMT,

A tonton Fagna Sanogo, tonton Famolo Diarra, tanti Tapa

L'équipe de production : Mr Camara Adama, l'Imam Fousséiny Koné, Mme Dicko,

A la caissière du DMT Mme Diarra Fatoumata, Saoulata Mahane Maiga

Aux Secrétaires du DMT : Rokia, Kadi, Aissata

Au personnel du laboratoire national de la santé (LNS) ; plus particulièrement au Directeur Général Pr Gaoussou Kanouté, Mme Koné Adeye, Mme YATASSAYE.

A mes meilleurs amis et compagnons de galère :

Amadou DIARRA, Lassina COULIBALY, Modibo COULIBALY Merci pour les moments passés et bonne carrière à tous.

Au comité L'IEEMA de la FMPOS

HOMMAGES AUX HONORABLES MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE JURY,

Professeur Moussa HARAMA

Professeur de chimie organique et de chimie analytique à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS),

Responsable de l'enseignement de la chimie organique à la FMPOS

Honorable maître, vous nous faites ce jour, un honneur en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Votre grande sagesse, vos qualités humaines font de vous un éminent homme de science reconnu de tous.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude et de notre respect.

A NOTRE MAITRE ET MEMBRE DU JURY

Professeur Benoît KOUMARE

Professeur en chimie Analytique à la FMPOS, spécialiste en neuropharmacologie,

Pharmacien chef du CHU « Point G » referend de pharmacie humanitaire au Mali

Cher maître, nous sommes très sensible à l'honneur que vous faite en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Votre détermination pour le travail bien fait, votre humilité font de vous un maître éminent.

Nous vous prions d'agrèer, cher maître, l'expression de notre profonde gratitude et de notre profond respect.

A NOTRE MAITRE ET MEMBRE DU JURY

Docteur Sekou BAH,

Docteur en Pharmacologie, master en santé communautaire Internationale.

Maitre assistant à la FMPOS , Cher maître, merci d'avoir accepter de juger ce travail.

Vous nous avez impressionné par votre constante disponibilité, votre modestie et votre souci pour le travail bien fait

Nous vous prions d'agréer, cher maître, l'expression de nos sincères remerciements et de notre profonde gratitude.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Professeur Drissa DIALLO

Maître de conférences agrégé de Pharmacognosie, 1er Assesseur de la FMPOS,

Responsable de l'enseignement de la Pharmacognosie et de la Phytothérapie à la FMPOS,

Chef du Département de Médecine Traditionnelle de l'INRSP.

Encadrer n'est pas une tâche facile, cher professeur, lorsqu'on sait qu'il faut gérer talents et faiblesses. Nous avons, avec intérêt, apprécié votre rigueur.

Que dire d'un homme aussi sympathique, dévoué et disponible sans cesse ?

Saurions-nous trouver les bons qualificatifs dans notre vocabulaire ?

Puisse beaucoup bénéficier encore de votre savoir-être et de votre savoir-faire.

RESUME

Notre étude a concerné les écorces des racines de trois (03) plantes de la pharmacopée traditionnelle malienne *Terminalia avicennioïdes*, *Combretum molle* et *Securinega virosa*.

Dans un premier temps nous avons effectué un screening phytochimique de ces plantes par des réactions en tube et par chromatographie sur couche mince (CCM). Les réactions de caractérisation en tube ont montrée la présence de plusieurs groupes chimiques qui pourraient être responsables des activités pharmacologiques retrouvées au cours de l'étude notamment les coumarines, les stérols, les triterpènes, et les tanins.

Cependant il faut noter l'absence de saponoside dans l'échantillon de *S. virosa* et de triterpènes dans *C. molle*. Les flavonoïdes ont été absents dans tous nos échantillons.

La chromatographie sur couche mince réalisée sur les extraits a permis de mettre en évidence quelques uns de ces groupes chimiques tels que les alcaloïdes dans *S. virosa*.

Après la phytochimie, nous avons procédé à l'évaluation des activités biologiques.

Le test **antioxydant** a surtout été positif avec les extraits aqueux et hydroalcooliques de *T. avicennioïdes* et de *C. molle* après révélation au DPPH (1-1 Diphényl 2 picryl hydrazide) sur plaque de CCM. Toute fois les extraits organiques n'ont pas démontrée une activité significative dans cette étude.

L'activité sur la **Fixation du complément** a démontrée les meilleurs pourcentages d'inhibition avec des IC_{50} de 19,20 et 12,30 μ g/ml respectivement pour le macéré et le décocté de *C. molle* et 34,00 μ g/ml pour le décocté de *T. avicennioïdes*, comparativement à la fraction de pectine utilisée comme référence qui provoquait l'inhibition de l'hémolyse à la dose de 112,40 μ g/ml.

Enfin parmi toutes les activités biologiques, l'**activité Anticholinestérase** s'est avérée négative par la méthode CCM pour l'ensemble des extraits testés dans nos conditions expérimentales.

Mots clés : Mali, Plante Médicinale, Activités Biologiques.

LISTE DES FIGURES

Figure n° 1: Voies d'activation du système du complément.....	14
Figure n° 2: <i>T. avicennioïdes</i> (plante)	20
Figure n° 3: <i>T. avicennioïdes</i> (racines).....	20
Figure n° 4: <i>C. molle</i> (Feuilles)	24
Figure n° 5: <i>C. molle</i> (Racines)	24
Figure n° 6: <i>S. virosa</i> (plante).....	28
Figure n° 7: <i>S. virosa</i> (Racines).....	28
Figure n° 8 : Schéma de l'extraction par décoction.....	44
Figure n° 9: Schéma d'extraction par macération à l'eau	44
Figure n° 10: Schéma d'extraction par macération éthanolique	45
Figure n° 11: Schéma d'extraction par les solvants à polarité croissante	46
Figure n° 12: Schéma d'extraction par digestion et décoction	46
Figure n° 13: Schéma du principe de l'activité Anticholinestérasique	52
Figure n° 14: CCM des extraits d'éther de pétrole	59
Figure n° 15: CCM des Extraits Dichlorométhane.....	60
Figure n° 16: CCM des Extraits Polaires	61
Figure n° 17: Extraits DCM	63

Figure n° 18: Extraits Ether de Pétrole.....	63
Figure n° 19: Révélation avec le réactif de Godin des extraits polaires.....	64
Figure n° 20: Révélation avec le réactif de Dragendorff des extraits polaires.....	65
Figure n° 21: Chromatogrammes des extraits polaires révélés par le DPPH.....	66
Figure n° 22: Courbes représentant les résultats de l'activité sur la fixation du complément .	67
Figure n° 23: Chromatogramme des Extraits (DCM) de l'activité anticholinestérasique.....	68
Figure n° 24: Chromatogramme des Extraits MeOH de l'activité anticholinestérasique	68

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Conditions de l'extraction des drogues au soxhlet.....	48
Tableau II: Pourcentage des substances dosées des drogues.....	55
Tableau III: Résultats des extractions avec l'eau et l'éthanol 70% des drogues.....	56
Tableau IV: Résultats des extractions au soxhlet des drogues	57
Tableau V: Résultats des études Phytochimiques	58
Tableau VI: Résultats de la CCM des Extraits d'éther de pétrole.....	59
Tableau VII: Résultats de la CCM des Extraits Dichlorométhane (DCM).....	60
Tableau VIII: Résultats de la CCM des extraits polaires	61

SIGLES ET ABREVIATIONS

AcOEt :	acétate d'éthyle
ATCI :	Acéthylthiocholine iodide
BAW :	butanol - acide acétique - eau
CCM:	chromatographie sur couche mince
CHCl ₃ :	chloroforme
DCM :	dichlorométhane
DMT :	département médecine traditionnelle
DTNB :	5,5'- Dithiobis-2nitrobenzoïque acide
EC .Ta :	écorces des racines <i>Terminalia avicennioïdes</i>
EC. Cm :	écorces des racines <i>Combretum molle</i>
EC. Sv :	écorces des racines <i>Securinega virosa</i>
EtOH :	éthanol
FeCl ₃ :	chlorure ferrique
FMPOS :	faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie
g :	gramme
HCl :	acide chlorhydrique
IFN :	interféron
J	jour
INRSP :	institut national de recherches en santé publique
l :	litre
m :	mètre
MeOH :	méthanol
mg :	milligramme
ml :	millilitre
mn :	minute

mm :	millimètre
nm :	nanomètre
OMS :	organisation mondiale de la santé
PVvih :	personnes vivant avec le VIH
Rf :	rapport frontal
s	seconde
SIDA :	syndrome immunodéficitaire acquis
SNA :	système nerveux autonome
SNC :	système nerveux central
vih :	virus de l'immunodéficience humaine
μg :	microgramme
μl :	microlitre

Quelques phonétiques Bambara

Bamanan	(Français)
ε	[è]
◦	[ò]
λ	[gn]
η	[ngu]
en	[èn]
u	[ou]
en	[én]
un	[oun]
◦n	[on]
C	[tch]
J	[dj]

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Malgré les progrès réalisés en médecine au cours des dernières décennies, de nombreux traitements médicamenteux restent insuffisants face aux fléaux tels que la malaria, première cause de mortalité dans le monde, le cancer, la maladie d'Alzheimer, les infections virales et bactériennes. A ceci, s'ajoute l'augmentation de l'incidence des infections fongiques avec l'émergence de nouvelles maladies qui affaiblissent le système immunitaire (sida), ainsi que l'apparition de souches de microorganismes de plus en plus résistantes aux traitements connus.

L'OMS estime que 80% de la population des pays à revenu faible ou moyen comptent en premier lieu sur la médecine traditionnelle pour les soins primaires. Bien que l'on ne connaisse pas le nombre exact des tradipraticiens de santé dans la plupart des pays, ils forment un groupe de praticiens important que les communautés respectives reconnaissent, auxquels elles font confiance et qu'elles respectent.

Les tradipraticiens prodiguent des soins personnalisés qu'ils adaptent pour répondre aux besoins et aux attentes de leurs patients. Ils sont par conséquent des agents de communication importants en matière de questions sociales et de santé. Ils bénéficient d'une plus grande crédibilité, en particulier en ce qui concerne les aspects sociaux et spirituels.

Depuis les indépendances, le Mali est engagé dans une politique active de valorisation de la médecine traditionnelle. Cette politique a pris un nouvel élan, entre autres, l'adoption par le Gouvernement en octobre 2005 du document de Politique Nationale de Médecine Traditionnelle (PNMT).

La médecine traditionnelle non seulement offre des possibilités de traitements efficaces et accessibles pour les pathologies prévalant dans les communautés, mais constitue aussi un héritage culturel national et un moyen de relier les populations à leur propre culture, leur propre histoire et aussi l'utilisation des plantes pour le traitement de nombreuses maladies.

Les plantes sont depuis longtemps utilisées dans nos sociétés traditionnelles pour le traitement de nombreuses affections, de plus elles sont à l'origine de nombreux médicaments conventionnels.

De nombreuses plantes africaines, utilisées par les tradithérapeutes, sont passées au crible de la recherche pour leurs effets sur le VIH et le sida, avec des résultats très probants. Il s'agit des plantes d'Afrique Australe, Ethiopie, d'Egypte et du Rwanda.

A fin d'apporter notre contribution à la valorisation des ressources de la médecine traditionnelle au Mali, nous avons décidé d'étudier la phytochimie et les propriétés biologiques de trois (03) espèces de ces plantes de la pharmacopée traditionnelle malienne : *Terminalia avicennioides*, *Combretum molle* et *Securinega virosa*.

Notre travail a été motivé par :

MOTIVATIONS

- La volonté de promouvoir et de valoriser la médecine traditionnelle au Mali,
- La recherche de substances naturelles qui pourront être utilisées pour renforcer l'action du système immunitaire.

OBJECTIFS

Objectif Général :

Etudier la phytochimie et les activités biologiques des écorces de racines de *Terminalia avicennioïdes*, *Combretum molle* et de *Securinega virosa*

Objectifs Spécifiques :

- Identifier les groupes chimiques présents dans les écorces de racines de *Terminalia avicennioïdes*, *Combretum molle* et de *Securinega virosa*.
- Déterminer l'activité antioxydante des extraits de ces plantes.
- Déterminer l'activité sur la fixation du complément de ces extraits.
- Déterminer l'activité anticholinestérasique de ces extraits

GENERALITES

GENERALITES

1. Rappel sur les Antioxydants

➤ Définition

On nomme antioxydant, toute substance qui lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle d'un substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat (Cavin, 1999).

➤ Le stress oxydant

En situation physiologique il y a un équilibre parfait entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et les systèmes de défenses antioxydantes. On parlera de stress oxydant lorsqu'il y a un déséquilibre profond entre antioxydants et pro-oxydants en faveur de ces derniers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles (Pincemail et coll.1999).

1-1- Les radicaux libres

Plusieurs fonctions de l'organisme reposent sur une série de réactions chimiques que l'on regroupe sous le terme oxydation. Des molécules appelées radicaux libres sont les produits de dégradation naturels de l'oxydation. D'une part, la production de radicaux libres est utile parce que ces derniers peuvent aider les cellules du système immunitaire à lancer une attaque contre des tumeurs, des bactéries et des cellules infectées par des virus. Cependant, la production d'une grande quantité de radicaux libres sur une période prolongée risque de causer des problèmes pour l'organisme. Leur effet n'est pas sans rappeler celui de la rouille sur une voiture (http://www.catie.ca/herb_f.nsf 05-03-2007).

➤ Origines des radicaux libres

La pollution de l'environnement (automobiles, industries) génère les espèces réactives de l'oxygène.

- **Le tabac** : une bouffée de cigarette contient environ 1014 radicaux et aussi des traces d'ions métalliques pouvant réagir avec le peroxyde d'hydrogène.
- **Le vih** : l'infection au vih a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme. En effet, le vih endommage l'intestin de sorte qu'il soit moins apte à dégrader et à absorber les nutriments présents dans les aliments. Ces dommages surviennent lors des stades très précoces de l'infection au vih.
 - L'ensemble des besoins nutritionnels de l'organisme en protéine, en vitamines et en minéraux de haute qualité augmente au fur et à mesure que le vih exerce son emprise et que le système immunitaire est appelé à répondre aux attaques continues du virus. Entre autres, cette réponse consiste à remplacer des quantités énormes de

cellules immunitaires endommagées ou détruites par le VIH. Elle consiste également à fabriquer des messagers chimiques (interleukines et cytokines), des hormones et des anticorps sur une base quotidienne, voire plus fréquemment.

- Les cellules infectées par le VIH « volent » à l'organisme des nutriments essentiels dont elles ont besoin pour fabriquer de nouveaux virus de façon constante.

➤ **Dommages liés aux radicaux libres**

Les radicaux libres sont caractérisés par leur grande réactivité chimique et leur courte durée de vie (Allain, 1996).

De par leur nature instable les radicaux libres (ERO) sont toxiques et interagissent avec toute une série de substrats biologiques importants. Des dénaturations de protéines, des inactivations d'enzymes, une oxydation de glucose, des cassures au niveau de l'ADN avec possibilité de mutation et des processus de peroxydation lipidique peuvent alors apparaître avec des conséquences souvent irréversibles pour la cellule (Pincemail et Coll. 2002). C'est ainsi que certains radicaux libres semblent jouer un rôle dans les phénomènes de vieillissement, qui pourraient être la conséquence des dommages oxydants irréversibles accumulés tout au long de l'existence.

1-2- Les antioxydants de l'organisme

Lorsque des espèces réactives de l'oxygène sont produites *in vivo*, de nombreux antioxydants interviennent. Ce sont principalement des enzymes : la super oxydase dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPO), la catalase et aussi des molécules de faible masse moléculaire comme le tripeptide glutathion ou l'acide urique (Cavin, 1999).

Les antioxydants protègent l'organisme contre les effets néfastes des radicaux libres. Afin de se protéger contre une exposition excessive aux radicaux libres, l'organisme peut fabriquer ses propres antioxydants à partir des nutriments suivants qui se trouvent dans la nourriture et les suppléments nutritionnels :

- Cystéine
- Les minéraux comme le cuivre, le manganèse, le sélénium et le zinc
- Les vitamines du complexe B

La nourriture renferme également des antioxydants qui contribuent à protéger l'organisme, dont:

- **La vitamine C ou l'acide ascorbique** ; c'est un puissant réducteur qui joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. il se trouve dans les légumes, le chou, le poivron, le persil et les agrumes (Cavin, 1999).

- **La vitamine E (Tocophérol)** ; elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant. On la trouve dans les huiles végétales principalement l'huile de tournesol et de germe de blé, les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes.
- **Les caroténoïdes mixtes comme l'alpha-carotène, le bêta-carotène et le lycopène** ; ils servent de précurseur à la vitamine A. ils sont capables de réagir avec l'oxygène et empêchent ainsi l'oxydation des constituants biologiques. Ils sont présents dans *Amaranthus viridis* (épinard vert), *Daucus carota* (carotte), *Cucumis melo* (melon), *Capsicum annum* (poivron), *Brassica oleracea* (chou), *Mangifera indica* (mangue).
- **Le zinc** ; il est nécessaire pour la synthèse de l'ADN, des protéines. Il protège contre les radicaux libres. Les sources alimentaires sont les germes de blé, les fruits oléagineux, les fromages, les haricots, les légumes et les céréales.

1-3- Rôle des antioxydants dans la lutte contre le vih et le sida.

Les cellules du système immunitaire ont besoin d'antioxydants pour fonctionner correctement. Les chercheurs ont trouvé que les niveaux d'antioxydants présents dans certaines cellules immunitaires importantes, notamment les lymphocytes T CD4+ et les lymphocytes T CD8+, sont faibles chez les personnes vivant avec le vih (PVvih). Ce déficit en antioxydants risque d'affaiblir la faculté de ces cellules de lutter contre le vih. Il n'est donc pas surprenant de constater que les suppléments de N-Acétyl-Cystéine (NAC) une source de cystéine, ont procuré les bienfaits suivants dans le cadre d'au moins deux études :

- prolongation de la survie chez les PVvih.
 - amélioration du fonctionnement du système immunitaire
- (http://www.catie.ca/herb_f.nsf) 05-03-2007.

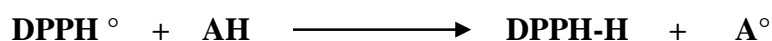
1-4- Méthodes d'étude des antioxydants

1-4-1- Test mesurant l'activité antioxydante sur le lysosome

Principe : ce test consiste en la détection de l'activité antioxydante d'une substance par oxydation des lysosomes par le 2, 2'-azobis, 2-amidinopropane (Amadou, 2004).

1-4-2- Réduction du radical 1,1'-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH)

Principe :



La réduction du DPPH[°] s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune.

Il consiste à déposer les produits à tester sur des plaques de CCM en aluminium recouvertes de gel de silice et à les développer dans des systèmes de solvants appropriés. Après séchage, les plaques sont révélées avec une solution méthanolique de DPPH à 2mg/ml. Les activités antiradicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-blanc sur fond violet (Cavin, 1999).

1-4-3- Test mesurant l'activité antioxydante au moyen des caroténoïdes

Principe: les plaques CCM sont préparées de la même manière que pour le test du DPPH, puis giclées avec une solution chloroformique à 0,5 mg/ml de β - carotène. La plaque CCM est ensuite exposée sous une lampe UV à 254 nm. Les zones antioxydantes apparaissent en jaune sur fond blanc. Il faut faire particulièrement attention aux substances déjà colorées en jaune, car elles peuvent donner de faux positifs (Cavin, 1999).

2. Rappel sur le système immunitaire

2-1- Définition de l'immunité :

L'immunité est un ensemble de mécanismes de défense d'un organisme contre les éléments étrangers à l'organisme, en particulier les agents infectieux (virus, bactéries ou parasites).

L'immunité met en jeu deux mécanismes contre les agressions des agents extérieurs : l'immunité à médiation humorale et l'immunité à médiation cellulaire.

- **L'immunité humorale** : est assurée par des molécules spécifiques de l'antigène, les anticorps, produits à distance de leur site d'action. Cette immunité est transmissible dans le sérum.
- **L'immunité cellulaire** : est assurée par les lymphocytes T sensibilisés porteurs de récepteurs spécifiques pour l'antigène. Elle est transmise par transfert cellulaire (Bach, 1985).
- **La Réponse Immunitaire : (RI)**

La pénétration d'un agent infectieux vivant dans un organisme pluricellulaire entraîne une série de réactions qui aboutissent à la réaction d'une immunité anti-infectieuse. Ces réactions ne se limitent pas à la notion de résistance induite ; elles constituent un ensemble de phénomènes intervenant dans la physiopathologie de la maladie infectieuse et peuvent aussi influencer la réponse même de l'hôte vis-à-vis de l'agent infectieux. Plusieurs types de cellules sont à l'origine de réponses immunitaires différentes et interagissent entre elles, soit en synergie, soit en opposition. Un antigène (Ag) entraîne le plus souvent la mise en œuvre simultanée de ces différentes catégories de réponse immunitaire.

2-2- Différents types de réponse de l'immunité :

- **Le système d'immunité naturelle ou innée :**

Il constitue la défense primitive, essentielle existant à la naissance dans l'organisme pour sa survie. Il met en œuvre des moyens de défense réagissant potentiellement avec l'agent pathogène pour éviter son envahissement. Il intervient à deux niveaux :

- En surface : par les barrières cutanéomuqueuses
- En profondeur : par la réaction inflammatoire

- **Le système d'immunité spécifique ou adaptative :**

L'immunité adaptative est activée lorsque l'immunité naturelle ne suffit pas à éliminer l'agent pathogène dans les conditions naturelles (Morin, 2001).

Les cellules de ce système sont essentiellement les lymphocytes. Les lymphocytes donnent naissance à deux types de réponse immunitaires : l'immunité cellulaire, l'immunité humorale.

2-3- Immunostimulation – Immunomodulation :

L'Immunostimulation est une notion qui est d'abord née de la notion d'adjuvant. Ainsi l'adjuvant se définit comme toute substance qui, injectée en même temps que l'antigène, augmente la réponse immunitaire envers celui-ci.

On a ensuite tenté de stimuler la capacité de réponse immunitaire de façon globale en dehors du problème d'une réponse spécifique à un Ag, d'où la notion d'« Immunostimulant ». Donc contrairement aux adjuvants qui augmentent le pouvoir immunogénique des Ag, les immunostimulants ont une action plus générale sur l'immunité, pouvant modifier spontanément plusieurs réactions immunitaires, grâce à une augmentation non spécifique et transitoire de la réaction immunitaire. Cette stimulation peut être globale ou s'appliquer à un type de réponse particulier. Après un premier enthousiasme issu des résultats sur les cancers expérimentaux, il a fallu bien admettre que la stimulation du système immunitaire était une arme à double tranchant puisse qu'elle peut agir aussi bien sur la suppression que sur la stimulation de la réponse immunitaire, d'où la notion « Immunomodulation » (Fofana, 2005).

2-4- Le système du Complément

2.4.1. Les fonctions du complément.

Les communications et les interactions entre les différentes molécules du système immunitaire s'effectuent grâce à des molécules solubles parmi lesquelles le complément.

Le rôle du complément est essentiel dans les mécanismes de défense immunologique. A coté de la défense de l'organisme, le complément intervient dans les processus pathologiques de type inflammatoire, dans certains phénomènes d'hypersensibilité et dans certaines affections auto immunes.

L'activation des protéines du système du complément entraîne de nombreuses propriétés permettant au complément de remplir trois fonctions essentielles : l'activation cellulaire, la cytolysse et l'opsonisation.

Elle est associée de façon intrinsèque à plusieurs réactions immunes telles que l'activation des macrophages et des lymphocytes, l'immunopotentialisation de la production d'anticorps, l'Immunomodulation de l'effet inflammatoire. Le complément est supposé contribuer à la prévention du développement des tumeurs (Niaré 2005).

- ***L'activation cellulaire***

L'activation cellulaire entraîne :

Une augmentation de la perméabilité vasculaire par le C₂ libre le C_{3a}, le C_{5a}.

Une augmentation de l'effet pro-coagulant due à la captation du glucose par action du C_{5a} et du C_{3a}.

La production de leucotriènes par les polynucléaires neutrophiles par action du C_{5a} et du C_{3a}.

- ***La cytolysse***

L'attaque membranaire et la lyse cellulaire sont provoquées par le complexe C_{5b}-C₉.

L'arrangement micellaire de la zone d'insertion du complexe C_{5b}-C₉ sur les membranes bactériennes ou virales est une structure suffisante pour entraîner la lyse de ces cellules.

- ***L'opsonisation***

L'opsonisation est induite par plusieurs facteurs : le C_{5a}, le complexe C_{5b}₆₇, le C_{3a} et le C_{3b}-B sont chimiotactiques pour les cellules phagocytaires

Les cellules cibles de toute nature recouvertes d'une pellicule de C_{3b} adhèrent fortement aux cellules phagocytaires.

2.4.2. Les protéines du complément.

Le complément est un ensemble de protéines. Les protéines du complément sont élaborées dans les hépatocytes exception faite pour le C₁ dont le principal lieu de synthèse est l'épithélium des tractus gastro-intestinal et uro-génital. Elles sont présentes avec leurs régulateurs dans le sérum humain. La majorité est constituée de protéases.

Les protéines du complément forment deux groupes enzymatiques reliés entre eux. Elles interagissent dans un ordre très précis en trois phases successives à la surface de la cellule ou en phase soluble.

L'activation du système du complément se fait par 2 voies principales, une troisième voie est en train d'être explorée.

- ***Les protéines de la voie classique.***

Elles sont numérotées de C₁ à C₉, bien que leur séquence d'activation diffère de la chronologie de découverte et de la numérotation des composants.

Ce sont des bêta globulines de poids moléculaires compris entre 200 et 400 KDa essentiellement constituées d'une ou de 2 chaînes peptiques réunies par des ponts disulfures.

C₄ à trois chaînes peptiques, C_{1q} a une structure unique. C₃ a la concentration sérique la plus élevée (600 à 1800mg/l). Il existe un inhibiteur de la voie classique spécifique de C_{1r} et de C_{1s}.

- ***Les protéines de la voie alterne.***

Elles sont constituées par le fragment C₃ et les facteurs H, I, B et P.

2.4.3. Les voies d'activation du complément.

Les voies d'activation des protéines du complément sont :

- L'activation par la voie classique
- L'activation par la voie alterne
- L'activation par la voie MBL (Mannan binding lectin) ou voie de la lectine

La voie classique est initiée par le complexe immunitaire Ag-Ac (IgM IgG) qui se fixe sur la protéine C₁ du complément.

La voie alterne est initiée au niveau de la protéine C₃ par les microorganismes, les protozoaires, et autres activateurs tels que les liposaccharides.

La troisième voie, récente est la voie anticorps MBL indépendante ou voie de la lectine. Elle est initiée par des sucres neutres mannane qui se lient au C_{1q}.

Le point commun des 3 voies est la genèse de la convertase de C₃ qui clive C₃ en C_{3b}. C'est la réaction centrale d'activation du complément.

Chaque enzyme est capable d'activer de nombreux précurseurs enzymatiques, le système forme une cascade d'amplification dont le résultat final est la formation du «complexe d'attaque de la membrane », responsable de la lyse des cellules.

Les deux dernières voies participent tôt aux mécanismes de défense naturelle de l'hôte non immunisé avant la production d'anticorps (Samaké, 1999).

2.4.4. Activation du système du Complément :

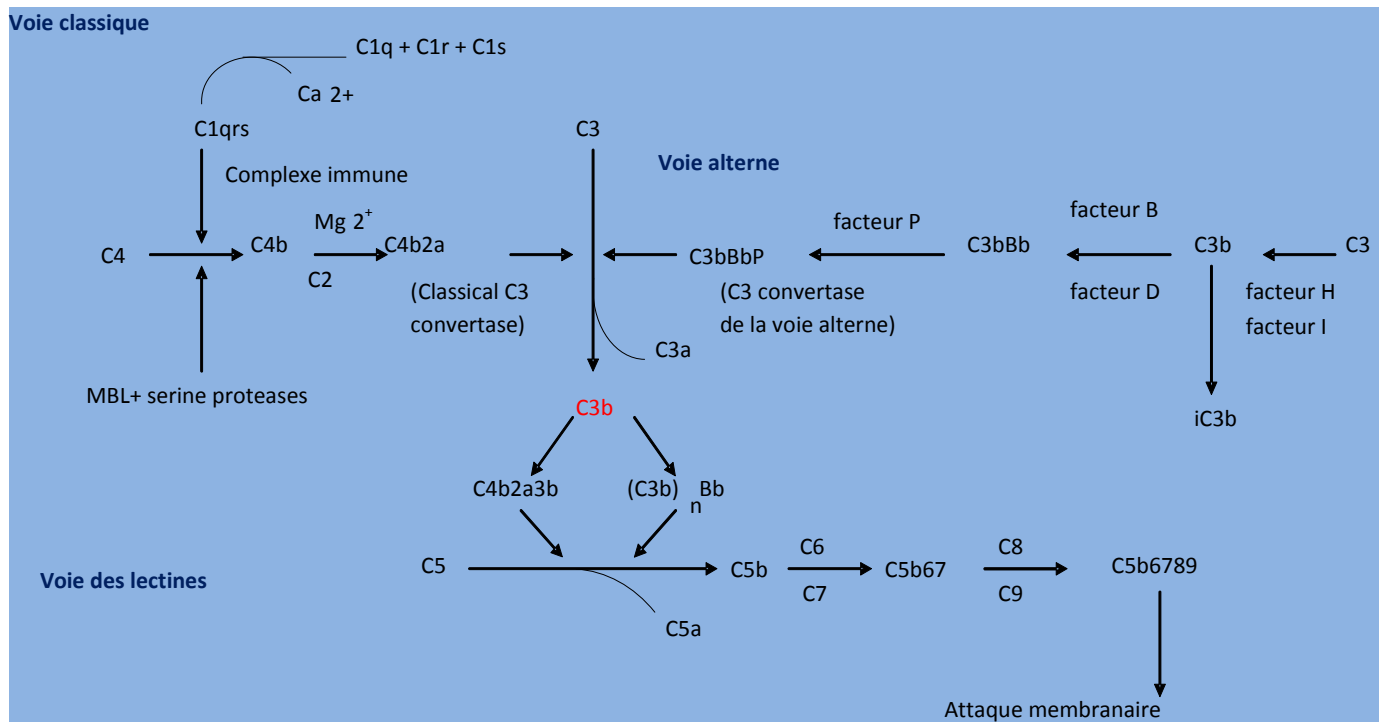


Figure n° 1: Voies d'activation du système du complément (Samaké, 1999)

- **Activation du complément par la voie classique :**

L'activation du complément par la voie classique met en jeu 9 composants protéiques. Elle est régulée par des inhibiteurs, le C_{1inh} et C_{3inh} .

Après initiation de la voie classique par les complexes immuns, les cascades enzymatiques sont mises en jeu par l'activation de précurseurs protéiques qui se fixent sur les membranes biologiques.

Chaque protéine est activée par le composant ou le complexe précédant qui clive un petit fragment peptique au niveau de la chaîne N-terminale de la protéine. Le site de liaison membranaire est ainsi exposé.

La séquence des événements qui composent cette voie est envisagée en trois étapes: reconnaissance, activation enzymatique et attaque membranaire.

L'unité de reconnaissance du système complémentaire par la voie classique est le complexe C_1 . L'activation enzymatique débute par la fixation de C_1 à la région CH_2 des IgG (IgG_1 ou IgG_3) ou à la région CH_4 des IgM. Cette fixation se fait par le sous composant C_{1q} ; elle entraîne l'activation de C_{1r} et C_{1s} . Il se forme la C_1 estérase, C_{1qrs} , qui active les protéines C_4 et C_2 . Le C_{1s} détache le fragment C_{4a} de C_4 . Le fragment C_{4b} obtenu se lie très près de son site d'activation, soit au complexe C_{1qrs} , soit à la membrane érythrocytaire adjacente.

Le C₂ du sérum se lie au C_{4b} en présence de Mg⁺⁺ ; il est ensuite clivé par le C_{1s} pour libérer le C_{2a}, avec naissance de la C₃ convertase de la voie classique : le C_{4b}C_{2b}. C'est une enzyme instable avec une demi-vie de 5mn à 37°C.

Pour limiter l'effet excessif du C₁ libre sur le C₄ et le C₂, le C_{1inh} se fixe sur le C_{1s} et le C_{1r}. Le C_{3inh} détruit le site récepteur de C₂ aussi bien que de C_{3b}.

Le C_{4b}C_{2b} clive le C₃ avec formation de C_{3b} qui se fixe aux membranes et libère le C_{3a} dans le sérum. La C₅ convertase se forme : C_{4b}2b_{3b}. Cette enzyme détache le C_{5a} de C₅. Le C_{5b} se fixe ; cette fixation du C_{5b} aux membranes biologiques est suivie de l'addition séquentielle de 4 autres protéines, C₆, C₇, C₈, C₉. Le résultat final est l'obtention du complexe d'attaque de la membrane.

- **Activation par la voie alterne**

Les composants qui initient cette voie détachent le fragment C_{3b} de C₃.

Les facteurs H et B semblent occuper un site commun sur le C_{3b}. La nature de la surface sur laquelle C_{3b} est fixé commande le facteur qui se lie préférentiellement.

La présence des polysaccharides sur les surfaces membranaires favoriseraient la captation du facteur B par le C_{3b}. On obtient le C_{3b}-B qui est converti en une convertase active (C_{3b}Bb) par perte du fragment Ba sous l'action du facteur D.

Le C_{3b}Bb augmente la conversion de C₃ en C_{3b} qui se combine de nouveau au facteur B.

En phase liquide, ou lorsque le C_{3b} est fixé sur une surface non activatrice, (Ex : absence de polysaccharides), le facteur H se fixe sur le C_{3b}. Ceci entraîne l'inactivation avec pour conséquence : la perte de l'activité d'adhérence immune et hémolytique.

2.4.5 Technique de dosage de l'activité complémentaire.

L'activité complémentaire dans le sérum est variable. Le dosage du complément total est basé sur l'appréciation de son activité hémolytique. On l'exprime en unités de CH₅₀ quantité de complément capable d'entraîner la lyse 50% d'une quantité connue d'hématies en présence d'anticorps antihématies dans les conditions expérimentales précises.

Les valeurs normales sont :

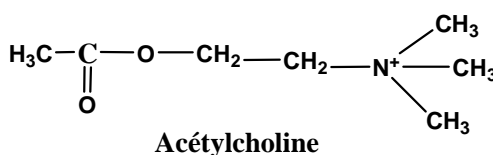
- Homme 52 a 60 unités de CH₅₀
- Femme enceinte 36 unités de CH₅₀
- Nouveau-né 39 unités de CH₅₀

Il est élevé dans la plupart des états inflammatoires, très bas au début de la glomérulonéphrite aiguë et du lupus érythémateux disséminé

4- Rappel sur le système cholinergique

Les parasympathomimétiques sont des cholinomimétiques ou Agonistes cholinergiques. Ils peuvent être directs ou indirects. Ils reproduisent les effets de la stimulation du système nerveux parasympathique. Certains agissent directement sur les récepteurs des fibres lisses musculaires innervées par le système parasympathique, d'autres augmentent la teneur locale en acétylcholine, neuromédiateur parasympathique par inhibition de l'acétylcholinestérase. Les premiers sont appelées parasympathomimétiques directes, les secondes parasympathomimétiques indirectes.

4-1- Parasympathomimétiques directs



L'acétylcholine est un médiateur du système nerveux. Elle est libérée dans les synapses centrales, médullaires, dans la plaque motrice, à l'extrémité de la fibre post-ganglionnaire courte parasympathique.

Injectée à faible dose elle reproduit les effets de la stimulation du système parasympathique (effet muscarinique) ; à forte dose et en présence d'atropine, elle agit comme un stimulant ganglionnaire (effet nicotinique) (Couhen, 1994).

4.1.1. Les récepteurs cholinergiques (*cholinorecepteur*)

On admet l'existence de deux types de récepteurs, le récepteur muscarinique et le récepteur nicotinique.

Le récepteur muscarinique est couplé à une protéine G. On distingue trois sous-types : récepteurs M₁ dans les synapses neurono-neuroniques (SNC, ganglions du SNA), récepteurs M₂ placés sur les effecteurs, cœur, tube digestif, œil, bronches, récepteurs M₃ sur les bronchioles.

Le récepteur nicotinique est constitué d'un canal ionophore qui permet le passage des ions sodium à travers la membrane cellulaire, ce récepteur nicotinique se trouve dans la plaque motrice, les neurones du SNC, les ganglions du SNA (Richard et coll. 2006).

4.1.2. Indications et contre-indications des parasympathomimétiques directs

Ils ont été utilisés dans l'artérite oblitérante ou syndrome de Raynaud, dans l'atonie gastrique, dans l'atonie vésicale postopératoire ou du post-partum avec rétention d'urine. En collyre, ils servent dans le glaucome. Ils présentent des effets secondaires : nausées, vomissements,

défécation involontaires et syncope avec arrêt cardiaque. Les effets muscariniques sont antagonisés par l'atropine.

4-2- Parasympathomimétiques Indirects

Les parasympathomimétiques indirects sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase et de la pseudocholinestérase, enzymes responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et acide acétique. Ils sont dits anticholinestérasiques.

Certains anticholinestérasiques utilisés en thérapeutique ont une action réversible (Esérine, néostigmine). D'autres sont des pesticides, des insecticides ou des toxiques de guerre très dangereux à action irréversible ou très lentement réversible.

Les organophosphorés (parathion et le paroxon), en outre, entraînent une paralysie progressive. Le tabum et le sarin sont des toxiques de guerre.

- **Action sur l'acétylcholinestérase**

Ils agissent par compétition avec l'acétylcholine, occupent le site actif de l'enzyme de façon lente réversible ou irréversible.

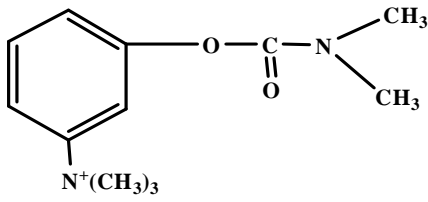
Les carbamates (Esérine et néostigmine) présentent une analogie de structure avec l'acétylcholine.

Effets muscariniques : Les anticholinestérasiques provoquent la bradycardie, l'hypotension, l'augmentation du péristaltisme intestinal, la bronchostriction, le myosis, la sudation et la salivation.

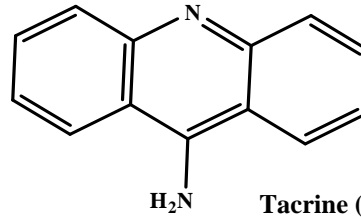
Effets nicotiniques : Les effets nicotiniques sont révélés en présence d'atropine. On observe une accélération cardiaque, une diminution du tonus intestinal, une légère hypertension par action sur la médullosurrénale qui sécrète de l'adrénaline.

La tacrine, aminotétrahydroacridine, est un inhibiteur réversible de l'acétylcholinestérase. D'abord proposée comme antagoniste des pachycurares elle est maintenant indiquée dans la maladie d'Alzheimer, caractérisée par une aphasia, une agnosie et une apraxie, survenant chez le vieillard par dégénérescence des neurones centraux avec déficit de l'acétylcholine. (Couhen, 1994).

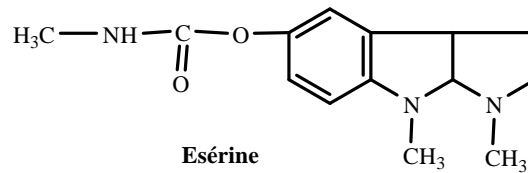
4-3- Quelques structures chimiques



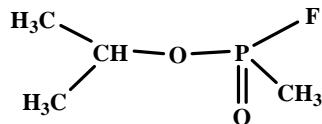
Néostigmine (PROSTIGMINE®)



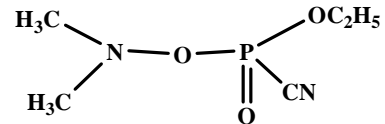
Tacrine (CODNEX®)



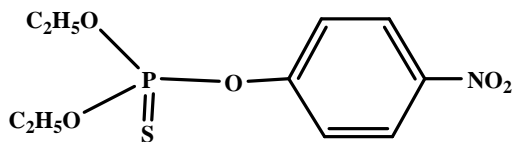
Esérine



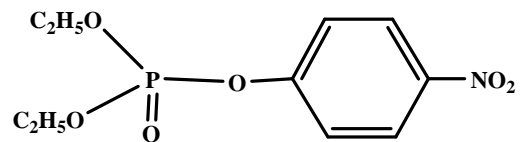
Sarin



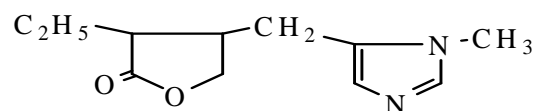
Tabum



Parathion



Paraoxon



Pilocarpine

5- Monographie des plantes :

Terminalia avicennioides (Guill. et Perr.)

- **Synonymes**
 - *Terminalia lecardi* Engl. Et Diels
 - *Terminalia dictyoneura* Diels (Kerharo et Adams 1974)

- **Noms locaux**
 - **Français :** babanier duveteux
 - **Bambara:** wolojèni, woloquè, warasa
 - **Malinke:** woloquè
 - **Myanka:** nakobyage
 - **Senoufo:** nagopele, namkugo
 - **Bow:** wanu
 - **Bobo-fing:** kobolo sinaa
 - **Dogon:** kugo
 - **Peulh:** pulemi

- **Systematique**
 - **Règne :** Végétal
 - **Sous-règne :** Eucaryote
 - **Embranchement :** Spermaphyte
 - **Sous-embranchement :** Angiosperme
 - **Classe :** Dialypétales
 - **Sous-classe :** Dicotylédone
 - **Ordre :** Myrtale
 - **Famille :** Combretaceae
 - **Genre :** *Terminalia*
 - **Espèce :** *avicennioides*

- **Habitat :** petit arbre des savanes soudaniennes et soudano-guinéennes surtout sur les sols sablonneux mais fréquent sur les plateaux latéritiques.

- **Caractéristiques :** petit arbre à cime étroite et couverte, écorce profondément crevassée, feuilles alternes oblongues ou elliptique, fleurs blanchâtres en longs racèmes (jusqu'à 12cm) à une aile pubescentes (Malgras, 1992).



Figure n° 2: *T. avicennioides* (plante)



Figure n° 3: *T. avicennioides* (racines)

➤ **Cycle végétatif** : Les feuilles apparaissent en février et tombent en novembre ; les fleurs apparaissent dès février jusqu'à la saison des pluies ; les fruits mûrissent à partir de mars et persistent longtemps sur l'arbre.

➤ **Chimie**

Un criblage phytochimique préliminaire de l'extrait aqueux des racines de *T. avicennioïdes* a indiqué la présence des tannins, des saponines et des flavonoïdes. Les résultats obtenus ont prouvé que l'extrait aqueux des racines de *T. avicennioïdes* contenait quelques principes biologiquement actifs qui peuvent justifier son utilisation contre la diarrhée et des désordres gastro-intestinaux (Abdullahi et coll. 2001).

➤ **Etudes pharmacologiques**

Les effets antidiarrhéiques de l'extrait aqueux de racine de *Terminalia avicennioïdes* ont été évalués sur les rongeurs *in vivo* sur le jéjunum isolé de lapin, la motilité gastro-intestinale et sur la diarrhée induite par huile de ricin chez les souris blanches. Les résultats ont démontré que l'extrait provoquait une inhibition dose dépendante du mouvement pendulaire spontané du jéjunum isolé de lapin et a atténué des contractions induites par l'acétylcholine. Les doses 400, 200 et 100 mg/kg de l'extrait ont également causé une diminution dose dépendante et ont nettement protégé des souris contre la diarrhée induite par huile de ricin. La DL₅₀ intra-péritonéal de l'extrait s'est avéré 871,4 – 917,4 mg/kg chez les souris (Abdullahi et coll. 2001).

Trois plantes médicinales nigériennes : *Ocimum gratissimum*, *Terminalia avicennioïdes*, et le *Momordica balsamina* ont été étudiées pour leurs activités contre des espèces multi résistantes de *Shigella* isolée des patients présentant la dysenterie bacillaire à Lagos. Les décoctions de *Ocimum gratissimum* et de *T. avicennioïdes* à la concentration brute de 3.000 µg/ml ont nettement empêché la croissance de tous les isolats examinés. Les zones d'inhibition étaient de 18,3 à 21,5 mm pour *Shigella dysenteriae*, 15,3 à 16,3 mm pour *Shigella flexneri*, 18,8 à 19,3 mm pour *Shigella sonnei*, et de 16,5 mm pour *Shigella boydii*. Les résultats suggèrent que les extraits aqueux de *Ocimum gratissimum* et de *T. avicennioïdes* comme décoctions et macérations pourraient être utiles dans le traitement de la shigellose et devraient être médicalement évalués (Iwalokun et coll. 2001).

➤ **Pharmacopée traditionnelle:**

▪ **Racines:**

- réduites en poudre : soins des plaies
- concassées (en application locales) : hémostatique, cicatrisante, ulcères phagédéniques.
- Jeunes racines concassées et macérées dans l'eau : toux
- Macérées dans le lait : diarrhée des enfants
- Bouillies : avitaminoses
- Décoction : dysenterie, ictères, œdème, fièvre

▪ **Ecorce du tronc:** la pulpe est hémostatique et cicatrisante.

▪ **Feuilles:**

- mâchées : contre la toux
- jeunes feuilles réduites en poudre : dysenterie amibiennes
- en décoction : ankylostomes

➤ **Utilisations diverses**

Le bois dur, jaunâtre est souvent utilisé dans les constructions indigènes comme traverses. (Malgras, 1992).

Combretum molle (G. Don)

- **Synonymes** *Combretum velutinum* (DC), *Combretum trichanthum* (Fves.)
Combretum sokodense (Engl.) (Kerharo et Adams 1974)

- **Noms locaux**
 - **Français :** kinkeliba velouté
 - **Bambara:** ngnayaka, nyanyaka
 - **Malinké:** nyanyaka
 - **Myanka:** kanajaga, kulufegbo
 - **Senoufo:** khajaga
 - **Bow:** nyannua
 - **Bobo-fing:** tonomène
 - **Peulh:** doki, buski

- **Systematique :**
 - **Règne :** Végétal
 - **Sous-règne :** Eucaryote
 - **Embranchement :** Spermaphyte
 - **Sous-embranchement :** Angiosperme
 - **Classe :** Dialypétales
 - **Sous-classe :** Dicotyledone
 - **Ordre :** Myrtale
 - **Famille :** Combrétaceae
 - **Genre :** *Combretum*
 - **Espèce :** *molle*

- **Habitat :** arbuste en buisson dans les savanes boisées soudaniennes, ou soudano-guinéennes, sur sols rocheux ou latéritiques.

- **Caractéristique :** arbuste ou petit arbuste à cime étroite, écorce fibreuse, feuilles opposées à la face inférieure couverte d'une pubescence dressée douce au toucher, fleurs blanchâtres en racèmes ramifiés, fruit à quatre ailes de 1,2 à 1,5 cm de diamètre (Malgras, 1992).



Figure n° 4: *C. molle* (Feuilles)



Figure n° 5: *C. molle* (Racines)

➤ **Cycle végétatif** : Les feuilles apparaissent de décembre à mars. Les fleurs au même moment et jusqu'à la saison des pluies ; les fruits de Janvier jusqu'en Août.

➤ **Chimie**

La recherche phytochimique sur la fraction bioactive a permis l'isolement de deux tannins et deux oleanane-types glycosides de triterpène pentacyclique. Un des tannins a été identifié comme ellagitannin, punicalagin, tandis que la structure de l'autre (CM-A) n'a pas encore été entièrement élucidée (Asres et coll. 2001). Les saponines qui ont été caractérisées comme arjunglucoside (également appelé le 4-epi-sericoside) et le sericoside n'ont montré aucune activité contre les quatre espèces des protozoaires testés. Les Flavonoïdes ont été en quantité minoritaire (Asres et coll. 2001).

➤ **Etudes pharmacologiques**

Les saponines mises en évidence dans les écorces de la tige n'ont pas empêché la réplication de HIV-1 ou de HIV-2. Cependant, le punicalagin (substance purifiée de la plante) et le composé CM-A ont inhibé de façon sélective de la réplication HIV-1 avec des indices de sélectivités (rapport de concentration cytotoxique de 50% à la concentration antivirale efficace de 50%) respectivement 16 et 25 (Asres et Coll. 2005). Par ailleurs, l'activité antiprotozoaire évaluée *in vitro* sur *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi* et le *Leishmania donovani*, la fraction acétonique de l'écorce de tige de la plante préparée par l'extraction au soxhlet était inactive contre les amastigotes intracellulaires de *Leishmania donovani* et de *Trypanosoma cruzi* dans les macrophages péritonéaux murins. Toutefois l'activité s'est avérée significative contre les trypomastigotes extracellulaires en forme de jet de sang de *Trypanosoma brucei* et des trophozoites de *Plasmodium falciparum* avec respectivement les valeurs IC₅₀ de 2,19 et 8,17 µg/ml.

Les tannins de *C. molle* ont également montré une activité contre le *Plasmodium falciparum*, bien que leur sélectivité contre ces parasites ait été moins favorable que la fraction acétonique. Il s'avère que ces résultats sont une première montrant des activités antitrypanosomiale et antiplasmodiale des tannins hydrolysables (Asres et coll. 2001).

➤ **Pharmacopée traditionnelle**

- Racines en décoction (instillations) : douleur oculaires
- Ecorces du tronc réduites en poudre : tuberculose
- Feuilles et racines en décoction : asthme
- **Feuilles :**
- ✓ Jeunes feuilles mâchées : toux
- ✓ Jeunes feuilles séchées et pilées : maux de ventre
- ✓ Feuilles tendres écrasées dans l'eau (bain et boisson) : traitement préventif et curatif de la rougeole.
 - Rameaux feuilles en décoction : diarrhées
 - En cure-dent : contre la toux

➤ **Utilisations diverses**

- Chevilles des << taras >> (lits en lattes de palmier)
- Les feuilles chauffées servent pour la préparation de la pêche et sont considérées comme porte chance.

✓ **Coutumes :**

- On ne brûle pas le bois de ce *Combretum* dans les concessions du village selon les gens la fumée dégagée provoque les bagarres, selon d'autres l'utilisation comme bois de feu entraîne la mort du chef du village.
- Exceptionnellement le bois est brûlé dans la concession de << waratigui>> (chef du fétiche wara) pour la construction de la case du fétiche (Malgras, 1992)

Securinega virosa (Roxb. ex Willd) Baill.

- **Synonymes :**
 - *Fluggea virosa* (Roxb. Ex willd). Baill.
 - *Securinega microcarpa* (blume). Pax et K. Hoffm. Ex Aubr
 - *Fluggea microcarpa* (blume) (Kerharo et Adams 1974)

- **Nom local:**
 - **Bambara:** jene surukujè
 - **Malinké:** nginnin
 - **Myanka:** jene
 - **Senoufo:** jeme
 - **Bow:** sutemi, sudesemi
 - **Bobo-fing:** sumenh
 - **Dogon:** segele

- **Systematique :** (P. créé)
 - **Règne :** Végétal
 - **Sous-règne :** Eucaryote
 - **Embranchement :** Spermaphyte
 - **Sous-embranchement :** Angiosperme
 - **Classe :** Dicotylédones
 - **Sous-classe :** Dialypétales
 - **Ordre :** Tricoques
 - **Famille :** Euphorbiaceae
 - **Genre :** *Securinega*
 - **Espèce :** *virosa*

- **Habitat :** espèce très répandue de la forêt jusqu'au sahel dans les stations humides, dans le sahel sec, dans les savanes soudaniennes et soudano-guinéennes.

- **Caractéristiques :** arbuste à cime ouverte, écorce membraneuse gris-brun, feuilles alternes elliptiques ou ovales, fleurs vert-jaunâtre en fascicule axillaire, fruits charnus, en boules blanches (0,6 à 0,8 cm de diamètre).



Figure n° 6: *S. virosa* (plante)



Figure n° 7: *S. virosa* (Racines)

- **Cycle végétatif** : l'arbuste est en feuilles en Février, fleurit d'avril à juin et fructifie à partir de mai.

- **Chimie** :

Au cours de l'étude phytochimique de l'espèce indienne, plusieurs composés ont été isolés : Alcaloïdes, carbohydrates, coumarines, lignanes, stérols et triterpènes (Govindachari et coll. 1969).

La virosecurinine (I) et viroallosecurinine (II) ont été isolées en tant que deux alcaloïdes cytotoxiques des feuilles de *S. virosa* (Tatematsu et coll. 1991).

- **Etudes Pharmacologiques** :

Securinega virosa est employé dans la médecine folklorique au Ghana pour le traitement des infections cutanées et des blessures. Les extraits étherés, chloroformiques et éthanoliques de la plante ont été examinés pour leur activité antimicrobienne contre les bactéries en utilisant la technique de diffusion sur gel agar et une microanalyse périodique de dilution.

Ces extraits éthanoliques, étherés et chloroformiques de *S. virosa*, ont démontré des activités antimicrobiennes intéressantes. L'activité antioxydante et de fixation des radicaux libres a été menée en utilisant du DPPH (1-1 Diphényl 2 picryl hydrazide) et la peroxydation de lipide.

Ces résultats confirment l'utilisation ethnopharmacologique des plantes dans le traitement des diverses maladies et des blessures de peau et le potentiel de certaines des plantes comme sources des composés possédant la capacité de moduler la résistance bactérienne à de multiples produits (Dickson et coll. 2006).

- **Pharmacopée traditionnelle:**

Plante très utilisée : << remède à tout faire >>

- Racines
 - pilées et réduites en poudre (avec du sel gemme) : ictère, paludisme bilieuse, hémogloburique, entéralgie, employées comme laxatif.
 - Macérées (instillations) : prévention des maux d'yeux
 - En décoction : fièvre bilieuse hémogloburique, bilharziose, rhumatisme, blennorragie, stérilité, impuissance sexuelle, soins des morsures de serpent, hémorroïdes.
- Rameaux feuilles en décoction : ictère bilieuse, hémogloburique, paludisme, fièvre infantile, migraine, employés pour aider un enfant à marcher, (instillations), conjonctivites.

➤ **Utilisations diverses:**

- Le fruit est comestible à maturité
- L'écorce serait toxique (Malgras, 1992).

TRAVAUX PERSONNELS

TRAVAUX PERSONNELS

1. METHODOLOGIE :

- **Choix des plantes à étudier**

Les plantes ont été choisies après une revue de la littérature. Nous avons recensé les plantes dont l'activité inhibitrice sur le VIH avait été testée. Il s'agit des plantes d'Afrique Australe, Ethiopie, d'Egypte et du Rwanda. Alors nous avons choisi trois (03) espèces de ces plantes qui existent au Mali dans le but d'évaluer leurs activités.

- **Expérimentation**

Les études expérimentales ont été réalisées au Département de Médecine Traditionnelle de l'INRSP. Sauf l'activité de fixation du complément qui a été réalisée à université d'Oslo.

1.1. ETUDE PHYTOCHIMIQUE :

1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué par les écorces de racines de *Terminalia avicennioides*, de *Combretum molle* et de *Securinega virosa*. Tous ces échantillons ont été récoltés respectivement le 15 novembre, 05 décembre, 05 Octobre 2006 à SANANKOROBA, un arrondissement du cercle de KATI à 35km de BAMAKO (Mali) sur la Route de SIKASSO. Un spécimen de chaque échantillon est disponible au DMT sous les numéros **0008**, **2645** et **2215** respectivement pour *Terminalia avicennioides*, *Combretum molle*, et *Securinega virosa*. Les drogues ont été séchées pendant (1 semaine) à la température ambiante du laboratoire du DMT à l'ombre. Après leur séchage les drogues ont été broyées avec un pulvérisateur Resch de type SM2000 OSI/1430 µm.

1.1.2. Réactions de caractérisation

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

Les résultats sont classés comme suit :

○ réaction franchement positive:	+++ +
○ réaction positive:	++ +
○ réaction moyennement positive:	++
○ réaction louche:	+
○ réaction négative:	(-) ou 0.

❖ Matériel

- Balance analytique (type SARTORIUS)
- Tubes à essai, éprouvette (50, 100, et 200 ml)
- Entonnoir, coton, papier filtre
- Pipettes en verre (5, 10 et 20 ml)
- Erlenmeyer (100 et 250 ml), poire
- Ampoule à décanter (250 ml)
- 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

A (10g) poudre végétale, nous avons ajouté à 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.

Pour *Securinega virosa*, nous avons ajouté directement sur la poudre végétale (10g) 25ml d'ammoniaque diluée au 1/2 et 25ml de Chloroforme dans une ampoule à décanter.

Nous avons soutiré la phase organique, qui a été séchée sur sulfate de sodium anhydre puis évaporée à sec et récupérée avec de l'acide chlorhydrique dilué au 1/10.

Caractérisation

Nous avons pris 2 tubes à essai dans chacun desquels nous avons introduit (1 ml) filtrat. Dans le premier tube nous avons ajouté 5 gouttes de réactif de Mayer (solution mercuri-iodure de potassium) et dans le deuxième tube 5 gouttes de réactif de Dragendorff (solution iodo-bismuthate de potassium).

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 une infusée à 5 %. Dans un erlenmeyer de 250ml, nous avons introduit 5g de la poudre végétale puis 100ml d'eau bouillante 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 (1ml) de l'infusé, nous avons ajouté (1ml) de FeCl_3 diluée à 1 %. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

▪ Tanins catéchiques

A (5ml) de l'infusé à 5 %, nous avons ajouté 1 ml d'alcool chlorhydrique (5 ml d'éthanol 95° alcoolique, 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-noire 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 %, ajouté 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95 %, l'eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes) ; puis quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique.

L'apparition d'une coloration rose-orangée (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 brun-rouge.

❖ **Dérivés anthracéniques**

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

▪ **Anthracéniques libres**

Solution à analyser

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

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 5 ml de l'hydrolysât avec 5 ml de chloroforme. 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.

Si la réaction est négative ou faiblement positive, rechercher les O-hétérosides à génine réduite.

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

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

- **Quinones**

A (1g) de drogue végétale humectée avec de l'acide sulfurique à 10 % nous avons ajouté (20 ml) d'un mélange à volume égal d'éther et de chloroforme. 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 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 (1 g) de la poudre de drogue végétale et (20 ml) d'éther de pétrole laissés en macération pendant 24 heures. Nous avons filtré et complété à 20 ml avec de l'éther de pétrole.

Caractérisations

▪ Stérols et triterpènes

Nous avons évaporé à sec 10 ml d'extrait dans un tube à essai, puis 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 tri terpènes.

▪ 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 (10g) de la poudre végétale dans (30ml) l'éthanol à 50 %, porté en ébullition et filtré après refroidissement.

Caractérisation :

Extraire le filtrat avec chloroforme (CHCl_3), partager cette phase chloroformique entre 3 tubes à essai et évaporer au bain marie bouillant jusqu'à sec et reprendre avec une solution alcaline.

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

Tube 1 Kedde : rouge-violacé, orangé

Tube 2 Baljet : orangé

Tube 3 Remond et Martoud : 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 250ml, (100ml) d'eau distillée et y avons projeté (1g de la poudre de drogue végétale). Une ébullition modérée a été maintenue pendant 15 mn. Nous avons filtré et ajusté après refroidissement 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 1cm (N).

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

❖ **Autres caractérisations**

Composés réducteurs

5 ml du décocté aqueux à 10 % a été évaporé au bain-marie jusqu'à sec. Nous avons ajouté 1 ml au résidu 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**

5 ml du décocté aqueux à 10 % 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 %, 5 ml d'éthanol absolu.

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

❖ **Coumarines**

Nous avons évaporé à sec 5 ml d'extrait éthéré (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 1g de la poudre végétale, 5 ml d'un mélange à volume égal d'eau et de toluène). 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.

1.2. DOSAGES :

1.2.1. 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
- 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 $103 \pm 2^\circ\text{C}$ 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 (Vi) 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 (Vf) d'eau dans l'appareil a été lu.

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

$$\% \text{ d'eau dans la drogue} = 100 \times \frac{(Vf - Vi)}{PE}$$

1.2.2. 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.

1.2.3. Substances extractibles par l'éthanol 70 %

Nous avons fait macérer de la poudre végétale (1g) dans de l'éthanol 70 % (20 ml) pendant 24 h. Le filtrat a été mis dans une capsule tarée et évaporé à sec (au bain-marie). Nous avons ensuite pesé la capsule à froid et déduit la masse du résidu.

1.2.4. Cendres

Matériel

- Balance analytique de précision (type SARTORIUS)
- Four
- 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 tarés (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) contenue dans le creuset est donnée par la formule :

$$MCt = \frac{(M'1 - T1) + (M'2 - T2) + (M'3 - T3)}{3}$$

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

$$PE = \frac{(M1 + M2 + M3)}{3}$$

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 ½. 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 ½ et trituré avec une baguette.

Le creuset a été laissé à l'étuve jusqu'à l'évaporation à sec puis mis 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. Ces cendres sont déterminées à partir de l'action de l'acide chlorhydrique dilué à 10 % sur les cendres totales.

Nous avons introduit la totalité des cendres 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 (PE) est la masse de poudre utilisée pour les cendres totales.

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

$$\% \text{ Cc} = 100 \times \frac{\text{Mcc (masse cendre chlorhydrique)}}{\text{PE}}$$

PE : (prise essai)

1.2.5. Alcaloïdes

Nous avons mélangé et laissé sous agitation magnétique de la poudre végétale (3 g), de l'acide sulfurique à 10 % (25 ml) et de l'eau distillée (5 ml) pendant 1h . Le filtrat a été complété à 50 ml avec de l'eau distillée. Nous avons ajouté de l'ammoniaque diluée au ½ jusqu'à ce que le pH soit compris entre 8 et 9. Une extraction a été faite avec 50 ml de chloroforme. Nous avons recueilli le filtrat dans un erlenmeyer puis l'avons séché sur sulfate de sodium anhydre. Ce filtrat a été évaporé au bain-marie dans une capsule préalablement pesée. La capsule a encore été pesée avec le résidu.

Masse alcaloïdes = poids avant étuve – poids après étuve

$$\% \text{ alcaloïdes} = 100 \times \frac{\text{Masse alcaloïdes}}{\text{PE}}$$

PE : (Prise essai)

1.3. EXTRACTIONS

➤ Extraction par décoction

Le principe est de faire une décoction pendant 10 mn afin de récupérer les substances extractibles par l'eau à chaud.

- 50 g de poudre de chacune des 3 drogues ont été bouillis avec 500ml d'eau (décoction 10%).
- Nous avons refroidi, filtré le décocté, puis procédé à la concentration sous vide du filtrat au rotavapor à la température de 50°C.
- La solution concentrée obtenue a été lyophilisée et le résidu a été conservé dans des flacons stériles hermétiquement fermés après les différentes pesées.

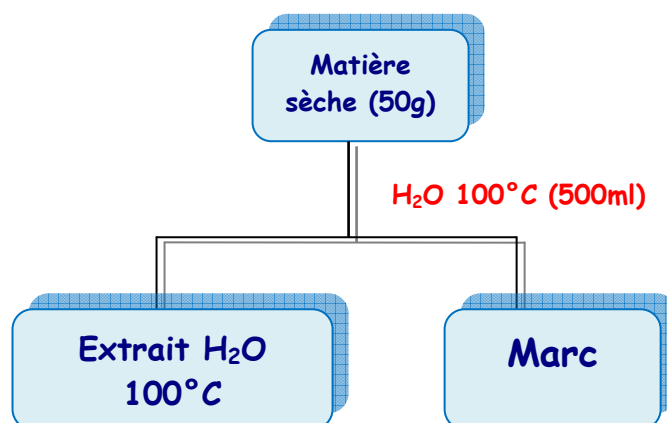


Figure n° 8 : Schéma de l'extraction par décoction

- Formule de calcul du rendement :

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

➤ **Macération à l'eau:**

50g de poudre de drogue ont été introduits dans un ballon (1 litre), puis macérés avec 500ml d'eau 3fois (1,5l) 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 concentrés 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.

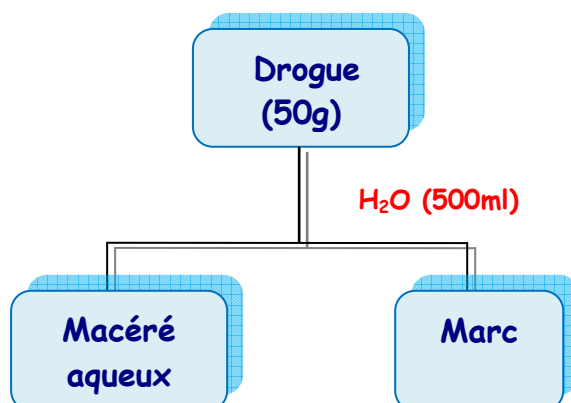


Figure n° 9: Schéma d'extraction par macération à l'eau

➤ **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 24H.

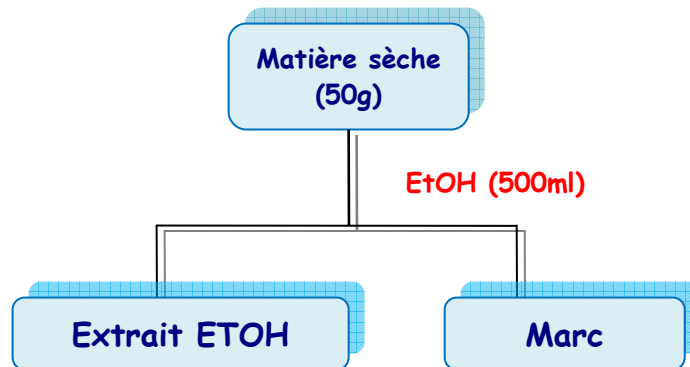


Figure n° 10: Schéma d'extraction par macération éthanolique

➤ **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'éther de pétrole, le dichlorométhane, et le méthanol. Une quantité de 20 g de la poudre à analyser a été introduite dans une cartouche placée dans le Soxhlet surmonté d'un réfrigérant et porté par un ballon contenant le solvant d'extraction (100 - 150 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.

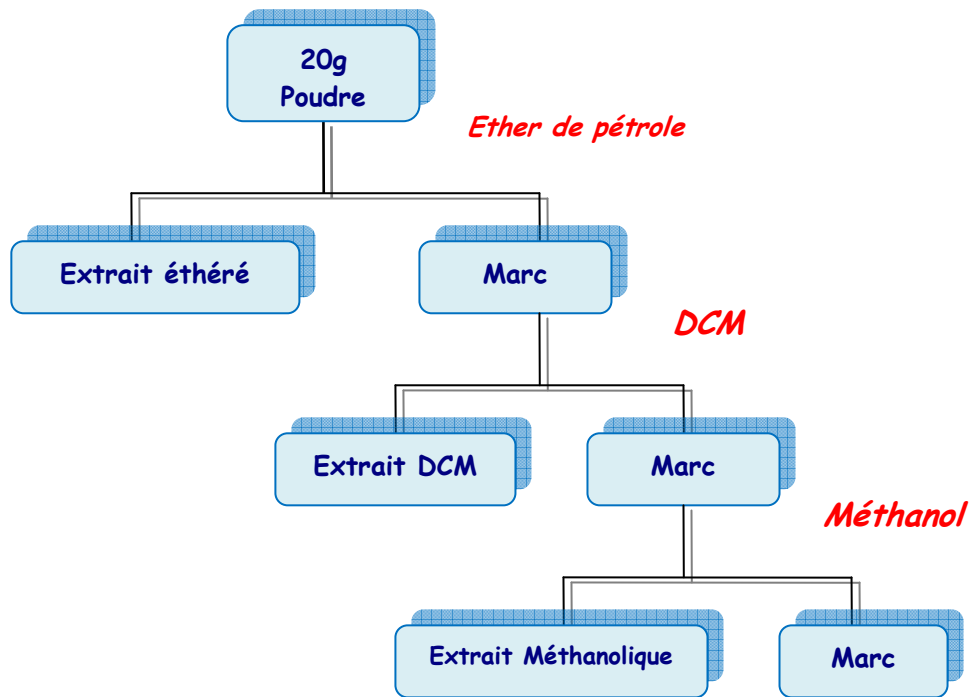


Figure n° 11: Schéma d'extraction par les solvants à polarité croissante

➤ **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.

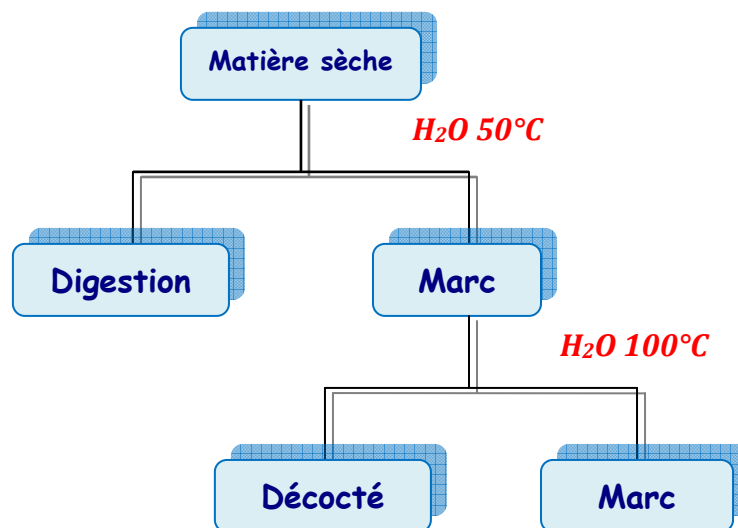


Figure n° 12: Schéma d'extraction par digestion et décoction

– 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 tergal (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 surmonté du soxhlet 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 condensées 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 reporterons les conditions de l'extraction au Soxhlet.

Dans le (tableau I) qui suit sont énumérés le nombre de siphonage et les durées d'extraction au Soxhlet. La durée d'extraction correspond au temps d'épuisement de la drogue par le solvant.

Tableau I: Conditions de l'extraction des drogues au soxhlet

Solvants (100 à 200 ml)	Nombres de siphonages	Durée d'extraction (h, mn)
Ether de pétrole :		
<i>Terminalia avicennioïdes</i>	20	2 ^h , 30
<i>Combretum molle</i>	12	1 ^h , 00
<i>Securinega virosa</i>	10	1 ^h , 00
DCM :		
<i>Terminalia avicennioïdes</i>	28	1 ^h , 20
<i>Combretum molle</i>	20	1 ^h , 00
<i>Securinega virosa</i>	20	1 ^h , 00
MeOH :		
<i>Terminalia avicennioïdes</i>	94	9 ^h , 33
<i>Combretum molle</i>	28	3 ^h , 17
<i>Securinega virosa</i>	10	1 ^h , 00

- Extraction par l'eau :

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

Le marc a été repris avec (100ml) d'eau distillée puis portée à 100°C pendant 15 mn. De même la solution obtenue sera filtrée sur coton.

Les filtrats obtenus ont été concentrés au rotavapor sous pression réduite à une température comprise entre 45 et 50°C, puis lyophilisés.

1.4. CHROMATOGRAPHIE

Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

La CCM est une méthode physico-chimique qui comporte une répartition du soluté entre deux phases, une phase stationnaire et une phase mobile. Elle permet de séparer les constituants d'une substance en fonction de leur vitesse de migration.

➤ **Matériels** : spatule, flacons, pince, crayon, règle, cutter, balance de type Sartorius, micropipettes, cuves avec couvercle, pulvérisateurs, plaque de Silice 60FG254, lampe UV.

➤ **Solvants :**

▪ De dissolution :

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

Acétate d'éthyle ou dichlorométhane pour les extraits apolaires.

Méthanol pour les extraits alcooliques et hydroalcooliques.

▪ De migration :

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

➤ **Révélateurs:**

Réactif de Godin ; Réactif de Dragendorff.

➤ **Dépôts :**

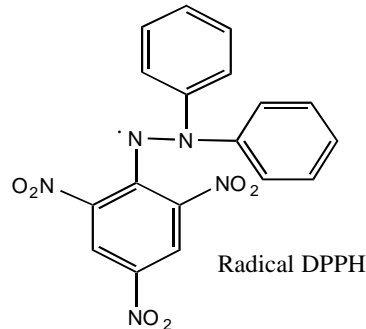
Peser 10 mg d'extraits dans des flacons ; dissoudre dans 1ml de solvant de dissolution convenable. Déposer sur les plaques, 10 microlitres des différentes solutions à l'aide de micropipettes graduées. Introduire les plaques dans des cuves pour la migration. Après migration, nous avons séché les plaques et procédé à l'observation sous lampe ultraviolette aux longueurs d'ondes 254 et 366 nm. Calculer ensuite les facteurs de rétention (Rf) de chacune des taches observées.

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

2. ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES

2.1. DETERMINATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Cette activité a été déterminée par le principe de la réduction du radical DPPH (1-1 Diphényl 2 picryl hydrazine) sur plaque de CCM.



La réduction du DPPH° s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune.

Tous les extraits ont été soumis à ce test. Un mélange méthanol-eau (1 : 1) a servi à la dissolution des extraits polaires tandis que les extraits apolaires ont été dissous dans leur solvant d'extraction (10 mg de chaque extrait ont été dissous dans 1 ml de solvant approprié). Des dépôts de 10 μl de chaque solution d'extrait ont été réalisés sur des plaques de Silicagel. Les systèmes de solvants Ligroïne : Acétate d'éthyle (1 : 1) et Butanol-Acide acétique-eau (60 : 15 : 25) ont été respectivement employés pour la migration des extraits apolaires et polaires.

Après la migration des substances, les plaques de CCM ont été révélées avec une solution méthanolique à 2 mg/ml de 1-1 Diphényl 2 picryl hydrazine. Les substances actives apparaissent en tâche jaune sur fond violet (Diallo et coll., 2001).

2.2. DETERMINATION DE L'ACTIVITE DE FIXATION DU COMPLEMENT

Principe : Le test de la fixation du complément est un test (*in vitro*) qui consiste à déterminer l'interaction de l'extrait avec la réaction de cascade du complément. Ce test a été réalisé à l'université d'Oslo.

- **Matériels :**

- Anticorps de lapin
- Buffer véronal (VB) : Tampon véronal
- Bovin Sérum albumine (BSA) 30% : Albumine de sérum de bœuf
- Hématies de mouton, Sérum humain
- NaCl
- Sodium azide 10 %

- **Mode opératoire:**

Les hématies de mouton sont lavés deux fois avec la solution de NaCl 9 mg/ml, une fois avec la solution de (VB/BSA) renfermant du tampon véronal à pH 7,2 et 2 mg/ml d'albumine de sérum bovin (BSA 30%) et 0,02% d'une solution de sodium azide (10%).

Ensuite les hématies sont sensibilisées avec les anticorps de lapin anti – érythrocytes de mouton.

Elles ont été incubées à 37°C sous agitation pendant 30 minutes et lavées de nouveau avec les solutions précédentes. La suspension cellulaire (1%) est mise dans le VB/BSA préparé et utilisé le même jour.

Le sérum humain contenant les protéines du complément est prétraité en enlevant les anticorps anti – érythrocytes de mouton, puis dilué dans le VB /BSA à une concentration qui entraîne 50 % d'hémolyse.

Les échantillons ont été dissous dans le VB/BSA (500, 250, 125, 62.5, 31.3 et 15,6 g/ml).

50 µl de l'extrait dilué dans le VB/BSA et 50 µl de sérum humain prétraité sont introduits dans la microplaque portant 96 puits, puis incubés à 37°C sous agitation pendant 30 minutes.

Nous avons ajouté à la solution incubée 50 µl d'hématies de mouton, incubé de nouveau à 37°C sous agitation pendant 30 minutes puis centrifugé pendant 5 minutes.

Nous avons transféré 100 µl de la couche surnageante des puits dans une nouvelle microplaque et déterminé l'absorbance à 405 nm.

100 % de lyse ont été obtenu avec de l'eau distillée plus les hématies de mouton (A_{eau}).

Le milieu de contrôle est le VB/BSA, le sérum humain et les hématies de mouton ($A_{\text{contrôle}}$).

La fraction de pectine PMII de *Plantago major* L. (Samuelson et coll., 1996) est utilisée pour le test positif.

Le pourcentage de lyse est obtenu par la formule :

$$(A_{\text{contrôle}}) / (A_{\text{eau}}) (100\%).$$

Le pourcentage d'inhibition de lyse est donné par la formule :

$$(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / (A_{\text{contrôle}}).$$

Les résultats sont exprimés sur les courbes qui correspondent aux logarithmes des pourcentages d'inhibition par rapport aux différentes concentrations d'extrait ($\mu\text{g/ml}$) introduit dans les puits.

2.3. DETERMINATION DE L'ACTIVITE ANTI-CHOLINESTERASE

▪ **Principe :** c'est une méthode colorimétrique basée sur la méthode d'Ellman : L'acétylcholinestérase (AChE) agit sur l'Acétylthiocholine (ATCI) en milieu aqueux pour libérer la thiocholine qui en agissant avec l'acide dinitrobenzoïque (DTNB) donne une coloration jaune.

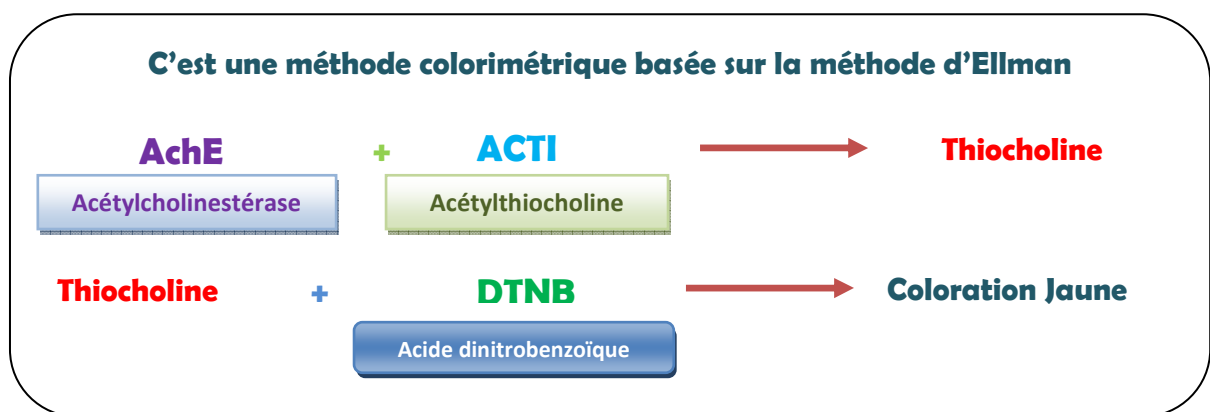


Figure n° 13: Schéma du principe de l'activité Anticholinestérasique

- Les Matériels :

Plaques CCM de type FCG-254 en aluminium, cuve de migration, Crayons

Lampe UV, Micro pipettes, Captair, Pulvérisateurs, Ultra-son.

-Réactifs

5,5'- Dithiobis-2nitrobenzoïque acide (5mM DTNB), Acétylcholinestérase (3 unités/ml AChE)

Acétylthiocholine iodide (5mM ATCI), Galanthamine, solution étalon (50mM Tris pH 8.0)

-Solvants de dissolution

Les extraits DCM et MeOH ont été dilués dans le Diméthylsulfoxyde (DMSO).

▪ Procédure :

Elle est basée sur deux réactions:

➤ Réaction de vrai positif

- a. Appliquer (10 μl) des extraits ou le produit standard sur la plaque
- b. Développer les plaques avec un système de solvant : Chloroforme - Méthanol (8:2)
- c. Sécher la plaque

- d. Pulvériser avec la solution (ACTI + DTNB)
- e. Sécher la plaque pendant 3-5 mn
- f. Pulvériser avec solution Acétylcholinestérase (3UI/ml AchE)
- g. Observer et enregistrer automatiquement les spots blancs indiquant l'activité sur la plaque sur fonds Jaune.

➤ **Réaction de faux positif**

Opérer comme dans la réaction de vrai positive jusqu'à l'étape c.

- d Pulvériser avec la solution acide dinitrobenzoïque (5mM DTNB)
- e Sécher la plaque pendant 3-5mn
- f Pulvériser avec la solution (ATCI + AchE)
- g Observer et enregistrer les spots blancs sur fond jaune

▪ **Détermination de l'Activité**

L'activité d'inhibition de l'acétylcholinestérase est déterminée par l'apparition des spots blancs sur fond jaune sur la plaque CCM.

• **Résultat positif:**

Les spots blancs sur plaque CCM (VP) ne correspondent pas aux mêmes tâches blanches sur plaque CCM (FP).

• **Résultat Négatif:**

Les spots blancs sur plaque CCM (VP) correspondent aux mêmes tâches blanches sur plaque CCM (FP).

RESULTATS

3. RESULTATS :

Nous reportons ici les résultats de nos études expérimentales sur les trois plantes :

Terminalia avicennioides, *Combretum molle* et *Securinega virosa*

Matières premières végétales			
Plantes	Drogue	Masse en (g)	Couleurs
<i>T. avicennioides</i>	Ecorces de racines	500	Marron
<i>C. molle</i>	Ecorces de racines	500	Marron
<i>S. virosa</i>	Ecorces de racines	500	Marron

3.1. ETUDES PHYTOCHIMIQUES :

3.1.1. DOSAGES

Dans (le tableau II) nous avons énuméré les résultats des différents dosages réalisés sur les poudres des trois drogues.

Tableau II: Pourcentage des substances dosées des drogues

Nature du dosage	<i>T. avicennioides</i>	<i>C. molle</i>	<i>S. virosa</i>
Eau (Gravimétrie)	6,40 %	5,80 %	6,22 %
Eau (Volumétrie)	6 %	6 %	6 %
Cendres totales	7,91 %	13,26 %	9,20 %
Cendres chlorhydriques	0,42 %	1,20 %	1,95 %
Cendres sulfuriques	10 %	16 %	11 %
Substances extractibles par l'eau	17 %	11 %	12 %
Substances extractibles par EtOH 70 %	25 %	18 %	40%
Indices de mousse	1000	250	-
Alcaloïdes totaux	-	-	1 %

Les plus grands pourcentages en cendres totales et en cendres chlorhydrique ont été obtenus avec les écorces des racines de *Securinega virosa* avec un taux d'alcaloïde de 1%. Contrairement aux indices de mousses où la plus grande teneur a été issue des écorces des racines de *T. avicennioides*.

1.1.2. EXTRAITS

Le (tableau III) suivant fait apparaître les différents rendements et aspects obtenus de nos différentes extractions.

Tableau III: Résultats des extractions avec l'eau et l'éthanol 70% des drogues

Extraits	Drogues	Rendement (%)	Aspects / Couleurs
<i>Terminalia avicennioides</i>			
Macéré H ₂ O	Ecorces racines	20,90	Floconneux/brun
Macéré EtOH 70 %	Ecorces racines	21,10	Floconneux/brun
Décocté 10 %	Ecorces racines	30,94	Floconneux/brun
<i>Combretum molle</i>			
Macéré H ₂ O	Ecorces racines	14,08	Floconneux/brun
Macéré EtOH 70 %	Ecorces racines	18,50	Floconneux/brun
Décocté 10 %	Ecorces racines	11,44	Floconneux/brun
<i>Securinega virosa</i>			
Macéré H ₂ O	Ecorces racines	20,90	Granuleux/marron
Macéré EtOH 70 %	Ecorces racines	47,98	Floconneux / marron
Décocté 10 %	Ecorces racines	25,80	Granuleux /marron

Le macéré éthanolique des écorces de racines de *S. virosa* a donné le plus grand rendement et le plus petit rendement a été attribué au décocté des écorces de racine de *C. molle*

Les données de l'extraction au Soxhlet ou extraction avec solvants à polarité croissante sont reportées dans (le tableau IV) suivant :

Tableau IV: Résultats des extractions au soxhlet des drogues

Extraits	Drogues	Rendement (%)	Aspects / Couleurs
<i>Terminalia avicennioides</i>			
Ether-P	Ecorces racines	0,25	molle/ Jaune
DCM	Ecorces racines	0,90	granuleux /Brun
MeOH	Ecorces racines	37	granuleux / marron
H ₂ O 50°C	Ecorces racines	3,70	granuleux/Brun
H ₂ O 100 °C	Ecorces racines	3,05	floconneux/Jaune-brunatre
<i>Combretum molle</i>			
Ether-P	Ecorces racines	0,07	floconneux/brun
DCM	Ecorces racines	0,60	granuleux/ Brun
MeOH	Ecorces racines	7,75	granuleux/ Marron
H ₂ O 50 °C	Ecorces racines	5,35	granuleux/ Brun
H ₂ O 100 °C	Ecorces racines	2,15	floconneux/Jaune-brunatre
<i>Securinega virosa</i>			
Ether-P	Ecorces racines	0,55	molle/marron
DCM	Ecorces racines	1,75	granuleux/ Brun
MeOH	Ecorces racines	5,10	granuleux/ Rouge-brun
H ₂ O 50 °C	Ecorces racines	4,85	floconneux/ brun
H ₂ O 100 °C	Ecorces racines	7,75	floconneux/ brun

Ether-P : extrait à l'éther de pétrole

DCM : extrait au dichlorométhane

MeOH : extrait méthanolique

EtOH70 % : extrait à l'éthanol 70 %

H₂O 50 °C : digesté

H₂O 100 °C : décocté

Les plus grands rendements ont été obtenus avec les mêmes pourcentages soit 7,75% pour l'extrait méthanolique de *C. molle* et l'extrait à chaud (100°) de *S. virosa*. Le plus petit rendement a été obtenu avec l'extrait étheré de *C. molle*.

1.1.3 Réactions de caractérisations

Les données de la phytochimie (réaction de caractérisation en tube) des drogues des trois plantes sont reportées dans le (tableau n° V) suivant :

Tableau V: Résultats des études Phytochimiques

GROUPES CHIMIQUES		<i>Terminalia avicennioides</i>	<i>Combretum molle</i>	<i>Securinega virosa</i>
Coumarines		+	+	-
Alcaloïdes	B	-	-	+
Bases	M	-	-	+
Saponosides		++++	++	-
Indices		1000	250	
Tanins		+++	++++	+++
	Cat	Traces	++	++
	Gal	+++	+++	Traces
Oses et holosides		+++	+++	+++
Mucilages		+	-	-
Stérols et triterpènes		+	-	+
	R-M	++	++	++
Hétérosides cardiotoniques	K	++	++	++
	Bal	++	++	++
Leucoanthocyanes		Traces	+	+++
Anthracénosides libres		+	-	-

B : réactif Bouchardad

M : réactif de Mayer

Cat : Catechique

Gal : Gallique

K : réactif de Kedde

Bal : Baljet

R-M : Raymond-Marthoud

Le screening phytochimique a révélé la présence des tanins dans les 3 drogues, la présence d'alcaloïde dans l'échantillon de *S. virosa*, par contre l'absence de triterpènes dans l'échantillon de *C. molle*.

N.B : les composés : Hétérosides cyanogénétiques, Flavonoïdes, composés réducteurs, Anthocyanes ont donné des réactions négatives lors de cette étude dans nos conditions expérimentales.

1.1.4. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les données de la phytochimie (chromatographie sur couche mince) des drogues des trois plantes sont reportées dans les tableaux et figures suivants : Chaque tableau comprend les informations sur le facteur de rétention (Rf), l'observation à la lumière UV (à 254 nm et la fluorescence 366 nm) et les différentes colorations après révélation avec le réactif : Réactif de Godin (Universel).

▪ CCM des extraits apolaires

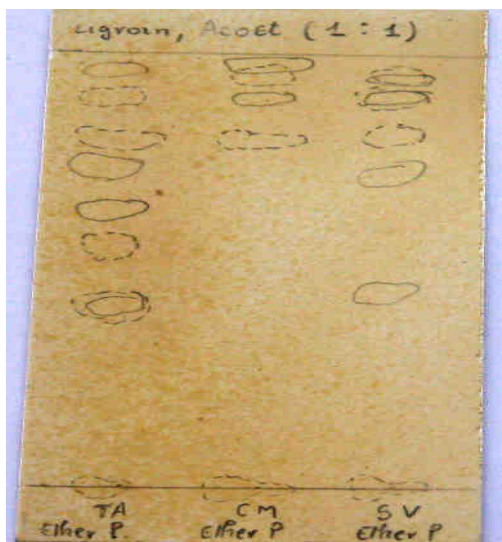


Figure n° 14: CCM des extraits d'éther de pétrole

• Légende

TA : *Terminalia avicennioides*

CM : *Combretum molle*

SV : *Securinega virosa*

Ether-P : Ether de pétrole

Système de solvant :

Ligroïne-acétate d'éthyle (1 : 1)

Tableau VI: Résultats de la CCM des Extraits d'éther de pétrole

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	Godin
Extraits étherés <i>T. avicennioides</i>	0,41	visible	violacé	bleu
	0,55	-	rose-violacé	-
	0,64	visible	-	-
	0,72	visible	-	Violet
	0,80	-	Jaune-vert	Violet
	0,90	-	Bleu-ciel	Violet
	0,98	visible	-	Violet
Extraits étherés <i>C. molle</i>	0,78	-	jaune-vert	-
	0,90	visible	-	-
	0,95	-	Jaune-vert	Violet
	0,98	visible	-	Violet
Extraits étherés <i>S. virosa</i>	0,44	visible	-	-
	0,73	visible	-	-
	0,81	visible	Jaune-vert	Violet
	0,90	visible	Jaune-vert	Violet
	0,96	visible	Jaune-vert	violet

De nombreux taches ont eu une fluorescence jaune-verdâtre à UV 366nm et une coloration violet à après révélation au réactif de Godin. Seul le composé obtenu au Rf : 0,41 a donné une coloration bleue après révélation au Godin.

▪ CCM des Extraits Dichlorométhane (DCM)

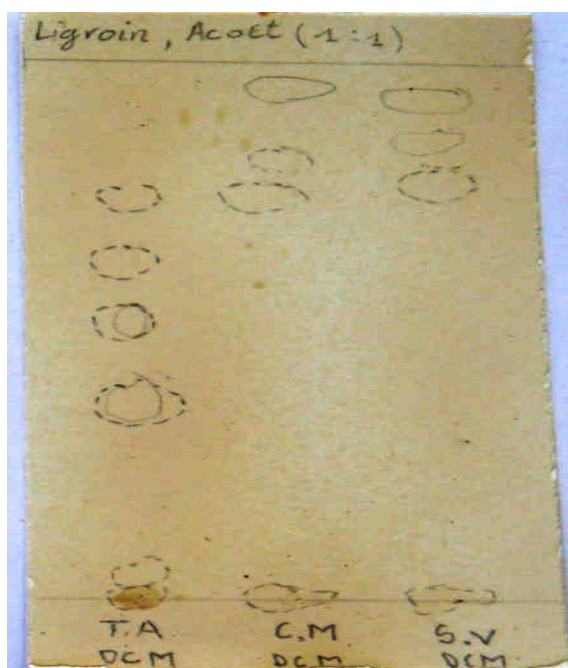


Figure n° 15: CCM des Extraits Dichlorométhane

- **Légende**
 - TA : *Terminalia avicennioides*
 - CM : *Combretum molle*
 - SV : *Securinega virosa*
- DCM : Dichlorométhane
 Système de solvant :
 Ligroïne-acétate d'éthyle (1 : 1)

Tableau VII: Résultats de la CCM des Extraits Dichlorométhane (DCM)

Extraits	R _f	254 nm	366 nm	Godin
Extraits DCM	0,06	visible	Bleu-ciel	Bleu
<i>T. avicennioides</i>	0,38	visible	Bleu-ciel	-
	0,51	-	Jaune-vert	-
	0,62	-	orangé	-
	0,75	-	Bleu-ciel	-
Extraits DCM <i>C. molle</i>	0,75	-	Bleu ciel	-
	0,81	-	Jaune-vert	-
Extraits DCM <i>S. virosa</i>	0,76	-	Bleu-ciel	violet
	0,86	visible	-	violet

La plupart des composés n'ont pas été visibles à UV 254nm, par contre ont donnés différentes florescences à UV 366 et également moins de coloration à après révélation au réactif de Godin.

■ CCM des Extraits Polaires

Dans les tableaux qui suivent, sont présentés les résultats de la CCM des extraits réalisés par l'Eau le Méthanol et l'Ethanol 70%.

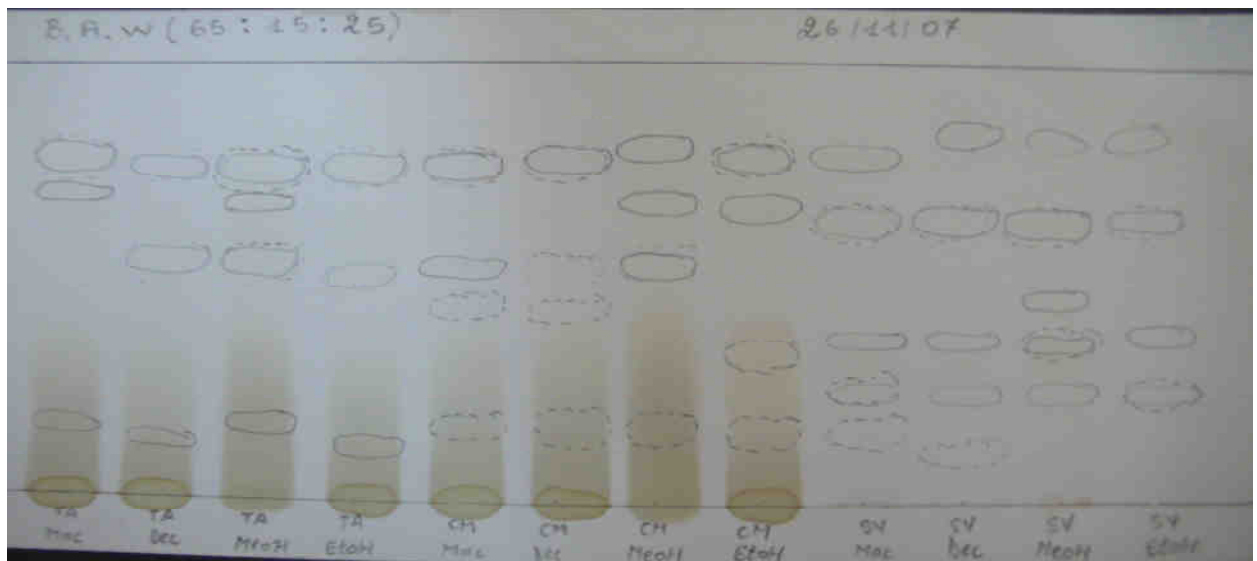


Figure n° 16: CCM des Extraits Polaires

TA : *Terminalia avicennioides*

Mac : macéré

EtOH : éthanol

CM : *Combretum molle*

Dec : décocté

SV : *Securinega virosa*

MeOH : méthanol

Tableau VIII: Résultats de la CCM des extraits polaires

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	Godin
<i>Macéré aqueux T. avicennioides</i>	0,16	visible	-	Jaune-vert
	0,65	visible	-	Jaune-vert
	0,75	visible	Bleu ciel	Bleu
<i>Macéré aqueux C. molle</i>	0,16	visible	-	Jaune
	0,42	-	marron	Jaune
	0,53	-	jaune-vert	jaune
	0,75	visible	Bleu ciel	Bleu
<i>Macéré aqueux S. virosa</i>	0,15	-	Jaune-vert	Jaune
	0,25	visible	Jaune-vert	Jaune
	0,37	visible	-	Jaune
	0,50	visible	-	Jaune
	0,63	visible	Orangé	Jaune-vert
	0,75	visible	Bleu ciel	Jaune
<i>Décocté 10% T. avicennioides</i>	0,13	visible	-	Jaune
	0,53	visible	Bleu ciel	Jaune
	0,75	visible	Bleu ciel	Bleu
<i>Décocté 10% C. molle</i>	0,16	-	Jaune-vert	Jaune
	0,42	-	Jaune-vert	-
	0,53	-	Jaune-vert	-
	0,75	visible	Bleu ciel	Bleu

<i>Décocté 10% S. virosa</i>	0,11	-	Jaune-vert	-
	0,25	visible	Jaune-vert	Jaune-vert
	0,37	visible	Jaune-vert	violet
	0,63	visible	Bleu ciel	Jaune-vert
	0,82	visible	Bleu ciel	Violet
<i>Macéré MeOH T. avicennioides</i>	0,17	visible	-	Violet
	0,53	visible	Bleu ciel	Jaune-vert
	0,67	visible	-	Bleu
	0,75	visible	Bleu ciel	Bleu
<i>Macéré MeOH C. molle</i>	0,16	-	Marron	Jaune
	0,42	visible	Bleu ciel	-
	0,67	visible	-	Bleu
	0,75	visible	Jaune-vert	Bleu
<i>Macéré MeOH S. virosa</i>	0,25	visible	Jaune-vert	Jaune
	0,37	visible	Jaune-vert	-
	0,46	visible	-	-
	0,63	visible	Bleu ciel	Jaune-vert
	0,82	visible	-	violet
<i>Macéré EtOH T. avicennioides</i>	0,12	visible	-	Jaune
	0,50	visible	-	Jaune
	0,78	visible	Bleu ciel	Bleu
<i>Macéré EtOH C. molle</i>	0,16	-	Jaune-vert	Jaune
	0,42	-	Jaune-vert	Jaune
	0,67	-	Jaune-vert	Bleu
	0,78	visible	Bleu ciel	Bleu
<i>Macéré EtOH S. virosa</i>	0,25	visible	Jaune-vert	-
	0,37	visible	-	Jaune
	0,63	visible	Bleu ciel	Jaune-vert
	0,82	visible	-	-

La plupart des composés visibles à UV 254nm ont donné une fluorescence à l'UV 366nm et différentes colorations à après révélation au réactif de Godin.

Les taches observées au Rf : 0,75 et Rf : 0,78 avec les extraits aqueux et hydroalcooliques des drogues de *T. avicennioides* et *C. molle* ont eu les mêmes caractéristiques.

Les figures suivantes font apparaître les chromatogrammes des extraits révélés au réactif de Godin (Universel) : figure n°17 représente les extraits de dichlorométhane et la figure n°18 les extraits d'éther de pétrole.

▪ **Chromatogramme des extraits apolaires révélé par le réactif de Godin**

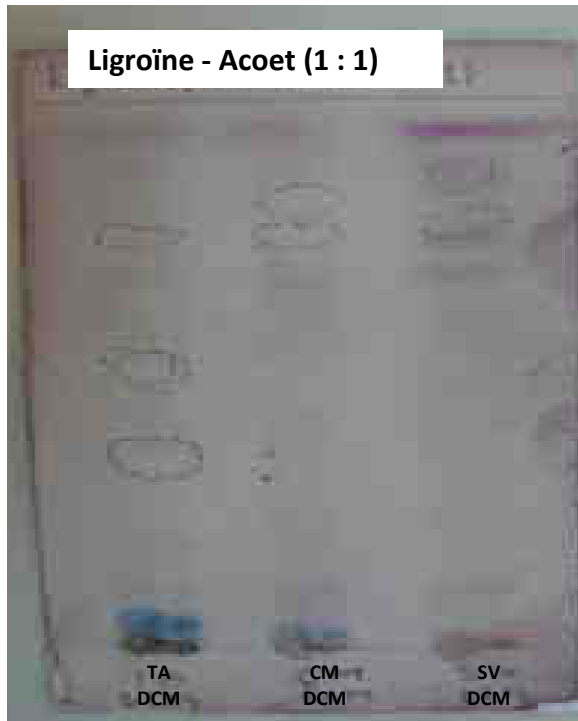


Figure n° 17: Extraits DCM



Figure n° 18: Extraits Ether de Pétrole

TA : *Terminalia avicennioides*
 CM : *Combretum molle*
 SV : *Securinega virosa*

DCM : dichlorométhane
 éther : éther de pétrole

Front du solvant: 8 cm

Support : Plaque de Silice GF₂₅₄ en aluminium

Dépôt : 10 µl

Eluant : Ligroïne : Acétate d'éthyle (1:1)

Révéléateur : - Réactif de Godin

- **Chromatogramme des extraits polaires révélé par le réactif de Godin**
BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (65-15-25)

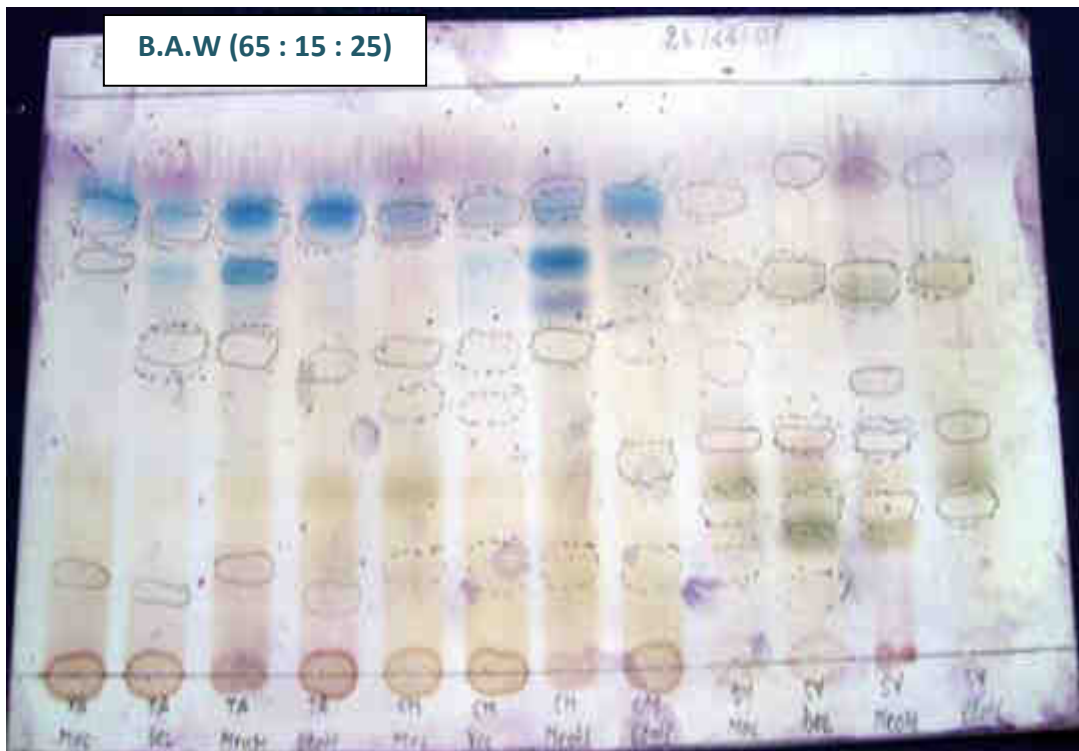


Figure n° 19: Révélation avec le réactif de Godin des extraits polaires

TA : *Terminalia avicennioides*

CM : *Combretum molle*

SV: *Securinega virosa*

Mac : macéré

Dec : décocté

MeOH: méthanol

EtOH : éthanol

Remarque : d'une façon générale, les colorations bleues obtenues après révélation par le réactif de Godin pourraient être des coumarines, les substances colorées en jaune-vert et violet des stérols et des composés terpéniques. Et celles en jaune clair des Flavonoïdes.

• **Résultats de la CCM des Extraits Polaires révélés au réactif de Dragendorff**

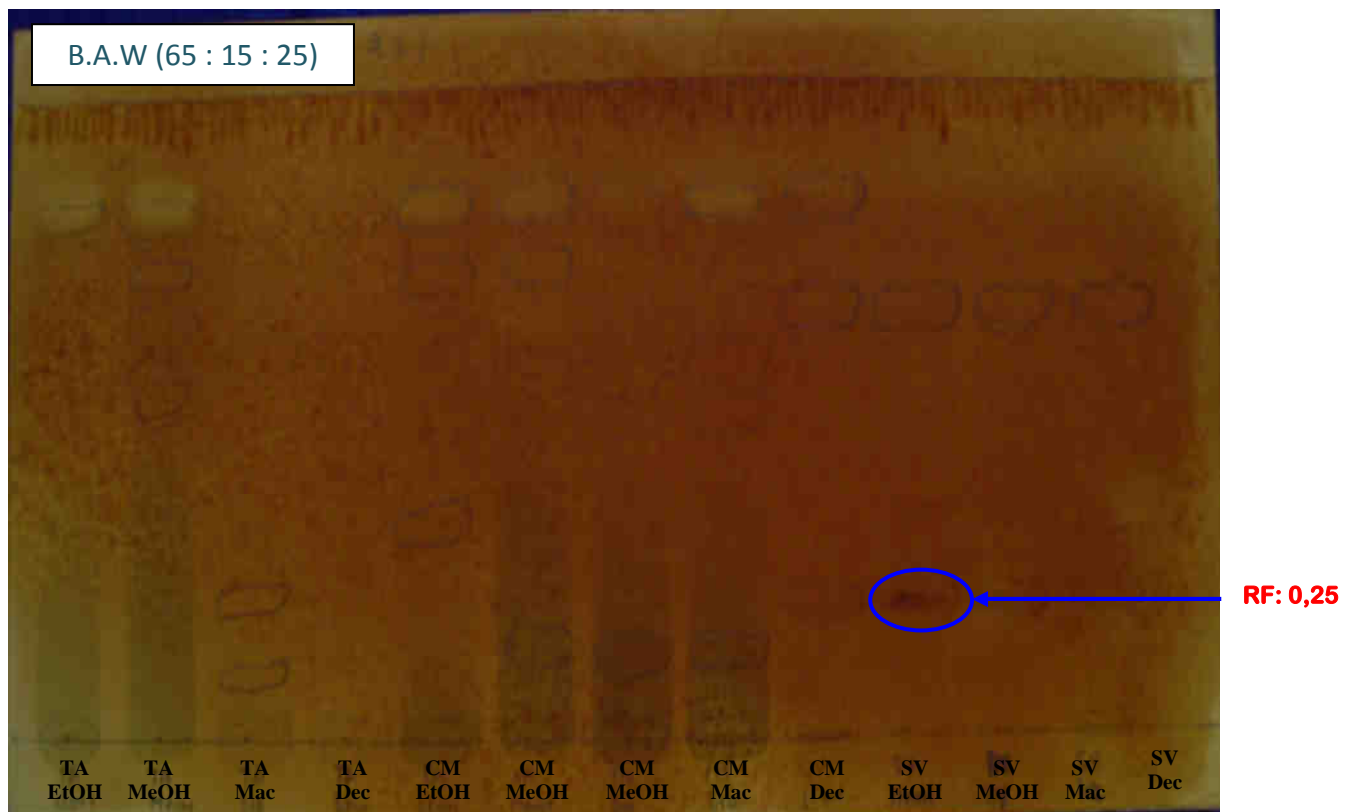


Figure n° 20: Révélation avec le réactif de Dragendorff des extraits polaires

TA : *Terminalia avicennioïdes*

Mac : macéré

EtOH : éthanol

CM : *Combretum molle*

Dec : décocté

SV : *Securinega virosa*

MeOH : méthanol

La coloration rouge-brun observé au Rf : 0,25 dans l'extrait Méthanolique de *S. virosa* pourrait être l'alcaloïde caractérisé par les réactions en tubes avec un taux de 1%.

3.2. TESTS BIOLOGIQUES

3.2.1. RESULTATS DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS

Les chromatogrammes obtenus avec l'ensemble de nos extraits ont été révélés avec une solution de DPPH pour évaluer l'activité antioxydante, les résultats se présentent sous forme de taches jaune sur fond violet.

- Tous les extraits aqueux et hydroalcooliques des écorces des racines de *T. avicennioides* et de *C. molle* ont montré une forte activité antioxydante. Par contre nous n'avons observé aucune activité antioxydante pour les extraits des écorces des racines de *S. virosa*. Ainsi les résultats des extraits polaires sont reportés dans la (figure n° 21).

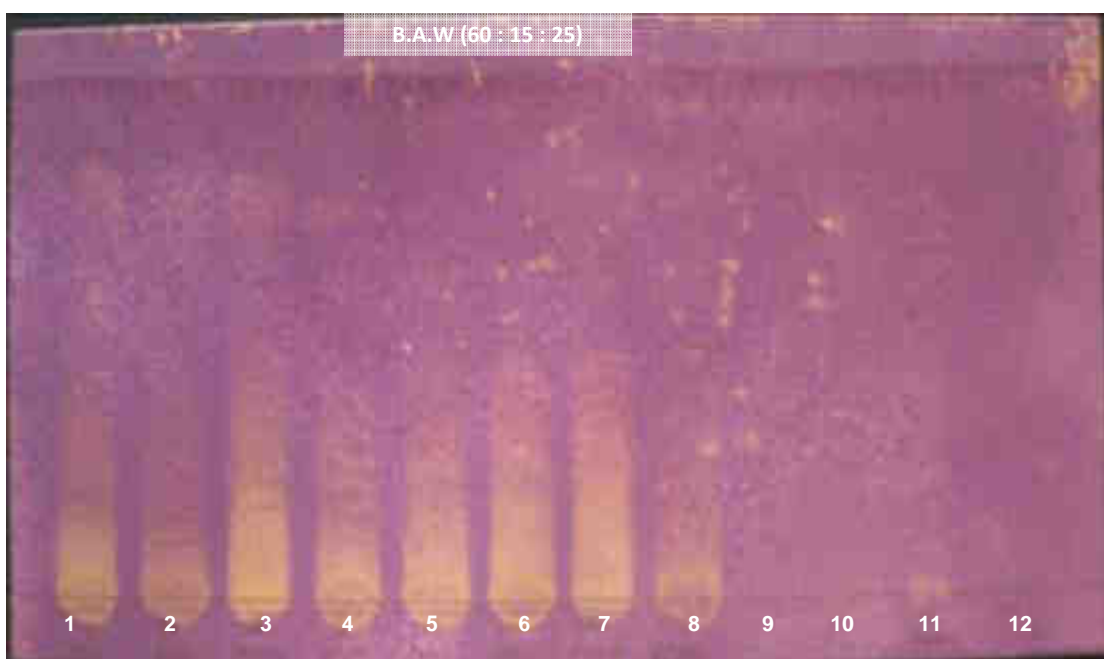


Figure n° 21: Chromatogrammes des extraits polaires révélés par le DPPH

Terminalia avicennioides

- 1 : Macéré aqueux
- 2 : Décocté aqueux
- 3 : MeOH
- 4 : EtOH

Combretum molle

- 5 : Macéré aqueux
- 6 : Décocté aqueux
- 7 : MeOH
- 8 : EtOH

Securinega virosa

- 9 : Macéré aqueux
- 10 : Décocté aqueux
- 11 : MeOH
- 12 : EtOH

Front du solvant: 8 cm

Support : Plaque de Silice en aluminium

Dépôt : 10 µl

Eluant : (BAW) Butanol-Acide acétique-Eau (60 : 15 : 25)

- Les résultats du test antioxydant réalisé sur les extraits apolaires des écorces des racines des trois plantes dans un système de solvant Ligroïne, Acétate d'éthyle (1 :1) après révélation par le DPPH n'ont montré aucune substance active.

3.2.2. RESULTATS DE L'ACTIVITE SUR LA FIXATION DU COMPLEMENT

Dans la (figure n° 22), les résultats de l'activité de la fixation sur le complément sont reportés sur les courbes qui correspondent aux logarithmes des pourcentages d'inhibition par rapport aux différentes concentrations d'extrait ($\mu\text{g/ml}$).

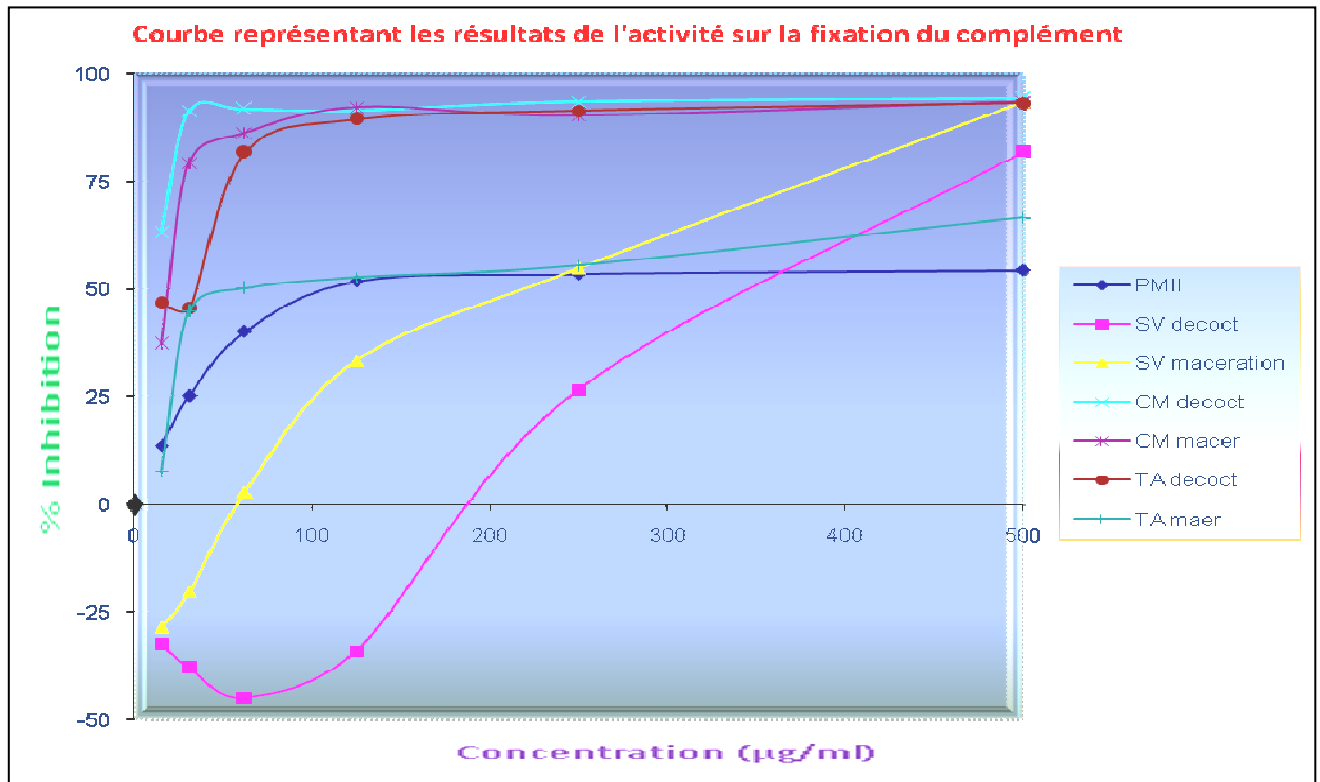


Figure n° 22: Courbes représentant les résultats de l'activité sur la fixation du complément

Le macéré et le décocté de *Combretum molle* ainsi que le décocté *Terminalia avicennioïdes* ont montré une forte activité de fixation du complément respectivement avec des ICH_{50} de 19,20 ; 12,30 et 34,00 $\mu\text{g/ml}$. Comparativement au PMII qui inhibe 50% de l'hémolyse à la dose de 112,40 $\mu\text{g/ml}$.

3.2.3. RESULTATS DE L'ACTIVITE ANTICHOLINESTERASIQUE

Dans les figures qui suivent sont reportés les résultats de l'activité anticholinestérasique réalisée sur les extraits de dichlorométhane (figure n°23) et méthanolique (figure n°24) des trois plantes. L'activité se caractérise par l'apparition des spots blancs sur plaque CCM (Vrai Positif) ne correspondant pas aux mêmes tâches blanches sur plaque CCM (Faux Positif).

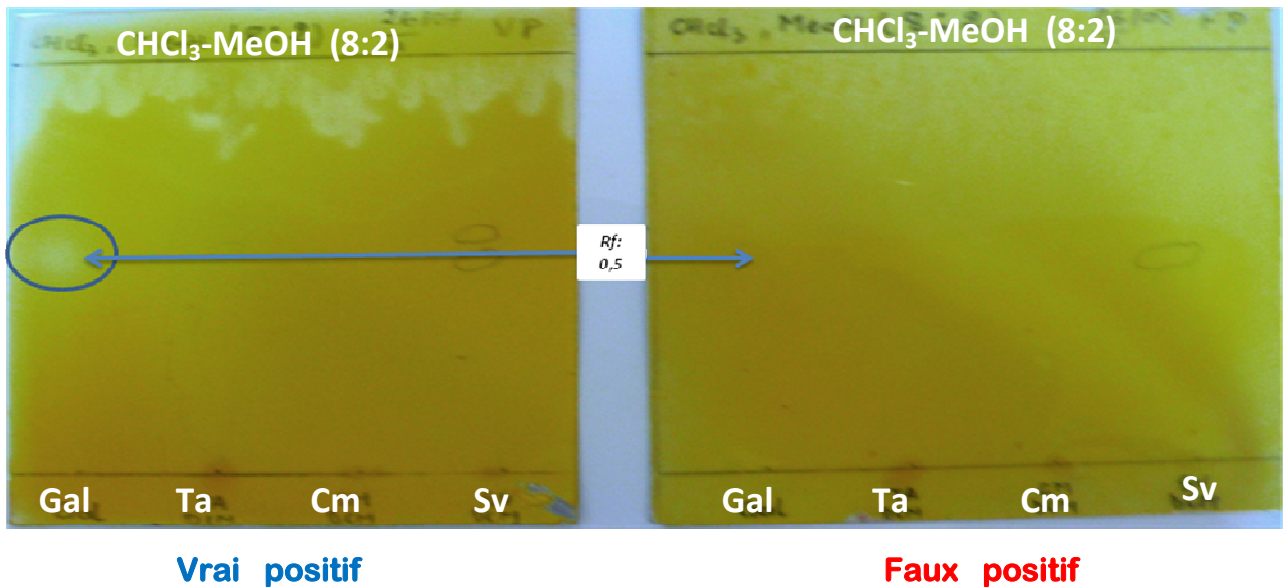


Figure n° 23: Chromatogramme des Extraits (DCM) de l'activité anticholinestérasique

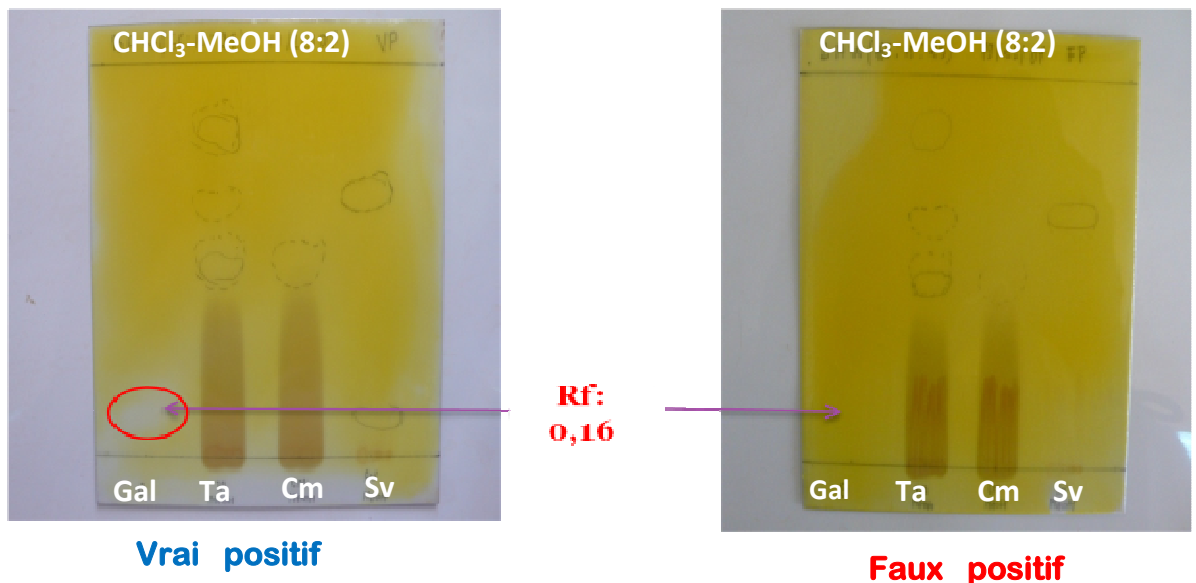


Figure n° 24: Chromatogramme des Extraits MeOH de l'activité anticholinestérasique

Gal : galanthamine
Ta : *Terminalia avicennioides*

Cm : *Combretum molle*
Sv : *Securinega virosa*

N.B : sur l'ensemble des extraits de dichlorométhane et méthanolique des écorces des racines des trois plantes testés, l'activité anticholinestérasique s'est avérée négative dans nos conditions expérimentales.

ANALYSES & DISCUSSION

4. ANALYSES ET DISCUSSION

Cette étude a porté sur la phytochimie et les activités biologiques de trois (03) plantes de la pharmacopée traditionnelle malienne.

Le matériel végétal était constitué des écorces de racines de *Terminalia avicennioides*, *Combretum molle* et de *Securinega virosa*.

Beaucoup de produits naturels se sont avérés actifs comme inhibiteurs de la transcriptase inverse. Ces composés appartiennent à un éventail de classes structurales différentes, par exemple : coumarines, flavonoïdes, tannins, lignanes, alcaloïdes, terpènes, naphto-et anthraquinones, et polysaccharides (Matthée, 1999)

Dans cette étude le criblage phytochimique a révélé la présence de plusieurs composés chimiques dans nos plantes. Les plus abondants ont été les coumarines, saponosides, tanins, stérols, triterpènes, hétérosides cardiotoniques, leucoanthocyanes, les oses et holosides. Les mucilages et les Anthracénosides libres n'ont été présents que dans l'échantillon de *Terminalia avicennioides*. Toutefois la présence de ces composés cités n'avait pas été rapportée avant dans la littérature.

Dans l'échantillon de *S. virosa* nous avons révélé la présence des alcaloïdes ceci corrobore avec les travaux de (Tatematsu et coll. 1991 ; Kerharo et Adams 1974).

Les études antérieures réalisées sur *T. avicennioides* et *C. molle* ont rapportée la présence des flavonoïdes dans les racines de ces plantes (Abdullahi et coll. 2001). Dans notre étude nous avons noté l'absence des flavonoïdes dans nos conditions expérimentales. La variabilité des compositions chimiques peut être due au sol (géographie).

La forte présence des tanins dans les écorces des racines de *T. avicennioides* et de *C. molle* confirme les travaux réalisés sur les deux plantes (Kerharo et Adams 1974).

Les tanins sont surtout connus pour leur propriété astringente mise à profit pour stopper les hémorragies. Ils permettent par ailleurs de lutter contre les infections du fait de leur capacité à complexer les macromolécules, en particulier les protéines : enzymes digestives et autres, protéines fongiques ou virales (Bruneton, 1993).

Nous avons beaucoup apprécié la présence des saponosides dans les écorces des racines de *Combretum molle* dans cette étude. Cependant les données de la littérature se rapportant aux travaux de Ahmed et coll. 2004 sur les racines de *C. molle*, ont eu comme résultat isolément de deux triterpènes à savoir : le Combretène A(I) désigné par le 3 β ,7 α -dihydroxyllanost-5-ene et le Combretène B(II) 3 β -hydrox-28-hydroymethylanost-25(26)-ene. Ceux-ci pourraient être utiles pour chercher à identifier la nature des saponosides retrouvés.

Les saponines mises en évidence dans les écorces de la tige de *C. molle* comme arjunglucoside (également appelé le 4-epi-sericoside) et le sericoside n'ont pas empêché la réplication du HIV-1 ou du HIV-2. Cependant, le punicalagin (substance purifiée de la plante) et le composé CM-A ont inhibé de façon sélective de la réplication du HIV-1 (Asres et Coll. 2005). En effet les saponosides ont des propriétés hémolytiques généralement attribuées à leur interaction avec les stérols de la membrane érythrocytaire qui induit une augmentation de la perméabilité et une fuite de l'hémoglobine (Bruneton, 1993). Selon la même source plusieurs drogues doivent leurs propriétés anti-inflammatoires et anti-œdémateuses à des saponosides. Certes les drogues à saponosides sont traditionnellement utilisées pour leurs propriétés antitussives et/ou expectorantes. Cependant ces activités n'ont pas évaluées dans cette étude.

Les hétérosides cyanogénétiques, composés réducteurs et Anthocyanes ont donné des réactions négatives dans cette étude. Tandis que l'observation à la lampe UV et la révélation des chromatogrammes des extraits avec les réactifs de Godin et de Dragendorff ont permis de confirmer la présence de plusieurs composés obtenus par les réactions en tubes notamment les tanins, les saponosides, les stérols et les triterpènes, les coumarines et les alcaloïdes. La présence de ces composés dans nos différentes drogues pourrait justifier l'utilisation traditionnelle des ces plantes.

La teneur en eau par la méthode gravimétrique a été de 6,40 % pour *Terminalia avicennioïdes*, 5,80 % pour *Combretum molle* et 6,22 % pour *Securinega virosa*.

Ces teneurs étant toutes inférieures à 10 % est une indication de la bonne conservation des drogues. En effet une teneur en eau supérieure à 10 % favoriserait les réactions d'oxydation, de fermentation ainsi que la formation de moisissures qui sont souvent préjudiciables à l'activité thérapeutique de la drogue (Paris et Hurabielle, 1981). Toutefois, nous ne pouvons pas comparer ces résultats car les données de la littérature ne donnent aucune information sur les valeurs de la teneur en eau par la méthode gravimétrique de nos plantes étudiées.

Nous pouvons dire que la majorité des constituants de ces plantes ont une affinité plus marquée pour les solvants polaires. Car dans l'ensemble, la teneur en substances extractibles par l'éthanol dans tous nos échantillons est supérieure à celle des substances extractibles par les autres solvants organiques.

Le meilleur rendement des extractions a été obtenu avec l'extraction à l'éthanol de *Terminalia avicennioïdes* soit 47,98 % et le plus faible rendement avec l'extraction à l'éther de pétrole de *Combretum molle* soit 0,07 %.

Securinega virosa présente les taux les plus élevés en cendres totales et en cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique respectivement 9,20% et 1,95%, le taux le plus élevé en cendre sulfurique a été obtenu avec les écorces des racines de *Combretum molle* soit 16%. Cependant nous n'avons pas de données de la littérature nous permettant de comparer ces résultats.

Par ailleurs un taux bas, obtenu en cendres chlorhydriques, dans tous nos échantillons peuvent témoigner d'une faible présence d'éléments siliceux ou d'une contamination de la drogue avec du sable ou de la poussière. Cela pourrait s'expliquer par le fait que nous avons lavé à l'eau de robinet ces racines après leur récolte.

Pour ce qui concerne **l'activité antioxydante** nous avons observé une forte activité antioxydante des extraits aqueux et hydroalcooliques dans les échantillons de *T. avicennioides* et de *C. molle*. Par contre l'échantillon de *S. virosa* n'a montré aucune activité antiradicalaire après révélation au réactif de DPPH alors que les travaux réalisés sur les racines de l'espèce Ghanéenne ont noté la présence de l'activité antioxydante par la même méthode (Dickson et coll. 2006). Cette discordance pourrait s'expliquer par la variabilité des substances et la variabilité liée au sol, à la géographie et au climat.

L'effet antioxydant de ces différents extraits pourrait être dû à leur richesse en composés polyphénoliques tels que les tanins, les coumarines et les saponosides. En effet, les substances polyphénoliques, selon de nombreux auteurs sont des composés à haut potentiel antioxydant (Bruneton, 1993 ; Cavin, 1999).

Les Combrétacées sont des plantes riches en tanins (Kerharo et Adams 1974). Ceci pourrait expliquer les résultats biologiques des deux plantes qui ont montré une forte activité antioxydante.

Par ailleurs, plusieurs études épidémiologiques ont mis en évidence le fait que les antioxydants protègent l'organisme contre les cancers et autres maladies cardiovasculaires (Pincemail et al. 1999). Un tel résultat semble intéressant car de nos jours un grand intérêt est accordé aux composés antioxydants dans la lutte contre le vih et le sida.

Les recherches ont démontré que l'infection au vih a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme dû au fait que :

Le vih endommage l'intestin de sorte qu'il soit moins apte à dégrader et à absorber les nutriments présents dans les aliments, pour contrer cet effet, l'organisme tente d'augmenter sa propre production d'antioxydants.

Les cellules infectées par le vih « volent » à l'organisme des nutriments essentiels dont elles ont besoin pour fabriquer de nouveaux virus de façon constante (http://www.catie.ca/herb_f.nsf).

Pour ce qui concerne l'activité sur la **fixation du complément** : le macéré, le décocté de *Combretum molle* et le décocté *Terminalia avicennioïdes* ont montré une forte activité de fixation du complément avec des ICH_{50} de 19,20 ; 12,30 et 34,00 μ g/ml respectivement.

La concentration 19,20 μ g/ml pour le macéré de *Terminalia avicennioïdes* est supérieure à celle obtenue par (Caesar, 2006) qui avait trouvé avec le macéré de *Terminalia catappa* une plante de la même famille et du même genre une ICH_{50} 17,24 μ g/ml. Tandis que le décocté de *Combretum molle* provoquait 50% de l'hémolyse à la dose de 12,30 μ g/ml.

Connu pour leur activité sur le système immunitaire, les polysaccharides peuvent avoir des effets modulateurs sur le système du complément, les macrophages, les lymphocytes et les cellules NK (Diallo, 2000). Cependant la présence des sucres n'a pas été déterminée dans cette.

Le système du complément est un système très important dans la défense immunitaire contre les infections. L'activation du complément produit des médiateurs qui exercent de nombreuses activités telles que l'augmentation de la perméabilité vasculaire, l'attraction chimiotactique des leucocytes et la modulation de la production d'anticorps (Nergaard et coll., 2004).

Pour l'activité **anticholinestérasique**, nous avons observé une réaction positive du témoin (la galanthamine) ce qui prouve que l'activité marche, par contre ce sont les extraits de nos plantes qui n'ont pas été actifs par la méthode CCM utilisée dans nos conditions expérimentales. Nous ne pouvons pas comparer ces résultats car nous n'avons pas de données de la littérature qui rapportent l'activité anticholinestérasique de ces plantes.

Par ailleurs, sur le plan pharmacologique ce résultat est intéressant car cela pourrait ouvrir une piste de recherche sur les substances à activité antispasmodiques

Outre ces propriétés, il est important de noter que les trois plantes de cette étude possèdent des propriétés anti-inflammatoire, anti-bilharziose, anti-protozoaire, anti-dysentériale et antimicrobienne et ou aussi pour le traitement des plaies (McGaw et coll. 2001 ; Eloff et coll. 1998 ; Kerharo et Adams 1974). Ces activités n'ont pas été déterminées dans cette étude. Cependant, les données de la littérature sur les composés présents dans les drogues, donnent une indication sur leur possible activité à l'égard des virus et des parasites. En effet, des actions inhibitrices de la réplication des virus ont été décrites *in vitro* pour les tanins. Les dérivés galliques pourraient inhiber l'adsorption des virus sur les cellules mais aussi la transcriptase inverse (Bruneton, 1993).

Par ailleurs, l'activité inhibitrice des tanins sur le VIH-1 par blocage de son entrée dans les cellules cibles a été mise en évidence (LÜ et al. 2004). Ceci pourrait ouvrir une piste de recherche pour nos plantes dont les différentes parties sont riches en tanins.

CONCLUSION & RECOMMANDATIONS

□ CONCLUSION

La médecine traditionnelle reste encore le premier recours pour plus de 80% de la population africaine à cause de l'inaccessibilité et le coût élevé des médicaments conventionnels.

Pour ce qui concerne les études phytochimiques, retenons que les réactions en tubes ont révélé la présence de nombreux composés à des concentrations variables dans nos différentes drogues, dont la présence a été confirmée par la chromatographie sur couche mince (CCM).

La plupart des extraits testés pour leurs activités biologiques ont démontré une efficacité notable. Certes les extraits aqueux et hydroalcooliques de *Terminalia avicennioides* et de *Combretum molle* ont démontré une forte activité antioxydante et une forte activité de fixation sur le complément. Par contre sur l'ensemble des extraits des trois plantes testés, l'activité anticholinestérasique s'est avérée négative par la méthode CCM dans nos conditions expérimentales.

Au terme de cette étude visant à étudier la phytochimie, les activités antioxydante, de fixation sur le complément, et anticholinestérasique. Les composés chimiques retrouvés et les résultats des activités biologiques obtenus, il ressort que ces plantes possèdent des vertus pouvant justifier leur utilisation en médecine traditionnelle.

□ RECOMMANDATIONS

A l'issue des résultats obtenus et de la conclusion de cette étude, les recommandations suivantes ont été formulées, et s'adressent :

✓ INRSP/DMT, FMPOS, Ministère de la Santé:

Poursuivre les investigations sur deux plantes à savoir : *Combretum molle* et *Terminalia avicennioides* qui ont démontré une forte activité antioxydante, de fixation du complément et dont les données de la littérature montrent leur possible activité inhibitrice sur la transcriptase inverse du VIH-1.

✓ Ministère de la santé, Ordres professionnels de la Santé, Fédération Malienne des Thérapeutes Traditionnels :

Rendre pérenne la collaboration entre chercheurs et praticiens de santé.

✓ Ministère de la Santé, Ministère des Enseignements Secondaire Supérieur et de la Recherche Scientifique, Partenaires Techniques et Financiers :

Appuyer les structures de recherches par les moyens (matériels et financiers).

ANNEXES

Composition des réactifs

► Réactif de BALJET

Acide picrique.....1 g
Ethanol à 50° alcoolique q s p.....100 ml

► Réactif de DRAGENDORFF

Nitrate de bismuth pulvérisé.....20,80 g
Iode.....38,10 g
Iodure de sodium anhydre.....200 g
Eau distillée q s p.....1000 ml
Agiter pendant 30 mn

► Réactif du DPPH

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

► Réactif de FEHLING

Solution A :

CuSO₄..... 35 g
Eau distillée.....500 ml
H₂SO₄.....5 ml

Laisser refroidir et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.

Solution B :

Sel de Seignette.....150 g
Eau distillée.....500 ml

Refroidir et ajouter 300 ml 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.

► Réactif de GODIN

Solution A :

Vanilline1 g
Ethanol à 95° alcoolique.....1000 ml

Solution B :

Acide perchlorique 3 ml

Eau distillée.....100 ml

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

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

Acide picrique 1 g

Carbonate de sodium.....10 g

Eau distillée q s p.....100 ml

► **Réactif de KEDDE**

Acide dinitro 3,5 benzoïque.....1 g

Ethanol à 95 ° alcoolique q s p.....100 ml

► **Réactif de MAYER**

Iodure de potassium.....25 g

Chlorure mercurique.....6,77g

Eau distillée q s p.....50 ml

► **Réactif de RAYMOND MARTHOUD**

1,3 dinitrobenzène 1 g

Ethanol à 96° alcoolique q s p..... 100 ml

Activité Anticholinestérase

➤ Réaction de vrai positif

1. Dissoudre dans 10 ml de 50mM tris PH. 8

ATCI	14,5 mg
DTNB	19,8 mg
2. Dissoudre dans 9940 µl de tris pH.8

AchE (3UI/ml)	60 µl
---------------------	-------

➤ Réaction de faux positif

1. Dissoudre dans 9940 µl de tris pH.8 de 50mM tris PH. 8

AchE (3UI/ml)	60 µl
ATCI	14,5 mg
2. Dissoudre dans 10 ml de 50mM tris PH. 8

DTNB	19,8 mg
------------	---------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abdullahi A L; Agho M.O; Amos S; Gamaniel K S; Wambebe C** Science Education Programme, Abubakar Tafawa Balewa University, P.M.B 0248, Bauchi Nigeria *Phytotherapy research: PTR* (2001) 15(5), 431-4.
2. **Ahmed, Bahar; Al-Howiriny, Tawfeq; Passreiter, Claus; Mossa, Jaber.** Medicinal, Aromatic and Poisonous Plants Research Center, College of Pharmacy, King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia. *Pharmaceutic Biology (Lisse, Netherlands)* (2004), 42(2), 109-113.
3. **Allain, Pierre**– *Pharmacologie : les médicaments* – Ed ESTEM (1996) – 414p
4. **Asres, Kaleab ; Balcha, Fekede.** Departement of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Addis Ababa University, Addis Ababa, Ethiopia. *Ethiopian Pharmaceutical Journal* (1998) 16 25-33.
5. **Asres Kaleab; Bucar Franz** – Anti-HIV activity against immunodeficiency virus type 1 (HIV-I) and type II (HIV-II) of compounds isolated from the stem bark of *Combretum molle* – Departement of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Addis Ababa University, *Ethiopian medical journal* (2005).
6. **Asres, K. ; Bucar, F. ; Knauder, E. ; Yandley, V. ; Kendrick, H. ; Croft, S.L.** – In vitro antiprotozoal activity of extract and compounds from the stem bark of *Combretum molle*. Departement of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Addis Ababa University, Addis Ababa, Ethiopia. *Phytotherapy Research* (2001) 15(7), 613-617.
7. **Bach J.F. :** *Immunologie* . Flammarion, Paris, 1976, 808p.
8. **Bruneton J. :** *Pharmacognosie et Phytochimie des plantes médicinales*. Lavoisier, Paris, 1993, 2^{ème} édition, 914p.
9. **Cavin, A.** - Investigation phytochimique des trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires : *Tinospora crisp* (MENISPERNACEAE), *Merremia emarginata* (CONVOVULACEAE) et *Oreophea eneandra* (ANNONACEAE) - Thèse de doctorat, Lausanne (1999) - 243 p
10. **Chevalley, I.**– Contribution à l'étude phytochimique des Saxifragacées : isolement d'antioxydants à partir des feuilles de *Saxifraga stellaris* L. et de *Saxifraga cuneifolia* L. et d'un composé antifongique de *Ribes rubrum* L. – Thèse de Doctorat, Lausanne (2000) – 175p.
11. **Crété, P. ; Précis de Botanique**, Tome II, 2^{ème} Edition 1965, 429p collection de précis de Pharmacie sous la direction de M-M – Janot.
12. **Diallo Amadou** (2005) - Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, 98p.

13. **Diallo Drissa** – Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them : *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada Africana* (Mimisaceae), *Trichilia emetica* (Meliaceae). These de doctorat, Lausanne, 2000, 211.
14. **Diallo D., Marston A. Terreaux C., Touré Y., Paulsen B., Smestad and Hostettman K.** : screening of Malian Medicinal Plants for Antifungal, Larvicidal, Molluscicidal, Antioxydant and Radical Scavenging Activities. *Phytotherapy Research*, 2001, 15, 401 – 406.
15. **Dickson R A; Houghton P J; Gibbon S** Pharmacognosy Research, Pharmaceutical Science Research Division, KCL, 150 Stamford street, London SE1 9NH, UK phytotherapy research : *PTR* (2006) 20 (1), 41-5
16. **Fofana, S.** (2005) - Exploration Biochimique sur le Pouvoir Immunogène de trois plantes en Côte D'Ivoire : *Alstonia boonei* (APOCYNACEAE), *Mitragyna ciliata* (RUBIACEAE) et *Terminalia catappa* (COMBRETACEAE). Thèse de Pharmacie
17. **Govindachari, Tuticorin R.; Jadhav, S. J. ; Joshi, Balwant S. ; Kamat, Venkatesh N. ; Mohamed, P.A; Parthasarath, P. C.; Patankar, S. J.; Prakash, D.; Rane, D. F.; N.** – Investigation of some Indian Plants – CIBA Res. Centre, Bombay, Indian. *India Journal of Chemistry* (1969).
18. **Iwalokun B A; Gbenie G O; Adewole T A; Akinsinde K A** – Shigellocidal properties of three Nigerian medicinal plants: *Ocimum gratissimum*, *Terminalia avicennoides*, and *Momordica balsamina* - *Biochemistry Departement, Lagos State University Journal of heath, population, and nutrition*, (2001).
19. **Kerharo, J. et ADAM, J.G.** – Pharmacopée sénégalaise traditionnelle : plantes médicinales et toxiques – Ed Vigot et Frères, Paris (1974) – 1011p
20. **Konate S.** (2000) – étude préliminaire sur l'activité d'un médicament à base de plante (complexe vitex) pour la prise en charge des sujets VIH positifs - thèse Pharmacie ; Bamako 68p.
21. **Lü, Lin ; Liu, Shu-Wen ; Jiang, Shi-Bo ; Wu, Shu-Guang.**– Tannin inhibits HIV-1 entry by targeting gp41 *in Acta Pharmacologica Sinica* – Ed Acta Pharmacologica Sinica, Chines Pharmacological Society, Shanghai Institue of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences (2004) – Vol. 25, N° 2: 213-218
22. **Malgras, D.**– Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes – Ed Karthala et ACCT (1992) – 478p.
23. **Matthée Gesa; Anthony D. Wright; and Gabriele M. Kônig** - IHV Reverse Transcriptase inhibitors of Natural Origin - janvier 1999.

24. **McGaw L J ; Rabe T ; Sparg S G ; Jager A K ; Eloff J N ; van Staden J** – An investigation on the biological activity of Combretum species. Research centre for Plant Growth and Development , School of Botany and Zoology, University of Natal Pietermaritzburg, Private Bag X01, Scottsville 3209, South Africa Journal of ethnopharmacology (2001).
25. **Morin Yves:** Petit Larousse de la Médecine. Paris 2001, 1087p.
26. **Nergaard C. S., Diallo D. Michaelsen T. E., Malterud K. E., Kiyohara H., Matsumoto T. Yamada H. Paulsen S. B.,** : Isolation, partial characterisation and immunomodulating activities of polysaccharides from *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. Ex Walp. Journal of Ethnopharmacology, 2004, 91, 141 – 152.
27. **Niaré Aminata (2005)** – Etude de la phytochimie et des activités pharmacologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae). thèse de pharmacie, Bamako, 89p.
28. **Paris, M et Hurabielle, M.** Abrégés de Matière médicale (Pharmacognosie). Tome 1. Généralités- Monographie, Paris, Masson, 1981. 339p.
29. **Pincemail, J. ; Meurisse, M. ; Limet, R. ; Defraigne, Jo.**– Méthodes d'évaluation du stress antioxydant chez l'homme : importance en matière de prévention – Cancérologie – Ed MEDI SPHERE (1999).
30. **Samaké Fatoumata Batata (1999)** – Etude des plantes dans le traitement des plaies : Polysaccharides et leur activité sur le complément - Thèse de Pharmacie
31. **Tatematsu, Hiroshi; Mori, Masami; Yang, Tsang Hsiung; Chang, Jer Jang; Lee, Thomas Tung Ying; Lee, Kuo Hsiung.** – Cytotoxic principales of *Securinega virosa*: virosecurinine and viroallosecurinine and related derivatives. – Univ. North Carolina. Journal of Pharmaceutical Science (1991).
32. **Y. Cohen** -Abrégés de Pharmacologie 4è Edition 1994 Masson Paris Milan Barcelomne 441p.
33. **Richard A. Harvey; Pamela C. Champe; Richard D. Howland ; MaryJ. Mycek** – Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology, Third Edition 2006 552p.
34. http://www.catie.ca/herb_f.nsf disponible 05-03-2007

7. GLOSSAIRE

Acétylcholine (Ach) substance chimique présente chez les vertébrés, qui joue un rôle de neuromédiateur permettant la transmission de l'influx nerveux d'un neurone à l'autre en passant par les synapses, et à partir des neurones vers les cellules musculaires, ce qui conduit ces dernières à se contracter.

Acétylcholinestérase (AchE) est une enzyme très courante chez les animaux, notamment au niveau des synapses cholinergiques où elle inactive l'acétylcholine libérée dans la fente synaptique et permet ainsi la recapture de la choline par la terminaison synaptique.

Agoniste est une molécule interagissant avec un récepteur membranaire et activant celui-ci. L'agoniste mime en général le message se liant habituellement avec le récepteur en question.

Antagoniste Substance qui se lie à un récepteur et qui bloque son activité.

Albumine soluble dans l'eau et fabriquée par le foie, l'albumine est une protéine qui sert au transport de nombreuses substances dans le sang et qui permet le maintien de la pression oncotique.

Antigène est une macromolécule naturelle ou synthétique, reconnue par des anticorps ou des cellules du système immunitaire et capable d'engendrer une réponse immunitaire.

Anticorps est une glycoprotéine complexe utilisée par le système immunitaire pour détecter et neutraliser les agents pathogènes comme les bactéries et les virus.

Antioxydant Substance capable de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme.

Bronchoconstriction est due à la fixation de l'acétylcholine sur les récepteurs induisant une contraction des muscles lisses des bronches au niveau des poumons. Elle crée une obstruction des bronches qui peut entraîner une difficulté respiratoire.

Bronchodilatation augmentation du calibre d'un vaisseau par extension de ses fibres musculaires

Cholinergique le terme cholinergique fait référence à tout agent qui stimule ou simule l'action de l'acétylcholine. Il s'applique également aux fibres nerveuses qui activent l'acétylcholine.

Complément l'ensemble des protéines sériques formant un système multienzymatique susceptible d'être activé dans une réaction inflammatoire (*selon la voie alterne*) ou dans une réaction immunitaire (*selon la voie classique*).

Cytolyse lyse des cellules à la suite de la perforation de la membrane cytoplasmique sous l'action du complément ou sous l'action de cellules cytotoxiques.

ICH₅₀ concentration d'un composé inhibant 50% de l'effet observé

Immunité est ensemble des mécanismes biologiques permettant à un organisme de reconnaître et de tolérer ce qui lui appartient en propre (le soi) et de reconnaître et de rejeter ce qui lui est étranger (le non soi) : les substances étrangères ou les agents infectieux auxquels il est exposé (bactéries, virus), mais aussi ses propres constituants altérés (comme des cellules tumorales).

Lymphocyte est une catégorie de globule blanc (leucocyte) impliquée dans les mécanismes de l'immunité acquise (dirigée spécifiquement contre les antigènes étrangers).

Opsonisation processus par lequel certaines substances captent et digèrent les agents infectieux (bactéries, virus, parasites).

Parasympathomimétique substance qui produit les mêmes effets que le système nerveux parasympathique, partie du système nerveux qui contrôle, avec le système sympathique ou orthosympathique, le fonctionnement des viscères (organes situés à l'intérieur des cavités du corps) et les fonctions vitales (respiration, circulation, digestion, excrétion).

Parasympatholytique substance qui s'oppose à l'action du système nerveux parasympathique

Phagocytose capture et digestion par une cellule phagocytaire (polynucléaire ou macrophage) d'une particule inerte ou vivante.

Radical libre est une molécule qui possède un électron non apparié, c'est une espèce chimique dérivée du métabolisme de l'oxygène, extrêmement toxiques.

Stress oxydatif conséquence au niveau cellulaire de l'accumulation de radicaux libres, pouvant occasionner des dommages aux cellules avec pertes de fonction et d'intégrité, voire mort cellulaire.

Système du complément est un ensemble de protéines faisant partie de l'immunité non spécifique et agissant par une cascade protéolytique

Système orthosympathique (ou sympathique) qui intervient dans les activités involontaires des situations de stress et d'éveil. Le sympathique stimule l'ensemble des organes qui jouent un rôle dans la défense. Des quantités importantes d'adrénaline sont déchargées ; le rythme cardiaque est accéléré ; la pression sanguine augmente ; les vaisseaux du coeur et des muscles squelettiques sont dilatés ; ceux de la peau et des viscères sont contractés ; la respiration est plus ample ; les pupilles sont dilatées (mydriase) ; les poils sont hérissés et la motricité gastro-intestinale est arrêtée.

Système parasympathique se charge des activités involontaires des situations de paix et de repos. Les activités du processus général de la digestion sont stimulées (sécrétions salivaire, stomacale, intestinale, hépatique, pancréatique ; motricité et péristaltisme) ; le rythme cardiaque est ralenti ; la pression sanguine diminue ; les pupilles sont rétrécies (myose) et la respiration est plus calme.

Voie alterne voie d'activation du complément indépendante des anticorps, faisant intervenir une stimulation directe du C3 et dans laquelle ne participent pas les composants C1, C2 et C4.

Voie classique voie d'activation du complément dépendante des anticorps déclenchée par la fixation du fragment C1q sur les complexes immuns.

8. FICHE SIGNALÉTIQUE

NOM : MARIKO

PRENOM : Mory Elimane

TITRE DE LA THESE : Etude de la phytochimie et des activités biologiques de trois (03) plantes : *Terminalia avicennioides* Guill. Perr (Combretaceae), *Combretum molle* G. Don (Combretaceae), *Securinega virosa* Baill. (Euphorbiaceae).

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2007 - 2008

VILLE DE SOUTENANCE : Bamako (Mali)

LIEU DE DEPOT : Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et
d'Odonto-Stomatologie

SECTEUR D'INTERET : Médecine traditionnelle

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

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

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

Je le jure !