

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
Partie I : PRESENTATION DES MILIEUX D'ETUDE	3
A. SITUATION GEOGRAPHIQUE	3
1. MILIEUX PHYSIQUES	6
2. MILIEUX BIOTIQUES.....	11
Partie II : MATERIELS ET METHODES	15
II. 1. MATERIELS	16
II.1.1 POSITION SYSTEMATIQUE	16
II.1.2. CHOIX DE L'ESPECE A ETUDIER.....	20
II.1.3. COLLECTE ET IDENTIFICATION DES PLANTES MEDICINALES.....	20
II. 2 METHODES D'ETUDE	21
II.2.1. ETUDE CARTOGRAPHIQUE.....	21
II.2.2. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	21
II.2.3. ETUDES ETHNOBOTANIQUES.....	21
A. CHOIX ET LOCALISATION DES LIEUX D'ETUDE	21
B. ENQUETES ETHNOBOTANIQUES	21
C. CATEGORIES D'INFORMATEURS.....	22
D. PREPARATION DES EXTRAITS VEGETAUX.....	23
E. ETUDES CHIMIQUES	24
F. ETUDES PHARMACOLOGIQUES	30
1. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTI-PALUDIQUE.....	30
2. ETUDES DE L'ACTIVITE ANTI-HISTAMINIQUE.....	33
3. ETUDE DE L'ACTIVITE CYTOTOXIQUE.....	35
Partie III : RESULTATS	41
I. ENQUETES ETHNOBOTANIQUES.....	42
1. LISTE FLORISTIQUE DES PLANTES MEDICINALES DANS LES SITES D'ETUDES	42
2. MODE D'UTILISATION TRADITIONNELLE	42
II. ETUDES CHIMIQUES.....	43
A. CRIBLAGES PHYTOCHIMIQUES.....	43
B. ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	45
III. ETUDES PHARMACOLOGIQUES.....	45

A. ACTIVITE ANTIPALUDIQUE.....	45
B. ACTIVITE ANTIHISTAMINIQUE	45
C. ACTIVITE CYTOTOXIQUE.....	47
PARTIE IV : DISCUSSION.....	49
PARTIE V : CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	52
PARTIE VI : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	54

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

TABLEAUX

Tableau I : Catégories et nombres des personnes enquêtées	22
Tableau II : Caractéristiques de <i>Fuirena glomerata</i> Lam. (CYPERACEAE)	43
Tableau III : Criblages phytochimiques de <i>Fuirena glomerata</i> (CYPERACEAE)	44
Tableau IV : Activité cytotoxique de <i>Fuirena glomerata</i> vis-à-vis des cellules P388	47

FIGURES

Figure 1 : Carte de Madagascar	4
Figure 2 : Carte de la Région SOFIA	5
Figure 3 : Carte hydrographique de la Région SOFIA	8
Figure 4 : Diagramme ombrothermique de la Région SOFIA	10
Figure 5a : <i>Fuirena glomerata</i> (CYPERACEAE) : port de la plante	18
Figure 5b : <i>Fuirena glomerata</i> (CYPERACEAE) : les inflorescences	19
Figure 6 : Effet relaxant de l'extrait de <i>Fuirena glomerata</i> vis-à-vis de la trachée de cobaye précontractée par l'histamine	46
Figure 7 : Effet cytotoxique de différents extraits de <i>Fuirena glomerata</i> vis-à-vis des cellules P388	48

INTRODUCTION

Faisant partie du patrimoine culturel de tous les peuples du monde, l'utilisation des plantes médicinales demeure encore la forme de médecine la plus répandue à travers les continents (RAMANANJANAHARY, RATSIMIALA , 2005).

Dans les pays en développement, l'usage répandu de la médecine traditionnelle est conditionné par son prix abordable pour la population et aussi trop souvent par faute d'avoir accès aux avantages de la médecine moderne (O.M.S, 2005).

Depuis toujours, les malgaches se soignent avec la nature, ayant appris au fil des siècles à connaître les principes actifs présents dans les innombrables plantes médicinales, parfois uniques au monde, poussant dans la grande île. De plus, les malgaches vivent avec les plantes, communiquent avec elles comme si elles avaient une âme, d'où l'utilisation des plantes à des fins curatives a été longtemps associée aux pratiques magico-religieuses. Ce qui est vérifié par certaines plantes comme la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*) ayant fait l'objet de découvertes troublantes de la part des chercheurs par l'obtention des principes actifs différents à chaque niveau d'extraction. En effet, étant connu pour le traitement de certains cancers, l'extrait de cette plante se révèle aussi efficace contre les maladies cardiovasculaires. L'exploration scientifique malgache n'a pas donc livré tous ses secrets (http://www.madagascar-homeopharma.com/0_histoire.php).

Néanmoins de nombreuses plantes médicinales terrestres et aquatiques dans la grande île n'ont pas encore fait l'objet d'une valorisation scientifique afin que la population puisse vraiment profiter de leurs effets bénéfiques et de les protéger.

Actuellement, la recherche scientifique se limite à des recherches fondamentales. Les nouvelles applications thérapeutiques sont rares dans le domaine pharmaceutique et alimentaire. De plus, l'effet thérapeutique reconnu en médecine traditionnelle rencontre des difficultés pour être évalué scientifiquement faute de moyen et de législation non adaptée.

Afin de trouver des alternatives à ces difficultés, la Faculté des Sciences de l'Université de Mahajanga par l'intermédiaire de l'option "Valorisation de la Biodiversité Végétale", financé par le projet MADES, en partenariat avec l'Institut Malgache de Recherches Appliquées (IMRA) a décidé de faire des recherches sur le thème intitulé : "Valorisation des plantes médicinales aquatiques à Madagascar". Dans ce contexte, nous avons choisi le volet "Valorisation de la Biodiversité Végétale de la Région SOFIA".

Après enquête ethnobotanique auprès des différentes catégories sociales et ethniques telles que les tradipraticiens, les enseignants, les administrateurs, les matrones, les herboristes et les simples citoyens de la zone de Mandritsara, Antsohihy et Port-Bergé, il nous est apparu important de vérifier scientifiquement par la suite, les vertus thérapeutiques recueillies sur les plantes sélectionnées. Pour cela, notre choix s'est porté sur une plante aquatique dénommée "***Fuirena glomerata***" en raison de son utilisation courante dans la Région.

Ainsi, le présent travail porte sur la "**Valorisation de la biodiversité végétale aquatique de la Région SOFIA par des études ethnobotaniques, phytochimiques, et ethnopharmacologiques de *Fuirena glomerata*. Lam (CYPERACEAE)**". Des études de criblage phytochimique et d'évaluation des activités antipaludique, antihistaminique et cytotoxique ont été effectuées afin de connaître d'une part, les grandes classes des composés contenues dans la plante et d'autre part, les éventuelles vertus thérapeutiques de l'espèce étudiée. Ces travaux présentent un grand intérêt dans la mesure où ils permettent d'établir une relation entre les connaissances traditionnelles et scientifiques pour mieux appréhender l'utilisation de la ***Fuirena glomerata*** en médecine traditionnelle malgache.

I. PRESENTATION DES MILIEUX D'ETUDE

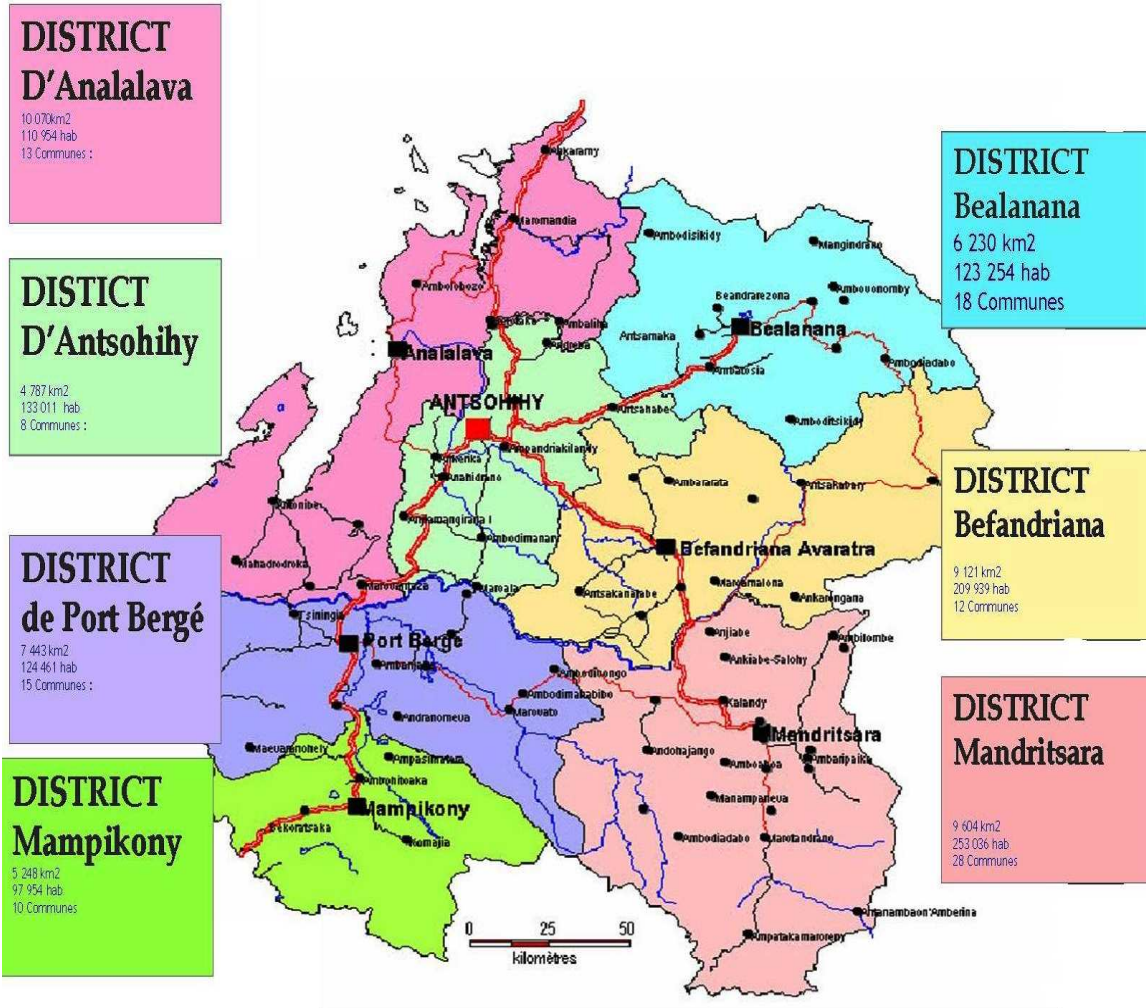
A. SITUATION GEOGRAPHIQUE

La Région SOFIA fait partie des quatre Régions qui composent l'ancienne province de Mahajanga. Avec une superficie de 52504 km², elle est géographiquement la plus grande et la plus peuplée. Plus d'un million d'habitants y vivent en 2005, et se répartissent dans les 7 districts existant dans la Région telles que : Antsohihy (Capitale de la Région), Analalava, Port-Bergé, Mampikony, Bealanana, Befandriana et Mandritsara. Ces districts sont subdivisés en 108 communes dont le plus grand est le district de Mandritsara avec 28 communes et le plus petit est le district de Mampikony avec 10 communes.

[<http://sofia-sim.org/index.php?id=306>].



Fig. 1 : Carte de Madagascar [<http://www.gouvi.com/mada/mada/cart0004.htm>]



1. MILIEUX PHYSIQUES

1.1. TOPOGRAPHIE

La Région SOFIA met en évidence trois ensembles bien distincts tels que les plateaux, la plaine et le littoral. Elle se trouve au pied des hautes terres et ouverte sur le canal de Mozambique.

Les plateaux de la Région SOFIA sont gréseux et basaltiques très découpés par l'érosion avec des vallées étroites qui portent une forêt sèche sur des sols ferrugineux lessivés ou des dalles basaltiques où les conditions sont peu favorables pour les cultures.

La plaine est une zone basse se trouvant à une altitude inférieure à 1000 m. Elle est située au pied du massif TSARATANANA.

A l'Est, s'allonge un couloir de dépression de terrain formant une mosaïque de cuvettes, de lacs et de baiboho, fortement approvisionné en eau. Deux grands fleuves (Loza, Sofia) alluvionnent périodiquement cette mosaïque.

Au Sud, il y a la prédominance des baiboho s'étendant vers l'ouest sur le plateau de Bongolava.

Enfin, le littoral de la Région SOFIA est constitué des plaines côtières et de côtes de 450km de long. Ce littoral est couvert de formes volcaniques boisées. Les fleuves et les marées développent sur le littoral des vases salées et de la mangrove favorisant le développement de la pêche [<http://sofia-sim.org/index.php?id=306>].

1.2. GEOLOGIE

La Région SOFIA est formée essentiellement par deux types de terrains tels que les terrains sédimentaires et les terrains cristallins.

Les terrains cristallins constituent l'essentiel des paysages à l'intérieur de la Région dont un système de VOHIBORY a été localisé dans les districts de Port-Bergé et de Mampikony, un système de graphite compose les districts de Bealanana, de Befandriana nord et de Mandritsara et une partie d'Antsohiy.

Dans la partie Est de Bealanana, de Befandriana Nord et de Mandritsara se trouve de l'infra-graphite. Et enfin le granite, qui forme des collines rocheuses se trouve surtout à Befandriana et Mandritsara et pour une partie à Bealanana.

Les terrains sédimentaires couvrant la zone côtière s'avancent même à l'intérieur pour former des plateaux à faible altitude comme les plateaux de Manasamody. On peut citer parmi ces terrains sédimentaires : le néogène lacustre, le volcanisme néogène dans le district de Bealanana formant la cuvette d'Ankaizina, le volcanisme crétacé formant les plateaux de Manasamody du district d'Analalava et prolongé par le plateau de Bongolava à Port-Bergé et à Mampikony, le jurassique existant dans les districts d'Analalava et d'Antsohihy, l'Isalo et le nummulitique [<http://www.sofia.gov.mg>].

1.3. PEDOLOGIE

Différents types de sols sont observés dans la Région SOFIA tels qu'un complexe de sols ferrugineux formant les plateaux de Bealanana et de Befandriana, un complexe de lithosols et sols calcimorphes dans la presqu'île d'Ampasindava, un complexe de lithosols, sols calcimorphes et sols hydromorphes dans les districts d'Antsohihy et de Port-Bergé et enfin un complexe de lithosols et de sols peu évolués à Mandritsara et à Befandriana. [<http://sofia-sim.org/index.php?id=306>].

1.4. HYDROLOGIE

Le cycle hydrologique correspond à la circulation constante des masses d'eau (sol et mer) à travers la biosphère et l'atmosphère par évaporation, évapotranspiration (perte d'eau du sol par évaporation et transpiration des plantes), précipitation et écoulement.

La Région possède de nombreux lacs (Fig. 3). La majorité se trouve dans le District de Port-Bergé, avec plus de 10 lacs, dont on peut citer notamment, les lacs Tseny, Amparihy, Bemakamba, Marovariho. A Bealanana, le lac Sofia. A Mampikony, le lac Sinja et à Antsohihy, les lacs Andrampongy, Matsaboribe, Mangilihilia et Maroankoay [<http://www.sofia.gov.mg>].

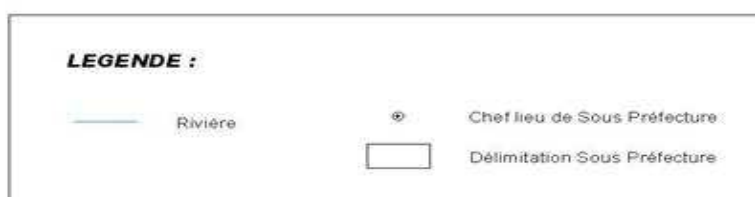
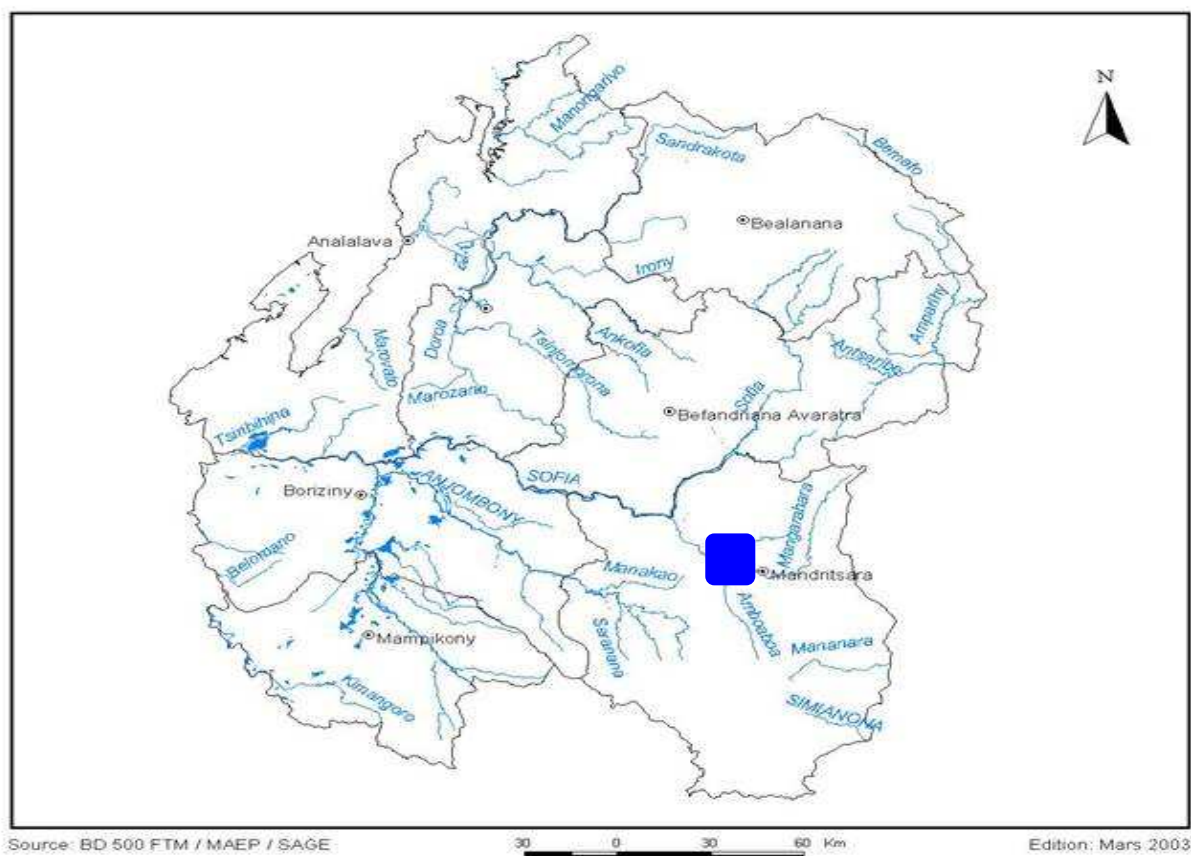


Fig. 3 : Carte hydrographique de la Région SOFIA

1.5. CLIMATOLOGIE

a. Le vent

La Région SOFIA est soumise aux vents humides et réguliers de l'Alizé "Varatraza" soufflant en permanence dans la direction Sud-est à Est et de la Mousson "Talio" vent de direction Ouest-Est. L'Alizé trop précoce peut diminuer la production du riz en perturbant sa floraison [<http://www.sofia.gov.mg>].

b. La pluviométrie

La pluviométrie est caractérisée par une forte irrégularité. La saison humide commence en général au mois de décembre. Les pluies se concentrent en 4 mois de l'année (décembre à avril). Des précipitations violentes de quelques heures peuvent être assistées pendant la journée.

Dans l'ensemble, la variation des pluies est moins nette et la pluviométrie annuelle varie de 1100 à 1900 mm. Malgré le nombre élevé de mois secs, la pluviométrie est favorable à la riziculture et aux cultures sur tanety [<http://sofia-sim.org/index.php?id=306>].

c. La température

La température varie suivant le climat et l'altitude. Elle est nettement élevée sur les zones côtières où la moyenne annuelle atteint 26° C. En saison sèche, elle descend jusqu'à 13° C à Bealanana se trouvant à 11 25 m d'altitude. Elle est à 12° C à Mangindrano, au pied du massif Tsaratanana. Enfin les températures de la Région SOFIA sont assez favorables à l'agriculture [<http://www.sofia.gov.mg>].

d. Le diagramme ombrothermique

La méthode de Gaussen (1995) permet de tracer le diagramme ombrothermique qui met en évidence la relation entre la température (T) et les précipitations (P). Le diagramme ombrothermique d'Antsohihy est présenté par la figure 4.

Le climat a deux saisons : la saison pluvieuse débutant au mois de décembre et se termine en avril et la saison sèche commençant au mois de mai et prend fin au novembre.

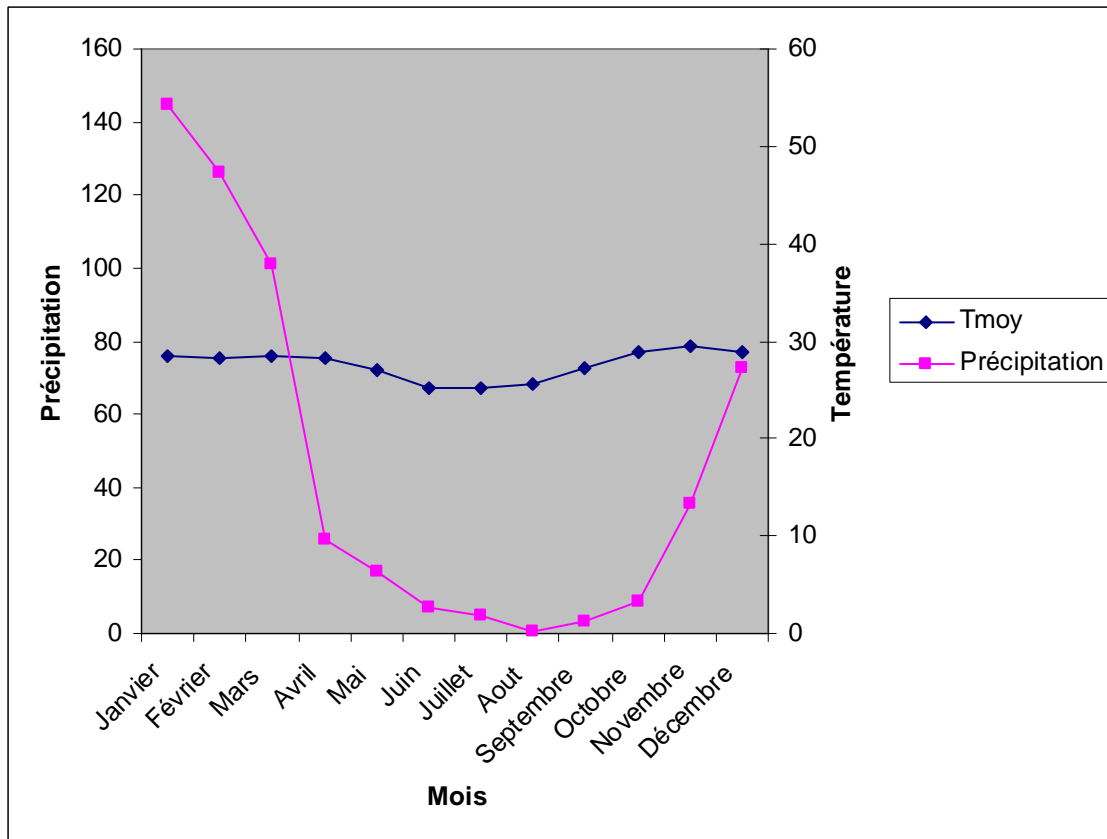


Fig 4 : Diagramme ombrothermique de la Région SOFIA (2004 - 2008)

2. MILIEUX BIOTIQUES

2.1. Flore

D'un point de vue floristique, la forêt sèche de l'ouest est diversifiée. Ce type de formation abrite de nombreuses espèces épineuses ou à petites feuilles.

La forêt dense sèche caducifoliée est distribuée dans le secteur du moyen ouest. La forêt sèche sclérophylle est rencontrée par les endroits sur l'ensemble de la Région occidentale, elle semble être déterminée par la pauvreté des sols, dans la mesure où la forêt croît sur des pavages rocheux avec des sols très minces.

Elle est dominée par *Sarcolaena oblongifera*, *Asteropeia labatii* et *leptolaena* spp [Moat ; Smith, 2007].

La Région SOFIA est réputée par ses couvertures forestières denses. Mais avec les feux de brousse incessants, l'exploitation forestière abusive et les cultures sur brûlis, ces forêts se trouvent actuellement dégradées. On peut distinguer plusieurs types de forêts tels que :

- ✓ des forêts denses ombrophiles de moyenne altitude sur les montagnes de Bealanana, de Befandriana et d'Analalava ;
- ✓ une forêt dense à mousses et lichens sur le massif de Tsaratanana ;
- ✓ des forêts denses caducifoliées sur les plateaux de Bongolava à Port-Bergé, de Manasamody à Analalava, de Bora à Antsohihy ;
- ✓ des savanes herbeuses de l'Ouest à *Hyparrhenia rufa* dominant les districts de Mandritsara, de Befandriana, de Port-Bergé, d'Antsohihy et d'Analalava ;
- ✓ des savanes arbustives ou à palmiers à Befandriana et à Analalava ;
- ✓ des "Savoka" presque partout dans la Région ;
- ✓ des savanes et steppes à *Aristida* dans les districts de Befandriana et de Bealanana ;
- ✓ des savanes herbeuses du moyen-ouest à Mandritsara et à Befandriana ;
- ✓ des mangroves aux embouchures des fleuves Mahajamba à Port-Bergé et Loza à Antsohihy. Quelques forêts classées y sont trouvées.

Parmi ces forêts restantes, on peut citer la réserve spéciale d'Ambaniviny Marotandrano, les forêts de Makiry et de Sahamalaza

[<http://sofia-sim.org/index.php?id=306>; Sofia international Madagascar].

2.2. FAUNE

A défaut de l'étude de la faune sur la Région entière, nous nous contentons de donner seulement celle de Marotandrano et de Sahamalaza qui font partie de la Région Sofia.

La Réserve spéciale de Marotandrano (Mandritsara) est constituée d'une forêt dense humide sempervirente ; renfermant 23 espèces de Mammifères où 12 espèces sont des lémuriens et 11 espèces d'insectivores et rongeurs dont 10 sont endémiques.

En ce qui concerne, la Réserve de Sahamalaza (Analalava), les mammifères sont concentrés dans sa partie Nord-Ouest. Dans cet habitat l'espèce phare est le lémurien Eulemur macaco flavifrons (Lemuridae).

A Marotandrano, 104 espèces d'oiseaux ont été identifiées aussi dont 56 sont endémiques. La présence de l'aigle de Madagascar (Eutriorchis astur)(Accipitridae).

et Héron de Humblot (Ardea humbloti)(Ardeidae) est un atout pour cette réserve. A Sahamalaza, l'inventaire des oiseaux de la forêt d'Analavory a abouti à 41 espèces d'oiseaux dont 16 sont endémiques de Madagascar. [<http://www.parcs-madagascar.com/fiche-aire-protegee.php?Ap=41>]. Dix neuf Amphibiens ont été identifiées à Marotandrano et l'inventaire de l'herpetofaune dans la réserve de Sahamalaza a abouti à 2 espèces qui sont le Rhacophoridae, et 2 espèces de Ranidae.

En ce qui concerne les reptiles, 16 espèces ont été identifiées à Marotandrano et 20 espèces à Sahamalaza dont 7 espèces de Gekkonidae, 3 Scincidae, 1 Iguanidae, 1 Gerrhosauridae, 2 Chamaeleonidae, 1 Boidae, 5 Colubridae.

Enfin des récifs coralliens ont été recensés et des coraux, des poissons et des invertébrés s'y abritent. [<http://www.parcs-madagascar.com/fiche-aire-protegee.php?Ap=42>]

2.3. CADRE HUMAIN

a. La Population

La projection du recensement général de la Population Humaine (RGPH) mentionne que la Région SOFIA compte en 2005, avec un taux de croissance moyenne de 2.8%, aux environs de 985.000 habitants représentant 49.6% de la

population totale de l'ancienne province de Mahajanga (2085000) et classe la Région au 6^{ème} rang en termes de population.

La population présente une densité moyenne de 15.4 habitants/km². Cette population est inégalement répartie dans l'ensemble de la Région. La plus forte concentration se trouve à Antsohihy avec 21.2 habitants/km² et la plus faible se trouve à Analalava avec 8.4 habitants/km².

La Région SOFIA est caractérisée par une population très jeune. Plus de 45% de la population ont moins de 15 ans, traduisant une réelle expansion démographique qui est due essentiellement à la forte fécondité que connaît la zone. La charge familiale est assez pesante : 7.2 personnes par ménage en moyenne.

Enfin un déséquilibre spatial est observé entre l'Est et l'Ouest [<http://www.sofia.gov.mg>].

b. Activités de la population

La Région SOFIA est une région à dominance Tsimihety. Les quatre districts tels que Antsohihy, Port-bergé, Mampikony appartiennent à la zone agro-écologique du Nord-Ouest, et les trois autres qui sont MANDRITSARA, BEFANDRINA-NORD, BEALANANA constituent les Hauts plateaux du Nord. (Zone du haut plateau du Nord) [[http:// Sofia - sim. Org index. php? id= 306](http://Sofia-sim.Org/index.php?id=306)].

La riziculture irriguée traditionnelle soutenue par l'élevage bovin est l'activité de la population de l'ANDRONA.

Dans la partie Est, les habitants s'intéressent aux cultures de bas-fonds, aux plantations de cultures de rente, et à l'exportation des raphières.

Par contre la partie Ouest est une zone de production de cultures pérennes largement représentées par le café, le poivre et le cacao. Certaines populations font des pêches et des élevages itinérants. Dans cette partie, des cultures maraichères (des haricots, des pommes de terres, arachides) et des cultures industrielles (tabac, coton) et surtout de petit commerce et d'artisanat sont effectuées par la population.

Les zones de production sont concentrées dans les dépressions (Ankaizina), lacs, les baibocho et les vallées (la Loza , Sofia et surtout la Bemarivo). Les sols, enrichis par des apports fluviaux sont favorables aux cultures vivrières diversifiées (riz, maniocs, coton) [[http : / Sofia –sim. Org/ index. php? Id=306](http://Sofia-sim.Org/index.php?Id=306)].

c. Menaces

Que ce soit à Marotandrano ou à Sahamalaza, quelques espèces sont menacées.

A Marotandrano le *Varecia variegata* et l'Indri indri sont victimes de braconnages. Le *Rattus rattus* est très prolifique dans cette réserve et en compétition avec les taxa endémiques, ce qui les met en danger [<http://www.parcs-madagascar.com/fiche-aire-protegee.php?Ap=41>].

A Sahamalaza, certaines espèces sont aussi gravement menacées d'extinction comme l'*Eulemur macaco flavifrons*, holothuries.

Comme les pêches, les cultures sur brûlis font partie des activités de la population de la Région SOFIA, donc la faune et la flore ne sont pas à l'abri d'une menace. Il existe même un préjugé pour les pêcheurs : "La mer est une ressource illimitée". [<http://www.parcs-madagascar.com/fiche-aire-protegee.php?Ap=42>].

MATERIELS ET METHODES

II. 1. MATERIELS

II.1.1. Position systématique

<u>Règne</u>	: VEGETAL
<u>Embranchement</u>	: ANGIOSPERMES
<u>Classe</u>	: LILIOPSIDA
<u>Sous-classe</u>	: COMMELINIDAE
<u>Super-ordre</u>	: COMMELINAE
<u>Ordre</u>	: CYPERALES
<u>Famille</u>	: CYPERACEAE
<u>Genre</u>	: <i>Fuirena</i>
<u>Espèce</u>	: <i>Fuirena glomerata</i> Lam.
<u>Nom vernaculaire</u>	: Vendramalomona

A. CARACTERISTIQUES DE L' ESPECE SELECTIONNEE

Rappelons que les plantes aquatiques sont celles qui poussent en permanence dans le milieu liquide. Elles peuvent être immergées, flottantes ou émergées. Leur structure et leur port sont adaptés à ces types de milieux et leur survie est liée à la présence de l'eau. Si le niveau s'abaisse, les plantes peuvent survivre quelques mois en modifiant leur port mais disparaissent si le milieu s'assèche complètement. Les plantes semi-aquatiques sont celles qui exigent une période d'inondation temporaire. Elles se développent donc dans les zones temporairement inondées, les bordures des milieux inondées en permanence, les milieux gorgés d'eaux ou encore les milieux peu profonds [RANARIJAONA, 1999].

Notre espèce est une plante aquatique dont la partie végétative est émergée. Elle peut s'adapter dans des zones à inondation temporaire.

L'espèce *Fuirena glomerata*. (Figures 5a et 5b) appartient à la famille des CYPERACEAE qui est caractérisée par des plantes annuelles ou vivaces, généralement herbacées et très rarement ligneuses. La famille des Cyperaceae comprend 4000 espèces réparties en près de 90 genres répandus à travers le monde.[<http://plantesrizierescamargue.cirad.fr/monocotyledones/cyperaceae/Cyperaceae>] Cette espèce se localise dans les marais, les rizières, les lieux humides ou herbeux. A Madagascar elle se distribue à l'Est (Sainte – Marie) ; dans la Région de Sambirano (Nosy – Be) ; au Centre (Lac Alaotra); et enfin à l'Ouest (Amborovy Mahajanga). Elle se répartit également dans l'île de la Réunion, à Maurice et en Afrique tropicale [CHERMEZON, 1936].

Fuirena glomerata est une plante à épiderme plus ou moins poilu-hérissée ; à rhizome horizontal, épais, ligneux. La tige est de 15 cm – 1 m : généralement robuste et pentagone – subailée (figures 5a, 5b). Les feuilles sont de 5 - 12 mm de largeur, atteignant 10 – 15 cm de longueur, assez minces et poilues avec des gaines très poilues.

Son inflorescence (figure 5a) est bien développée, longue et fournie ; les inflorescences partielles sont assez nombreuses, distantes et à plusieurs fascicules multispiculés. Les épillets sont lancéolés, aigus de longueur 6 – 12 mm, de largeur 2 – 4 mm et assez peu squarreux. Les glumes sont obovales – oblongues de 3 – 4 mm, fortement pubescentes – ciliées, vert foncé, à mucron assez long, subarqué et fortement cilié. Les soies hypogynes sont généralement nulles ; les écailles hypogynes égalant l'akène, obovales – oblongues, entières, légèrement ciliées au sommet, trinervés, à nervure médiane excurrente en une pointe très courte, à pied très court, glabre. L'akène est obovoïde ou subglobuleux, égalant le tiers de la glume, lisse, brunâtre [Chermezon, 1936].

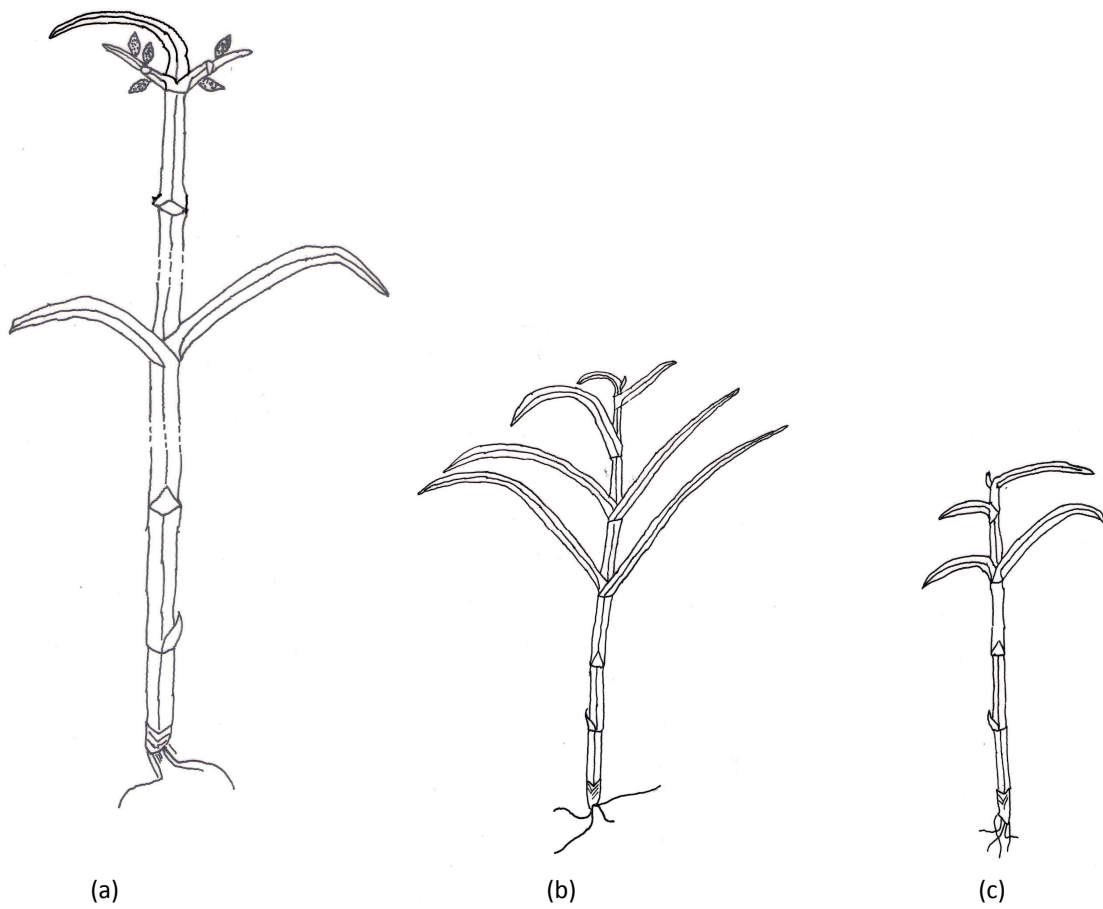


Figure 5a: *Fuirena glomerata* (CYPERACEAE) (x 1/3) : port de la plante.

(a). Stade adulte en fleur ; (b)-(c). A l'état végétatif



Fig.5b : *Fuirena glomerata* (CYPERACEAE): les inflorescences

[http://images.google.fr/imgres?imgurl=http://plantes-rizieresguyane.cirad.fr/var/riz_guyane/storage/images/media/images/fuirena_umbellata/9785-1-fre-FR/fuirena_umbellata.jpg&imgrefurl=http://plantes-rizieres-guyane.cirad.fr/monocotyledones/cyperaceae/fuirena_umbellata&usg=__pt2EfFghF7EqauSvO_J-].

B. PHENOLOGIE

La phénologie permet de déterminer l'état de la plante (période végétative, période de floraison, période de fructification). *Fuirena glomerata* fleurit toute l'année.

C. TYPE ET FORME BIOLOGIQUES

Selon la classification de RAUNKIAER, la plante est une nanophanérophyte aquatique.

II.1.2. Choix de l'espèce à étudier

La sélection d'espèce à étudier a été faite par une équipe pluridisciplinaire (Écologues, pharmacologues, botanistes, phytochimistes). Le choix a été fixé sur une liste d'espèces de plantes médicinales établie à partir des enquêtes. Ainsi, les critères suivants ont été pris en considération :

- la fréquence de l'utilisation de chaque espèce afin de connaître si une espèce donnée est très utilisée ou non par la population locale pour traiter des maladies dans leur foyer ou dans leur village.
- l'endémicité de l'espèce sélectionnée. Ce critère est très important dans le cadre de la conservation de plante. Cependant, notre espèce n'est pas endémique mais a été choisi par le fait qu'elle est aquatique.

II.1.3. Collecte et identification des plantes médicinales

Comme le but de l'étude est de valoriser les plantes médicinales aquatiques de la Région SOFIA, une collecte a été effectuée dans des districts sélectionnés dans une zone d'étude définie. Les plantes mentionnées comme ayant des activités thérapeutiques ciblées lors des enquêtes ont été particulièrement récoltées dans leur milieu naturel.

Les plantes ont été notées par leur nom vernaculaire local. L'identification de leur nom scientifique, de leur famille botanique et de leur espèce a été réalisée au laboratoire de Biologie végétale des Facultés des Sciences de Mahajanga (CURARE) et au Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza. Les échantillons sont ensuite mis en herbier et déposés au laboratoire de Biologie Végétale à la Faculté des Sciences de Mahajanga.

II.2. METHODES

II.2.1. Étude cartographique

Avant les études sur terrain, des recherches cartographiques préalables de la Région SOFIA ont été effectuées sur internet et sur l'Atlas de Madagascar (Documentation au laboratoire de Biologie Végétale de la Faculté des Sciences Mahajanga ; CURARE).

II.2.2. Étude bibliographique

La documentation sur les plantes médicinales aquatiques de la Région SOFIA a été effectuée sur internet, sur intranet (Bibliothèque universitaire d'Antananarivo), à la bibliothèque du Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza (Antananarivo), et à l'Institut Malgache de Recherche Appliquées (IMRA, Antananarivo).

II.2.3. Études ethnobotaniques

A. Choix et localisation des lieux d'étude

Les critères de choix des villages à enquêter sont:

- ✓ La proximité par rapport aux zones d'études
- ✓ La densité de la population
- ✓ L'appartenance des villages à une même commune
- ✓ L'absence d'étude ethnobotanique faites dans les villages.

Les lieux d'étude ont été choisis par le fait qu'aucune étude ethnobotanique n'a été effectuée dans la région de Sofia.

B. Enquêtes ethnobotaniques

Les enquêtes ethnobotaniques ont été entreprises, en mai 2009. La collecte de l'information a été faite par l'enquête semi-directe, c'est-à-dire les questionnaires ont été préalablement présentés sous forme de tableau (Annexe. 1) et ont ensuite été adaptés selon les circonstances afin d'augmenter la chance d'avoir les résultats attendus.

Les enquêtes ont été axées sur les plantes médicinales utilisées par la population locale lors de la maladie.

Certaines plantes, des herboristes avec leurs marchandises ont été pris en photo tout en effectuant notre enquête.

Pour chaque plante, le nom vernaculaire et les utilisations ont été notés.

C. Catégories d'informateurs

L'enquête a été réalisée en mai 2009 et a durée 10 jours :

- ✓ 5 jours à Mandritsara,
- ✓ 3 jours à Antsohihy,
- ✓ et 2 jours à Port-bergé.

Pour cela, différentes catégories d'informateurs ont été auditionnées :

- ✓ Tradipraticiens,
- ✓ "Mpimasy"
- ✓ Paysans,
- ✓ Marchands des plantes médicinales,
- ✓ Administrateurs,
- ✓ Enseignants.

Les critères des informateurs sont le sexe, le groupe ethnique et la profession. Toutes les personnes enquêtées appartiennent au groupe ethnique "Tsimihety" et ce sont essentiellement les pères de famille qui reçoivent les visiteurs (Tableau I).

Tableau I. Catégories et nombres des personnes enquêtées.

Critères	Catégories	Nombre de personnes enquêtées		
		à Mandritsara	à Antsohihy	à Port-bergé
Sexe	✓ Femme	09	04	03
	✓ Homme	08	08	03
Profession	✓ Tradipraticiens	02	01	
	✓ "Mpimasy"	03	02	01
	✓ Matrones	02	02	01
	✓ Paysans			02
	✓ Marchands de plantes médicinales	04	02	01
	✓ Administrateurs	02	01	
	✓ Citoyens	03	04	01
✓ Enseignants	02			

D. PREPARATION DES EXTRAITS VEGETAUX

Les plantes collectées (feuilles, tiges, écorces, racines) ont subi un séchage préalable, qui doit s'effectuer dans une salle bien aérée, à l'abri de l'humidité et de rayon solaire puis codées, broyées, conditionnées et répertoriées dans la banque de plante du Département de Biologie Végétale de la Faculté des Sciences de Mahajanga. Leur identification a été effectuée au Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza (Antananarivo). Des extraits bruts ont ensuite été préparés à partir de ces poudres de plante et les résidus secs ont été codés, pesés et conservés à 4°C. Ils ont servi à la réalisation des différents tests phytochimiques et pharmacologiques.

1. PREPARATION DES EXTRAITS POUR LE CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE

- ✓ Placer 50 g de plante séchée, broyée dans un ballon rodé de 500 ml.
- ✓ Rajouter 200 ml de méthanol 80% (méthanol/eau V/V).
- ✓ Porter le ballon dans un bain-marie bouillant pendant 1 heure.
- ✓ Refroidir sous courant d'eau le contenu du ballon et filtrer sur Büchner.
- ✓ Laver le ballon avec 50 ml de méthanol 80% et réunir les solutions alcooliques.
- ✓ Mesurer le volume de la solution et calculer l'équivalent de plante par ml d'extrait alcoolique cette solution a servi à la réalisation des divers tests phytochimiques (257,5ml).

2. PREPARATION DES EXTRAITS POUR LE TEST DE CYTOTOXICITE

- ✓ 10 g de plante séchée et broyée ont été macérée sous agitation dans de l'hexane (Hex), du dichlorométhane (DCM), de l'acétate d'éthyle (AcEt) et du méthanol (MeOH) durant toute la nuit à température ambiante.
- ✓ Après filtration, le solvant a été éliminé par évaporation sous vide au moyen d'un rotavapor.
- ✓ Le résidu végétal est récupéré dans un tube à hémolyse en verre, séché à 45° C dans un "Speed-vac concentrator" (SAVANT), pesé, codé et gardé à 4°C (réfrigérateur).

E. ETUDES CHIMIQUES

1. CRIBLAGES PHYTOCHIMIQUES

Le criblage phytochimique constitue la première étape de l'étude chimique d'une plante. Il s'agit de faire l'inventaire des diverses grandes classes des composés chimiques contenus dans la plante telles que : les alcaloïdes, les flavonoïdes et les leucoanthocyanes, les tanins et les polyphénols, les quinones, les stéroïdes et terpénoïdes, les saponosides et les polysaccharides.

1.1. PREPARATION DES REACTIFS

a. Réactif de Dragendorff

- ✓ Solution A : 1,7 g de sous-nitrate de bismuth, 20g d'acide tartrique, à dissoudre dans 30 ml d'eau.
- ✓ Solution B : 16 g d'iodure de potassium à dissoudre dans 40 ml d'eau.
- ✓ Révélateur : Mélanger extemporanément 2,5 ml de la solution A et 2,5 ml de la solution B. Ajouter 10 g d'acide tartrique dissout dans 50 ml d'eau.

b. Réactif de Wagner

Dissoudre 2 g d'iodure de potassium et 1,27 g d'iode dans 100 ml d'eau.

c. Réactif de Meyer

Dissoudre 1,35 g de chlorure mercurique (II) dans 94ml d'eau. Rajouter 5g d'iodure de potassium. Après dissolution complète, ramener à 100 ml le volume total avec de l'eau.

d. Gélatine

Mettre 1g de gélatine en suspension dans 100 ml d'eau.

e. Chlorure de sodium à 10%

Dissoudre 10 g de chlorure de sodium dans 100 ml d'eau.

f. Gélatine salée

Mélanger un volume de la solution de gélatine à un volume égal de la solution de chlorure de sodium à 10%.

g. Acide chlorhydrique à 5%

Verser 95 ml d'eau distillée dans une éprouvette et compléter à 100 ml avec de l'acide chlorhydrique à 32%.

h. Réactif de KEDDE

✓ Dissoudre 2g d'acide 3.5-dinitrobenzoïque dans 100 ml de méthanol (solution A).

✓ Dissoudre 5,6 g de potasse dans 100 ml d'eau (solution B).

Au moment de l'emploi, mélanger à volume égal les solutions A et B.

i. Réactif de KELLER-KILLIANI

✓ Dissoudre 10g de chlorure ferrique dans 100 ml d'eau

✓ Au moment de l'emploi, mélanger 0,3 ml de la solution de chlorure ferrique dans 50 ml d'acide acétique glacial.

✓ Prélever 3 ml du mélange pour le test KELLER.

j. Chlorure ferrique à 10% dans le méthanol

Dissoudre 1g de chlorure ferrique dans 10ml de méthanol en agitant et en chauffant au bain-marie jusqu'à dissolution complète.

1.2. CRIBLAGE DES ALCALOÏDES

Le criblage est effectué en 2 étapes : macération et test préliminaire.

1.2.1. Macération chlorhydrique

✓ Prendre environ 5 g de poudre de plante. Faire macérer dans HCl 12% à 2 N pendant 15 mn.

✓ Filtrer éventuellement sur coton.

✓ Repartir le filtrat dans 4 tubes à essais.

✓ Ajouter un peu de HCl si nécessaire pour avoir une solution lipide.

- Tube 1 : Témoin
- Tube 2 : Ajouter 5 gouttes de Réactif de Wagner
- Tube 3 : Ajouter 5 gouttes de Réactif de Mayer
- Tube 4 : Ajouter 5 gouttes de Réactif de Dragendorf.
 - ✓ Observer l'apparition de précipité.

1.2.2. Test préliminaire

A partir de la solution hydroalcoolique précédemment préparée,

- ✓ Prendre un volume équivalent à 25 g de plante (soit 257.5 ml de la solution alcoolique) et placer dans un cristalliseur.
- ✓ Evaporer l'alcool jusqu'à l'obtention d'un résidu de consistance sirupeuse.
- ✓ Ajouter 10 ml de HCl 2N et agiter à l'aide d'une baguette de verre tout en chauffant dans un bain-marie bouillant pendant 3 à 5 mn.
- ✓ Refroidir le mélange jusqu'à température ambiante, puis rajouter 0,5 g de NaCl.
- ✓ Agiter, filtrer et laver le précipité avec un volume suffisant de HCl 2N.
- ✓ Repartir le filtrat dans 4 tubes et refaire les tests comme précédemment.

1.3. CRIBLAGE DES FLAVONOÏDES ET DES LEUCOANTHOCYANES

- ✓ Évaporer la solution hydroalcoolique d'extrait végétal équivalente à 3 g de plante (soit 30.9 ml) dans un cristalliseur. Refroidir et éliminer les pigments par un épuisement à l'éther de pétrole.
- ✓ Dissoudre le résidu solide obtenu dans de l'éthanol puis filtrer.
- ✓ Répartir le filtrat dans 5 tubes à essai ;
- Tube1 : Témoin
- Tube2 : Test de WILSTATER.
 - ✓ Observer la variation de la coloration.
 - ✓ Ajouter 0,5 ml de HCl concentré et quelques tournures de Magnésium.
 - ✓ Laisser agir 10 min.

- Tube 3 : Test de WILSTATER modifié
 - ✓ Rajouter 0,5 ml de HCl concentré et quelques tournures de Magnésium.
 - ✓ Après dissolution du Mg, rajouter 1ml d'eau et 1ml d'alcool isoamilique.
 - ✓ Laisser agir 10 mn.
 - ✓ Observer la variation de la coloration de la phase supérieure.
- Tube 4 : Test de BATSMITH
 - ✓ Rajouter 0,5 ml de HCl concentré.
 - ✓ Chauffer pendant 30mn au bain-marie.
 - ✓ Laisser refroidir à température ambiante.
 - ✓ Observer la coloration.
- Tube 5 : Test de BATSMITH modifié
 - ✓ Rajouter 0,5 ml de HCl concentré à froid.
 - ✓ Observer la coloration.

1.5. **CRIBLAGE DES TANINS ET DES POLYPHENOLS**

- ✓ Évaporer la solution équivalente à 5 g de plantes (soit 51.5 ml) dans un cristalliseur.
 - ✓ Rajouter 15 ml d'eau distillée.
 - ✓ Chauffer sous agitation.
 - ✓ Ajouter 4 gouttes de solution de NaCl 10%, puis filtrer.
 - ✓ Répartir le filtrat dans 4 tubes à essais
- Tube 1: Témoin
 - Tube 2 :
 - ✓ Rajouter 4 à 5 gouttes de gélatine à 1%.
 - ✓ Observer l'apparition de précipité.
 - Tube 3 :
 - ✓ Rajouter 4 à 5 gouttes de gélatine salée.
 - ✓ Observer l'apparition de précipité.
 - Tube 4 :
 - ✓ Rajouter 4 à 5 gouttes de FeCl₃ 10% dans MeOH.
 - ✓ Observer la variation de la coloration.

1.5. CRIBLAGE DES QUINONES

- ✓ Évaporer la solution alcoolique équivalente à 5 g de plante (soit 51.5 ml) dans un cristalliseur.
- ✓ Dissoudre le résidu dans 15 ml d'eau distillée, puis filtrer.
- ✓ Extraire le filtrat avec un mélange d'éther-chloroforme 3/1(V/V), ou hexane-chloroforme ou du benzène (petite ampoule à décanter).
- ✓ Rajouter 5 ml de NH_4OH à 25% puis agiter.
- ✓ Observer le changement de la coloration de la phase alcaline (phase inférieure).

1.6. CRIBLAGE DES STEROIDES ET DES TERPENOIDES

- ✓ Les stéroïdes diffèrent des triterpénoïdes par des tests de coloration et de fluorescence.
 - ✓ Évaporer complètement la solution hydroalcoolique équivalente à 5 g de plante (soit 51.5 ml) dans un cristalliseur au bain-marie.
 - ✓ Laisser refroidir.
 - ✓ Rajouter 5 ml d'éther de pétrole. Agiter et filtrer.
 - ✓ Répéter l'opération jusqu'à l'élimination des pigments
 - ✓ Rajouter 10 ml de chloroforme puis agiter pendant 5 à 10 mn
 - ✓ Décanter et sécher la solution avec Na_2SO_4 anhydre, puis filtrer
 - ✓ Répartir le filtrat dans 6 tubes à essais propres et secs.
- Tube 1 : Témoin
 - Tube 2 : Rajouter un peu de solution saturée d'antimoine.
 - ✓ Observer la variation éventuelle de la coloration du milieu.
 - Tube 3 : Test de LIEBERMANN BURCHARD
 - ✓ Rajouter successivement 3 à 4 gouttes d'anhydride acétique puis 3 à 4 gouttes de H_2SO_4 concentré.
 - ✓ Observer la variation éventuelle de la coloration.
 - Tube 4 : Test de SALKOWSKI
 - ✓ Incliner le tube à 45° .
 - ✓ Ajouter 1 ml de H_2SO_4 concentré.
 - ✓ Observer la coloration éventuelle de l'anneau de séparation.

- Tube 5 : Test de BADJET KEDDE
 - ✓ Rajouter quelques grains d'acide picrique.
 - ✓ Observer la coloration éventuelle de séparation.
- Tube 6 : Test de KELLER-KILLIANI
 - ✓ Rajouter successivement quelques gouttes de FeCl_3 10%, puis quelques gouttes d'acide acétique glacial.
 - ✓ Observer la coloration éventuelle de l'anneau de séparation.

1.7. **CRIBLAGE DES SAPONINES**

- ✓ Mettre 1g de poudre de plante dans un tube à essai.
- ✓ Rajouter 10 ml d'eau distillée et agiter vigoureusement pendant 30 s.
- ✓ Placer le tube verticalement pendant 30 mn à température ambiante.
- ✓ Observer l'apparition éventuelle d'une mousse sur la partie supérieure.
- ✓ Noter l'abaissement de la hauteur de la mousse.

1.8. **CRIBLAGE DES POLYSACCHARIDES**

- ✓ Préparer une décoction à partir de 5 g de poudre de plante dans 60 ml d'eau.
- ✓ Faire bouillir à 200°C ; laisser refroidir à température ambiante puis filtrer.
- ✓ Rajouter au filtrat 3 volumes d'alcool éthylique à 90°C .
- ✓ Observer la formation éventuelle de précipité.

1.9. **TEST D'ACTIVITE ANTIOXYDANTE**

Le test consiste à détecter la formation de radicaux libres en présence d'un réactif spécifique, le 1,1-Diphényl-2-Picrylhydrazyl (DPPH). Le résultat est positif s'il le réactif vire de la coloration mauve en jaune.

Cette technique peut être utilisée soit :

- (1) comme système de révélation sur des plaques chromatographiques ;
- (2) comme réaction chimique d'identification des radicaux libres dans des solutions de concentrations bien déterminées.

Dans notre cas, c'est la première méthode qui a été adoptée.

Pour cela :

- ✓ Déposer en spot l'extrait sur une plaque CCM (Chromatographie sur Couche Mince).
- ✓ Développer la plaque dans une cuve chromatographique en utilisant un système de solvant adéquat.
- ✓ Préparer le révélateur (concentration 2 mg/ml de DPPH dans le MeOH)
- ✓ Révéler la plaque.
- ✓ Observer immédiatement les changements de coloration des taches de migration.

F. ETUDES PHARMACOLOGIQUES

1. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIPALUDIQUE

Le paludisme (palus= marais) ou malaria (mauvais air) est un érythrocytose hépatique dû à un hématozoaire du genre *Plasmodium* [Manuila L., Manuila A., Lewalle P., Nicoulin M., 2001].

Le paludisme est causé par la rencontre obligatoire de trois êtres vivants : le *Plasmodium sp* agent pathogène, l'anophèle femelle, agent vecteur et l'homme, hôte réservoir infecté et infectant [Réseau Médicaments et Développement (ReMeD), 2009].

Les *Plasmodium* sont des parasites des hématies. Les 4 espèces plasmodiales parasites de l'homme sont : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax*. [Rogier C., Parzy D., Spiegel A., 2001].

Selon les estimations de l'O.M.S [W.H.O, 2005.], cette maladie parasitaire tue un enfant toutes les trente secondes en Afrique, et est responsable d'un à trois millions de décès par an dans le monde. Le nombre de personnes contaminées est estimé entre 300 à 600 millions par an, dont la grande majorité se trouve en Afrique [Rinaldi A., 2004].

Cette maladie touche surtout les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes au cours de leurs premiers mois de grossesse [Antonio, Almeida, Atul Mehta, 2001]. L'augmentation de la résistance de *P. falciparum* à la plupart des antipaludiques actuellement disponibles sur le marché sont d'une augmentation dramatique de la mortalité par le paludisme [Trape J.F., 2001].

A l'heure actuelle, près de 100 pays ou territoires sont considérés comme impaludés, dont près de la moitié en Afrique, au Sud de Sahara. La plupart étant due au *P. falciparum* [Rogier C., Fusaït T., Pradines B. in : SAISSY J.M., Arnette 2001].

Deux hôtes successifs sont nécessaires à l'accomplissement du cycle :

- ✓ un hôte intermédiaire (l'homme) où il se trouve sous une forme haploïde et se multiplie de manière asexuée ou schizogonique,
- ✓ un hôte définitif (l'anophèle femelle) où s'effectue la multiplication sexuée ou sporogonique. [Mazier D., 1991].

Il est à noter que durant notre recherche, *Plasmodium yoelii* a été utilisée. Cette espèce a été décrite en 1968 par Landau, Michel et Adam. Elle se rencontre en Afrique. Deux sous-espèces sont reconnues : *Plasmodium yoelii nigeriensis* et *Plasmodium yoelii yoelii*.

Sa caractéristique la plus notable est qu'il est utilisé dans le laboratoire pour infecter des souris, comme un modèle de l'homme contre le paludisme, en particulier à l'égard de la réponse immunitaire.

Il est avantageux d'avoir un tout-modèle animal de la malaria, car il est souvent difficile de savoir quels sont les facteurs à l'étude *in vitro*, en particulier dans un système complexe comme le système immunitaire.

1.1. TEST IN VIVO ANTIPALUDIQUE CHEZ LA SOURIS

La phase érythrocytaire du paludisme est provoquée en injectant chez la souris 10^7 hématies parasitées. Les souris ainsi infectées sont traitées pendant trois jours successifs.

La parasitémie des souris infectées a ensuite été évaluée à la 4^e journée par rapport à un groupe de témoins de souris non traitées.

1.2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

1.2.1. Préparation des souris donneuses

- ✓ Sortir les hématies parasitées de la cryoconservation (au moins avec une parasitémie de 30%).
- ✓ Décongeler rapidement à 37°C.
- ✓ Centrifuger à 1500 tours/minute pendant 3 à 4 minutes.

- ✓ Récupérer le culot (parasites) et diluer de moitié avec de la solution physiologique (NaCl 0,9 %) à 37° C puis homogénéiser. Il faut 1 ml pour infecter 4 souris.
- ✓ Injecter au niveau de la veine caudale 0,25 ml de solution contenant les hématies parasitées.
- ✓ Suivre quotidiennement l'évolution de la parasitémie (proportion des hématies parasitées : 10^7 parasite/souris) jusqu'à obtenir des parasites pour réaliser le test proprement dit (en fonction du nombre des souris à infecter pour le test).

1.2.2. Infestation des souris.

- ✓ Préparer 2 lots de 4 souris au moins dont un lot témoin absolu non traité et de lot traité avec différentes doses d'extrait végétal à tester.
- ✓ A l'aide de pipettes Pasteur stériles et humectées avec de l'héparine, prélever le sang des souris donneuses au niveau de la veine du sinus retro-orbitale (environ 1 ml de sang/souris).
- ✓ Collecter le sang des souris dans 1 tube à essai contenant quelques gouttes d'héparine et maintenu dans 1 bain-marie à 37 °C.
- ✓ Mélanger et évaluer la parasitémie du mélange (hématies parasitées).

En fonction du nombre de souris à impaluder et de la parasitémie, diluer le sang avec du NaCl 0,9 % de façon à ce que chaque souris reçoive 10^7 hématies parasitées sachant que le volume à injecter est de 0,25 ml/souris, et que la formule utilisée est $V = (10^4 \times N) / P$ où V, le volume de sang, N, le nombre de souris à infecter et P, la parasitémie des souris donneuses [Peters W. et col, 1975].

1.2.3. Traitement des souris infectées.

- ✓ Les souris ont été de préférences infectées par voie intraveineuse (iv) et le traitement par l'extrait végétal a été effectué tout de suite.
- ✓ Injecter par gavage 0.5 ml d'une dose de 500 mg d'extrait par kg de souris, une fois par jour pendant 3 jours.
- ✓ Au 4^e jour, faire un frottis mince sur une lame bien propre à partir du sang pressé au niveau de la veine caudale de la souris.

- ✓ Colorer le frottis au Diff quick : fixation du frottis au MeOH suivie de coloration avec de l'éosine puis avec du bleu de méthylène.
- ✓ Laver à l'eau de robinet puis sécher à l'étuve à 37°C.
- ✓ Observer au microscope puis évaluer la parasitémie de chaque souris sur au moins 2000 hématies.
- ✓ Calculer le pourcentage d'inhibition de la parasitémie provoquée par la dose d'extrait végétal utilisé et par rapport au lot de souris témoins.

Il est à noter que la mort des souris survient le plus souvent à une parasitémie de plus de 50% [Peters W. et col, 1975].

2. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIHISTAMINIQUE

L'histamine ou β -imidazole éthylamine se forme par décarboxylation de l'histidine, acide aminé normal de l'alimentation (histamine exogène) et des tissus (histamine endogène) sous l'action de l'histidine décarboxylase. Présente dans de nombreux tissus (mastocytes, intestin, estomac, foie, peau, plaquettes sanguines, leucocytes basophiles), elle est tenue pour responsable de certains phénomènes pathologiques : choc, anaphylaxie, allergie.

Une surcharge en histamine provoque trois phénomènes essentiels : contraction des fibres lisses, dilatation des capillaires avec augmentation de leur perméabilité et accroissement de la sécrétion gastrique. Normalement, l'histamine subit la désamination oxydative ou l'acétylation et s'élimine dans l'urine.

Étant donné le rôle de l'histamine en pathologie, on a cherché à neutraliser par divers moyens cette substance dans l'organisme. Les antihistaminiques sont des antagonistes compétitifs de l'histamine à l'égard des récepteurs tissulaires ; la plupart présentent une analogie structurale avec l'histamine et possèdent, à des degrés divers, des actions secondaires : hypnotiques, anesthésiques locaux, inhibiteurs du recaptage de la noradrénaline. Ils s'opposent à la plupart des actions de l'histamine telles que l'hypotension, l'effet contracturant sur les fibres lisses, les phénomènes allergiques et anaphylactiques.

L'objectif de notre étude est de mettre en évidence l'activité relaxante de *Fuirena glomerata* sur la trachée isolée de cobaye préalablement stimulée par l'histamine, un des agents spasmogènes lors de la crise d'asthme.

2.1. TEST ANTIHISTAMINIQUE IN VITRO CHEZ LE COBAYE

2.1.1. Composition du milieu de survie de Krebs

Pour 1 L d'eau distillée :

- ✓ NaCl : 6,9 g.
- ✓ Glucose : 2 g.
- ✓ NaHCO₃ : 2,2 g.
- ✓ KCl : 0,4 g
- ✓ CaCl₂ : 0,28 g.
- ✓ MgSO₄ : 0,14 g.
- ✓ KH₂PO₄ : 0.14 g

2.1.2. Prélèvement, préparation et montage d'organe : Trachée de cobaye

Le cobaye, de sexe mâle ou femelle, de poids moyen de 300 ± 50 g, est sacrifié par dislocation cervicale. Après ouverture longitudinale au niveau de la gorge par incision cutanée, la trachée est dégagée. L'exsanguination est faite par coupure de deux artères carotidiennes. La trachée est prélevée de l'ouverture buccale jusqu'à la première bifurcation de la bronche et plongée dans la boîte de Pétri contenant de la solution de Krebs. Débarrassé des tissus conjonctifs et des tissus adipeux, l'organe est découpé en hélice de 2 à 3 cm de long. La trachée est ensuite montée dans une cuve à organes contenant la solution de survie aérée avec du carbogène (95% de O₂ et 5% de CO₂) et maintenue à 37°C à l'aide du bain thermostaté, et soumis à une tension isométrique de 2 g. Pendant une période d'équilibration de 90 min, la préparation est lavée toutes les 30 min. A la fin de cette période, on procède à l'étape de sensibilisation par stimulation de la trachée par injection d'histamine. La durée de cette sensibilisation est de 15 min. Puis les organes sont lavés au moins trois fois espacés de 5 min.

2.1.3. Précontraction de la trachée par l'histamine et test de relaxation

30 min après le dernier rinçage, la trachée est contractée avec de l'histamine à 10^{-6} M puis à 10^{-5} M. Au plateau de contraction, la relaxation est étudiée par ajout de 62.5, 125, 250, 500 et 1000 µg/ml d'extrait végétal à tester dans un volume total de 20 ml (cuve). Les réponses pharmacologiques ainsi obtenues sont en pourcentages de relaxation. La valeur de CE₅₀ de relaxation (Concentration Efficace

de l'extrait qui relâche à 50% la trachée isolée préalablement contractée par l'histamine) est enfin déterminée à partir de la courbe effet-concentration.

3. ETUDE DE L'ACTIVITE CYTOTOXIQUE : TEST DE CYTOTOXICITE

1. PREPARATION DES SOLUTIONS D'EXTRAITS VEGETAUX

Les extraits bruts végétaux sont de préférence dissouts dans du Diméthylsulfoxyde (DMSO) à une concentration de 20 mg/ml et gardés à 4° C. Il s'agit de solutions stocks.

Pour réaliser les tests de cytotoxicité, des dilutions à des concentrations désirées sont extemporanément effectuées dans du RPMI.

1.1. CULTURE CELLULAIRE

1.1.1. LIGNEE CELLULAIRE

La lignée leucémique lymphoblastique P388 sensible à la doxorubicine de souris a été utilisée comme modèle d'étude de l'activité cytotoxique des extraits végétaux.

1.1.2. CULTURE DES CELLULES

a. Conservation des cellules

Les cellules P388 sont conservées dans de l'azote liquide, dans des gélules contenant 90% de Sérum de Bovin Fœtal (FBS) et 10% de DMSO.

b. Le sérum de bovin fœtal : Décomplémentation

Le sérum de bovin fœtal (SBF) utilisé pour la culture cellulaire doit être préalablement décomplété. Pour cela, sortir le sérum de la congélation (- 20 °C) et le décongeler dans un bain Marie à 37° C. Après décong élation, placer le PBS dans une étuve à 50° C pendant 60 min. Sortir le SBF ain si décomplémenté et l'aliqoter dans des flacons stériles sous la hotte.

Le flacon utilisé est à garder à 4° C (réfrigérate ur), les autres sont à conserver à -20°C jusqu'à leur utilisation.

c. Le β -mercaptoéthanol

Le β -mercaptoéthanol est un réducteur. Sa densité est de 1.1143.

- ✓ Préparer une solution stérile molaire avec de l'eau désionisée stérile (filtration sur membrane 0.22 μm).
- ✓ Faire une dilution pour avoir une solution à 1 mM.
- ✓ Garder la solution molaire à -20°C et la solution à utiliser à 4°C .

d. Le milieu de culture

Le milieu de culture utilisé pour les cellules P388 est un milieu RPMI 1640 (Roswell Park Medium Institut).

Pour 1L de milieu de culture à pH 7,4 :

- ✓ Dissoudre le contenu d'une boîte de poudre de RPMI (15,89 g) dans 800 ml d'eau désionisée. Rajouter 1g de glucose et 2,1 g de NaHCO_3 et laisser dissoudre sous agitation magnétique. Compléter ensuite le volume d'eau à 1l.
- ✓ Stériliser par filtration le milieu ainsi préparé à l'aide d'un Kit filtre de 0.22 μm . Pour cela, ouvrir le Kit filtre sous la hotte et le placer sur un flacon stérile de 1000 ml. Verser le milieu dans le réservoir du Kit et placer le couvercle. Brancher alors la pompe à vide et filtrer.
- ✓ A la fin de la filtration, enlever sous la hotte le Kit filtre et fermer (bouchon stérile) le flacon.
- ✓ Prélever l'équivalent de volume d'antibiotiques à rajouter et garder dans un tube à fond conique. Dans notre cas, on prélève 10 ml de milieu RPMI et rajoute 10 ml d'une solution de pénicilline (10 000 UI/ml) et de streptomycine (10 000 $\mu\text{g/ml}$) soit 1% de solution d'antibiotiques.
- ✓ Mélanger et aliquoter dans des pots stériles en plastique de 200 ml.
- ✓ Le milieu de culture utilisé pour les cellules P388 est un milieu RPMI 1640. C'est un milieu incomplet. Le milieu de culture RPMI complet est à préparer en rajoutant extemporanément :
 - 10% de SBF,
 - 1% de β -mercaptoéthanol à 1 mM (concentration finale 10 μM),
 - éventuellement 1% de L-glutamine à 200 mM (concentration finale 2 mM) et de 1% de NAEAA (acides aminés non essentiels).

e. Mise en culture des cellules P388

Les cellules P388 sont cultivées en suspension dans des boîtes T25 (Nunc-Gibco) contenant 10 ml de milieu de culture RPMI complet et un inoculum de cellule P388.

Les cellules sont maintenues dans un incubateur "Heraeus" sous une atmosphère humide, à 37° C et enrichie en 5% de CO₂. La boîte de culture est placée en position allongée avec bouchon légèrement dévissé.

Lorsque les cellules poussent, le milieu de culture qui initialement était de couleur orange, devient plus visqueux et vire au jaune indiquant une variation (diminution) du pH qui devient acide. En ce moment là, il faudra procéder au renouvellement du milieu de culture.

Lorsque les cellules arrivent en phase exponentielle de croissance (au bout de 72 H environ, d'incubation), elles sont récupérées dans des tubes à fond conique (FALCON) et centrifugées à 1200 tours/minute, à 4° C pendant 5 minutes. Le surnageant est éliminé et le culot est remis en suspension dans un volume adéquat de RPMI 1640.

f. Numération cellulaire : Principe de comptage

Les cellules vivantes sont comptées à l'aide d'une lame de Thoma en utilisant du Bleu de Trypan. Dans ces conditions, les cellules vivantes sont brillantes ; celles qui sont mortes incorporent du bleu de Trypan et par conséquent, colorées en bleues.

Pour cela :

- ✓ A l'aide d'une pipette Pasteur stérile munie d'une poire, homogénéiser comme la suspension cellulaire.
- ✓ Prélever et transvaser dans un tube à hémolyse l'équivalent de 100 µl de cette suspension cellulaire et rajouter 100 µl de Bleu de Trypan. Vortexer.
- ✓ Prendre une Cellule de comptage de Thoma munie d'une lamelle et faire couler 10 µl de suspension cellulaire entre la lame et la lamelle.
- ✓ Observer les cellules au microscope à grossissement 10X.
- ✓ Compter les cellules vivantes délimitées par un champ. Compter également celles qui sont sur les bords du même champ. Faire la numération sur deux champs et considérer la moyenne.

Soit N , le nombre de cellules/champ. Le volume d'un champ est de 10^{-4} ml. Compte tenu de la dilution $\frac{1}{2}$ (suspension cellulaire/bleu de Trypan), le nombre rectifié de cellules est par conséquent de $2N$ /champ, soit $2N/10^{-4}$ ml. D'où la concentration cellulaire de $2N \cdot 10^4$ cellules/ml. Connaissant le volume total de la suspension cellulaire, on peut en déduire le nombre total de cellules.

1.2. EVALUATION DE L'ACTIVITE CYTOTOXIQUE : Détermination de CI_{50}

Le test de cytotoxicité consiste à mettre les cellules P388 en culture en présence des extraits bruts végétaux et d'évaluer par la suite, le pourcentage de survie cellulaire ou d'inhibition de la prolifération cellulaire.

Les tests sont effectués dans des microplaques à 96 puits à fond conique. Chaque concentration d'extrait végétal est testée sur 4 puits et au moins en triplet ($n \geq 3$) de manière indépendante afin d'assurer la reproductibilité de l'expérience.

Le volume final de chaque puit est fixé à 200 μ l ; 100 μ l réservés pour l'extrait à tester et 100 μ l pour la suspension cellulaire. Pour cela, $2 \cdot 10^4$ cellules sont incubées à 37°C en présence de chacune des concentrations d'extrait végétal, sous une atmosphère composée de 5% de CO_2 pendant 72 H. Les solutions stocks d'extraits végétaux à tester sont extemporanément diluées en milieu stérile dans le milieu de culture utilisé.

Dans les puits "témoins" (contrôle), la solution d'extrait végétal est remplacée par du milieu de culture contenant la même concentration en DMSO.

Pour cela, les cellules sont incubées dans les mêmes conditions en présence (Essais) ou en absence (contrôle) des différentes concentrations croissantes (de 1 à 100 μ g/ml) en extraits bruts végétaux.

Pour tous les tests effectués, la concentration finale en DMSO a été fixée à 0,5%. Dans ce cas, des études préliminaires nous ont permis de démontrer que le DMSO n'avait aucun effet inhibiteur sur la prolifération des cellules P388.

De plus, la camptothécine (CPT, 5 μ M) dont l'action empoisonnante de la topoisomérase I provoque l'induction de l'apoptose [Ning Z. and Wang Z., 1997] a servi de contrôle positif.

1.2.1. Évaluation de la viabilité cellulaire.

L'inhibition de la prolifération des cellules P388 a été suivie par le test classique d'incorporation du Rouge neutre à 540 nm. Dans cette condition, seules les cellules vivantes incorporent du Rouge Neutre et absorbent à 540 nm. Par conséquent, la DO mesurée est proportionnelle au nombre de cellules vivantes contenues dans chaque puits. [Winckler J, 1974. Borenfreund E, Puener JA. ,1985. Teepe RGC, Koebrugge EJ, Lowik CW, et al.1993].

Pour cela :

- ✓ Faire dissoudre 1 mg de poudre de Rouge Neutre dans 100 µl de MeOH et compléter le volume à 10 ml avec du iRPMI en milieu stérile.
- ✓ Vortexer et centrifuger la solution de Rouge Neutre à 2000 tours/min, 4 °C, 5 min et la placer à 37 °C jusqu'à son utilisation (avant 24 h).
- ✓ Préparer une solution de sulfate de Lauryl (sodium dodecyl sulfate, détergent) à 1% (1g/100 ml d'eau desionisée).
- ✓ Préparer du tampon "Phosphate Buffered Saline" (PBS) 1X, pH 7.4.
- ✓ Après 72 heures d'incubation, sortir les microplaques de l'étuve. L'atmosphère stérile n'est plus indispensable.
- ✓ Centrifuger les plaques à 1200 tours/min, à 4 °C pendant 5 min.
- ✓ A l'aide du système d'aspiration ECOM-P 4153 (Eppendorf), aspirer avec précaution le surnageant contenu dans chaque puit.
- ✓ Rajouter 100 µl de la solution de Rouge Neutre dans chaque puit à lire.
- ✓ Incuber les microplaques à 37° C pendant 60 min. Surveiller la coloration rouge du milieu.
- ✓ Centrifuger les microplaques à 1200 tours/min, 4° C pendant 5 min.
- ✓ Aspirer le surnageant et rajouter 100 µl de PBS dans chaque puit à lire afin d'éliminer le reste de Rouge Neutre.
- ✓ Centrifuger à 1200 tours/min, 4 °C pendant 5 min puis aspirer le surnageant.
- ✓ Rajouter 100 µl de sulfate de Lauryl et mettre les microplaques sous agitation à 600 – 800 tours/min pendant 10 min.
- ✓ Lire enfin la DO à 540 nm au lecteur de plaque couplé à un spectrophotomètre (TITERTEK TWINREADER).

1.2.2. Expression des résultats : Évaluation de la CI_{50}

L'activité cytotoxique potentielle de chaque extrait végétale est évaluée sur la base de la valeur de la CI_{50} correspondante (concentration inhibant 50% la prolifération cellulaire) déterminée à partir de la représentation graphique du pourcentage de viabilité cellulaire en fonction de la concentration testée.

Les résultats sont exprimés en Moyenne \pm l'écart type.

RESULTATS

I. ENQUETES ETHNOBOTANIQUES

Les informations sur les plantes les plus utilisées, leurs indications thérapeutiques et leurs utilisations traditionnelles ont été obtenues à partir de différentes catégories d'informateurs dont l'âge varie de 18 à 101 ans.

1- LISTE FLORISTIQUE DES PLANTES MEDICINALES DANS LES SITES D'ETUDES

202 plantes ont été recensées et dits comme étant utilisées par la population locale de la Région SOFIA (Annexe 2). Après triage des plantes en tenant compte de l'habitat aquatique, 49 espèces appartenant à 47 genres et 37 familles sont des plantes aquatiques et semi-aquatiques utilisées en médecine traditionnelle. La famille des Cyperaceae prédomine. Parmi les espèces recensées, 7 sont endémiques.

La décoction est l'un des modes de préparations le plus utilisé.

L'annexe 2 donne la liste des plantes médicinales aquatiques et semi-aquatiques utilisées par la population locale de Mandritsara et d'Antsohiy avec leurs noms scientifiques, leurs noms vernaculaires, les habitats correspondants, les indications thérapeutiques et le mode de préparation.

2. MODE D'UTILISATION TRADITIONNELLE

L'ensemble des informations recueillies sur les plantes les plus utilisées nous à permis de sélectionner celle qui fera l'objet de notre étude. Il s'agit d'une plante aquatique nommée *Fuirena glomerata* (Cyperaceae) dont les caractéristiques spécifiques sont résumées dans le Tableau II. *Fuirena glomerata* est une plante aquatique que l'on trouve abondamment à Mandritsara. C'est une plante qui est très utilisée en médecine traditionnelle dans la Région SOFIA. Il s'agit d'une espèce qui préfère le cours d'eau, la rizière, et la zone humide.

Tableau II. Caractéristiques de *Fuirena glomerata* (CYPERACEAE)

Espèce, famille, nom vernaculaire	Parties utilisées	Maladies traitées	Utilisations
<i>Fuirena glomerata</i> CYPERACEAE Vendramalomona	Plante entière	Fatigue Problèmes d'accouchement Fièvre	Décoction

La décoction de *Fuirena glomerata* atténue la fatigue. Elle est également utilisée dans les traitements symptomatiques de la fièvre et des différentes pathologies liées à l'accouchement.

Pour toutes ces maladies citées, le malade doit boire plusieurs fois le décocté de la tige, de la feuille et de la racine de *Fuirena glomerata* par jour jusqu'à la guérison.

II. ETUDES CHIMIQUES

A. CRIBLAGES PHYTOCHIMIQUES

Les résultats des différents tests phytochimiques effectués sur la *Fuirena glomerata* (Tableau III) indiquent que la plante ne contient pas :

- ✓ d'alcaloïdes,
- ✓ d'ammoniums quaternaires et des N-oxydes,
- ✓ de flavonoïdes et de leucoanthocyanes,
- ✓ de quinones,
- ✓ de stéroïdes et de terpénoïdes,
- ✓ de saponines,
- ✓ de polysaccharides.

Par contre, l'addition de 5 gouttes de gélatine à 1%, entraîne l'apparition d'un précipité (Tableau III) indiquant la présence de polyphénols dans la plante étudiée.

De plus, après addition de 5 gouttes de FeCl₃ à 1% dans le méthanol, le résultat obtenu indique la présence de tanins condensés (Tableau III).

Tableau III. Criblages phytochimiques de *Fuirena glomerata* (CYPERACEAE)

Criblage	Alcaloïdes											
	Macération			Preliminaire			Confirmation			N + IVnaire		
Réactifs	W	M	D	W	M	D	W	M	D	W	M	D
Résultats	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Criblage	Flavonoïdes et Leucoanthocyanes			
Réactifs	W	W	BS1	BS2
Résultats	-	-	-	-

Criblage	Tanins et Polyphénols		
Réactifs	G	gs	Fe
Résultats	+	-	+

Criblage	Stéroïdes et Terpénoïdes						
Réactifs	As	LB	S	BK	KK	mo	a
Résultats	+	+	+	-	-	-	-

W: Wagner, M: Mayer, D: Dragendorff, WM: Wilstater modifié, BS: Batsmith, g: Gelatine, gs: gelatine salée, Fe: FeCl₃ 10%, LB: Liebermann Burchard, S: Salkowski, BK: Badjet Kedde, KK: Keller- Killiani, mo: mousse a: alcool.

(-) : Test négatif : sans précipitation ; sans coloration ; 0 ≤ indice de mousse ≤ 2cm.

(+) : Test positif : présence de précipitation ; coloration forte ; 2 ≤ indice de mousse ≤ 4cm.

B. ACTIVITE ANTIOXYDANTE

L'extrait méthanolique de feuilles de *Fuirena glomerata* a été analysé en chromatographie sur couche mince en utilisant le système Dichlorométhane-Méthanol (95-5) comme éluant. La plaque a ensuite été révélée au DPPH pour détecter les composés susceptibles d'avoir des propriétés antioxydantes.

Certaines tâches de migration ont réagi en donnant des colorations jaunes indiquant que l'extrait végétal contient des composés polyphénoliques. Le test est alors positif. Dans ce contexte, il sera intéressant de refaire les mêmes études avec des polyphénols isolés et purifiés de *Fuirena glomerata* pour confirmer ou pour exploiter ces résultats.

III. ETUDES PHARMACOLOGIQUES

A. ACTIVITE ANTIPALUDIQUE

La parasitémie après traitement des souris par l'extrait brut méthanolique de *Fuirena glomerata* pendant 3 jours a été évaluée à 51% alors que celle des souris "témoins" a été de 42%. Ce résultat indique que l'espèce étudiée n'a aucun effet sur la viabilité des parasites isolés et par conséquent, *Fuirena glomerata* ne présente probablement aucun intérêt dans le domaine de la lutte contre le paludisme.

B. ACTIVITE ANTIHISTAMINIQUE

L'activité relaxante de l'extrait méthanolique de *Fuirena glomerata* vis-à-vis de la trachée du cobaye préalablement contractée par l'histamine (10^{-5} M) est illustrée par la Fig. 6. La valeur de CE_{50} (Concentration Efficace produisant 50% de relaxation) estimée à partir la Fig. 6 est approximativement de l'ordre de 1250 $\mu\text{g/ml}$.

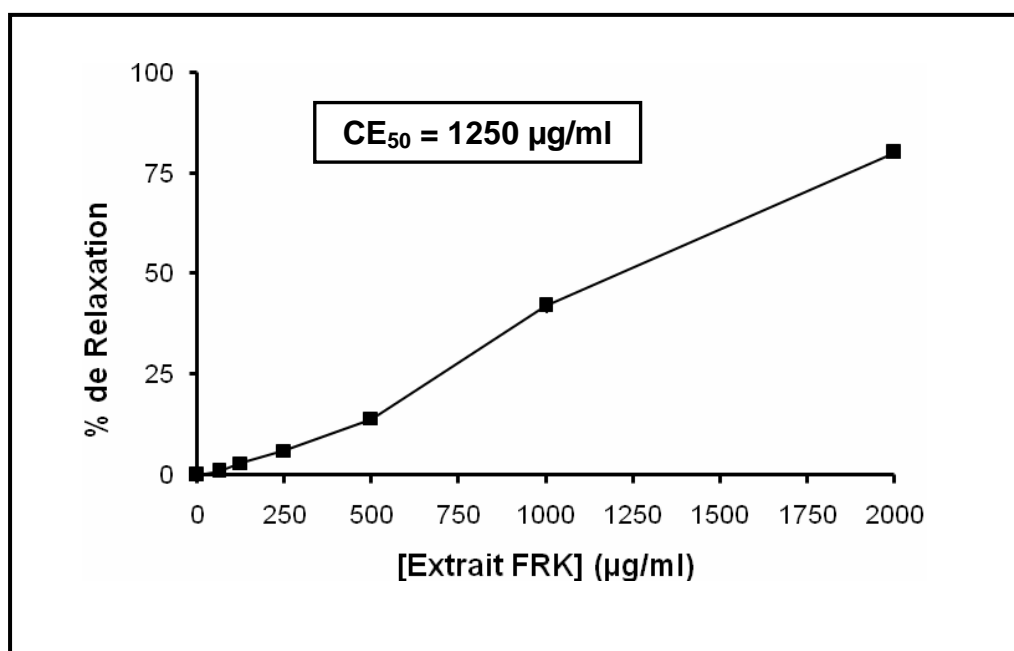


Fig. 6. Effet relaxant de l'extrait de *Fuirena glomerata* vis-à-vis de la trachée de cobaye préalablement contractée par l'histamine.

La trachée est préalablement contractée avec une solution d'histamine à 10^{-5} M. Au plateau de contraction, l'effet relaxant est suivi par ajout de concentration croissante (62.5 à 2000 µg/ml) d'extrait de *Fuirena glomerata* dans un volume total de 20 ml.

C. ACTIVITE CYTOTOXIQUE

La cytotoxicité de la plante *Fuirena glomerata* vis-à-vis des cellules P388 a été évaluée à partir de quatre extraits bruts différents. Les valeurs de CI_{50} déterminées à partir de la Fig. 7 sont approximativement de 66.2 ± 1.8 $\mu\text{g/ml}$, 62.5 ± 10.6 $\mu\text{g/ml}$ et 71.2 ± 5.3 $\mu\text{g/ml}$ pour les extraits hexanique (Fig. 7A), dichlorométhanique (Fig. 7B) et d'acétate d'éthyle (Fig. 7C), respectivement (Tableau IV). Il est à noter que l'extrait méthanolique n'a aucun effet cytotoxique vis-à-vis des cellules P388 (Fig. 7D).

Tableau IV. Activité cytotoxique de *Fuirena glomerata* vis-à-vis des cellules P388.

*Extrait	** CI_{50} (Moyenne \pm SD) ($\mu\text{g/ml}$)
Hex	66.2 ± 1.8
DCM	62.5 ± 10.6
AcEt	71.2 ± 5.3
MeOH	Aucun effet

*Hex : extrait hexanique ; DCM : extrait dichlorométhanique ; AcEt : extrait d'acétate d'éthyle et MeOH : extrait méthanolique.

**Les valeurs de CI_{50} (concentration inhibant à 50% la prolifération des cellules P388) ont été extrapolées des graphes représentant le pourcentage de viabilité cellulaire en fonction de la concentration en extraits testés (Fig. 7). Chaque valeur représente la moyenne \pm l'écart type de 3 déterminations indépendantes.

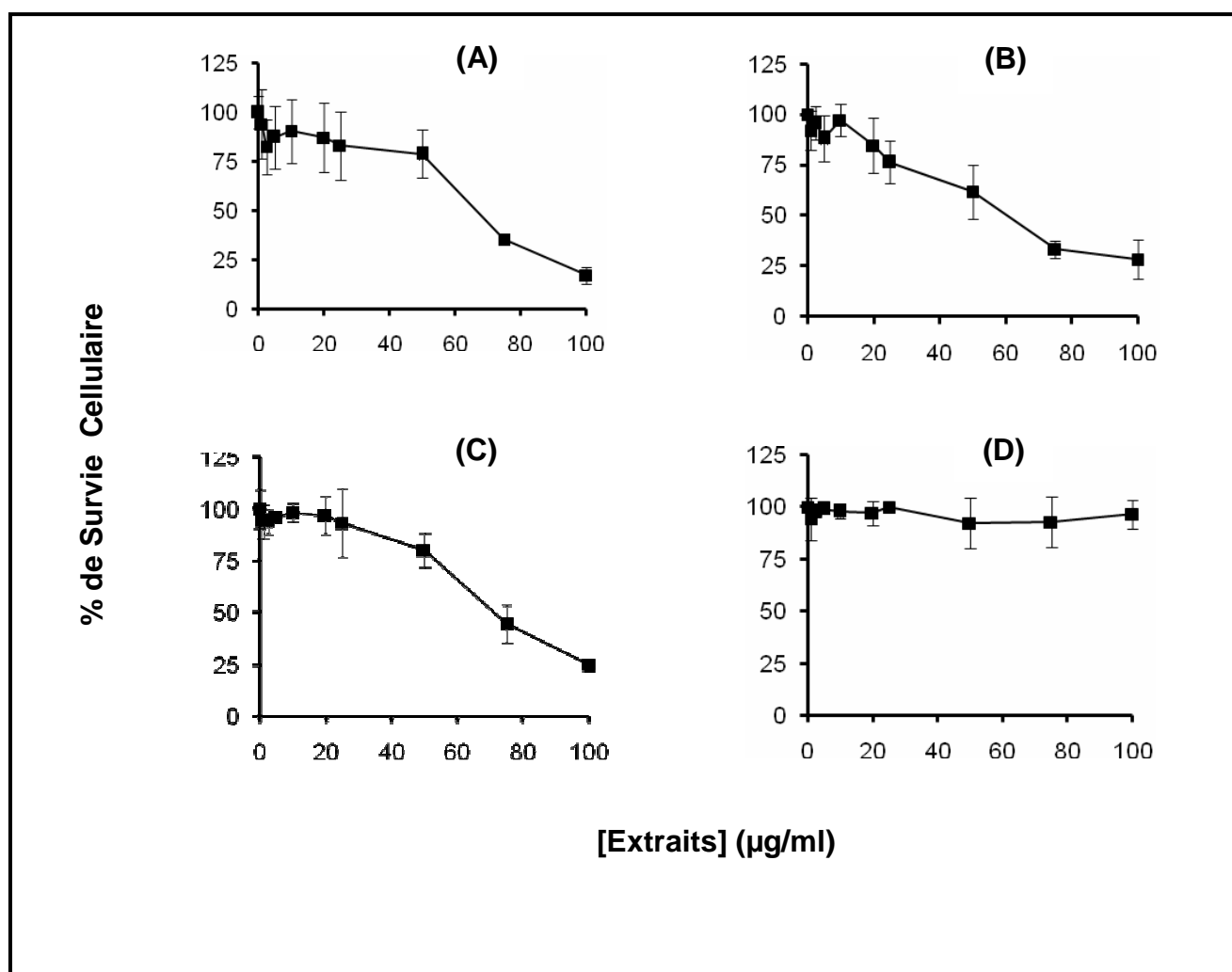


Fig. 7. Effet cytotoxique de différents extraits de *Fuirena glomerata* vis-à-vis des cellules P388. Les cellules ont été incubées pendant 72 h à 37° C sous une atmosphère composée de 5% de CO₂ en présence (essais) ou en absence (contrôle) de concentrations croissantes (1 à 100 µg/ml) en extraits bruts hexanique (A), dichlorométhanique (B), acétate d'éthyle (C) et méthanolique (D). Chaque concentration a été testée sur 4 puits et chaque point représente la moyenne ± l'écart type de 3 déterminations indépendantes. Les pourcentages de survie cellulaire ont été évalués par rapport au contrôle. Pour tous les tests effectués, la camptothécine (5 µM) a servi de contrôle positif.

DISCUSSION

Lors de cette étude, divers résultats ont été obtenus, cependant des difficultés ont été soulevées pendant ce travail. En effet, l'indication thérapeutique en médecine traditionnelle ne peut pas toujours être transposée dans le terme qu'on utilise en médecine moderne. Autrement dit la qualification de la maladie est différente de l'un à l'autre. En plus le mode d'emploi sur l'utilisation empirique des plantes n'est pas précis. Et dans la plupart des cas, le mode de préparation est toujours la décoction.

Les auteurs se divergent sur le nom de la plante étudiée, les uns pensent que la *Fuirena umbellata* est différente de *Fuirena glomerata* [CHERMEZON, 1936] alors que les autres affirment que ces deux espèces sont synonymes [Liste de contrôle et la base de données Plantes africaines].

Les différents tests phytochimiques effectués dans le cadre de cette étude nous ont permis de démontrer qu'il n'y avait pas d'alcaloïdes, d'ammoniums quaternaires et des N-oxydes, de flavonoïdes et de leucoanthocyanes, de quinones, de stéroïdes et de terpénoïdes, de saponines ni de polysaccharides dans la *Fuirena glomerata*. Des traces ont été observées en ce qui concerne les alcaloïdes, les flavonoïdes et les leucoanthocyanes mais il s'agissait plutôt des résultats faux positifs.

Les tests phytochimiques concernant les tanins et les polyphénols ont été positifs. Ces résultats montrent donc l'existence de composés phénoliques dans la plante et confirment les informations traditionnelles recueillies lors de l'enquête dans la zone d'étude telles que son utilisation comme antibactérienne dans les problèmes liés à l'accouchement, contre la fièvre et aussi son activité antioxydante.

Les polyphénols sont des composés hydrosolubles. De par leur rôle d'antioxydant naturel [Wikipedia Encyclopédie libre], ils suscitent de plus en plus d'intérêt dans la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives [Wikipedia Encyclopédie libre]. Ils sont également utilisés comme additifs dans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [Wikipedia Encyclopédie libre]. Par conséquent, leur présence dans la *Fuirena glomerata* étudiée confirme d'une part, l'origine aquatique et d'autre part, les grands intérêts de l'utilisation de la plante en médecine traditionnelle dans la Région SOFIA.

Il est à noter que lors du criblage phytochimique, les tests d'activités antibactérienne, antipyrétique n'ont pas pu être réalisés, mais la seule présence des

composés phénoliques est un indicateur important de ces propriétés. Par conséquent, il serait intéressant de refaire les mêmes études avec des polyphénols isolés et purifiés de *Fuirena glomerata* pour confirmer ou pour exploiter ces résultats.

Durant notre enquête dans la Région SOFIA, il nous a été indiqué que la *Fuirena glomerata* avait une propriété antipyrétique alors que les études que nous avons effectuées ont démontré qu'elle n'avait pas d'activité antipaludique. Ainsi, des études supplémentaires restent toujours nécessaires pour infirmer ou confirmer sur quel type de fièvre la plante est elle pharmacologiquement intéressante.

Concernant le test d'activité antihistaminique, l'extrait méthanolique de *Fuirena glomerata* présentait une $CE_{50} = 1.250$ mg/ml (Fig. 6). De plus, on a pu observer lors de la réalisation du test, la formation d'une mousse caractéristique des saponines alors que le criblage phytochimique correspondant n'a révélé aucune présence de ces composés. Par conséquent, comme il s'agit d'une expérience préliminaire, il serait intéressant d'effectuer ultérieurement, des études complémentaires et plus approfondies afin de confirmer cette activité antiasthmatique *in vitro* observée. Néanmoins, ce résultat obtenu renforce davantage l'intérêt de l'utilisation de la *Fuirena glomerata* en médecine traditionnelle dans la Région SOFIA.

Les tests de cytotoxicité que nous avons effectués ont permis de démontrer que les extraits hexanique (Fig. 7A) et dichlorométhanique (Fig. 7B) avaient le même effet sur la prolifération des cellules cancéreuses P388 ($CI_{50} : 66.2 \pm 1.8$ µg/ml vs 62.5 ± 10.6 µg/ml) indiquant probablement l'existence d'un même composé de nature apolaire dans cette plante. De plus, lorsque la polarité du solvant d'extraction utilisé augmente, l'activité cytotoxique de *Fuirena glomerata* devient de plus en plus faible voire nulle. C'est le cas des extraits d'acétate d'éthyle (Fig. 7C) dont la CI_{50} est de 71.2 ± 5.3 µg/ml et méthanolique qui est plus polaire et qui ne présente aucun effet cytotoxique à une concentration déjà assez élevée de 100 µg/ml (Fig. 7D).

Des études plus approfondies de fractionnements bioguidés et de purification de la molécule active sont nécessaires pour savoir si le composé apolaire de *Fuirena glomerata* sera suffisamment cytotoxique pour l'inclure dans la liste des candidats potentiels dans la lutte contre le cancer.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'ensemble des résultats des différents tests phytochimiques confirme les grands intérêts de l'utilisation de *Fuirena glomerata* en médecine traditionnelle dans la Région SOFIA. En effet, la présence des composés polyphénoliques est un indicateur important d'activités antibactérienne et antipyrétique que cette plante pourrait posséder. De plus, il a été démontré qu'elle posséderait aussi une propriété antioxydante [Wikipedia Encyclopédie libre]. Cependant, s'agissant de tests préliminaires, il serait intéressant d'effectuer des études plus approfondies pour confirmer ces résultats.

En ce qui concerne les différents tests d'évaluation d'activités pharmacologiques, les résultats obtenus sont plus ou moins intéressants. En effet, il a été démontré que *Fuirena glomerata* n'avait aucun effet inhibiteur sur la viabilité des parasites ioléi infestés chez la souris indiquant que la plante n'avait probablement pas de propriété antipaludique. Par contre, elle exercerait d'une part, un effet relaxant vis-à-vis de la trachée de cobaye préalablement contractée par l'histamine avec une valeur de CE_{50} de 1.25 mg/ml (extrait MeOH) indiquant probablement une activité antiasthmatique et d'autre part, un effet inhibiteur sur la prolifération des cellules cancéreuses P388 avec des valeurs de CI_{50} de 66.2 ± 1.8 $\mu\text{g/ml}$, 62.5 ± 10.6 $\mu\text{g/ml}$ et de 71.2 ± 5.3 $\mu\text{g/ml}$ pour les extraits Hex, DCM et AcEt, respectivement, suggérant une activité cytotoxique exercée par la plante étudiée. Il est important de souligner que l'extrait MeOH de *Fuirena glomerata* n'avait aucun effet cytotoxique vis-à-vis des cellules P388. Ces activités semblent faibles mais des études plus approfondies de fractionnements bioguidés et d'isolement et de purification des molécules actives pourraient probablement les améliorer.

Le grand intérêt de ces travaux, c'est de nous avoir permis de nous familiariser aux différentes techniques utilisées dans le domaine d'études des plantes médicinales. De plus, ils apportent une meilleure connaissance sur la plante aquatique, *Fuirena glomerata*, permettant d'appréhender les problèmes liés à son utilisation en médecine traditionnelle. Enfin, ces travaux contribuent à la valorisation de la biodiversité végétale de la Région SOFIA et par conséquent, de Madagascar. L'élaboration d'un ouvrage sur la pharmacopée de l'Androna serait en perspective.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **AKLIKOKOU, GBEASSOR et NAPO, 1995.** Action antiulcéreuse de quelques plantes médicinales. Pharm. Méd. Trad. Afr.p 55-60.
2. **ANTONIO, ALMEIDA, ATUL MEHTA, 2001.** Malaria and anaemia. Postgraduate Doctor Africa.; 23 (3): p 61-63
3. **BARROS. F. M., BARROS. P. S. M., RÖPKE. C. D., SILVA V. V., SAWADA. T. C. H., BARROS, S. B. M. AND BELFOR.T JR. R. 2007.** Dose-dependent in vitro inhibition of rabbit corneal matrix metalloproteinases by an extract of *Pothomorphe umbellata* after alkali injury. Braz J of Med Biol Res, 40 (8). P 1129 – 1132.
4. **BORENFREUND E., PUENER J.A., 1984.** A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assays (HTD/NR-90). J. Tiss. Cult. Meth. 9: p 7-9.
5. **BORENFREUND E., PUENER J.A., 1985.** Toxicity determined in vitro by morphological alterations and neutral red absorption. Toxicol. Letters. 24: p 119-124.
6. **CHERMEZON H., 1936.** Flore de Madagascar et des Comores. (Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza). p 1 – 5, 156 – 163.
7. **ERIC E., 2002.** Recherches de substances induisant l'Apoptose . Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du grade de Licencié en kinésithérapie et Réadaptation. Université de Liège. 63 p.
8. **MELLOUKI F., AIT ABDELLAH OUL MOKHTARA S., SAOUF A., AKSSIRA M., LEMRANI M., 2006.** Evaluation in vitro de l'activité antileishmanienne de phénylproldé de *Thapsia transtagana* Brot. Aper rech scient BIOTECH. 2 p
9. **FONTANEL D., GALTIER C., VIEL C., 1999.** Utilisations thérapeutiques passées et composition chimique du latex de Cichorioidées européennes. Etudes chimiques et pharmacologiques. Page 416-418.
10. **HANBALI F. EL, HASSANYA B. EL, MELLOUKIA F, RHALABIB N., BESSIB H., HEIMEUR. N., IDRISSE HASSANI. L. M. ET SERGHINI. M. A., 2006.** Prospection de l'activité antifongique d'extraits de *Pyrus mamorensis*. Aper rech scient BIOTECH. 2 p.
11. **JENNIFER H. , RICHARDS, 2002.** Flower and Spikelet Morphology in Sawgrass,
12. **JULIE WEBBER, MARGARET. E., JOHNSTON, and ALAN. H., WEARING, 2003.** High irradiance increases organogenesis in friable callus of caustis

13. **LAKMICH. H., LOUTFI. K., GADHI. C. A. 2006.** Activité inhibitrice des extraits d'une plante médicinale : *Corrigiola telephiifolia* Pourr. Sur *Sclerotium rolfsii* Sacc. Aper les rech scient BIOTECH. 2 p.
14. **MANUILA L., MANUILA A., LEWALLE P., NICOULIN M, 2001.** Dictionnaire médicale 9^e éd. Masson, Paris. p 678
15. **MAZIER D. , 1991.** Cycle et Biologie des Plasmodiums in : Danis M., Mouchet J. Paludisme : Médecine tropicale. Ellipses: p 25-33
16. **NADYA. MEZZOUG, ABDESLAM. ZHIRI, DOMINIQUE. BAUDOUX, JAMAL. ABRINI ET MOHAMED. IDAOMAR, 2006.** Action anticancerigène de l'huile essentielle d'*origanum compactum* : Application sur la lignée cancéreuse humaine du nasopharynx « Hep » ; Aper rech scient BIOTECH. 2 p.
17. **NING Z. and WANG Z., 1997.** An assay for DNA fragmentation in Apoptosis without Phenol/Chloroform extraction and ethanol precipitation. *Anal Biochem* 246: p 155-158.
18. **O.M.S, 2005.** Stratégie de l'O.M.S pour la Médecine Traditionnelle pour
19. **RAMANANJANAHARY. R. H., 2002.** Etudes ethnobotanique, biologique et écologique de quelques espèces antidiarrhéiques d'Ankarafantsika et d'Antrema. Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies en Sciences Biologiques Appliquées. Université d'Antananarivo. 78 p.
20. **RAMANANJANAHARY. R. H., RATSIMALA RAMONTA I., 2005.** Etudes biologiques et écologique de deux espèces anti-diarrhéiques d'Ankarafantsika et d'Antrema (Cas de *Cabucala erythrocarpa* et de *Mascarenhasia arborescens*). p.15
21. **RANARIJAONA H.L.T., 1999.** La flore des milieux lenticques Malgaches : Typologie. Thèse de Doctorat. Université d'Antananarivo. 167p.
22. **RESEAU MEDICAMENTS ET DEVELOPPEMENT (ReMeD), 2009.**
23. **RINALDI A, 2004.** Fighting malaria at the crossroads. *EMBO Report* 2004, 5: p
24. **RIVIERE. C., NICOLAS. J.P., CARADEC M. L., DESIRE. O ET SCHMITT. A., 2005.** Les plantes médicinales de la Région Nord de Madagascar : Une approche ethnopharmacologique. *Bull, Soc, Fr, Ethnopharmacol, Soc, Europ, Ethnopharmacol*, n °36. p 36-49.
25. **ROGIER C., FUSAÏT T., PRADINES B., 2001.** Epidémiologie du paludisme grave in : SAISSY J.M. Paludisme grave. Paris, Arnette: p 23-39.
26. **ROGIER C., PARZY D., SPIEGEL A., 2001.** Histoire naturelle et épidémiologie du paludisme in : Saissy J.M. Paludisme grave. Paris Arnette : p 1-22

27. **SACOMAN. J. L., MONTEIRO. K. M., POSSENTI. A., FINUEIRA G. M., FOGGIO M. A. AND CARVALHO J. E., 2008.** Cytotoxicity and antitumoral activity of dichloromethane extract and its fractions from *Pothomorphe umbellata*. *Braz j of Med Biol Res*, vol 41 (5): p 411-415.
28. **TEEPE R.G.C., KOEBRUGGE E.J., LOWIK C.W. et al., 1993.** Cytotoxicity effects of topical antimicrobial and antiseptic agents on human keratinocytes in vitro. *J. Trauma*. 35: p 8-19.
29. **TRAPE J.F., 2001.** The public health impact of chloroquine resistance in Africa. *Am J Trop Med Hyg*; p 62.
30. **W.H.O 2005.** World malaria report 2005.
31. **WINCKLER J., 1974.** Vital staining of lysosomes and other cell organelles of the rat with neutral red. *Prog. Histochem. Cytochem*. 6: p 1-89.

WEBBOGRAPHIE

- 1- <http://plantes-rizieres-camargue.cirad.fr/monocotyledones/cyperaceae/cyperaceae>
- 2- <http://fr.wikipedia.org/wiki/Cyperaceae>
- 3- Wikipedia Encyclopédie libre
- 4- <http://www.gesvab.u-bordeaux2.fr>
- 5- <http://www.parcs-madagascar.com/fiche-aire-protegee.php?Ap=41>
- 6- <http://www.parcs-madagascar.com/fiche-aire-protegee.php?Ap=42>
- 7- http://www.capfida.mg/km/cosop/Rapports_regionaux/sofia.html
- 8- <http://www.hydroecologie.org/index.php?option=article&access=standard<e==standard<e=mid=129&url=/articles/hydro/pdf/1997/01/hydro97108.pdf>
- 9- http://www.cayenne.ird.fr/aublet2/Selection_Famille2.php3?num_ech=15652&id_ech=117777&id_nom=1626.&id_bota=159&an_det=2002
- 10- <http://sofia-sim.org/index.php?id=306>
- 11- <http://wapedia.mobi/fr/Madagascar>.
- 12- <http://www.cirs.fr/breve.php?id=381>.
- 13- http://www.Madagascar-homeopharma.com./0_histoire.php.
- 14- <http://www.madagascar-guide.com/fr/pages/nature/reserves.html>

- 15- <http://www.jardinsdumonde.org/rubriques/terrain/html>.
- 16- [http://bibdigital.rjb.csic.es/Imagenes/P1781\(1\)_4/P1781\(1\)_4_422.pdf](http://bibdigital.rjb.csic.es/Imagenes/P1781(1)_4/P1781(1)_4_422.pdf).
- 17- <http://pagesperso-orange.fr/erick.dronnet/cyperaceae.htm>.
- 18- <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/go/03b-00000j-0ho/presse/fiches-sur-les-maladies-infectieuses/paludisme>.
- 19- <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/fr/index.html>.
- 20- http://www.cafida.mg/km/cosop/Rapports_regionaux/sofia.html.
- 21- <http://www.ethnopharmacologia.org/fr/default.asp?page=pharmacopees-du-monde>.

ANNEXE

Autres ?

Autre 1 :

Autre 2 :

Autre 3 :

Quelles parties de la plante sont utilisées ?

Ecorce de tige Feuilles Fleurs Racines

Fruits Gomme Résine

Autres :

Mode de préparation du remède

Décoction Râpure

Infusion Broyage

Autres :

Recette :

Notes sur la préparation :

.....
.....
.....
.....
.....
.....

Mode d'utilisation du remède

Quantité administrée :

Voie d'administration :

Fréquence de l'administration :

Durée du traitement :

Durée de conservation du remède :

Plantes associées

Aucune

Oui

Si Oui, lesquelles ?

Notes sur la préparation :

.....
.....
.....
.....
.....

Annexe 2

Tableau : Liste des plantes médicinales aquatiques utilisées dans les régions de Mandritsara et d'Antsohihy.

N°	Nomenclature	Habitat de la plante ou lieu de récolte	(Indications thérapeutiques)	Port	Personnes cibles	Parties prélevées	Mode de préparation	Mode d'emploi	Mode de Conservation	Observation
1	<i>Adina microcephala</i> Hiern. (Rubiaceae) Sohihy	Berge S15°49.857 EO48°48.478	Maux de tête Grippe Paludisme		Adulte Jeunes Enfant	Jeunes feuilles	Piler A mettre le jus dans le nez Décoction et A boire			
2	<i>Ficus Sakalavarum</i> (*) Adabo (Moraceae)	Berge S15°49.223 EO48°48.143	Cosmétique	Arbuste	Adulte Jeunes Enfant	Ecorce	Râpure			
			Plaie			Latex	En goutte			
			Hernie			Racines adventives	Décoction	½ tasse pt 2 jrs tous les 2 jours		
3	<i>Hydrostachys plumosa</i> A. Juss (*) (Hydrostachyaceae) Rondra	Cours d'eau S15°40 EO 46°23'	Chute de cheveux (Cosmétique)	Herbacé	Adulte Jeunes Enfant	Plante entière	Décoction	Utiliser en tissant les cheveux	A utiliser une fois et à jeter	
			Fatigue							
			Maux de ventre Manque d'appétit							
4	<i>Aframomum angustifolium</i> K. Schum.	Berge	Problème d'accouchement	H	A	Racines	Décoction jusqu'à l'obtention d'une	A boire	A jeter après 4 jours	Avec <i>Fuirena glomerata</i>

	(Zingiberaceae)	Etang et eaux stagnantes					couleur jaune			
	Longoza	S15°40' EO 46°23'	Fatigue Cardiaque	H	A-J A	Feuilles Tiges + feuilles	A éplucher Râpure filtrer	A boire		
5	<i>Fuirena glomerata</i> Rottb. (Cyperaceae) Vendramalomona	Rizières- Cours d'eau- Zone marécageuse Lacs S15°49'82"2 EW48°48'500	Problème d'accouchement	H	A	Entière	Décoction	A boire	A jeter après 4 jours	Avec racines d' <i>Aframomum</i>
			Fatigue ; articulation		A-E-J	Entière	Décoction	A boire une tasse par jour pendant l'accouchement		
			Maux de ventre Paludisme					A boire		
6	Batrotroko	Zone humide ou eau stagnante	Maux de ventre	Herbacé	A-E-J	Tige + Feuilles+ fleurs	Décoction	A boire		
7	<i>Cyperus volodioides</i> Cherm. (Cyperaceae)	Marais	Accouchement	Herbacé	A	Entière	Décoction			

	Volodia (*)	Rizières S15°50.496 EO48°49.050								
8	<i>Phragmites mauritianus</i> (Poaceae) Bararata	Lac-Rivière-cours d'eau-rizière	Yeux	Herbacé	A E J	Feuilles	Griller			
9	Antidesma (Euphorbiaceae) Varona	Berge zone humide	Tension	Arbre	A	Feuilles	Décoction	A boire deux fois par jour	Tous les deux jours et reprise après 5 jours	
			Vavony			Latex	A boire à jeun une fois par jour			
			Maux de ventre Diarrhée			Racines	Décoction	A boire 2 verres au max	Ecorce de manguier	Interdire le sucre
						Feuilles	Décoction ou Infusion à l'eau froide	A boire	Feuille toxique	
10	Mafaimamy	Zone humide	Paludisme Fatigue	Arbuste	A-J	Feuilles	Décoction	A boire deux fois par jour avant de dormir		
11	<i>Nymphaea lotus</i> (Nymphaeaceae) Agoago (voahirana)	Lacs, Marais	Sédatifs Antidotes	Herbacé	A	Feuilles				

12	<i>Nymphaea stellata</i>	Lacs, Marais	Aphrodisiaque	Herbacé	A	Tubercules	Décoction	A boire		
	(Nymphaeaceae) Tatamo									
13	<i>Pistia stratiotes</i> (Araceae) Azafo	Eau lac étang	Fatigue Antidote	Herbacé	A J E		Rincer la tête	A mettre dans de l'eau froide		
14	<i>Azolla pinnata</i> R.Br. (*) (Azollaceae) Savamikipy	Rizières S15°49.822/ EO48°48.500	Hémorroïdes	Herbacé	A	Plante entière	Décoction	Bain de siège		
15	<i>Lemna paucicostata</i> Lin. Ramilamina (Lemnaceae)	Eaux stagnantes	Plaie	Herbacé		Plante entière	Décoction	A mettre sur la plaie		
16	<i>Floscopa glomerata</i> Hassk. (Commelinaceae) Ahibita	Marais - Lac	Fatigue	H			Décoction	A boire		
17	<i>Scirpus juncooides</i> Roxb. (Cyperaceae) Ahidrano	Marais	Herbacé	Antidote Malaise	Adulte	Plante entière	Décoction			
18	<i>Mimosa pudica</i> L. (Fabaceae) Rotra Sambirano	Zone humide, lac, rizières, bord de cours d'eau	Herbacé	Maux de ventre	Adulte Jeune Enfant	Racines	Décoction			
				blennorragie		Feuilles	Décoction A boire et			

							Bain de siège fréquent			
19	<i>Bacopa monnieri</i> (Scrophulariaceae)	Marais Berge	Herbacé	Améliore la mémoire			Décoction et à boire			
20	<i>Polygonum glabrum</i> (Polygonaceae) Tambonoana	Zone humide – Lac	Diarrhée chez les enfants Amibiase Goutte	Herbacé	Enfant	Feuilles	Décoction	A boire		
21	<i>Rancifolia</i> sp Akalana (Rubiaceae)	Rizières Zone humide	Fièvre Maux de ventre	H	Enfant	Feuilles	Décoction	A boire		
			Entorse				Décoction concentrée à prendre en bain	Mettre les feuilles sur l'entorse	A mélanger avec de Jeune feuilles de <i>Harungana</i>	Rester immobile 1 semaine
22	<i>Raphia farinifera</i> Rafia	Zone humide marécageuse	Maux de dents		A-J	Racines	Décoction	A boire	A mélanger avec des Feuilles de <i>Cajanus</i> pilées + Sel	

23	<i>Sopubia trifida</i> Buch. Ham. (Scrophulariaceae) Manondry	Rizières	Favorisant la pousse des dents chez le bébé		E	Racines adventives	Décoction	A boire		
			Maux de tête Maladie vaginale		A-J	Ecorce	Décoction			
24	<i>Ludwigia octovalvis</i> (Jacq.) Raven. (*) (Onagraceae) Rajafotsy	Lacs, marais	Plaie		A-E-J	Feuilles	Piler et filtrer	A mettre sur la plaie		
25	<i>Ludwigia diffusa</i> (Onagraceae) Rajamena	Lacs, marais	Accouchement		A	Plante entière	Décoction	A boire		
26	<i>Crinum firmifolium</i> Bak. var. <i>hygrophyllum</i> (*) (Amaryllidaceae) Vahana	Zone humide	Plaie			Bulbe	Piler et filtrer	Sur la plaie		
27	<i>Aknis precatorea</i> (Fabaceae) Masonamboatorana	Berge	Toux		Enfant	Feuilles	Décoction A boire	A mélanger avec du poulet		
			Maux d'estomac / Toux			Feuilles	Décoction A boire pt 4 jrs 2x par jour	+ Feuilles de papayer		

28	Sirambalavo	ZH rizière	Toux		Adulte Jeune Enfant	Plante entière	Décoction A boire 1 fois par jr			
29	<i>Phyla nodiflora</i> (verbenaceae) Fitampesamboay	Marais	Maux de ventre Sédatifs		A	Plante entière	Décoction à boire			
30	(Passifloraceae) Babongampiso	S 15°49.786 EO48°48.425 Berge – marais – mare	Tension		Adulte	Plante entière	Décoction A boire	Avec des feuilles de manguier fraiches		
31	<i>Marsilea microphylla</i> (*) (Marsileaceae)	S15°49.822 EO48°48.500 Mare	Fatigue		Adulte	Plante entière	Décoction A boire			
32	<i>Ipomoea aquatica</i> (Convolvulaceae) Tsomangarano	S15°50.496 EO48°49.050 Marais								
33	<i>Ludwigia diffusa</i> <i>subsp. Diffusa</i> (Onagraceae) Vilondrano	S15°49.023 EO48°47.984 Marais								
34	Farimainty	ZH	Sindrika (manevika)	A-J-E		Tige	Décoction	A boire fréquemment	Avec du thé	

35	<i>Rhynchospora candida</i> Boeck. (Cyperaceae) Ahipisaka	Marais Rizières	Diurétique	A-E-J		Jeunes feuilles	Décoction	A boire fréquemment selon l'âge	Feuilles de kelimirefaka (T et ZH)	
36	<i>Scoparia dulcis</i> L. (Scrophulariaceae) Famafantsambo		Contre les fièvres	A		Tiges et feuilles	Décoction	A boire trois fois par jour	A boire 0-5 ans : ½ tasse de café 5-10 : 1 tasse à café 10-100 ans : 2 verres + 4 cac 3 fois par jour	Feuilles de Tsilavon- drivotra Vahimain- tiny Etamines de maïs
37	<i>Ficus sp.</i> (Moraceae) Mandresy	Toute ZH	Maux d'estomac	A-J		Feuilles	Piler et à décocter A boire froid	Avec feuilles ou écorce de <i>Terminalia superba</i>		
38	<i>Scleria racemosa</i> Poir. (Cyperaceae) Sirosera	T ou ZH	Problème d'accouchement			Feuille	Décoction A boire 3 fois par jour			
39	<i>Arthrocnemum indicum</i> Mog. (Chenopodiaceae) Sirasira	Zone humide sale	Problème d'accouchement			Plante entière	Décoction à manger avec le riz			

40	<i>Cyperus articulatus</i> L. (Cyperaceae)	Marais	Problème d'accouchement				Décoction A boire 3 fois par jr	Racines d' <i>Aframomum</i>		
41	Montomaso	Rizières	Contre l'alcool (pour une personne alcoolique)			Feuilles	Décoction A boire			
42	<i>Imperata cylindrica</i> (Poaceae) Maneviky Vahazato		Tétanos A conseiller aussi après opération			Feuilles	Décoction A boire 2 fois par jour			
43	Brachylaena ramiflora (Asteraceae) Kisaka		Albumine			Feuilles	Décoction A boire			
44	<i>Lygodium lanceolatum</i> (Schizeaceae) Karakaratoloho	S15°49.517 / EO 48°48.327 Berge	Paludisme Asthme Fatigue Entorse			Entière	Décoction A boire			
						Plante entière	Décoction + aiguille Inhalation de la partie fracturée et masser avec A boire une fois par jour			

45	Hibiscus vitifolius (Malvaceae) Tsirangorangobalala	Zone humide	Malaise		Bébé	Feuilles + tiges	Décoction A boire			
46	Rohiavotra	Zone humide	Maux de ventre			Feuilles	Décoction A boire			
47	<i>Colocasia esculenta</i> Scott. (Araceae) Rasaonjo	Marais – Mare	Règles douloureuses				Décoction A boire			
48	<i>Equisetum ramosissimum</i> Desf. (Equisetaceae)	Marais	Règle douloureuse Dysenterie Diurétique				Décoction A boire			
49	<i>Typhonodorum lindleyanum</i> Schott. (Araceae) Viha	Marais - Lacs	Cancer ou plaie grave			Faux tronc sec ou feuilles	A brûler et le poudre à mettre sur la plaie			
50	<i>Pneumatopteris unita</i> Kunze (Thelypteridaceae) Ampangandrano	Marais – Lacs	Vermifuge			Frondes	Décoction A boire			

Annexe 3

Test d'activité antihistaminique de *Fuirena glomerata*

Extrait (µg/ml)	Relaxation (%)
0	0
62.5	1
125	3
250	6
500	14
1000	42
2000	80

La trachée isolée de cobaye est préalablement contractée avec une solution d'histamine à 10^{-5} M. Au plateau de contraction, l'effet relaxant est suivi par ajout de concentration croissante (62.5 à 2000 µg/ml) d'extrait de *Fuirena glomerata* dans un volume total de 20 ml.

Annexe 4

TEST DE CYTOTOXICITE SUR CELLULES P388

Date du Test : Mardi 21 juillet 2009

[Cellules] = 50 000 cellules/puits (200 µl)

Drogues testées : Extraits FRK (0,1 - 1 - 10 et 100 µg/ml)

Incubation : 72H

Test de viabilité cellulaire : Rouge Neutre

[FRK] (µg/ml)	% de Survie Cellulaire						% d'Inhibition					
	n ₁	n ₂	n ₃	n ₄	Moyenne	± SD	n ₁	n ₂	n ₃	n ₄	Moyenne	± SD
Contrôle	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
HEX (0,1)	118,4	124,2	137,5	98,8	119,7	16,1	-18,4	-24,2	-37,5	1,2	-19,7	16,1
(1)												
(10)	100,6	133,4	123,9	58,7	104,2	33,3	-0,6	-33,4	-23,9	41,3	-4,2	33,3
(100)	49,7	112,8	52,5	84,9	75,0	29,9	50,3	-12,8	47,5	15,1	25,0	29,9
DCM (0,1)	100,6	121,2	128,3	120,3	117,6	11,9	-0,6	-21,2	-28,3	-20,3	-17,6	11,9
(1)	126,1	159,7	102,3	77,6	116,4	35,0	-26,1	-59,7	-2,3	22,4	-16,4	35,0
(10)	89,8	86,9	82,1	61,9	80,2	12,6	10,2	13,1	17,9	38,1	19,8	12,6
(100)	65,0	90,1	85,9	56,7	74,4	16,1	35,0	9,9	14,1	43,3	25,6	16,1
AcEt (0,1)	118,2	103,3	149,8	108,5	120,0	20,8	-18,2	-3,3	-49,8	-8,5	-20,0	20,8
(1)				55,9	55,9					44,1	44,1	
(10)				75,5	75,5					24,5	24,5	
(100)												
MeOH (0,1)	105,6	77,5	103,8	71,7	89,7	17,6	-5,6	22,5	-3,8	28,3	10,4	17,6
(1)	89,0	103,3	111,8	79,6	95,9	14,4	11,0	-3,3	-11,8	20,4	4,1	14,4
(10)	118,2	83,6	127,5	112,9	110,6	19,0	-18,2	16,4	-27,5	-12,9	-10,6	19,0
(100)	52,7	74,2	88,5	70,8	71,6	14,7	47,3	25,8	11,5	29,2	28,5	14,7
CPT (5 µM)	13,0	15,4	7,1	8,0	10,9	4,0	87,0	84,6	92,9	92,0	89,1	4,0

Annexe 5

TEST DE CYTOTOXICITE SUR CELLULES P388

Date du Test : Mardi 24 juillet 2009

[Cellules] = 50 000 cellules/puits (200 µl)

Drogues testées : Extraits FRK (0,1 - 1 - 10 et 100 µg/ml)

Incubation : 72H

Test de viabilité cellulaire : Rouge Neutre

Plaque neuve à fond plat

[FRK] (µg/ml)	% de Survie Cellulaire						% d'Inhibition					
	n ₁	n ₂	n ₃	n ₄	Moyenne	± SD	n ₁	n ₂	n ₃	n ₄	Moyenne	± SD
Contrôle	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
HEX (0,1)	70,0	67,3	91,5	76,8	76,4	10,8	30,0	32,7	8,5	23,2	23,6	10,8
(1)	62,5	61,6	67,4	58,0	62,4	3,9	37,5	38,4	32,6	42,0	37,6	3,9
(10)	83,3	78,3	53,1	94,8	77,4	17,6	16,7	21,7	46,9	5,2	22,6	17,6
(100)	72,5	62,8	44,4	38,4	54,5	15,9	27,5	37,2	55,6	61,6	45,5	15,9
DCM (0,1)	56,0	60,6	65,2	59,9	60,4	3,8	44,0	39,4	34,8	40,1	39,6	3,8
(1)	64,4	54,9	73,1	44,2	59,2	12,4	35,6	45,1	26,9	55,8	40,9	12,4
(10)	92,1	76,0	60,2	78,4	76,7	13,1	7,9	24,0	39,8	21,6	23,3	13,1
(100)	57,0	64,1	46,5	43,4	52,8	9,5	43,0	35,9	53,5	56,6	47,3	9,5
AcEt (0,1)	89,9	80,1	100,0	100,0	92,5	9,5	10,1	19,9	0,0	0,0	7,5	9,5
(1)	100,0	92,1	100,0	100,0	98,0	4,0	0,0	7,9	0,0	0,0	2,0	4,0
(10)	100,0	93,7	100,0	100,0	98,4	3,2	0,0	6,3	0,0	0,0	1,6	3,2
(100)	84,4	82,9	100,0	100,0	91,8	9,5	15,6	17,1	0,0	0,0	8,2	9,5
MeOH (0,1)	79,1	81,1	100,0	100,0	90,1	11,5	20,9	18,9	0,0	0,0	10,0	11,5
(1)	93,9	88,1	100,0	100,0	95,5	5,7	6,1	11,9	0,0	0,0	4,5	5,7
(10)	90,4	87,3	100,0	100,0	94,4	6,6	9,6	12,7	0,0	0,0	5,6	6,6
(100)	100,0	93,7	100,0	100,0	98,4	3,2	0,0	6,3	0,0	0,0	1,6	3,2
CPT (5 µM)	5,6	4,1	9,2	3,0	5,5	2,7	94,4	95,9	90,8	97,0	94,5	2,7

Annexe 6

TEST DE CYTOTOXICITE SUR CELLULES P388

Date du Test : Vendredi 28 Août 2009

[Cellules] = 20 000 cellules/puits (200 µl)

Drogues testées : Extraits FRK (1-2.5-5-10-20-25-50-75 et 100 µg/ml) Filtrés

Incubation : 72H

Test de viabilité cellulaire : Rouge Neutre

Plaque N° 5

[FRK Hex] (µg/ml)	DO 540 nm Corrigées										
	CTRL	(1)	(2.5)	(5)	(10)	(20)	(25)	(50)	(75)	(100)	CPT (5 µM)
P1	1,527	1,426	0,995	1,067	1,174	1,377	1,186	0,797	0,621	0,302	0,080
P2	1,665	1,578	1,052	1,320	0,948	0,872	0,823	0,911	0,582	0,246	0,058
P3	1,171	1,022	0,995	0,817	1,316	1,095	0,935	0,876	0,467	0,234	0,091
P4	1,048	1,124	0,937	1,463	1,257	0,860	0,756	0,921	0,621	0,153	0,086
Moyenne	1,353	1,287	0,995	1,167	1,174	1,051	0,925	0,876	0,573	0,234	0,079
% cell vivantes	100,0	95,2	73,5	86,2	86,8	77,7	68,4	64,8	42,3	17,3	5,8
% P1	100,0	93,4	65,2	69,9	76,9	90,2	77,7	52,2	40,7	19,8	5,2
% P2	100,0	94,8	63,2	79,3	57,0	52,4	49,4	54,7	34,9	14,8	3,5
% P3	100,0	87,3	85,0	69,8	112,4	93,5	79,8	74,8	39,9	20,0	7,8
% P4	100,0	107,3	89,4	139,6	119,9	82,0	72,1	87,9	59,2	14,6	8,2
Moyenne des %	100,0	95,7	75,7	89,6	91,5	79,5	69,8	67,4	43,7	17,3	6,2
% de cell. Vivantes	100,0	95,7	75,7	89,6	91,5	79,5	69,8	67,4	43,7	17,3	6,2
Ecart-type	0,0	8,4	13,4	33,6	29,7	18,7	13,9	17,0	10,7	3,0	2,2
Erreur standard	0,0	4,2	6,7	16,8	14,9	9,4	7,0	8,5	5,3	1,5	1,1

	DO 540 nm Corrigées										
[FRK DCM] (µg/ml)	0 (CTRL)	(1)	(2.5)	(5)	(10)	(20)	(25)	(50)	(75)	(100)	CPT (5 µM)
P1	1,233	0,983	1,057	0,736	1,503	1,037	0,810	0,666	0,542	0,351	0,047
P2	1,483	1,164	1,185	1,107	1,142	0,988	0,712	0,868	0,487	0,211	0,081
P3	1,143	0,957	1,186	0,849	1,264	0,920	0,730	0,537	0,328	0,247	0,040
P4	0,976	1,552	1,312	0,745	1,212	0,909	0,949	0,616	0,340	0,252	0,123
Moyenne	1,209	1,164	1,185	0,859	1,280	0,963	0,800	0,672	0,424	0,265	0,073
% cell vivantes	100,0	96,3	98,0	71,1	105,9	79,7	66,2	55,6	35,1	21,9	6,0
% P1	100,0	79,7	85,7	59,7	121,9	84,1	65,7	54,0	43,9	28,5	3,8
% P2	100,0	78,5	79,9	74,6	77,0	66,6	48,0	58,5	32,8	14,2	5,4
% P3	100,0	83,7	103,8	74,3	110,6	80,5	63,9	47,0	28,7	21,6	3,5
% P4	100,0	159,0	134,4	76,3	124,2	93,1	97,2	63,1	34,8	25,8	12,6
Moyenne des %	100,0	100,2	101,0	71,2	108,4	81,1	68,7	55,7	35,1	22,5	6,3
% de cell. Vivantes	100,0	100,2	101,0	71,2	108,4	81,1	68,7	55,7	35,1	22,5	6,3
Ecart-type	0,0	39,3	24,5	7,7	21,8	11,0	20,6	6,9	6,4	6,2	4,3
Erreur standard	0,0	19,6	12,3	3,9	10,9	5,5	10,3	3,4	3,2	3,1	2,1

Plaque N°6

DO 540 nm Corrigées											
[FRK AcEt] (µg/ml)	CTRL	(1)	(2.5)	(5)	(10)	(20)	(25)	(50)	(75)	(100)	CPT (5 µM)
P1	1,000	0,740	0,836	0,923	1,136	0,917	0,956	0,637	0,436	0,153	-0,012
P2	1,041	0,929	0,982	0,964	1,014	0,938	0,790	0,867	0,505	0,157	0,012
P3	1,055	1,118	1,008	0,881	1,014	0,997	0,873	0,985	0,485	0,140	0,026
P4	0,863	0,929	1,101	0,923	0,891	0,899	0,873	0,980	0,489	0,240	0,008
Moyenne	0,990	0,929	0,982	0,923	1,014	0,938	0,873	0,867	0,479	0,173	0,008
% cell vivantes	100,0	93,9	99,2	93,2	102,4	94,7	88,2	87,6	48,4	17,4	0,9
% P1	100,0	74,0	83,6	92,3	113,6	91,7	95,6	63,7	43,6	15,3	-1,2
% P2	100,0	89,2	94,3	92,6	97,4	90,1	75,9	83,3	48,5	15,1	1,2
% P3	100,0	106,0	95,5	83,5	96,1	94,5	82,7	93,4	46,0	13,3	2,5
% P4	100,0	107,6	127,6	107,0	103,2	104,2	101,2	113,6	56,7	27,8	0,9
Moyenne des %	100,0	94,2	100,3	93,8	102,6	95,1	88,8	88,5	48,7	17,9	0,8
% de cell. Vivantes	100,0	94,2	100,3	93,8	102,6	95,1	88,8	88,5	48,7	17,9	0,8
Ecart-type	0,0	15,8	19,0	9,7	8,0	6,3	11,6	20,8	5,7	6,7	1,5
Erreur standard	0,0	7,9	9,5	4,9	4,0	3,2	5,8	10,4	2,8	3,3	0,8

[FRK MeOH] (µg/ml)	0 (CTRL)	(1)	(2.5)	(5)	(10)	(20)	(25)	(50)	(75)	(100)	CPT (5 µM)
P1	0,799	1,017	0,743	1,114	0,723	0,798	0,833	0,718	0,856	1,136	0,042
P2	0,670	0,948	0,828	1,097	0,907	0,920	0,897	0,761	0,846	1,211	0,029
P3	0,737	1,017	0,703	1,080	0,926	0,798	0,856	0,801	0,835	1,222	0,056
P4	0,735	1,085	0,697	1,097	1,072	0,676	0,747	0,807	0,846	0,965	0,066
moyenne	0,735	1,017	0,743	1,097	0,907	0,798	0,833	0,772	0,846	1,134	0,048
% cell vivantes	100,0	138,3	101,0	149,2	123,4	108,5	113,3	105,0	115,0	154,2	6,6
% P1	100,0	127,3	93,0	139,4	90,5	99,9	104,3	89,9	107,1	142,2	5,3
% P2	100,0	141,5	123,6	163,7	135,4	137,3	133,9	113,6	126,3	180,7	4,3
% P3	100,0	138,0	95,4	146,5	125,6	108,3	116,1	108,7	113,3	165,8	7,6
% P4	100,0	147,6	94,8	149,3	145,9	92,0	101,6	109,8	115,1	131,3	9,0
Moyenne des %	100,0	138,6	101,7	149,7	124,3	109,4	114,0	105,5	115,5	155,0	6,5
% de cell. Vivantes	100,0	138,6	101,7	149,7	124,3	109,4	114,0	105,5	115,5	155,0	6,5
Ecart-type	0,0	8,5	14,6	10,2	24,0	19,8	14,7	10,6	8,0	22,4	2,1
Erreur standard	0,0	4,3	7,3	5,1	12,0	9,9	7,3	5,3	4,0	11,2	1,1

Annexe 7

TEST DE CYTOTOXICITE SUR CELLULES P388

Date du Test : Mardi 1er septembre 2009

[Cellules] = 20 000 cellules/puits (200 µl)

Drogues testées : Extraits FRK (1-2.5-5-10-20-25-50-75 et 100 µg/ml) Filtrés

Incubation : 72H

Test de viabilité cellulaire : Rouge Neutre

	% de Survie Cellulaire						% d'Inhibition					
[FRK Hex] (µg/ml)	n ₁	n ₂	n ₃	n ₄	Moyenne	±SD	n ₁	n ₂	n ₃	n ₄	Moyenne	±SD
0,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1,0	77,5	100,0	100,0	100,0	94,4	11,3	22,5	0,0	0,0	0,0	5,6	11,3
2,5	58,6	100,0	100,0	100,0	89,7	20,7	41,4	0,0	0,0	0,0	10,4	20,7
5,0	100,0	100,0	100,0	80,8	95,2	9,6	0,0	0,0	0,0	19,2	4,8	9,6
10,0	100,0	100,0	91,8	100,0	98,0	4,1	0,0	0,0	8,2	0,0	2,1	4,1
20,0	100,0	100,0	79,2	100,0	94,8	10,4	0,0	0,0	20,8	0,0	5,2	10,4
25,0	87,1	100,0	100,0	100,0	96,8	6,5	12,9	0,0	0,0	0,0	3,2	6,5
50,0	84,0	94,3	83,5	100,0	90,5	8,1	16,0	5,7	16,5	0,0	9,6	8,1
75,0	21,8	31,9	20,6	34,6	27,2	7,1	78,2	68,1	79,4	65,4	72,8	7,1
100,0	19,8	14,8	20,0	14,6	17,3	3,0	80,2	85,2	80,0	85,4	82,7	3,0
CPT (5 µM)	9,1	14,0	12,9	15,6	12,9	2,8	90,9	86,0	87,1	84,4	87,1	2,8
	% de Survie Cellulaire						% d'Inhibition					
[FRK DCM] (µg/ml)	n ₁	n ₂	n ₃	n ₄	Moyenne	±SD	n ₁	n ₂	n ₃	n ₄	Moyenne	±SD
0,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1,0	94,0	100,0	100,0	100,0	98,5	3,0	6,0	0,0	0,0	0,0	1,5	3,0
2,5	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5,0	100,0	98,7	93,0	100,0	97,9	3,3	0,0	1,3	7,0	0,0	2,1	3,3
10,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
20,0	100,0	100,0	64,1	87,0	87,8	16,9	0,0	0,0	35,9	13,0	12,2	16,9
25,0	100,0	84,0	71,3	100,0	88,8	13,9	0,0	16,0	28,7	0,0	11,2	13,9
50,0	91,7	60,0	57,0	100,0	77,2	21,9	8,3	40,0	43,0	0,0	22,8	21,9
75,0	63,8	29,2	30,4	60,7	46,0	18,8	36,2	70,8	69,6	39,3	54,0	18,8
100,0	32,1	78,6	47,4	64,1	55,6	20,2	67,9	21,4	52,6	35,9	44,5	20,2
CPT (5 µM)	2,6	0,0	0,9	6,8	2,6	3,0	97,4	100,0	99,1	93,2	97,4	3,0

	% de Survie Cellulaire						% d'Inhibition					
[FRK AcEt] (µg/ml)	n ₁	n ₂	n ₃	n ₄	Moyenne	±SD	n ₁	n ₂	n ₃	n ₄	Moyenne	±SD
0,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1,0	89,3	100,0	100,0	100,0	97,3	5,3	10,7	0,0	0,0	0,0	2,7	5,4
2,5	79,1	100,0	100,0	100,0	94,8	10,4	20,9	0,0	0,0	0,0	5,2	10,5
5,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10,0	93,8	100,0	100,0	100,0	98,5	3,1	6,2	0,0	0,0	0,0	1,6	3,1
20,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
25,0	92,0	100,0	100,0	100,0	98,0	4,0	8,0	0,0	0,0	0,0	2,0	4,0
50,0	61,2	100,0	77,4	62,7	75,3	18,0	38,8	0,0	22,6	37,3	24,7	18,0
75,0	30,0	49,4	47,4	36,7	40,9	9,1	70,0	50,6	52,6	63,3	59,1	9,1
100,0	26,1	35,4	30,7	35,8	32,0	4,6	73,9	64,6	69,3	64,2	68,0	4,6
CPT (5 µM)	14,8	21,3	8,8	18,5	15,9	5,4	85,2	78,7	91,2	81,5	84,2	5,4

	% de Survie Cellulaire						% d'Inhibition					
[FRK MeOH] (µg/ml)	n ₁	n ₂	n ₃	n ₄	Moyenne	± SD	n ₁	n ₂	n ₃	n ₄	Moyenne	± SD
0,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1,0	97,9	100,0	84,5	72,8	88,8	12,7	2,1	0,0	15,5	27,2	11,2	12,7
2,5	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5,0	99,7	100,0	100,0	92,7	98,1	3,6	0,3	0,0	0,0	7,3	1,9	3,6
10,0	94,7	98,2	100,0	100,0	98,2	2,5	5,3	1,8	0,0	0,0	1,8	2,5
20,0	85,0	100,0	100,0	100,0	96,3	7,5	15,0	0,0	0,0	0,0	3,8	7,5
25,0	100,0	100,0	100,0	99,2	99,8	0,4	0,0	0,0	0,0	0,8	0,2	0,4
50,0	79,7	68,6	99,5	100,0	87,0	15,5	20,3	31,4	0,5	0,0	13,1	15,5
75,0	66,2	89,9	100,0	85,1	85,3	14,2	33,8	10,1	0,0	14,9	14,7	14,2
100,0	93,2	80,1	100,0	98,6	93,0	9,1	6,8	19,9	0,0	1,4	7,0	9,1
CPT (5 µM)	24,3	7,9	12,0	14,8	14,8	7,0	75,7	92,1	88,0	85,2	85,3	7,0