

BURKINA FASO

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN SCIENCES DE LA SANTE

UFR/SDS

SECTION PHARMACIE

Année Universitaire 2001-2002

Thèse N° 30

CONTRIBUTION DE L'ACIDE URSOLIQUE DANS
L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DE *MITRACARPUS scaber* ZUCC
(*RUBIACEAE*)

Thèse :

Présentée et soutenue publiquement le 23 juillet 2002
Pour l'obtention du grade de **Docteur en pharmacie**
(**DIPLOME D'ETAT**)

PAR :

BALIMA Raïssa Nathalie

Née le 16 mars 1974 à PARIS (France)

Jury :

Président : Pr. Adama SABA

Membres : Pr. Blaise KOUDOGBO

Dr. L. K. Marcelle TRAORE

Dr. Rasmané SEMDE

Directeur de thèse :

Pr. Blaise KOUDOGBO

Co-directeurs :

Dr. Jean-Baptiste NIKIEMA

Dr. Lady K. Marcelle TRAORE

LISTE DU PERSONNEL

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

Unité de formation et de Recherche
des Sciences de la Santé
(UFR/SDS)

LISTE DES RESPONSABLES ADMINISTRATIFS

Directeur	Pr. Amadou SANOU
Directeur Adjoint	Pr . Ag. Y. Joseph DRABO
Chef du Département de Pharmacie	Pr I. P. GUISSOU
Coordonateur de la Section Pharmacie	Pr . Ag. Mamadou SAWADOGO
Coordonateur de la Section Médecine	Pr Amadou SANOU
Coordonateur de la Section Techniciens Supérieurs	Pr Blaise KOUDOGBO
Chef du Département de Gynécologie-Obstétrique	Pr Ag. Jean LANKOANDE
Directeur des Stages de la Section Médecine (Ouagadougou)	Pr. Ag. Y. Joseph DRABO
Directeur des Stages de la Section de Pharmacie	Dr Jean Baptiste NIKIEMA
Directeur des Stages de la Section Médecine (Bobo Dioulasso)	Dr Alain ZOUBA
Secrétaire Principal	M. TRAORE Fakouo
Chef de Service Administratif et Financier (CSAF)	M. TATIETA Harouna
Responsable de la Bibliothèque	Mme TRAORE Mariam
Chef de la Scolarité	Mme ZERBO Kadi
Secrétaire du Directeur	Mme BONKIAN Edwige
Secrétaire du Directeur Adjoint	Mme KABRE Hakiéta

LISTE DES ENSEIGNANTS DE L'UFR/SDS
AU TITRE DE L'ANNEE 2000 / 2001

ENSEIGNANTS PERMANENTS

Professeurs titulaires (08)

Rambré Moumouni OUIHINGA	Anatomie organogénèse et chirurgie
Hilaire TIENDREBEOGO (in memoriam)	Sémiologie et Pathologies médicales
Tinga Robert GUIGUEMDE	Parasitologie
Bobilwindé Robert SOUDRE	Anatomie-Pathologique
Amadou SANOU	Chirurgie Générale et Digestive
Innocent Pierre GUISSOU	Pharmacologie & Toxicologie
Bibiane KONE	Gynécologie - Obstétrique
Alphonse SAWADOGO	Pédiatrie

Professeurs associés (01)

Blaise KOUDOGBO	Toxicologie
-----------------	-------------

Maîtres de Conférences (19)

Julien YILBOUDO	Orthopédie -Traumatologie
Kongoré Raphaël OUEDRAOGO	Chirurgie -Traumatologie
François René TALL	Pédiatrie
Jean KABORE	Neurologie
Joseph Y. DRABO	Médecine Interne/Endocrinologie
Blaise SONDO	Santé Publique
Jean LANKOANDE	Gynécologie-Obstétrique

Issa SANOU	Pédiatrie
Ludovic KAM	Pédiatrie
Adama LENGANI	Néphrologie
Oumar TRAORE N°1	Orthopédie-Traumatologie
Kampadilemba OUOBA	Oto Rhino Laryngologie
Piga Daniel ILBOUDO	Gastro-entérologie
Albert WANDAOGO	Chirurgie Pédiatrique
Adama TRAORE	Dermatologie Vénérologie
Mamadou SAWADOGO	Biochimie
Arouna OUEDRAOGO	Psychiatrie
Joachim SANOU	Anesthésie-Réanimation
Théophile L. TAPSOBA	Biophysique - Médecine Nucléaire

Maîtres-Assistants (31)

Lady Kadidiatou TRAORE	Parasitologie
Si Simon TRAORE	Chirurgie
Abdoulaye TRAORE	Santé Publique
Daman SANO	Chirurgie Générale
Patrice ZABSONRE	Cardiologie
Jean Gabriel OUANGO	Psychiatrie
Georges KI-ZERBO	Maladies Infectieuses
Rabiou CISSE	Radiologie
Blami DAO	Gynécologie Obstétrique
Alain BOUGOUMA	Gastro-Entérologie
Boubakar TOURE	Gynéco-Obstétrique
Michel AKOTIONGA	Gynécologie-Obstétrique

Rasmata OUEDRAOGO/TRAORE	Bactério-Virologie
Alain ZOUBGA	Pneumologie
Boubacar NACRO	Pédiatrie
Abel KABRE	Neuro-Chirurgie
Maïmouna DAO / OUATTARA	ORL
Nicole Marie KYELEM / ZABRE	Maladies Infectieuses
Antoinette TRAORE / BELEM	Pédiatrie
Kapouné KARFO	Psychiatrie
Timothée KAMBOU	Chirurgie
Jean Baptiste NIKIEMA	Pharmacognosie
Ali NIAKARA	Cardiologie
André K. SAMANDOULOGOU	Cardiologie
Pingwendé BONKOUNGOU	Pédiatrie
Nonfounikoun Dieudonné MEDA	Ophtalmologie
Athanase MILLOGO	Neurologie
Nazinigouba OUEDRAOGO	Réanimation
Diarra YE / OUATTARA	Pédiatrie
Laurent OUEDRAOGO	Santé Publique
Lassina SANGARE	Bactério-Virologie

Assistants

T.Christian SANOU (in memoriam)	Oto Rhino Laryngologie
Doro SERME (in memoriam)	Cardiologie
Hamadé OUEDRAOGO	Anesthésie-Réanimation physiologie
Alexis ROUAMBA	Anesthésie-Réanimation physiologie

M. Théophile COMPAORE	Chirurgie
Y. Abel BAMOUNI	Radiologie
Rigobert THIOMBIANO	Maladies Infectieuses
Raphaël DAKOURE	Anatomie-Chirurgie
Raphaël SANOU (in memoriam)	Pneumo-phtisiologie
Oumar TRAORE N°2 (in memoriam)	Radiologie
Arsène M. D. DABOUE	Ophthalmologie
Vincent OUEDRAOGO	Médecine du Travail
S. Christophe DA	Chirurgie
Aurélien Jean SANON	Chirurgie
Claudine LOUGUE / SORGHO	Radiologie
Barnabé ZANGO	Chirurgie
L. Valerie Adélaïde NEBIE	Cardiologie
Blandine THIEBA	Gynécologie-Obstétrique
Abdel Karim SERME	Gastro-Entérologie
Moussa BAMBARA	Gynécologie-Obstétrique
Fatou BARRO	Dermatologie
GOUMBRI / Olga LOMPO	Anatomie Pathologique
Appolinaire SAWADOGO	Gastro-Entérologie
Martial OUEDRAOGO	Pneumo-Phtisiologie
Moussa KERE	Santé Publique
Innocent NACOUлма	Orthopédie-Traumatologie
P. Antoine NIAMPA	Dermatologie
Françoise Danielle MILLOGO/TRAORE	Gynécologie-Obstétrique
Z. Théodore OUEDRAOGO	Santé Publique

P. André KOALAGA	Gynécologie-Obstétrique
Emile BANDRE	Chirurgie générale et digestive
Syranyan SEKOULE	Psychiatrie
Dieudonné OUEDRAOGO	Chirurgie maxilo-faciale
Moussa OUEDRAOGO	Pharmacologie

Assistants Biologistes des Hôpitaux

Idrissa SANOU	Bactéριο-Virologie
Harouna SANON	Hématologie/Immunologie
Issa SOME	Chimie Analytique
Rasmané SEMDE	Galénique
Jean SAKANDE	Biochimie

Assistants associés (01)

Valérie MURAILLE	Galénique et Chimie Analytique
------------------	--------------------------------

ENSEIGNANTS NON PERMANENTS

UFR des Sciences de la vie et de la terre
(UFR/SVT)

et

UFR des Sciences exactes et Appliquées (UFR/SEA)

Professeurs Titulaires

Akry COULIBALY	Mathématiques
Sita GUINKO	Botanique-Biologie Végétale
Guy V. OUEDRAOGO	Chimie Minérale
Laya SAWADOGO	Physiologie-Biologie Cellulaire
Laou Bernard KAM (in memorian)	Chimie
Patoin Albert OUEDRAOGO	Zoologie

Maîtres de Conférences

Boukary	LEGMA	Chimie-Physique Générale
François	ZOUGMORE	Physique
Adama	SABA	Chimie Organique
Odile	NACOULMA	Biochimie
Philippe	SANKARA	Cryptogamie-Phytopharmacie
Gustave	KABRE	Biologie Générale
Abdoulaye	SAMATE	Chimie Organique

Maîtres-Assistants

Makido B.	OUEDRAOGO	Génétique
Raymond	BELEMTOUGOURI	T.P. Biologie Cellulaire
Drissa	SANOU	Biologie Cellulaire

Assistants

Apolinaire	BAYALA (in memoriam)	Physiologie
------------	----------------------	-------------

Institut du Développement Rural (IDR)**Maîtres de Conférences**

Didier	ZONGO	Génétique
Georges Annicet	OUEDRAOGO	Biochimie

**UFR des Sciences Economiques et de Gestion
(UFR/SEG)****Maître-Assistant**

Tibo Hervé	KABORE	Economie-Gestion
------------	--------	------------------

**UFR des Sciences Juridiques Politiques
(UFR/SJP)****Assistants**

Jean Claude	TAITA	Droit
-------------	-------	-------

ENSEIGNANTS VACATAIRES

M. DAHOU (in mémoriam)	Hydrologie
Dr Annette OUEDRAOGO	Stomatologie
Dr Adama THIOMBIANO	Législation Pharmaceutique
Dr Sidiki TRAORE	Galénique
Mr Mamadou DIALLO	Anglais
Dr Badioré OUATTARA	Galénique
Dr Alassane SICKO	Anatomie
Dr Sylvestre TAPSOBA	Nutrition
Dr Maminata TRAORE / COULIBALY	Biochimie
Dr Seydou SOURABIE	Biochimie
Dr Félix KINI	Chimie
Dr Lamine OUEDRAOGO	Biologie Cellulaire
Dr Marie Françoise OUEDRAOGO	Mathématiques
Mme Cecile OUEDRAOGO	Anglais

ENSEIGNANTS MISSIONNAIRES**A.U.P.E.L.F.**

Pr. Lamine DIAKHATE	Hématologie (Dakar)
Pr. Abibou SAMB	Bactério-Virologie (Dakar)
Pr. Mbayang NDIAYE-NIANG	Physiologie (Dakar)
Pr. Emmanuel BASSENE	Pharmacognosie (Dakar)
Pr Mamadou BADIANE	Chimie Thérapeutique (Dakar)
Pr Babacar FAYE	Pharmacologie (Dakar)

Mission Française de Coopération

Pr. Etienne FROGE	Médecine Légale
Pr Raphaël DARBOUX	Histologie-Embryologie

**Mission de l'Université Libre de Bruxelles
(ULB)**

Pr. Jean NEVE

Chimie Thérapeutique

Pr. Viviane MOES

Galénique

Mission avec les autres universités

Pr André BIGOT

Immunologie

A NOS MAÎTRES ET Juges

A notre Maître et président de jury

Professeur Adama SABA

Professeur de Chimie Organique

Vous nous faites un grand honneur en acceptant présider ce jury de thèse, en dépit de vos multiples occupations.

Nous avons bénéficié de votre part un enseignement de qualité pendant nos études. Veuillez trouver ici notre respectueuse considération.

A notre Maître et directeur de thèse

Professeur BLaise KOUDOGBO

Professeur Toxicologie

Vous nous avez accordé le privilège et l'honneur de nous inspirer ce travail.

Nous avons apprécié votre simplicité et vos qualités humaines. Merci pour la confiance que vous avez placée en ma modeste personne en me confiant ce travail. Soyez assuré de notre profonde gratitude.

A notre Maître et juge

Docteur Rasmané SEMDE

Enseignant de Pharmacie Galénique et Biopharmacie

Nous avons eu le privilège de travailler avec vous au cours des travaux pratiques de Pharmacie Galénique et nous avons pu apprécier votre rigueur scientifique, vos qualités humaines. Nous vous remercions d'avoir accepté de siéger dans ce jury de thèse.

A notre Maître et co-directrice

Docteur L. K. Marcelle TRAORE

Enseignant de Parasitologie et de Mycologie

Toute ma reconnaissance pour les enseignements de qualité que j'ai reçu de vous.
Votre rigueur scientifique doublé de votre modestie font de vous un exemple à suivre.
Veuillez trouver ici, l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Maître et co-directeur

Docteur Jean-Baptiste NIKIEMA

Enseignant de Pharmacognosie

Nous avons eu l'honneur de travailler avec vous. Votre rigueur, votre spontanéité et votre disponibilité nous ont marqué. Puisse ce travail être à la hauteur de vos attentes Merci !

DEDICACES

A mon père

Tu as su me guider dans le choix de cette filière et tu constitues pour nous un exemple de sagesse et d'humilité.

Puisses-tu trouver ici le fruit de tes nombreux sacrifices.

A ma mère

Pour le réconfort, le soutien et l'affection sans cesse manifestés.

Profonde affection.

A mon frère Tanguy et à mes sœurs Tatiana, Sandra, Flora, Anne-Marie, Nina.

Restons toujours unis.

A mon beau frère Eric : merci pour tes conseils.

A mes oncles paternels et à mes tantes ; à tous mes cousins et cousines.

Merci pour votre soutien.

A Tantie Ginguemdé Solange

A la famille Diakité

A mes amis du club

Adama, Balla, Arsène, Eloge, Ben , Chérifa, Diabaté, Max, Moussa, Abdoulaye...

A mes amies

Awa, Fatou, Sally, Ami, Kady, Gisèle, Alice.

A mes camarades de promotion pour le chemin parcouru ensemble.

REMERCIEMENTS

Sincères remerciement à :

Tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail :

- **Le personnel du Laboratoire de Biologie : Dr Sanou, Dr Nikiéma, Mr Casimir, Mme Ilboudo, Mr Lompo, Mr Tamboura....**
- **Le Personnel du service de dermatologie du Centre Hospitalier National Yalgado Ouédraogo : Pr Traoré, Dr Barro...**
- **Le Personnel du Laboratoire Analyses Médicales Sainte Elisabeth.**
- **Le Personnel de l'IRSS : Dr Sourabié, Mr Kadéba, Mr Yaro, Mr kind...**
- **Pr Philippe Sankara**
- **Pr Emmanuel Bassène**
- **Dr Issa SOME**
- **Dr Moussa OUEDRAOGO**
- **Dr Nicole KABORE**
- **Dr Inocent VALEA**
- **Dr Awa FORO**
- **Dr Daouda GNANOU**
- **Dr Eloi SOME**
- **Mr Marc NACANABO**
- **Mr Elie SAWADOGO**
- **Melle Marthe KOMPAORE**
- **Mr Samuel YAMEOGO**
- **Mr Aboubacar FOFANA**

« Par délibération, l'Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Santé a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation .»

LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SIGLES

- *T. rubrum* : *Trichophyton rubrum*
- *T. soudanense* : *Trichophyton soudanense*
- *T. interdigitale* : *Trichophyton interdigitale*
- *M. langeronii* : *Microsporum langeronii*
- CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
- VIH : Virus de l'Immuno-déficience Humaine
- FPMD : Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
- IPP : Institut Pasteur de Paris
- CCM : Chromatographie sur Couche Mince
- *M. scaber* Zucc (*Rubiaceae*) : *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*)
- F1 : fraction 1
- F2 : fraction 2
- F3 : fraction 3
- F4 : fraction 4
- R_f : Référence frontale
- g : gramme
- % : pourcentage
- mm : millimètre
- mg/ml : milligramme par millilitre
- °C : degré Celsius
- ml : millilitre
- cm : centimètre
- L : litre
- V/V : volume par volume
- DMSO : diméthylsulfoxyde
- CCl₄ : tétrachlorure de carbone
- µg/ml : microgramme par millilitre
- µl : microlitre
- h : heure
- GOT : glutamate oxalate transaminase
- GPT : glutamate pyruvate transaminase
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé

- CAMES : Conseil Africain et Malgache de l'Enseignement Supérieur
- CNRST : Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique
- IRSN : Institut de Recherche des Substances Naturelles
- UFR/SDS : Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Santé

SOMMAIRE DES TABLEAUX ET FIGURES

TABLEAU

<u>Tab I</u>	Diamètre d'inhibition (mm) des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle de <i>Mitracarpus scaber</i> Zucc (<i>Rubiaceae</i>).	Page 43
---------------------	--	---------

FIGURES

<u>Figure 1</u>	Photo de la plante : <i>Mitracarpus scaber</i> Zucc (<i>Rubiaceae</i>).	Page 22
<u>Figure 2</u>	Schéma d'extraction et fractionnement des extraits de <i>Mitracarpus scaber</i> Zucc (<i>Rubiaceae</i>).	Page 36
<u>Figure 3</u>	Chromatogramme des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle de <i>Mitracarpus scaber</i> Zucc (<i>Rubiaceae</i>).	Page 41
<u>Figure 4</u>	Chromatogramme des fractions de l'extrait à l'acétate d'éthyle de <i>Mitracarpus scaber</i> Zucc (<i>Rubiaceae</i>).	Page 42
<u>Figure 5</u>	Effet dose-dépendante de l'extrait au dichlorométhane des tiges feuillées de <i>Mitracarpus scaber</i> Zucc (<i>Rubiaceae</i>) sur des dermatophytes.	Page 45
<u>Figure 6</u>	Effet dose-dépendante de l'extrait à l'acétate d'éthyle des tiges feuillées de <i>Mitracarpus scaber</i> Zucc (<i>Rubiaceae</i>) sur des dermatophytes.	Page 45
<u>Figure 7</u>	Effet dose-dépendante des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle des tiges feuillées de <i>M. scaber</i> (<i>Rubiaceae</i>) sur <i>T. rubrum</i> .	Page 46
<u>Figure 8</u>	Effet dose-dépendante des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle des tiges feuillées de <i>M. scaber</i> (<i>Rubiaceae</i>) sur <i>T. soudanense</i> .	Page 46
<u>Figure 9</u>	Effet dose-dépendante des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle des tiges feuillées de <i>M. scaber</i> Zucc	Page 47

(Rubiaceae) sur T. interdigitale.

Figure 10

Effet dose-dépendante des extraits au dichlorométhane
et à l'acétate d'éthyle des tiges feuillées de *M. scaber* Zucc
(Rubiaceae) sur M. longeronii.

Page 47

INTRODUCTION.....	1
ENONCE DU PROBLEME.....	6
GENERALITE SUR LES DERMATOPHYTES	9
1 DEFINITION.....	9
2 CLASSIFICATION.....	9
3 EPIDEMIOLOGIE	10
3-1 SOURCES DE CONTAMINATION.....	10
3-2 PHYSIOPATHOLOGIE.....	11
3-3 LES FACTEURS FAVORISANTS OU PREDISPOSANT AUX MYCOSES	12
3-4 REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET FREQUENCE DES DERMATOPHYTES..	13
4 DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE	15
4-1 PRELEVEMENT.....	15
4-2 EXAMEN DIRECT	15
4-3 CULTURE	15
4-4 IDENTIFICATION DE LA SOUCHE.....	16
4-5 TESTS IMMUNOLOGIQUES	16
4-6 EXAMEN EN LUMIERE DE WOOD.....	17
4-7 EXAMEN HISTOLOGIQUE.....	17
5 LE TRAITEMENT ANTIFONGIQUE	17
5-1 DEFINITION.....	17
5-2 LES MOYENS.....	17
5-2-1 TRAITEMENT CURATIF	17
5-2-1-1 Traitements locaux.....	17
5-2-1-2 Traitements Généraux.....	18
5-2-2 PROPHYLAXIE	19
GENERALITES SUR MITRACARPUS SCABER ZUCC (RUBIACEAE)	20
1 SYNONYMES.....	20
2 APPELLATIONS VERNACULAIRES.....	20
3 CLASSIFICATION DE <i>MITRACARPUS SCABER ZUCC (RUBIACEAE)</i> DANS LE REGNE VEGETAL.....	21
4 DESCRIPTION BOTANIQUE	23
5 DISTRIBUTION.....	23
6 USAGES TRADITIONNELS DE <i>MITRACARPUS SCABER ZUCC (RUBIACEAE)</i> ..	23
7 SYNTHESE DES ETUDES REALISEES SUR <i>MITRACARPUS SACBER ZUCC</i> <i>(RUBIACEAE)</i>	25
7-1 CHIMIE DE <i>MITRACARPUS scaber ZUCC (Rubiaceae)</i>	25
7-2 PHARMACOLOGIE DE <i>MITRACARPUS scaber ZUCC (Rubiaceae)</i>	27
OBJECTIFS	31
OBJECTIF GENERAL.....	31
OBJECTIFS SPECIFIQUES.....	31
METHODOLOGIE	32
1 CADRE DE L'ETUDE.....	32
2 MATERIELS	32
2-1 MATERIEL VEGETAL	32
2-2 MATERIEL POUR LE FRACTIONNEMENT ET LA PURIFICATION.....	32

2-3	MATERIEL POUR L'EXTRACTION	32
2-4	MATERIEL POUR LES ESSAIS ANTIFONGIQUES.....	33
2-5	LES CHAMPIGNONS	33
3	METHODES.....	34
3-1	PREPARATION DES EXTRAITS VEGETAUX DE MITRACARPUS scaber Zucc (Rubiaceae).....	34
3-1-2	EXTRACTION AU DICHLOROMETHANE	34
3-1-3	EXTRACTION A L'ACETATE D'ETHYLE.....	35
3-2	FRACTIONNEMENT DE L'EXTRAIT A L'ACETATE D'ETHYLE.....	35
3-3	CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE	37
3-3-1	CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE ANALALYTIQUE DES EXTRAITS AU DICHLOROMETHANE ET A L'ACETATE D'ETHYLE.....	37
3-3-2	CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE ANALYTIQUE DES FRACTIONS DE L'EXTRAIT A L'ACETATE D'ETHYLE	37
3-3-3	ISOLEMENT ET PURIFICATION DE L'ACIDE URSOLIQUE CONTENU DANS L'EXTRAIT A L'ACETATE D'ETHYLE PAR CCM PREPARATIVES ...	37
3-4	ANTIFONGIGRAMME	38
3-4-1	MILIEU DE CULTURE	38
3-4-2	INOCULUM	38
3-4-3	ENSEMENCEMENT.....	39
3-4-4	SOLUBILISATION DES PRODUITS	39
3-4-5	DEPÔT DES EXTRAITS	39
3-4-6	INCUBATION.....	39
3-4-7	LECTURE DES RESULTATS.....	39
3-5	TRAITEMENT DES DONNEES.....	39
	RESULTATS.....	40
1	RESULTATS DE LA CCM.....	40
1-1	RESULTATS DE LA CCM ANALYTIQUE.....	40
1-2	RESUTATS DE LA CCM PREPARATIVE	40
2	RESULTATS DES ESSAIS ANTIFONGIQUES.....	43
2-1	RESULTATS DE L'ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES EXTRAITS AU DICHLOROMETHANE ET A L'ACETATE D'ETHYLE DE M. scaber Zucc (Rubiaceae).....	43
2-2	RESULTATS DE L'ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DE L'ACIDE URSOLIQUE ISOLE ET DE L'ACIDE URSOLIQUE DU COMMERCE.....	44
2-3	RELATION CONCENTRATION-ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES EXTRAITS AU DICHLOROMETHANE ET A L'ACETATE D'ETHYLE DE MITRACARPUS scaber ZUCC (Rubiaceae).....	44
	COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....	48
1	LES LIMITES DE L'ETUDE.....	49
2	RESULTATS DE L'ETUDE	49
2-1	ANALYSE DES ETUDES ANTERIEURES REALISEES SUR MITRACARPUS scaber ZUCC (RUBIACEAE)	49
2-2	RESULTATS DES CCM ANALYTIQUE ET PREPARATIVE	51
2-3	RESULTATS DES ESSAIS ANTIFONGIQUES.....	52
	CONCLUSION ET SUGGESTIONS	55
	BIBLIOGRAPHIE.....	58

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les plantes ont toujours joué un rôle déterminant en thérapeutique, dans toutes les cultures. En effet, elles constituaient la source principale des drogues utilisées en médecine traditionnelle [54]. En Afrique où elle fut condamnée par le colonisateur avant les indépendances parce qu'elle était associée à des pratiques magiques et mystiques, cette médecine fut reléguée au second plan, face à la médecine moderne [75]. Toutefois, au lendemain des indépendances, elle était tolérée provisoirement dans la plupart des pays Africains [52, 75].

Depuis deux à trois décennies, une attention particulière, certes faible, mais constante est portée à la médecine traditionnelle. Aussi, sommes-nous en droit de nous demander si cette attention est le fait d'une Afrique à la recherche de son identité culturelle, ou plutôt résulte-t-elle du constat d'échec d'une médecine moderne qui demande des moyens financiers et techniques dont l'Afrique ne dispose pas.

Les années pendant lesquelles se tenaient les congrès et symposium sur la médecine traditionnelle (1974 Bénin, 1976 Niger, 1993 Cameroun etc.) coïncidaient avec les périodes de constats d'échec. En effet, la Banque Mondiale affirmait en 1975 que la politique sanitaire des pays en développement est souvent injuste et inefficace, trop coûteuse et ne couvre qu'une faible proportion de la population [75]. Ces constats d'échec ont amené les pays en voie développement, qui disposaient d'une importante médecine traditionnelle, à prendre conscience qu'il était préférable de trouver une autre approche du développement qui consisterait à valoriser les ressources locales plutôt que de faire des transferts de technologie [75].

Ainsi, l'OMS a préconisé la prise en compte des tradithérapies dans les soins de santé primaires (Alma-Ata 1978) et l'intégration de la médecine traditionnelle dans les systèmes de santé (Namibie 1999) [52, 75].

C'est dans ce même objectif que le Conseil Africain et Malgache pour l'Enseignement Supérieur (CAMES) entreprit d'organiser des colloques sur le thème "médecine traditionnelle et pharmacopée africaine" à Libreville en 1975, Niamey en 1976, Kigali en 1977 et Lomé en 1978. Ces colloques ont eu le mérite de susciter de l'intérêt pour la médecine traditionnelle dans la plupart des pays qui étaient encore timorés sur la question. Beaucoup de pays se sont ainsi dotés de cadres institutionnels et/ou de structures scientifiques en vue de valider la pharmacopée traditionnelle [52, 75].

A cet effet, au Burkina Faso, des chercheurs de l'Université de Ouagadougou et du Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST) s'investissent dans la recherche sur les plantes médicinales. On note en plus, la création de cellules de pharmacopée traditionnelle au sein des formations sanitaires. Au niveau institutionnel, l'Institut de Recherche sur les Substances Naturelles (IRSN) fut créé en 1978 et un service de médecine et pharmacopée traditionnelles allait voir le jour à la Direction des Services Pharmaceutiques (DSPH) en 1984. En dépit de tous ces efforts, il a fallu attendre 1994 pour que le nouveau code de santé publique reconnaisse la médecine et pharmacopée traditionnelles, signe d'un engagement politique [52, 75].

Une validation scientifique des remèdes traditionnelles est cependant nécessaire pour apporter la preuve de leur efficacité, de leur innocuité et de rassurer les utilisateurs [52, 54, 75].

A ce titre, de nombreux travaux de validation ont été réalisés sur les plantes médicinales au Burkina Faso. Nous pouvons citer comme exemples *Gardenia sokotensis* Hutch (*Rubiaceae*),

Calotropis procera Ait (*Asclepiadaceae*), *Khaya senegalensis* (*Meliaceae*), *Myrtaginia inermis* (*Rubiaceae*), *Cochlospermum tinctorium* A. (*Cochlospermaceae*), *Euphorbia hirta* Linn. (*Euphorbiaceae*), *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), etc.

En ce qui concerne *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), de nombreuses études tendent de montrer son efficacité dans le traitement des dermatoses et des teignes [36, 38, 40, 46, 47, 60, 73]. Cependant, les molécules responsables de

l'activité antifongique de la drogue sèche de cette plante n'ont pas encore été identifiées.

D'autre part, une forte quantité d'acide ursolique a été retrouvée dans des extraits antifongiques, bien que sa contribution réelle dans cette activité n'a pas été démontrée.

La présente étude a pour but de faire le point sur les travaux réalisés sur *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) et d'étudier la contribution de l'acide ursolique dans l'activité antifongique de cette plante.

ENONCE DU PROBLEME

ENONCE DU PROBLEME

Les dermatoses mycosiques, surtout les teignes qui touchent particulièrement les enfants, sont des pathologies très courantes. Traoré et Coll. ont rapporté dans leurs travaux en 1998, que la teigne touchait 7 à 15% des enfants aux USA et 9,5% des enfants maliens. Au Burkina Faso, les dermatoses mycosiques constituaient 21% des dermatoses infectieuses en 1998, dominées par les teignes (36,3%) qui étaient observées chez les enfants de plus de 31 mois (92%) avec une prédilection pour la tranche d'âge de 11 à 15 ans (43,2%) [69].

Depuis l'apparition du SIDA, les dermatoses mycosiques connaissent une recrudescence. En effet, les dermatophyties sont parmi les plus fréquentes des dermatoses observées chez les sujets infectés par le VIH [18].

Bien-que la thérapeutique moderne dispose d'une gamme variée de médicaments antifongiques, la plupart des patients ont recours aux plantes médicinales pour se soigner. Cependant, très peu de travaux ont été menés pour justifier et valider l'utilisation de ces plantes, comme l'identification des molécules actives ou de traceurs qui permettraient d'envisager des formulations galéniques de qualité acceptable et reproductible.

A ce titre, des travaux ont été réalisés sur *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* pour justifier son utilisation traditionnelle dans le traitement des dermatoses et teignes [5, 24, 36, 40, 46]. Certaines de ces études se sont portées sur la drogue fraîche de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)*.

C'est ainsi que, Yaméogo en 1982, a montré que le suc lyophilisé des feuilles fraîches de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* présentait une activité antifongique et antibactérienne [73]. En 1992, Moulis et Coll. ont identifié dans l'extrait éthéré de la drogue fraîche de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)*, un principe antifongique : le pentalongin [47]. Pialat et Coll., en 1998, n'avaient pas retrouvé cette molécule dans la drogue sèche de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* [56].

La drogue sèche de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* a également fait l'objet de nombreux travaux [5, 12, 24, 34, 38, 40, 46].

Ainsi, l'activité anti-inflammatoire et antimicrobienne des extraits méthanolique et étheré de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* a été mis en évidence en 1994 par Ekpendu et Coll [24]. Bonga et Coll. ont montré en 1995, l'activité antifongique de l'extrait éthanolique de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)*. Ils ont en outre noté que la fraction la plus active de cet extrait était constituée uniquement de phytostérols [12]. En 1995, Harouna et Coll. ont également identifié dans l'extrait éthanolique de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* une substance qu'ils ont appelé l'harounoside [34]. Cette molécule présente une analogie de structure avec le pentalongin, molécule antifongique identifiée dans la drogue fraîche de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* par Moulis et Coll. Moubé et Coll. ont montré en 1998, que l'extrait éthanolique de *Mitracarpus verticillatus Valte (Rubiaceae)* renferme une huile essentielle antifongique [46]. En 1998, Kambou a mis en évidence l'activité antifongique des extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle de la même plante. Il a été noté dans cette étude que la fraction antifongique de l'extrait à l'acétate d'éthyle renferme un composé de nature triterpénique qui a été identifié en 1999 par Kaboré comme étant l'acide ursolique [38, 40]. En 1999, Adewole et Coll. ont identifié un alcaloïde antimicrobien (azaanthraquinone) dans l'extrait éthanolique de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* [5].

Au regard de ces travaux, nous avons noté que les drogues sèche et fraîche présentent une activité antifongique. Une molécule antifongique (pentalongin) a été identifiée dans la drogue fraîche de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)*, permettant ainsi de justifier l'utilisation de celle-ci dans le traitement des dermatoses. Beaucoup d'espoirs se sont ainsi fondés sur cette plante réputée pour ces propriétés antifongiques. Plusieurs molécules ont été identifiées dans la drogue sèche de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* notamment l'harounoside, l'azaanthraquinone et l'acide ursolique. Cependant, aucune étude n'a permis jusque là de faire le point sur l'ensemble des travaux réalisés sur *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* et d'étudier la contribution dans l'activité antifongique de cette plante, de ces différentes molécules identifiées dans la drogue sèche, bien que celle-ci ait fait l'objet d'études chimiques et pharmacologiques. Cela rend difficile la mise au point d'un médicament antifongique de qualité contrôlable à partir de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)*.

C'est ainsi que nous avons entrepris d'étudier la contribution de l'acide ursolique dans l'activité antifongique de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). En effet, l'acide ursolique est suspecté d'intervenir dans l'activité antifongique de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). Il a été mis en évidence dans une fraction antifongique de cette plante.

Dans le cadre de ce travail, nous avons d'abord comparer l'activité antifongique de deux extraits de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) (extrait à l'acétate d'éthyle, extrait au dichlorométhane) sur quatre souches de dermatophytes (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii*), eu égard à la présence de l'acide ursolique dans ces deux extraits ; ensuite nous avons testé l'activité antifongique de l'acide ursolique isolé de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) et de l'acide ursolique du commerce sur ces dermatophytes, car les méthodes de purification utilisées ne permettent pas d'avoir des produits très purs.

GENERALITES

GENERALITES SUR LES DERMATOPHYTES

1 DEFINITION

Les dermatophytes sont des champignons aérobies filamenteux caractérisés par quatre critères [15, 40, 64] :

- ils attaquent avec prédilection la couche cornée de la peau, des poils, des cheveux et des ongles (champignons kératophiles) ;
- ils se développent facilement sur les milieux peptonés et sucrés comme celui de Sabouraud, avec à un pH optimal de 6,5 à des températures variant entre 0-50°C et à un taux d'humidité suffisant (70 à 95%) ;
- ils sécrètent des produits antigéniques regroupés sous le nom de trichophytine ou épidermophytine ;
- ils sont sensibles à l'action fongistatique de la griséofulvine.

2 CLASSIFICATION

La première classification des dermatophytes, est celle qu'a proposée Sabouraud en 1910. Elle comporte quatre genres [14] :

- l'achorion, l'agent du favus ;
- les microsporium, les agents des teignes microsporiques ;
- les trichophyton, responsables des teignes trichophytiques ;
- les epidermophyton qui parasitent la peau glabre, mais pas les cheveux ni les poils. De nombreuses classifications seront proposées par la suite. En 1934, Emmons suggère de réduire le nombre de genres à trois : *Trichophyton*, *Microsporium*, *Epidermophyton*, proposition à laquelle vont se rallier Negroni en 1942 et Ajello en 1968 [14].

- Le genre *Microsporium*

Les dermatophytes de ce groupe parasitent les cheveux selon un mode endothrix, c'est-à-dire que l'on trouve des filaments à l'intérieur du cheveu et des spores à l'extérieur. En culture, ils présentent des fuseaux en navette cloisonnés et parfois des microconidies claviformes ou piriformes.

- Le genre *Trichophyton*

Les champignons de ce genre parasitent les cheveux ou les poils selon le mode endothrix. En culture, leur morphologie varie d'une espèce à l'autre : les microconidies, nombreuses peuvent être piriformes, ovalaires ou arrondies, disposées en alcladium, en croix de lorraine, en grappe composée ou en buisson ; les macroconidies présentes dans les cultures jeunes sont pluriseptées et ont une forme cylindrique, boudinée, parfois irrégulière.

Les espèces du genre *Trichophyton* s'attaquent à la peau, aux ongles, aux poils et aux cheveux.

- Le genre *Epidermophyton*

Il est réduit à une seule espèce, *Epidermophyton floccosum*. Il ne parasite ni les cheveux, ni les poils, seule la peau est atteinte.

En culture, il développe des fuseaux claviformes, renflés, disposés en bouquets ou en régimes de bananes. Les cultures vieillissantes contiennent des chlamydospores et des arthropodes souvent nombreuses.

3 EPIDEMIOLOGIE

3-1 SOURCES DE CONTAMINATION

Le mode de contamination varie selon que le parasite soient anthropophile, zoophile ou géophile [16, 20, 51].

- Les parasites anthropophiles

La contamination est inter-humaine. Mais le plus souvent, elle s'effectue de façon indirecte par des objets de toilette, des instruments de coiffure, le linge de maison (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton floccosum*).

- Les parasites zoophiles

La contamination se fait à partir d'un animal infecté. Trois catégories d'animaux sont susceptibles d'être incriminées :

- Animaux domestiques familiers (chat) ;
- Animaux domestiques de ferme (chevaux, bétail) ;
- Rongeurs (rats, souris, cobayes) ;

La contamination peut être directe ou indirecte (*Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*).

De plus, certains insectes vivants sur les animaux pourraient transmettre des dermatophytes à l'homme.

- Les parasites géophiles

La contamination est d'origine tellurique. Le contact avec la terre des jardins, le compost, le fumier, peut être à l'origine des dermatophyties à *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*.

3-2 PHYSIOPATHOLOGIE

La physiopathologie est la conjonction de plusieurs facteurs liés d'une part au dermatophyte et d'autre part à l'hôte [10, 11, 63].

Les facteurs liés au dermatophyte :

- Enzymatiques

La lésion élémentaire (herpès circiné) apparaît lentement 10 à 20 jours après la contamination. C'est une lésion érythémato-squameuse, circulaire, peu ou pas prurigineuse qui évolue de façon centrifuge. Au niveau des poils et des cheveux qui sont attaqués secondairement, l'envahissement se fait à partir de l'ostium folliculaire avec une propagation jusqu'au bulbe.

Au niveau des ongles, les dermatophytes pénètrent par le bord lisse et progressent en direction de la matrice.

- Mécaniques

Une destruction de la structure du poil et du cheveux est observée, ce qui entraîne une cassure du poil ou du cheveu.

Les dermatophytes digèrent les protéines de la couche cornée des téguments grâce aux kératinases dont ils sont dotés.

- Inflammatoires

Les réactions inflammatoires sont surtout observées avec les espèces zoophiles et géophiles (*T. rubrum*, *T. interdigitale*, *M. canis*...). Ces espèces se localisent également dans la kératine, mais mal adaptées à l'espèce humaine, elles vont déclencher par l'intermédiaire de leurs métabolites une réaction inflammatoire.

Les facteurs liés à l'hôte :

Il y a les pathologies sous jacentes comme le diabète, l'immunodépression, l'obésité ... La localisation des lésions intervient également. Par exemple lorsque les lésions sont localisées au niveau des plis, le risque de surinfection est plus élevé.

Ce risque est lié aux conditions locales :

- les frottements de surfaces contiguës ;
- les phénomènes de macération ;
- l'augmentation du pH, du taux d'humidité, de la température locale, de la densité bactérienne et du développement des levures ;

Les germes les plus incriminés sont : *Staphylococcus aureus*, *Streptocoque D* et *Candida albicans*.

3-3 LES FACTEURS FAVORISANTS OU PREDISPOSANT AUX MYCOSES

On considère comme facteurs prédisposants, tous les éléments qui peuvent soit diminuer la résistance de l'organisme, soit augmenter sa réceptivité à l'infection fongique.

On peut distinguer des facteurs généraux, des facteurs locaux et des facteurs iatrogènes [42].

3-3-1 FACTEURS GÉNÉRAUX

- Le diabète

Il est bien connu que le diabète favorise les infections microbiennes. Il en est de même pour les affections fongiques. En effet, 54% des diabétiques présentent une mycose.

- Les maladies immunodépressives

Greffes d'organes, grands brûlés, affections malignes généralisées, VIH.

- Les maladies qui altèrent l'état général

Cancers, tuberculose, alcoolisme.

- Certaines maladies métaboliques ou endocriniennes

Obésité, syndrome de cushing.

- Les traitements immunosuppresseurs

3-3-2 FACTEURS LOCAUX

- PH cutané

Le déplacement du pH vers la zone alcaline favorise l'établissement des dermatophytes.

- Rôle des affections locales

Les individus présentant des anomalies des pieds sont particulièrement enclins aux mycoses :

- affections vasculaires des extrémités ;
- stase sanguine ;
- état de la peau après un séjour prolongé dans l'eau.

- Rôle des vêtements et des chaussures

Des champignons pathogènes ont pu être isolés à partir des chaussettes (19,6%), à partir des vêtements (7,4%) et à partir des chaussures (4,5%).

En ce qui concerne les vêtements et les chaussettes, il faut retenir le rôle des textiles synthétiques hydrophobes qui provoquent un gonflement de la couche cornée et un déplacement du pH vers la zone alcaline, ce qui favorise le développement des dermatophytes. Le port de chaussures étroites, fermées ou montantes est un facteur favorisant certaines mycoses.

3-3-3 FACTEURS IATROGENES

Ces facteurs sont mieux connus depuis l'ère des antibiotiques et les conséquences de leur très large utilisation : destruction de la flore saprophyte microbienne ou fongique entraînant le développement des mycoses.

3-4 REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET FREQUENCE DES DERMATOPHYTES

Les affections cutanées à dermatophytes sont cosmopolites. Il y a cependant des différences dans la répartition géographique des espèces incriminées. Ces différences tendent à s'atténuer aujourd'hui du fait du brassage des populations.

En Afrique du Nord

En 1983, Othman et Coll., en étudiant les teignes du cuir chevelu en Egypte, ont montré que le seul champignon isolé était *Trichophyton violaceum* [20, 64].

En 1987, Chaker et Coll., en Tunisie, ont montré que les teignes trichophytiques à *Trichophyton violaceum* (54,7%) étaient les plus rencontrées, suivies des teignes microsporiques à *Microsporum canis* (39,3%) [64].

En Libye, Kanwar et Coll., en 1987, ont trouvé que *Trichophyton rubrum* était le dermatophyte le plus fréquent [20, 64].

En Afrique centrale et orientale

Selon une étude menée par Simpanya et Coll., en Zambie, les dermatophytes les plus fréquents étaient *Trichophyton violaceum* (88,9%) et *Microsporum langeronii* (11,1%) [64]. Au Tchad, Adrieu et Coll. trouvaient que *Trichophyton soudanense* (75%) prédominait [20].

En Afrique de l'Ouest

Au Niger, Develoux et Coll., en 1986, avaient trouvé que *Microsporum langeronii* (95%) était le champignon le plus isolé [20].

Au Togo, C. Tourte et Coll. ont montré que les espèces les plus isolées étaient principalement *Microsporum langeronii* et accessoirement *Trichophyton soudanense* [68].

Au Nigeria, Ekanem et Coll. ont montré que *Trichophyton soudanense* était le plus isolé (54,07%) [68].

Au Mali, Quilici et Coll. signalent une plus grande fréquence des trichophyties (85,5%) sur les microspories (14,5%) avec une prédominance de *T. soudanense* [20, 64].

En Haute-Volta (actuel Burkina Faso), une étude menée par Biguet et Coll., en 1956, avait permis d'isoler plus de trichophyties (86,54%) que de microspories (12,22%) [20, 40, 64].

Plus récemment, en 1992, Guiguemdé et Coll. avaient trouvé que le dermatophyte le plus souvent isolé était *Trichophyton rubrum* [32].

En 1993, à l'issue d'une étude sur les teignes du cuir chevelu en milieu scolaire dans la ville de Ouagadougou, Compaoré Lassouré a noté une prédominance de *Microsporum langeronii* (76,6%) suivi de loin par *Trichophyton soudanense* (14%), puis de *Trichophyton violaceum* (6%) et enfin de *Microsporum rivalieri* (24%) [20].

Guigma en 1996, a montré par une étude sur les agents des mycoses cutané-phanériennes à Bobo Dioulasso, une prédominance de *Trichophyton*

rubrum dans les teignes de la peau glabre et celle de *Microsporum langeronii* dans les teignes du cuir chevelu [31].

Conclusion

La fréquence des dermatophytes varie d'une région à une autre et d'une étude menée à une autre. Cependant, les espèces les plus rencontrées sont *Trichophyton rubrum*, *Microsporum langeronii*, *Trichophyton soudanense*.

4 DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

4-1 PRELEVEMENT

Il est réalisé à l'aide d'instruments variés selon la localisation des lésions : vaccinostyle, curette de Brocq, grattoir de Vidal (squames de peau, ongles), pinces non coupantes (cheveux, poils), pinces coupantes ou paire de ciseaux (ongles), bistouri, boîte de pétri, écouvillon (pus).

En règle générale, ces prélèvements doivent être effectués avec du matériel stérile. Il faut s'assurer qu'aucun traitement n'a été appliqué. Dans le cas contraire, il convient de différer le prélèvement d'au moins 5 jours.

4-2 EXAMEN DIRECT

L'examen direct sans préparation est généralement difficile, aussi est-il préférable de réaliser au préalable un éclaircissement des débris d'ongles, de squames ou de cheveux par un traitement à la potasse dilué dans de l'eau (10 à 30%) ou au chlorallactophénol. On distingue classiquement depuis Sabouraud cinq aspects (endothrix, mégaspore, microsporique, microïde, favique) qui peuvent orienter le diagnostic spécifique

4-3 CULTURE

Le produit pathologique est ensemencé sur le milieu Sabouraud simple et sur du milieu Sabouraud contenant un antibiotique (gentamicine ou chloramphénicol) et actidione (cycloheximide).

Le chloramphénicol inhibe la croissance des bactéries, tandis que l'actidione empêche le développement des moisissures. Le milieu Sabouraud est coulé en pente dans des tubes stériles.

Le produit pathologique est ensuite ensemencé en quinconce après avoir été fragmenté si nécessaire. Les tubes sont conservés à température ambiante ou à l'étuve à 26°C.

4-4 IDENTIFICATION DE LA SOUCHE

Elle est basée sur plusieurs critères [14, 20] :

- **Vitesse de croissance de la culture :**

Le temps de croissance varie en général de 3, 4 jours à 6 mois ou plus. Certains se cultivent très rapidement : *Trichophyton mentagrophytes* (4 à 8 jours). A l'inverse, *Trichophyton rubrum* demande 3 à 4 semaines.

- **Aspect macroscopique des cultures :**

L'existence ou non de pigments colorant le champignon ou diffusant dans le milieu de culture, la forme des cultures, sont des caractères essentiels à noter.

- **L'observation des caractères microscopiques :**

Comme caractères microscopiques on distingue : les filaments mycéliens, les macroconidies, les micronidies, les chlamydo-spores ...

4-5 TESTS IMMUNOLOGIQUES

La présence de champignons dans l'organisme est capable de provoquer des modifications immunitaires que l'on peut explorer par diverses méthodes [14, 33] :

- Immunité cellulaire par l'intradermo-réaction (IDR) avec la trichophytine ou épidermophytine.
- Immunité humorale par la recherche d'anticorps circulants spécifiques :
 - Immunofluorescence indirecte ;
 - Immunoprécipitation ;
 - Immunoélectrophorèse ;
 - Immunoenzymatique.

4-6 EXAMEN EN LUMIERE DE WOOD

La lumière de Wood a été découverte en 1918 par le professeur R. WOOD de Baltimore. Une luminescence verte révèle la présence du champignon [14].

4-7 EXAMEN HISTOLOGIQUE

Peu utile pour le diagnostic des mycoses superficielles, l'examen histologique est souvent indispensable pour celui des mycoses profondes et disséminées [33].

5 LE TRAITEMENT ANTIFONGIQUE

5-1 DEFINITION

Les antifongiques sont des drogues capables de détruire spécifiquement les différents champignons isolés en mycologie médicale [14].

5-2 LES MOYENS

5-2-1 TRAITEMENT CURATIF

5-2-1-1 Traitements locaux

- Éviter les topiques inadaptés, mal tolérés.
- Utiliser les solutions à la place des crèmes ou des pommades pouvant favoriser la macération.

Les familles de molécules utilisées pour le traitement local sont :

- **LES DERIVES IODES** : Iode sous forme d'alcool iodé à 1%.
- **LES COLORANTS AZOÏQUES**

Comme exemple, nous pouvons citer la fushine, le violet de gentiane, le vert de malachite, le cristal violet ou violet de méthyle.

- **LES EXFOLIANTS**

Ils entraînent une desquamation des couches de kératine infectées.

Les exfoliants les plus utilisés sont l' Acide benzoïque, Acide salicylique de 2 à 10% Locasalène®, Algipan®.

- **LES TOLNAFTATES**

Ils agissent sur les dermatophytes en phase de croissance en inhibant la squalène époxydase, ce qui entraîne une inhibition de la synthèse de l'ergostérol dans le dermatophyte. Exemple : Pedimycose ® ou Sporoline ®.

- **LES ACIDES GRAS NON SATURES**

La molécule la plus utilisée est l'Acide undécylénique : Mycodécyl ®.

- **LES DERIVES IMIDAZOLES**

Ils bloquent la synthèse de l'ergostérol en inhibant le cytochrome P450 14 alpha déméthylase fongique, ce qui entraîne une accumulation du lanostérol et d'autres stérols méthylés. Cette inhibition touche la croissance et la vitalité cellulaire conduisant à une mort cellulaire. Nous pouvons citer le Clotrimazole : Trimysten ®, le Miconazole : Daktarin ®, l'Econazole : Pévaryl ®, le Bifonazole : Amycor ®, l'Itraconazole : Sporanox ®, l'Isoconazole : Fazol®, le Sulfoconazole : Myk®, le Kétoconazole : Kétoderm®.

- **LES DERIVES ALLYLAMIQUES**

Le mécanisme d'action est identique à celui des tolnaftates. Ils inhibent l'époxydation du squalène. L'exemple type constitue la Terbinafine : Lamisil®.

- **LES DERIVES DE LA MORPHOLINE**

Ils inhibent la biosynthèse de l'ergostérol. Exemple : Amorolfine : Locéryl®.

- **DERIVES DE LA PYRIDONE**

Exemple : Ciclopiroxolamine : MycoSter®.

- **GRISEOFULVINE**

La griséofulvine inhibe la division cellulaire en interférant avec la structure et la fonction des microtubules. Elle est active uniquement sur les dermatophytes.

Griséofulvine : fulcine®.

5-2-1-2 Traitements Généraux

- **GRISEOFULVINE**

Elle inhibe la division cellulaire en interférant avec la structure et la fonction des microtubules. Griséofulvine : Grisefuline®.

- **LES DERIVES IMIDAZOLES**

Comme exemple, nous pouvons citer le Kétoconazole : Nizoral®, le Miconazole : Daktarin®.

- **LES DERIVES ALLYLAMIQUES**

L'exemple type est la Terbinafine : Lamisil®.

5-2-2 PROPHYLAXIE

Elle consiste à :

- Isoler le malade pour protéger l'entourage familial ou scolaire lorsqu'il y a un risque de contamination humaine ;
- Assurer une bonne hygiène individuelle et collective ;
- Supprimer les facteurs locaux favorisant ;
- Isoler et traiter les agents contaminants ;
- Surveiller les chats domestiques ;
- Se protéger en milieu professionnel avec des gants contre les risques de contamination par manipulation.

GENERALITES SUR MITRACARPUS scaber

ZUCC (RUBIACEAE)

1 SYNONYMES

Mitracarpus vertillatus (schum-thonn) valtke 1876.

Mitracarpus senegalense DC.

Staurospermum verticillatum (Schum-Thonn) 1829.

Oldenlandia verticillata : Bacle.

Mitracarpus villosus (S.W) DC.

2 APPELLATIONS VERNACULAIRES

Au Burkina Faso

Moore : gnodpelga, Yoadga.

dioula : Koubani, kuguruba.

Au Sénégal

Wolof : ndatukan, gurguli, ndotakan.

Serer : ndara.

Au Niger

Hausa : aroki.

Zarma : kinkinia-kangué.

Au Congo-Brazzaville

Laodi : lukarya lua looti.

Yoombe : nioka.

Au Nigeria

Haoussa : gogamassu, harwatsi.

Yoruba : ira wo-ilé.

3 CLASSIFICATION DE *MITRACARPUS SCABER* *ZUCC (RUBIACEAE)* DANS LE REGNE VEGETAL

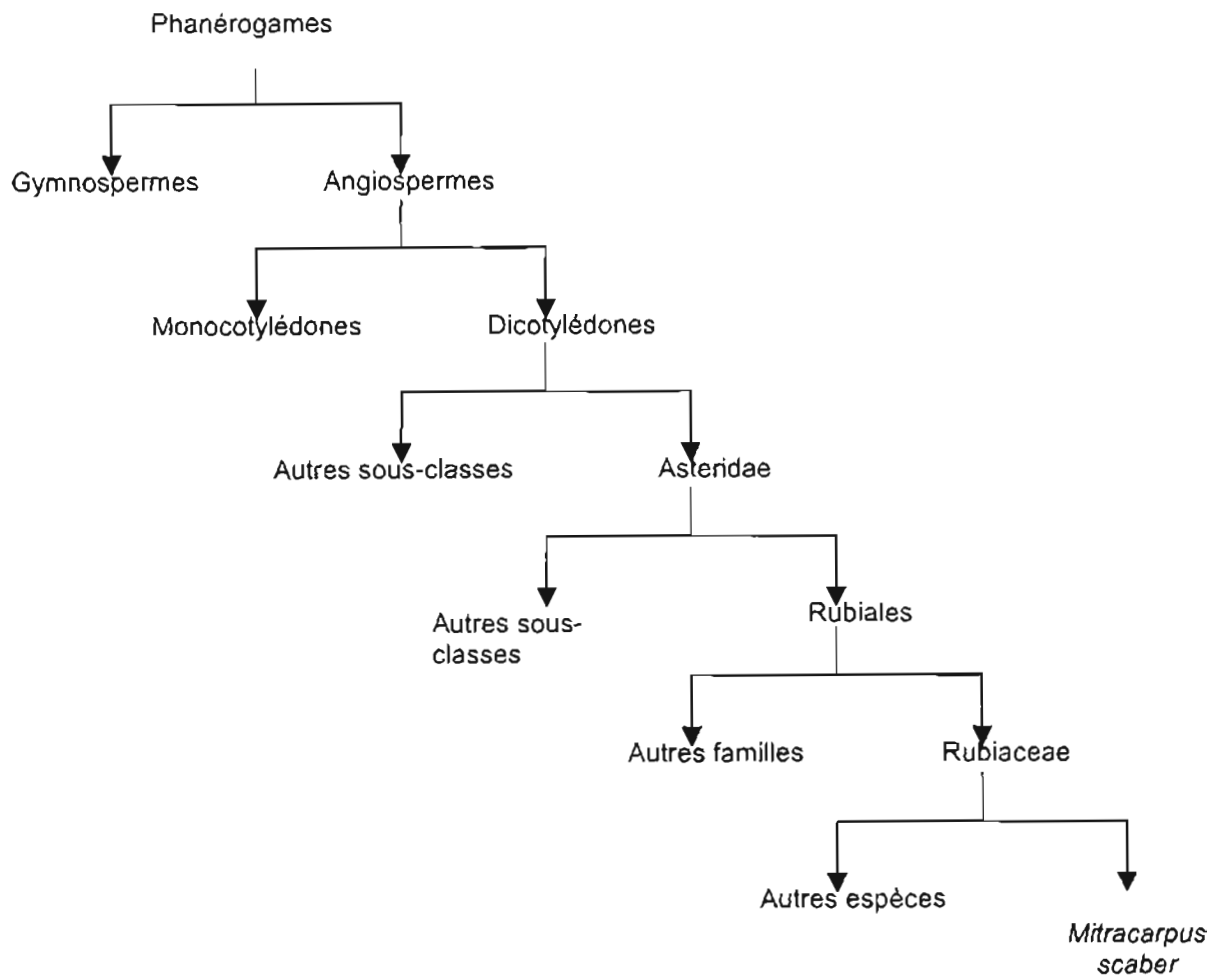




Figure 1: (photo prise à Ouagadougou en juillet 1998) *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*).

4 DESCRIPTION BOTANIQUE

Port

Mitracarpus scaber zucc (*Rubiaceae*) est une herbacée annuelle de 10 à 50 cm de haut, étalée et diffuse.

Feuilles

Les feuilles subsessiles, de 5 cm de long sur 1 cm de large environ sont opposées et lancéolées.

Tige

La tige est ramifiée, cylindrique, blanchâtre, pubérulente.

Fleurs

Les fleurs sont très petites (2 à 3 mm), groupées en glomérules, axillaires, compacts, d'environ 10 mm. Elles sont de couleur blanche entourées de stipules. Le tube de la corolle dépassant un peu le calice.

Graine

Elle est chagrinée dorsalement, la face inférieure étant comme l'empreinte d'une patte de chien.

5 DISTRIBUTION

Mitracarpus scaber Zucc (*Rubiaceae*) est présente dans les régions d'Afrique intertropicale. Elle a été retrouvée en Amérique Latine [48, 73].

6 USAGES TRADITIONNELS DE *MITRACARPUS SCABER ZUCC* (*RUBIACEAE*)

En Amérique du sud, la plante est prescrite contre les abcès [73].

Au Niger, les parties aériennes de la plante fraîche, sont utilisées contre les dartres.

Les parties aériennes réduites en poudre sont utilisées contre les urétrites [1].

Au Congo-Brazzaville, selon Bouquet, la plante est réputée comme fongicide et parasiticide cutané : la plante est écrasée et le jus est appliqué sur les dartres, les mycoses et les teignes [17, 66].

En Centrafrique, selon Testa et Coll., *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* serait utilisé dans le traitement de la teigne [66].

Au Nigeria, les Haoussa et les Yoruba l'utilisent dans le traitement des démangeaisons, des teignes tonsurantes, dans la filariose et pour éliminer les poux. La plante est également utilisée comme antidote de poison de flèche [38 ; 40].

Au Togo, elle est utilisée dans le traitement des dermatoses. La pulpe des tiges feuillées est appliquée en cataplasmes seule ou additionnée de carbonate de potassium sur les lésions. On peut également appliquer un mélange de poudre de feuilles sèches avec du beurre de karité sur les lésions après un bain avec le décocté de la tige feuillée [3].

En Côte d'Ivoire, les branchages feuillés de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* sont écrasés et appliqués sur les mycoses. L'application est renouvelée 2 à 3 fois par jour jusqu'à disparition des mycoses [38, 40].

Au Bénin, le suc des jeunes feuilles est instillé dans les yeux, dans les convulsions hyperpyrétiques [2].

Le macéré aqueux de la plante entière est appliqué localement dans les dermatoses. Le décocté des parties aériennes est administré per os dans les affections hépatiques, les dyspepsies, la constipation et les candidoses bucco-orales et digestives, en association avec les fruits de *Xylopia aethiopica (Dunal) A. Rich (Annonaceae)*.

Dans les aménorrhées, le macéré de la pulpe des parties aériennes est utilisé par voie orale, en association avec des fruits de *Garcinia kola Heckel (Gluciaceae)*.

Au Sénégal, la plante est utilisée seule ou en association avec d'autres plantes dans le traitement de diverses affections :

- la syphilis ;
- la lèpre ;
- les dermatoses ;
- les céphalées ;
- les maux de ventre ;
- les maux de gorge.

Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae) est aussi utilisé comme plante fourragère [71].

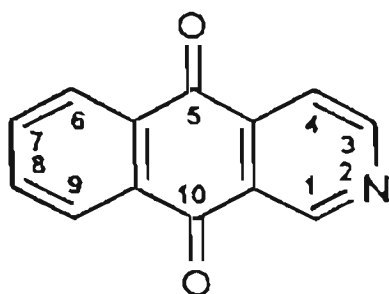
Au Burkina Faso, *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae) est utilisé dans le traitement des dartres, des teignes et de la gale [48].

7 SYNTHÈSE DES ÉTUDES RÉALISÉES SUR *MITRACARPUS SCABER ZUCC (RUBIACEAE)*

7-1 CHIMIE DE *MITRACARPUS scaber ZUCC (Rubiaceae)*

Bonga et coll. ont mis en évidence la composition de l'extrait éthanolique de la drogue sèche (feuilles) de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). Cet extrait renferme des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stérols, des triterpènes, des anthocyanosides, des glycosides, des saponines et des minéraux tel que le potassium, le calcium, le baryum, les ions ferriques et ferreux, l'iode [12].

Adewole L. Okunade et coll. ont identifié dans l'extrait éthanolique de la drogue sèche (parties aériennes) de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), un alcaloïde, l'azaanthraquinone [5].



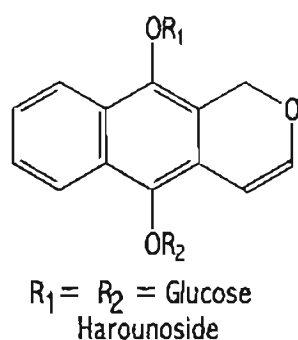
Azaanthranquinone

Ekpendu et coll. ont trouvé la composition d'une huile volatile extraite de la drogue sèche (parties aériennes) de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), par chromatographie en phase gazeuse couplée à la masse.

Ils ont identifié 26 composés dont 11 sont des acides gras libres. Le composé le plus abondant est l'acide hexadécanoïque (51,2%) [24].

Moulis et coll. ont isolé dans l'extrait à l'éther de pétrole de la drogue sèche (parties aériennes) de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), une naphtoquinone : la pentalongin [47].

Harouna et coll. ont identifié dans l'extrait méthanolique de la drogue sèche (plante entière) de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), un composé : l'harounoside [34].



Irobi et coll. ont mis en évidence dans l'extrait éthanolique de la drogue sèche (tiges feuillées) de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), la présence de substances phénoliques, d'hémolysines et de sesquiterpènes [36].

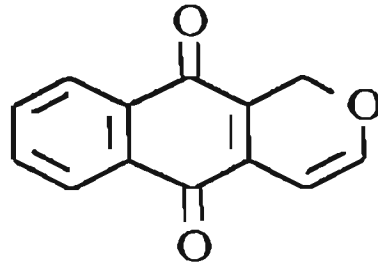
Yaméogo a identifié les composantes phytochimiques contenues dans les différentes parties de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). Ces différentes parties utilisées étaient fraîches.

Les feuilles renferment des flavonoïdes, des saponosides, des stéroïls, des terpènes, des proanthocyanidols, des acides et des phénols. La tige contient des flavonoïdes, des saponosides, des stéroïls et des terpènes.

Dans les inflorescences, il a mis en évidence des saponosides, des stéroïls, des terpènes, des acides et des phénols [73].

Kerharo et Adam ont rapporté dans leurs travaux, la présence dans *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), de saponosides, d'alcaloïdes, de triterpènes, de stéroïls [41].

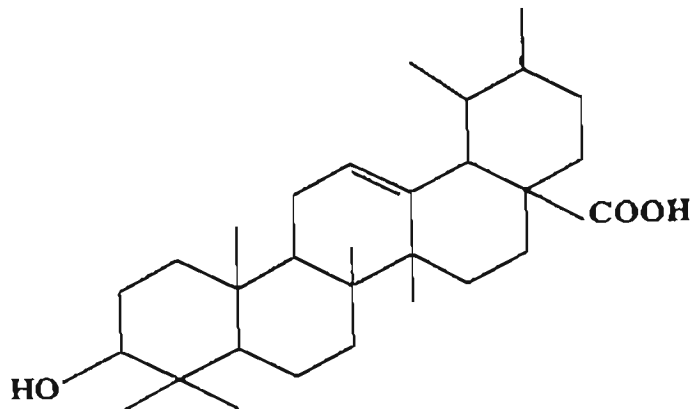
Pialat et Coll. ont isolé et identifié dans la drogue fraîche (feuilles) de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), une naphthoquinone : la Pentalongin. Ils ont obtenu la même substance par voie de synthèse [57]. Cette molécule avait été identifiée dans la drogue fraîche de la même plante par Moulis et Coll.



pentalongin

Kambou a mis en évidence dans les extraits n-hexanique et à l'acétate d'éthyle de la drogue sèche (tiges feuillées) de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), les composés suivants : des triterpènes, des flavonoïdes, des stéroïdes. L'extrait à l'acétate d'éthyle contient en plus des tanins [40].

Kaboré a identifié dans l'extrait au dichlorométhane de la drogue sèche (tiges feuillées) de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), un triterpène : l'acide ursolique [38].



Acide ursolique

7-2 PHARMACOLOGIE DE MITRACARPUS scaber ZUCC (*Rubiaceae*)

La plante a fait l'objet d'études dans de nombreux pays.

Aux USA : Adewole et coll. ont mis en évidence dans l'extrait éthanolique de la drogue sèche (parties aériennes) de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae), un alcaloïde antimicrobien, l'azaanthraquinone.

Cet alcaloïde a montré une activité antibactérienne avec les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de 0,39 µg/ml pour *Candida albicans* NIH B311 de 0,20 µg/ml pour *Cryptococcus neoformans* ATCC 32264 de 6,25 µg/ml pour *Mycobacterium intracellulare* ATCC 23068 de 1,56 µg/ml pour *Bacillus subtilis* ATCC 6633 de 6,25 µg/ml pour *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 [5].

En Italie : Germano et coll. ont montré l'activité hépatoprotectrice du décocté aqueux des parties aériennes de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae) « in vitro » et « in vivo ». Un pré-traitement avec le décocté aqueux de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae) a été effectué chez des rats. Ensuite, du tétrachlorure de carbone (CCl₄) a été administré pour induire une hépatite aiguë. « In vivo », dans le lot ayant reçu le pré-traitement, une diminution significative du glutamate oxalate transaminase (GOT) et du glutamate pyruvate transaminase (GPT) a été observée (p< 0,01 pour 250 ; 500 ; 1000 mg/kg) après une augmentation de ces enzymes, induite par le CCl₄. « In vitro », les hépatocytes ont été pré traités par le décocté aqueux de *M. scaber* Zucc (Rubiaceae). Les cellules ont été ensuite intoxiquées par le CCl₄. Une diminution significative des enzymes hépatiques a été également observée (p< 0,01 pour 100 µg/ml et p< 10 et 1000 µg/ml) [30].

Au Nigeria : Irobi et coll. ont testé in vitro l'activité antifongique de l'extrait éthanolique de la drogue sèche (tiges feuillées) *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae), sur *Candida albicans*, *Aspergillus niger* et *Fasarium salani* [36].

Ekpendu et coll. ont mis en évidence l'activité anti-inflammatoire et antimicrobienne des extraits à l'éther de pétrole et au méthanol de la drogue sèche (parties aériennes) de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae) [24].

L'inflammation a été induite chez le rat par de l'albumine d'œuf, injecté au niveau de la patte. L'extrait à l'éther de pétrole a manifesté l'activité anti-inflammatoire la plus marquée.

L'activité antimicrobienne « in vitro » a donné les diamètres d'inhibition (mm) suivants : *Escherichia coli* ATCC 15597 : 3,9 ; *Klebsiella pneumoniae* ATCC 1574 : 5,2 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 : 9,4 ; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 : 4,3 ; *Candida albicans* ATCC 10231 : 6,3.

Au Sénégal : Yaméogo a montré que le suc lyophilisé des feuilles fraîches de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) présentait une activité antimicrobienne « in vitro » sur *Staphylococcus aureus* IPP 7625, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Streptocoque D* FMPD, *Salmonella typhi* FMPD, *Salmonella ordonnez* FMPD et *Candida albicans* FMPD, *Escherichia coli* FMPD, *Klebsiella pneumoniae* FMPD, *Pseudomonas aeruginosa* FMPD, *Serratia marcescens* FMPD, *Escherichia coli* IPP 7624, *Staphylococcus aureus* FMPD. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) variaient entre 0,6 et 6 mg/ml pour les cocci à gram positif. Les bacilles à gram négatif et les champignons avaient leur CMI comprises entre 12 et 30 mg/ml. Les concentrations de l'extrait testé oscillaient entre $6 \cdot 10^{-5}$ et 30 mg/ml [73].

En Côte d'Ivoire : Bonga et Coll. ont identifié des phytostéroïdes antifongiques dans la fraction éthanolique d'un extrait foliaire de la drogue sèche (feuilles) de *Mitracarpus verticillatus* Valte (*Rubiaceae*).

La fraction éthanolique a été testée sur *Cryptococcus neoformans* à des concentrations comprises entre $15 \cdot 10^{-4}$ et 12,5 mg/ml. Cette fraction était 60 fois plus active que l'extrait total. La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait total était de 768 mg/ml tandis que celle de la fraction était de 12,5 mg/ml [12].

Mobié et Coll. ont montré que l'huile essentielle de la drogue sèche (feuilles) de *Mitracarpus verticillatus* Valte (*Rubiaceae*), obtenue à partir de l'extrait éthanolique traité au Soxhlet dans le n-hexane avait une activité antifongique sur *Trichophyton rubrum*. La concentration minimale inhibitrice (CMI) était de 6,25 mg/ml [46].

Au Mali : Sanogo et coll. ont testé in vitro l'activité antibactérienne de la drogue sèche (feuilles) *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). Il est ressorti de leur étude que l'extrait à l'éther de pétrole obtenu à partir de l'extrait hydro-alcoolique, exerce une activité antimicrobienne sur plusieurs souches de staphylocoques et de candida [60].

Au Burkina Faso : Kambou a mis en évidence l'activité antifongique des extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle de la drogue sèche (tiges feuillées) de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) sur *T. rubrum*, *T. soudanense*, *T. interdigitale*, *M. langeronii*.

L'extrait à l'acétate d'éthyle, l'extrait le plus actif a manifesté l'activité antifongique à partir de la concentration de 1 mg/ml. Cette même étude a montré que le composé majoritaire de la fraction la plus active de l'extrait à l'acétate d'éthyle est de nature triterpénique [40].

En conclusion : Nous avons pu noter que *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* présente une activité antibactérienne, antifongique et anti-inflammatoire. L'activité antifongique se retrouve aussi bien dans la drogue fraîche que la drogue sèche de la plante. Un principe antifongique (le pentalongin) a été identifié dans la drogue fraîche de *Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae)* [47]. Cependant, aucune étude n'a permis d'identifier des principes antifongiques contenus dans la drogue sèche, bien que celle-ci ait fait l'objet d'études chimiques et pharmacologiques qui ont permis d'isoler plusieurs molécules dont l'harounoside, de l'azaanthraquinone et de l'acide ursolique.

OBJECTIFS

OBJECTIFS

OBJECTIF GENERAL

Etudier la contribution de l'acide ursolique dans l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*).

OBJECTIFS SPECIFIQUES

- 1- Extraire la poudre des tiges feuillées de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) à l'aide de solvants de polarité croissante.
- 2- Comparer l'activité antifongique des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyles de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*).
- 3- Isoler l'acide ursolique à partir de l'extrait le plus actif.
- 4- Etudier l'activité antifongique de l'acide ursolique.

MATERIEL ET METHODES

METHODOLOGIE

1 CADRE DE L'ETUDE

Notre étude a été réalisée :

- Au Laboratoire de Pharmacognosie de l'UFR/SDS de l'Université de Ouagadougou.
- Au Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie de l' UFR/SDS de l'Université de Ouagadougou ;
- Au Laboratoire d'Analyses Médicales Sainte Elisabeth à Ouagadougou.

2 MATERIELS

2-1 MATERIEL VEGETAL

Les tiges feuillées de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) ont été récoltées en novembre 2000 à Loumbila, localité située à 15 kilomètres de la ville de Ouagadougou (Burkina Faso).

La drogue végétale a été séchée à la température ambiante pendant une semaine dans une enceinte aérée, à l'abri du soleil, avant d'être réduite en poudre à l'aide d'un broyeur (Gladiator Type BN1).

2-2 MATERIEL POUR LE FRACTIONNEMENT ET LA PURIFICATION

- chromatoplaques avec gel de silice G₆₀F₂₅₄ (5 cm × 5 cm, 10 cm × 10 cm) ;
- Support de verre pour colonne chromatographique (1 m × 3 cm) ;
- gel de silice pour colonne chromatographique.

2-3 MATERIEL POUR L'EXTRACTION

- vase pour macération ;
- percolateur ;

- rotavapor Buchii ;
- verrerie ;
- solvants : éther de pétrole, dichlorométhane, acétate d'éthyle.

2-4 MATERIEL POUR LES ESSAIS ANTIFONGIQUES

- milieu Sabouraud ;
- boîtes de pétri ;
- pipettes pasteur ;
- étuve ;
- micropipettes ;
- bec bunzen ;
- double décimètre ;
- disques de kétoconazole.

2-5 LES CHAMPIGNONS

Les dermatophytes utilisés pour les tests antifongiques sont les plus fréquents au Burkina Faso. Ils ont été isolés des produits pathologiques des patients qui ont consultés au service de dermatologie du Centre Hospitalier National Yalgado Ouédraogo. Identifiés par les méthodes usuelles et maintenus en culture sur milieu solide au Laboratoire d'Analyses Médicales Sainte Elisabeth, ils ont été conservés à 4°C jusqu'à la mise en route des tests antifongiques.

Il s'agit de *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporium langeronii*.

Trichophyton interdigitale

C'est une espèce exclusivement anthropophile. Elle provoque des lésions au niveau des pieds et au niveau de la peau glabre (herpès circiné).

Trichophyton rubrum

Il s'agit d'une espèce anthropophile. Elle provoque des dermatophyties des pieds, des mains, des ongles, de la peau glabre et des teignes.

Trichophyton soudanense

Il s'agit d'un parasite exclusivement humain. Il provoque des teignes, des herpès circinés, des lésions au niveau des mains.

Microsporium langeronii

Parasite anthropophile, il provoque des teignes, des herpès circinés.

3 METHODES

3-1 PREPARATION DES EXTRAITS DE *MITRACARPUS scaber*

Zucc (Rubiaceae)

La méthode d'extraction utilisée est une percolation précédée d'une macération (extraction à froid). Le débit de la percolation est de 2 ml/min. L'extraction est réalisée avec des solvants de polarité croissante : éther de pétrole, dichlorométhane, acétate d'éthyle.

3-1-1 EXTRACTION A L'ETHER DE PETROLE

La matière végétale (300 g) est laissée en macération pendant 24 h dans un litre (1L) d'éther de pétrole. A la fin de la macération, une percolation est effectuée à l'aide d'un litre (1L) du même solvant. La solution organique recueillie, est évaporée sous pression réduite. Le résidu de l'extraction est conservé à l'abri de la lumière. Le marc obtenu est séché et gardé pour les opérations suivantes.

3-1-2 EXTRACTION AU DICHLOROMETHANE

Le marc issu de l'extraction à l'éther de pétrole est mis en macération pendant 24 h avec un litre (1L) de dichlorométhane. Une percolation est ensuite réalisée avec un litre (1L) du même solvant. La solution au dichlorométhane est recueillie et évaporée sous pression réduite à l'aide du rotavapor. Le résidu est conservé à l'abri de la lumière. Le marc est séché et gardé pour les extractions suivantes.

3-1-3 EXTRACTION A L'ACETATE D'ETHYLE

Le marc issu de l'extraction au dichlorométhane est humecté avec un litre (1L) d'acétate d'éthyle. Le mélange est mis en macération pendant 24 h. Une percolation est ensuite réalisée à l'aide d'un litre (1L) du même solvant. La solution d'acétate d'éthyle obtenue est évaporée sous pression réduite. Le résidu est conservé à l'abri de la lumière. Le marc est séché.

3-2 FRACTIONNEMENT DE L'EXTRAIT A L'ACETATE D'ETHYLE.

L'extrait à l'acétate d'éthyle est fractionné par chromatographie sur colonne de gel de silice G₆₀. Le support de verre pour la colonne (1 m de long sur 3 cm de diamètre) a été rempli au 2/3 à l'aide d'une suspension de silice pour colonne dans du dichlorométhane. L'extrait, dissous dans du dichlorométhane est déposé au sommet de la colonne de silice. L'éluant, constitué de dichlorométhane contenant des proportions croissantes de méthanol à 0, 5, 10 et 15%, est ensuite introduit. Chaque palier du gradient correspondait à 500 ml de solvant.

Des fractions de 25 ml sont récoltées et analysées par CCM de gel de silice G₆₀F₂₅₀ en utilisant le mélange dichlorométhane, toluène, méthanol (5 - 4 - 1 V/V), comme éluant. La révélation est faite par chauffage à 110°C, après pulvérisation sur les plaques d'une solution d'acide sulfurique à 3 % dans l'éthanol. Les fractions qui présentaient un chromatogramme similaire, sont regroupées et évaporées sous pression réduite. Ainsi, quatre fractions sont obtenues : F₁, F₂, F₃, F₄.

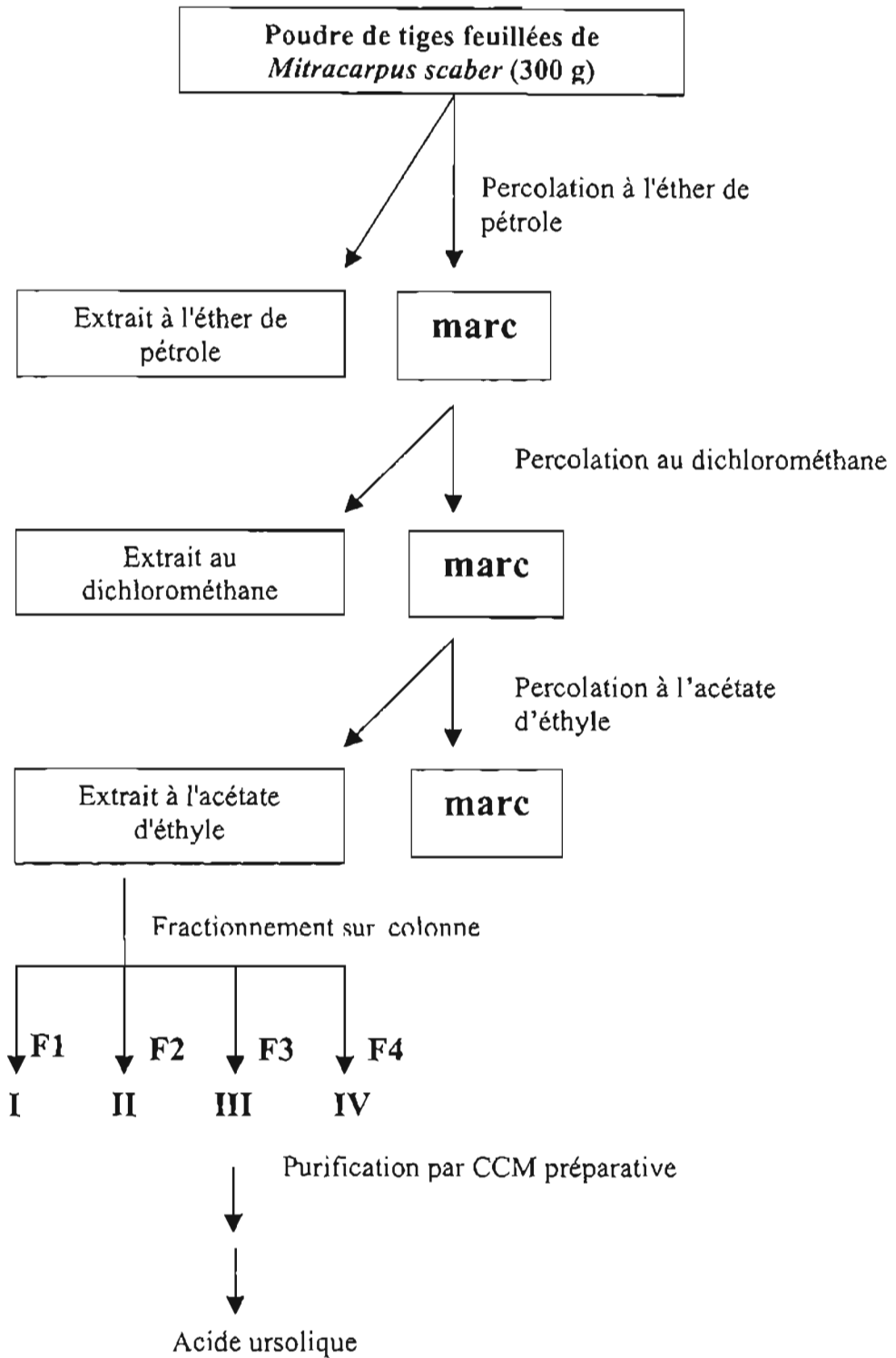


Figure 2 : schéma d'extraction et de fractionnement des extraits de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*).

3-3 CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

3-3-1 CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE ANALALYTIQUE DES EXTRAITS AU DICHLOROMETHANE ET A L'ACETATE D'ETHYLE

Les extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle ont fait l'objet d'une CCM analytique. Les supports utilisés sont des plaques chromatographiques (5 cm × 5 cm) avec gel de silice G₆₀F₂₅₄ de 0,5 mm d'épaisseur. L'éluant est un mélange de dichlorométhane, toluène et de méthanol dans les proportions (5 - 4 - 1 V/V). L'acide ursolique du commerce est utilisé comme témoin. La révélation s'est faite en pulvérisant sur les plaques une solution d'acide sulfurique à 3% dans l'éthanol. Les plaques ont été ensuite placées à l'étuve à 110°C pendant 10 minutes. Une coloration violette persistante est observée.

3-3-2 CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE ANALYTIQUE DES FRACTIONS DE L'EXTRAIT A L'ACETATE D'ETHYLE

Une chromatographie sur couche mince analytique avec gel de silice G₆₀F₂₅₄, est réalisée avec les fractions de l'extrait à l'acétate d'éthyle.

L'éluant utilisé est un mélange de dichlorométhane, toluène et de méthanol dans les proportions (5 - 4 - 1 V/V). La révélation s'est faite avec de l'acide sulfurique à 3% dans de l'éthanol. Les plaques sont ensuite placées à l'étuve à 110°C pendant 10 minutes. L'apparition d'une coloration violette indique la présence de triterpènes dans la fraction 3. Le témoin utilisé est l'acide ursolique du commerce.

3-3-3 ISOLEMENT ET PURIFICATION DE L'ACIDE URSOLIQUE CONTENU DANS L'EXTRAIT A L'ACETATE D'ETHYLE PAR CCM PREPARATIVES

La fraction 3 de l'extrait à l'acétate d'éthyle est évaporée pour donner un résidu sec. Ce résidu est ensuite repris avec du dichlorométhane pour effectuer la purification par chromatographie sur couche mince préparative de gel de silice G₆₀F₂₅₄ (10 cm × 10 cm) de 1 mm d'épaisseur.

L'éluant utilisé est constitué d'un mélange de dichlorométhane-toluène-méthanol dans les proportions (5 - 4 - 1 V/V). La révélation des plaques préparatives s'est faite par pulvérisation sur celles-ci d'une solution de méthanol.

Le méthanol entraîne une précipitation des triterpènes permettant ainsi de les repérer et de les isoler. La bande correspondante à l'acide ursolique est grattée puis élue à l'aide du dichlorométhane. La solution recueillie est filtrée puis évaporée à la température ambiante.

3-4 ANTIFONGIGRAMME

3-4-1 MILIEU DE CULTURE

Le milieu Sabouraud simple ou additionné de chloramphénicol et d'actidione est utilisé. Ce milieu est coulé en boîtes de pétri de façon à avoir 4 mm d'épaisseur de gélose. Les boîtes de pétri sont séchées à l'étuve à 37°C avant emploi.

La technique de diffusion en milieu gélosé est utilisée pour la réalisation de l'antifongigramme. Les tests antifongiques sont réalisés grâce à la méthode des cupules. Les puits sont creusés dans la gélose grâce à un emporte-pièce de 6 mm de diamètre. Dans le fond de chaque puits est déposée une goutte de gélose vierge préalablement fondue au bain-marie bouillant pour éviter la diffusion de l'extrait sous la couche de gélose. L'ensemble est refroidi à la température ambiante.

3-4-2 INOCULUM

L'inoculum est obtenu à partir d'une culture âgée de 10 à 12 jours sur gélose inclinée de Sabouraud, elle mêmeensemencée à partir d'une culture âgée de 10 jours. A l'aide d'une pipette stérile, du soluté de chlorure de sodium (5 ml) est introduit dans le tube de culture et la surface du mycélium est grattée légèrement. Le soluté est repris et transvasé dans un tube à essai stérile contenant 10 billes de verres de diamètre 3 mm. Le tube est agité sur un agitateur pendant 1 minute. La suspension obtenue a servi à entretenir la souche et ensemenecer les boîtes de pétri en expérimentation. Elle est préparée le jour même de son utilisation.

3-4-3 ENSEMENCEMENT

La surface de la gélose est inondée avec 5 ml d'inoculum et l'excès éventuel de suspension est aspiré à la pipette.

Les boîtes sont séchées pendant 15 minutes à 37°C.

3-4-4 SOLUBILISATION DES PRODUITS

Les extraits sont dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO). Une solution contrôle contenant uniquement du DMSO est testée. Le standard utilisé est le kétoconazole sous forme de disque de 50 µg. La concentration de départ des extraits pour les tests antifongiques est de 320 mg/ml (solution mère). Nous avons ensuite procédé à des dilutions de cette solution mère pour obtenir des concentrations respectives de 160, 80, 40, 20, 10 et 1 mg/ml.

3-4-5 DEPÔT DES EXTRAITS

Les solutions d'extraits sont déposées à l'aide d'une micropipette à raison de 50 µl dans chaque cupule. Chaque concentration est testée 4 fois.

3-4-6 INCUBATION

Les cultures sont incubées à la température ambiante et sont observées tous les jours. L'incubation a duré 5 à 10 jours selon les dermatophytes.

3-4-7 LECTURE DES RESULTATS

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

3-5-TRAITEMENT DES DONNEES

Les graphiques sont réalisés à l'aide du logiciel EXCEL 2000 sur WINDOWS 98.

RESULTATS

RESULTATS

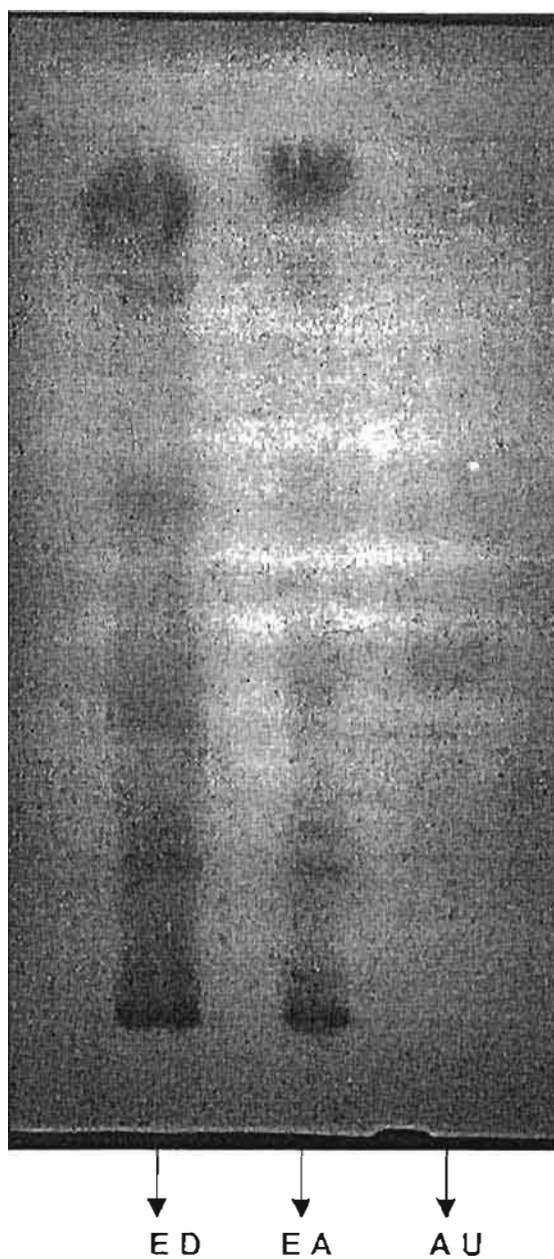
1 RESULTATS DE LA CCM

1-1 RESULTATS DE LA CCM ANALYTIQUE

La CCM analytique des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle a mis en évidence la présence d'une substance ayant le même comportement chromatographique que l'acide ursolique dans le système de solvant dichlorométhane-toluène-méthanol dans les proportions (5 - 4 - 1 V/V). Elle est située à la même référence frontale que l'acide ursolique ($R_f = 0,37$) (figure 3). Ce qui laisse supposer qu'il s'agit de l'acide ursolique. Les différentes fractions de l'extrait à l'acétate d'éthyle ont également fait l'objet d'une CCM analytique dans le même système d'éluant, qui a révélé la présence de l'acide ursolique dans l'une (fraction 3) d'entre elles (figure 4).

1-2 RESULTATS DE LA CCM PREPARATIVE

La purification de la fraction 3 par CCM préparative a permis d'obtenir l'acide ursolique (figure 4).



Legende

E D : Extrait au dichlorométhane

E A : Extrait à l'acétate d'éthyle

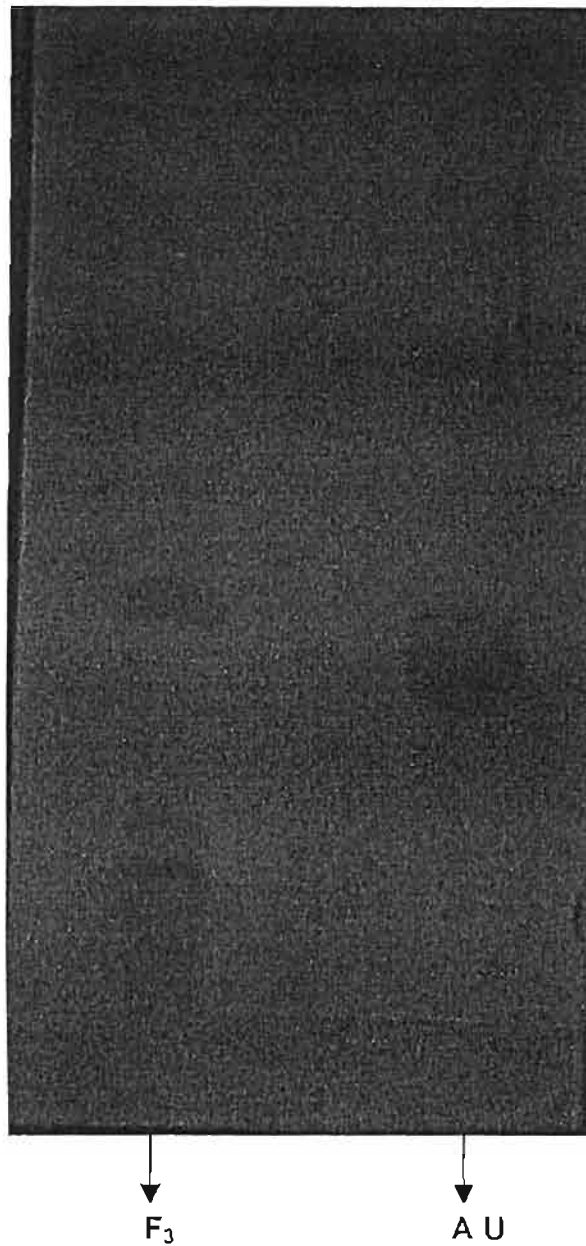
A U : Acide ursolique

Eluant : dichlorométhane-toluène-méthanol (5 - 4 - 1 V/V)

Phase stationnaire : gel de silice G₆₀F₂₅₄

Réactif de révélation : solution de H₂SO₄ à 3% V/V dans l'éthanol

Figure 3 : Chromatogramme des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle.



Legende

F₃ : Fraction 3

A U : Acide ursolique

Eluant : dichlorométhane-toluène-méthanol (5 - 4 - 1 V/V)

Phase stationnaire : gel de silice G₆₀F₂₅₄

Réactif de révélation : solution de H₂SO₄ à 3% V/V dans l'éthanol

Figure 4 : Chromatogramme de la fraction 3 de l'extrait à l'acétate d'éthyle.

2 RESULTATS DES ESSAIS ANTIFONGIQUES

2-1-RESULTATS DE L'ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES EXTRAITS AU DICHLOROMETHANE ET A L'ACETATE D'ETHYLE DE *M. scaber* Zucc (*Rubiaceae*).

Les extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle ont été testés sur quatre souches de dermatophytes (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii*) aux concentrations respectives de 1, 10, 20, 40, 80, 160 et 320 mg/ml. Les diamètres d'inhibition (mm) sont présentés dans le tableau ci-dessous (tableau I).

Tableau I: Activité antifongique des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle

Concentrations en mg/ml	Diamètres d'inhibition en (mm) de l'extrait au dichlorométhane sur des souches de dermatophytes				Diamètres d'inhibition (mm) de l'extrait à l'acétate d'éthyle sur des souches de dermatophytes			
	T. r	T. s	T. i	M. l	T. r	T. s	T. i	M. l
320	20	18	20	24	38	48	40	30
160	13	10	15	18	30	42	32	24
80	10	0	11	0	23	40	30	21
40	0	0	0	0	20	32	26	16
20	0	0	0	0	15	22	19	10
10	0	0	0	0	12	10	12	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0

Légende :

T. r : *Trichophyton rubrum*

T. s : *Trichophyton soudanense*

T. i : *Trichophyton interdigitale*

M. l : *Microsporum langeronii*

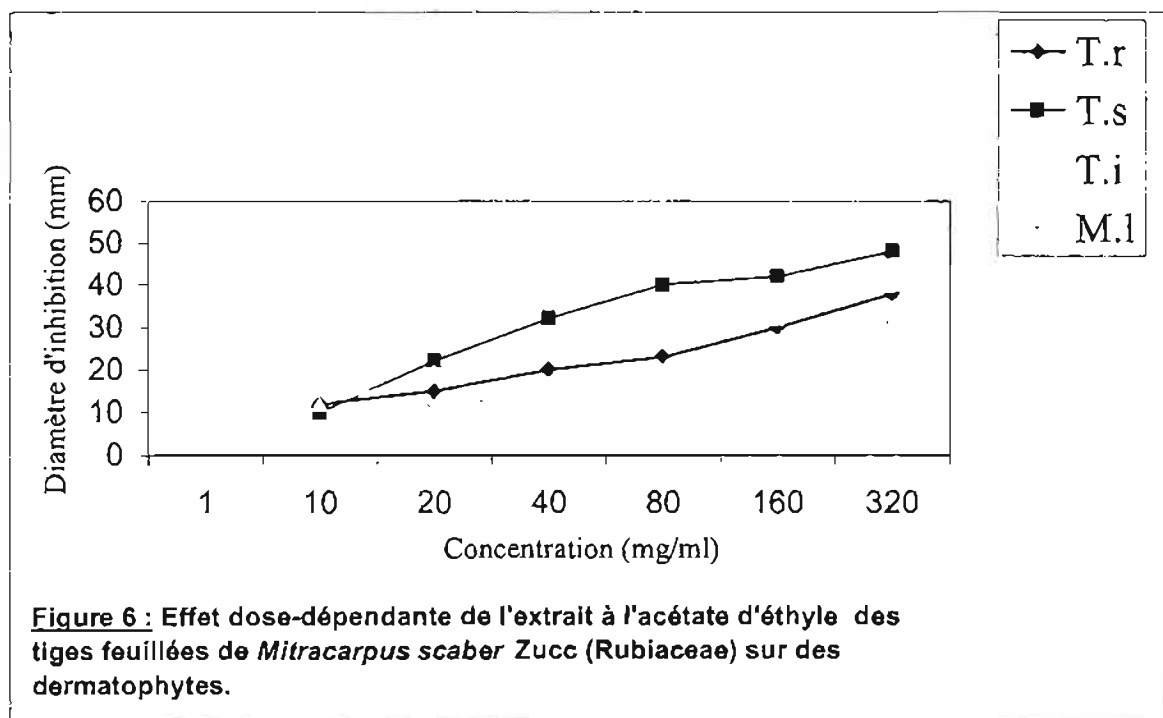
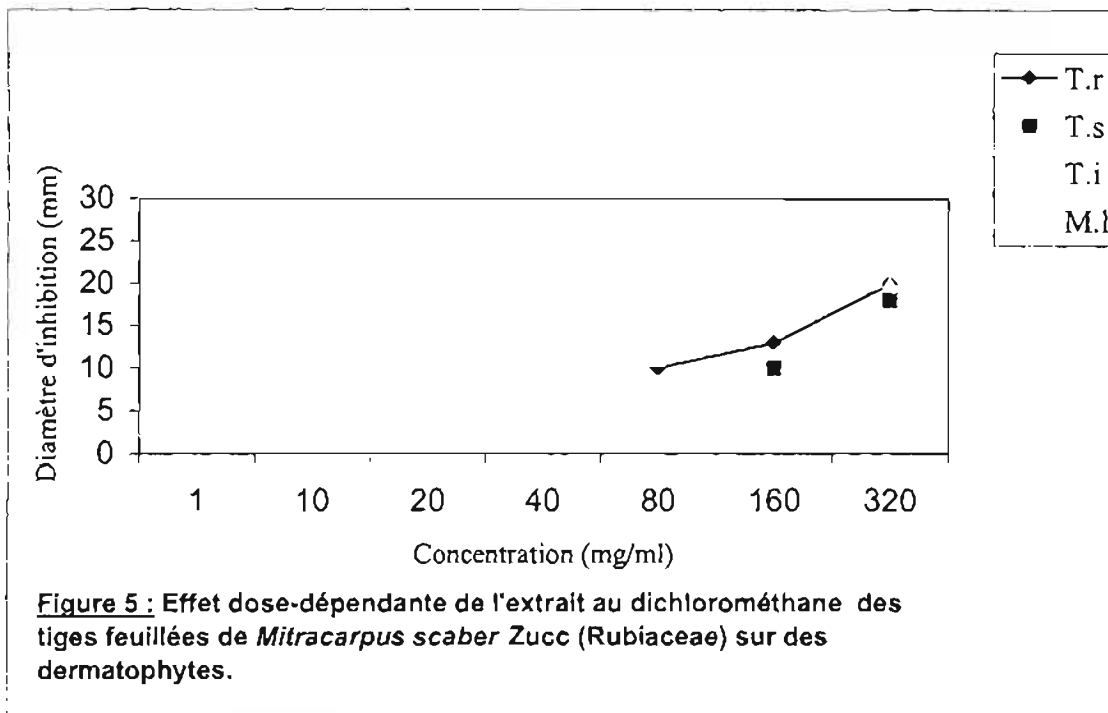
2-2 RESULTATS DE L'ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DE L'ACIDE URSOLIQUE ISOLE ET DE L'ACIDE URSOLIQUE DU COMMERCE

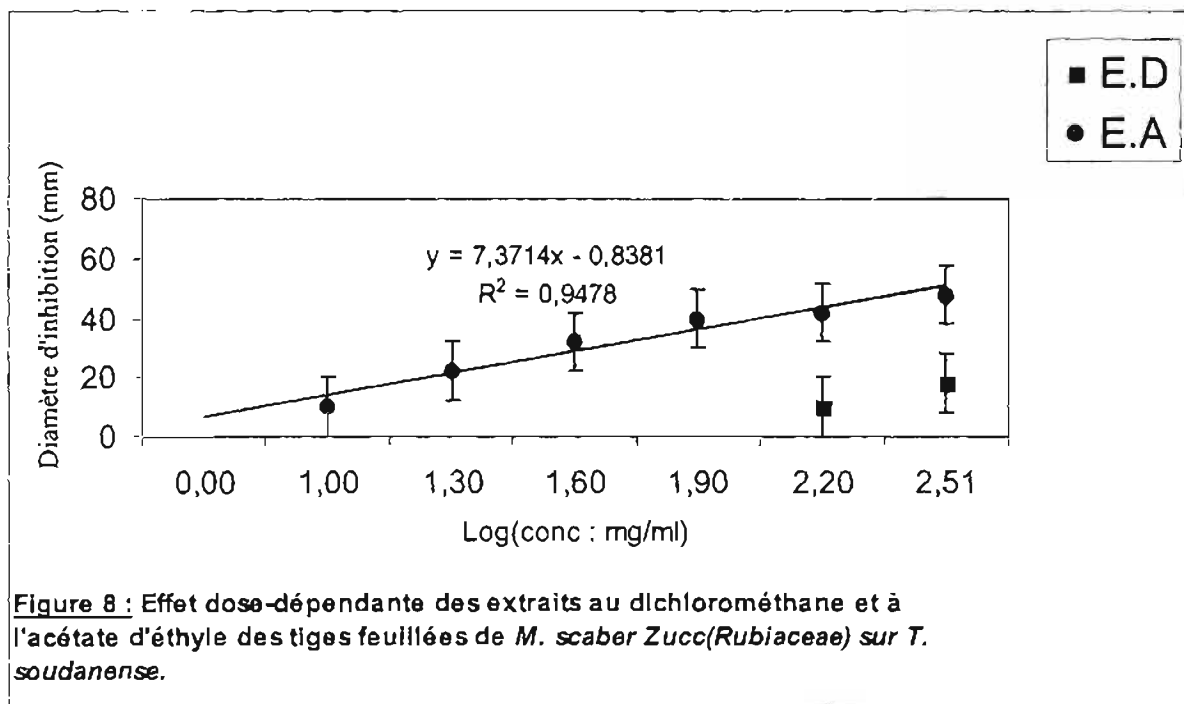
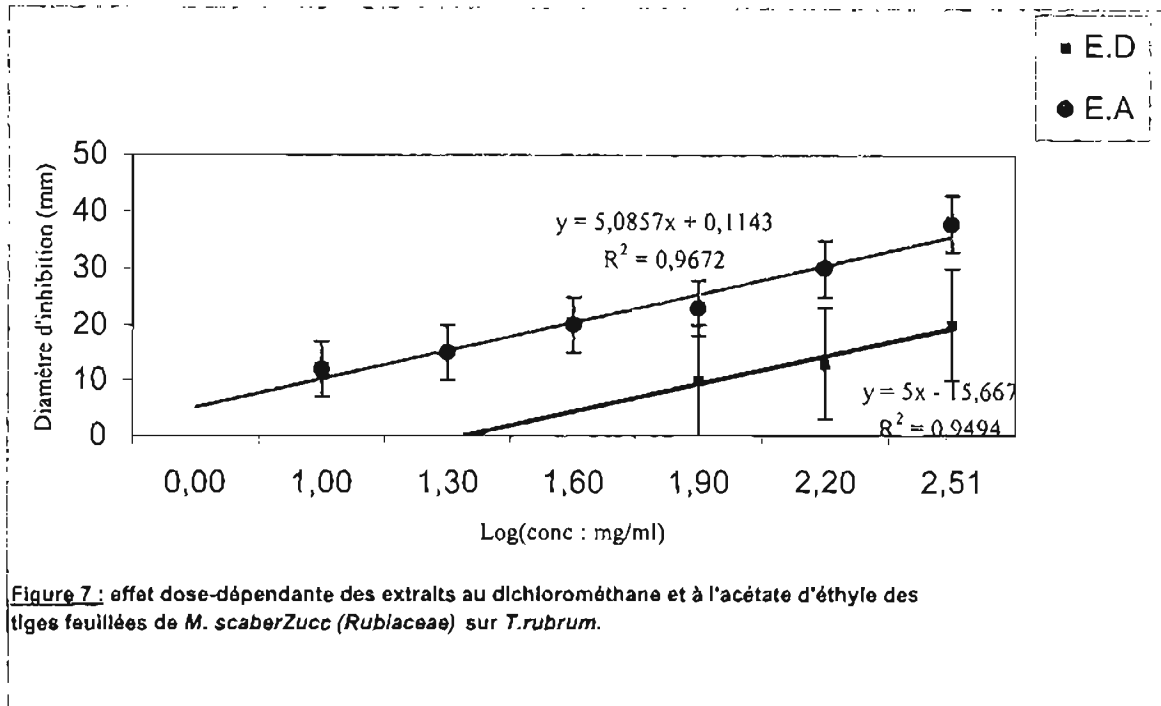
L'acide ursolique isolé de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) a été testé en comparaison avec l'acide ursolique du commerce sur les mêmes souches de dermatophytes (*T. rubrum*, *T. soudanense*, *T. interdigitale*, *M. langeronii*) que les extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle. Les concentrations testées étaient respectivement 10, 20, 30 et 40 mg/ml. Aucune activité antifongique n'a été notée.

2-3 RELATION CONCENTRATION-ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES EXTRAITS AU DICHLOROMETHANE ET A L'ACETATE D'ETHYLE DE MITRACARPUS scaber ZUCC (Rubiaceae).

Une gamme de concentration de 1, 10, 20, 40, 80, 160 et 320 mg/ml a été choisie pour établir les courbes dose-effet (figure 5 et 6).

Ces courbes ont été linéarisées par transformation logarithmique de la concentration (figure 7, 8, 9 et 10).





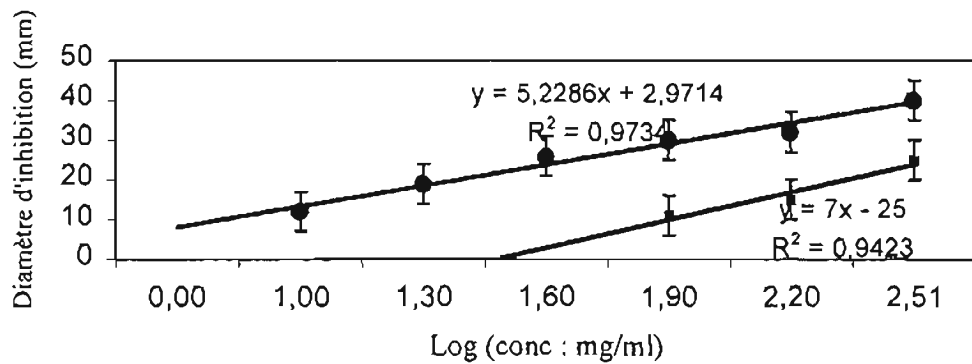


Figure 9 : Effet dose-dépendante des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle des tiges feuillées de *M. scaber* Zucc (*Rubiaceae*) sur *T. interdigitale*.

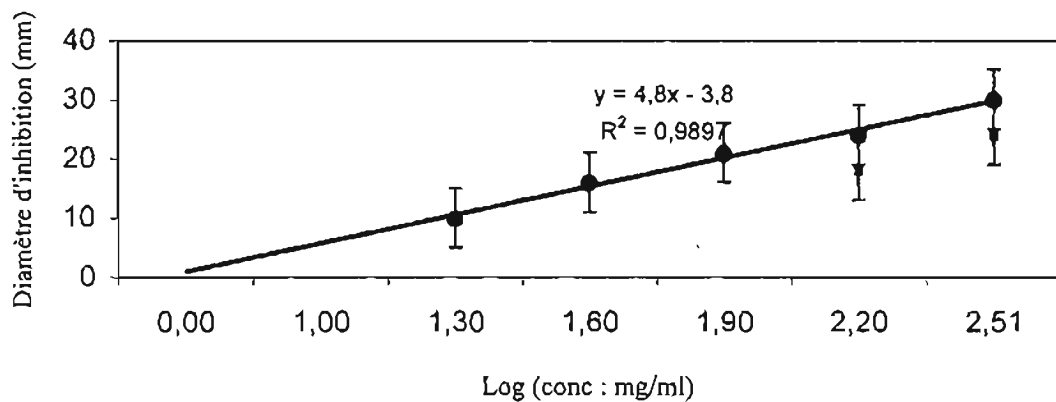


Figure 10 : Effet dose-dépendante des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle des tiges feuillées de *M. scaber* Zucc (*Rubiaceae*) sur *M. longeronii*.

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

1 LES LIMITES DE L'ETUDE

Une des limites de cette étude a concerné la nature des souches utilisées. Nous n'avons pas pu nous procurer des souches de référence pour notre étude. Standardisées, les souches de référence assurent une meilleure reproductibilité des essais et permettent d'éventuelles comparaisons avec des travaux similaires.

Néanmoins, l'utilisation des souches hospitalières présente l'avantage de montrer la sensibilité des souches locales. En effet, les substances étudiées sont destinées à être utilisées contre des souches hospitalières qui parfois, sont plus résistantes que les souches de référence.

Une autre limite a été la non disponibilité de l'azaanthraquinone et de l'harounoside identifiées dans la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). Ainsi, nous n'avons pas pu étudier leur contribution dans l'activité antifongique de la drogue sèche de cette plante.

2 RESULTATS DE L'ETUDE

2-1 ANALYSE DES ETUDES ANTERIEURES REALISEES SUR MITRACARPUS *scaber* ZUCC (*RUBIACEAE*)

Mitracarpus scaber Zucc (*Rubiaceae*) a fait l'objet de nombreuses études qui tendent à prouver son efficacité dans le traitement des dermatoses et des teignes. Certains travaux ont concerné la drogue fraîche de la plante.

En effet, en 1982, Yaméogo a mis en évidence l'activité antifongique et antibactérienne du suc lyophilisé des feuilles fraîches de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). Il a noté des concentrations minimales inhibitrices (CMI) variant entre 0,6 et 30 mg/ml pour les souches bactériennes (*Sarcina lutea* ATTC 9341, *Staphylococcus aureus* IPP 7625, *Escherichia coli* IPP 7624, *Staphylococcus aureus* FMPD, *Streptococcus D* FMPD, *Klebsiella pneumoniae* FMPD, *Escherichia coli* FMPD, *Serratia marcescens* FMPD, *Salmonella ordonnez* FMPD, *Salmonella typhi* FMPD, *Pseudomonas aeruginosa* FMPD) et 30 mg/ml pour les champignons (*Candida albicans* FMPD) [73]. En 1992, Moulis et Coll. ont identifié dans la drogue fraîche de la même plante, un principe antifongique : le pentalongin. Cette molécule

a manifesté une activité antifongique à la concentration de 100 mg/ml sur *Trichophyton soudanense* et *Candida albicans* [47]. Pialat et Coll. en 1998, ont noté que le pentalongin ne se trouvait pas dans la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) [56]. Cela laisse supposer que cette substance a probablement été détruite au cours du séchage.

D'autres études ont été réalisées à partir de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). En 1994, Ekpendu et Coll. ont montré que les extraits à l'éther de pétrole et au méthanol de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) ont une activité anti-inflammatoire et antibactérienne. L'extrait à l'éther de pétrole a manifesté l'activité ant-inflammatoire la plus marquée tandis que l'extrait au méthanol a présenté l'activité antibactérienne la plus importante. Les diamètres d'inhibition (mm) obtenus avec l'extrait au méthanol étaient respectivement de 3,9 pour *Escherichia coli* ATCC 15597 ; 9,4 pour *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 ; 5,2 pour *Klebsiella pneumoniae* ATCC 1574 ; 4,3 pour *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et 6,3 pour *Candida albicans* ATCC 10231 [24]. Bonga et Coll. en 1995, ont mis en évidence l'activité antifongique de l'extrait éthanolique de la même plante sur *Cryptococcus neoformans*. Ils ont noté que la fraction antifongique de cet extrait renfermait uniquement des phytostérols. Cette fraction a présenté une CMI de 12,5 mg/ml [12]. En 1995, Harouna et Coll. ont identifié dans l'extrait éthanolique de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) une molécule (l'harounoside) présentant une analogie structurale avec le pentalongin identifié par Moulis et Coll. dans la drogue fraîche de cette plante [34]. Moubi et Coll. ont également travaillé sur l'extrait éthanolique de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), en 1998. Ils ont isolé de cet extrait une huile essentielle antifongique active sur *Trichophyton rubrum*, avec une CMI de 6,25 mg/ml [46]. En 1998, Kambou a montré que les extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), présentaient une activité antifongique sur des souches de dermatophytes (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii*). L'extrait à l'acétate d'éthyle (extrait le plus actif) a manifesté une activité antifongique à la concentration de 1 mg/ml avec des diamètres d'inhibition (mm) respectifs de 12 pour *Trichophyton rubrum*, 10 pour *Trichophyton soudanense*, 12 pour *Trichophyton interdigitale*. Cette étude a permis de noter que la fraction antifongique de l'extrait à l'acétate d'éthyle renfermait un composé de nature triterpénique qui a été identifié

par Kaboré en 1999, comme étant l'acide ursolique [38, 40]. En 1999 toujours, Adewole et Coll. ont identifié dans l'extrait éthanolique de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), un composé antibactérien (azaanthraquinone) avec les CMI suivantes : 0,39 µg/ml (*Candida albicans* NIH B311) ; 0,20 µg/ml (*Cryptococcus neoformans* ATCC 32264) ; 1,56 µg/ml (*Mycobacterium intracellare* ATCC 23068) ; 6,25 µg/ml (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) et 1,56 µg/ml (*Bacillus subtilis* ATCC 6633). Ce composé présente également une analogie de structure avec le pentolongin [5].

L'analyse des résultats des études antérieures nous permet de dire que les drogues sèche et fraîche *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) présentent plusieurs activités notamment anti-inflammatoire, antibactérienne et antifongique qui justifient leur utilisation traditionnelle dans le traitement des dermatoses et teignes.

Par ailleurs, plusieurs molécules (l'azaanthraquinone, l'harounoside, l'acide ursolique) ont été identifiées dans la drogue sèche qui constitue la forme la plus utilisée en médecine traditionnelle. Ces molécules ont été mises en évidence dans des extraits antifongiques. Il s'avère donc nécessaire de les étudier à l'état pur pour évaluer leur contribution dans l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). Ainsi, dans le cadre de ce travail, pour des raisons de disponibilité, nous avons étudié l'activité antifongique de l'acide ursolique isolé de cette plante. Les méthodes d'extractions ne garantissant pas une pureté des molécules isolées, nous avons entrepris de tester en plus l'acide ursolique du commerce afin d'évaluer la part réelle de l'acide ursolique dans cette activité.

2-2 RESULTATS DES CCM ANALYTIQUE ET PREPARATIVE

Les extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle ont fait l'objet d'une CCM analytique qui a mis en évidence une substance ayant le même comportement chromatographique que l'acide ursolique dans le système de solvant dichlorométhane-toluène-méthanol (5 - 4 - 1 V/V). Elle est située à une référence frontale (Rf) de 0,37. Ceci permet de supposer qu'il s'agit de l'acide ursolique.

Nos résultats rejoignent ceux de Kaboré qui en 1999, avait trouvé dans une étude similaire effectuée sur l'extrait au dichlorométhane de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), un composé triterpénique situé à une référence frontale (Rf) de 0,34

dans le même système de solvants [38]. Il a ensuite été identifié dans cette étude comme étant acide ursolique.

Une CCM préparative réalisée dans le même système de solvants avec la fraction 3 de l'extrait à l'acétate d'éthyle, a permis d'isoler l'acide ursolique.

2-3 RESULTATS DES ESSAIS ANTIFONGIQUES

Les extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle ont été testés sur quatre souches de dermatophytes (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii*) aux concentrations respectives de 1, 10, 20, 40, 80, 160 et 320 mg/ml. Le kétoconazole (50µg) a été utilisé comme standard.

A l'issue de ces tests, l'extrait à l'acétate d'éthyle a manifesté l'activité antifongique la plus marquée, puisque cet extrait était actif à partir de la concentration de 10 mg/ml tandis que l'extrait au dichlorométhane ne l'a été qu'à partir de 80 mg/ml (figure 5 et 6). Kambou dans une étude du genre avait trouvé des résultats similaires [40]. Selon cette étude, l'extrait à l'acétate d'éthyle a manifesté l'activité antifongique la plus marquée sur les mêmes types de dermatophytes. Cependant, cet extrait était actif à partir d'une concentration plus faible (1 mg/ml) que celle (10 mg/ml) trouvée dans notre étude.

Cette différence pourrait s'expliquer par la sensibilité des germes et/ou par la taille de l'inoculum utilisé. La teneur des extraits en principes actifs pourrait également expliquer cette différence.

L'extrait à l'acétate d'éthyle étant le plus actif pourrait servir à isoler et à identifier la ou les molécules antifongiques de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). Des études menées par Kambou en 1998, et par Kaboré en 1999, ont mis en évidence l'acide ursolique dans une fraction antifongique de l'extrait à l'acétate d'éthyle de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) [38, 40]. L'acide ursolique pourrait être suspecté comme étant responsable de l'activité antifongique de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*).

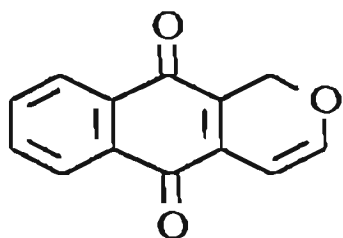
Ainsi, l'acide ursolique isolé de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) et l'acide ursolique du commerce ont été testés sur des souches de dermatophytes. Les deux types d'acide ursolique testés aux concentrations respectives de 10, 20, 30 et 40

mg/ml n'ont manifesté aucune activité antifongique. L'acide ursolique semble donc ne pas être à l'origine de l'activité antifongique de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) du moins lorsqu'il est utilisé seul. Es-Saady et Coll. en 1994, dans l'étude sur les effets biologiques de l'acide ursolique, n'avaient pas noté que cette substance présentait une activité antifongique sur des dermatophytes [25]. Ils ont par contre noté une activité antifongique contre des levures du genre *Candida* (*Candida albicans*) avec une concentration minimale inhibitrice comprise entre 100 et 700 mg/ml.

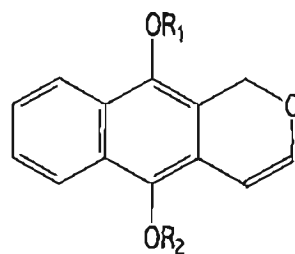
Néanmoins, l'acide ursolique possède des propriétés anti-inflammatoire et antibiotique [25], ce qui probablement lui permettent d'intervenir dans le traitement des dermatoses et des teignes, puisque la physiopathologie de celles-ci fait apparaître des réactions inflammatoires et des suppurations.

Le traitement des dermatoses et des teignes (réaction inflammatoire importante) associe parfois un antifongique à un corticoïde comme anti-inflammatoire (Daktacort®, Pevisone®) [55]. Cependant, comme les corticoïdes présentent l'inconvénient d'augmenter l'intensité des lésions mycosiques, l'acide ursolique pourrait être associé aux molécules antifongiques pour pallier à cela.

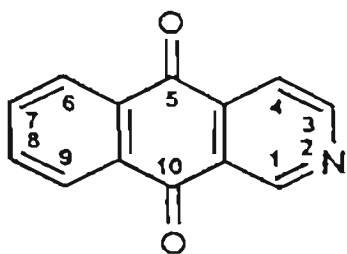
Par ailleurs, l'harounoside et l'azaanthraquinone pourraient intervenir dans l'activité antifongique de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) eu égard à leur analogie de structure avec le pentalongin, molécule antifongique identifiée dans la drogue fraîche de cette plante.



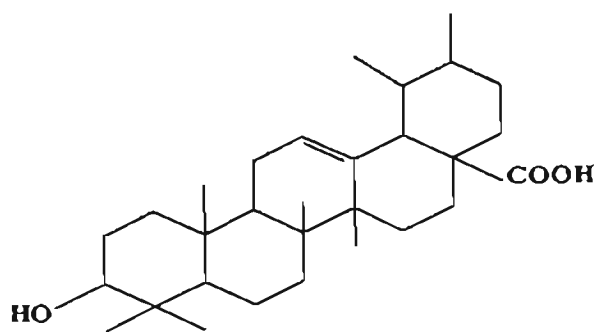
pentalongin



$R_1 = R_2 = \text{Glucose}$
Harounoside



Azaanthranquinone



Acide ursolique

En effet, aussi bien l'harounoside que l'azaanthraquinone sont des dérivés de la pentalongin. L'harounoside est un dérivé glucosé tandis que l'azaanthraquinone présente d'une part un atome d'azote en lieu et place de l'oxygène intracyclique de la pentalongin, et d'autre part une insaturation supplémentaire dans le cycle azoté.

Ces différences structurales peuvent influencer l'activité biologique des dérivés de la pentalongin, soit en accentuant l'activité antifongique, soit en la diminuant ou en la complétant. Il est en effet connu que la modification structurale d'un composé a des répercussions sur son activité chimique biologique ou physique (point de fusion, polarité, indice de réfraction etc).

Cependant, l'acide ursolique présente une différence notable avec la pentalongin et ses dérivés ci-dessus cités. Malgré son inactivité antifongique que nous avons observé, sa présence dans la fraction active des extraits de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae), reste un indice important suggérant la réalisation d'autres investigations pouvant conduire à la détermination de sa contribution dans l'activité antifongique des extraits de la plante.

CONCLUSION ET SUGESTIONS

CONCLUSION ET SUGGESTIONS

Mitracarpus scaber Zucc (*Rubiaceae*) est une herbe annuelle connue et utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement des dermatoses et des teignes.

Des travaux réalisés par Yaméogo, Ekpendu et coll., Bonga et coll., Mobié et coll., Adewole et coll., Sanogo et coll., Irobi et coll., Kambou, ont permis de justifier cette utilisation traditionnelle [5, 12, 24, 36, 40, 46, 60, 73]. Moulis et Coll. ont identifié dans la drogue fraîche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) une molécule antifongique : le pentalongin [47]. Ekpendu et Coll., Harouna et Coll., Kaboré ont identifié dans la drogue sèche de la même plante respectivement l'azaathranquinone, l'harounoside, l'acide ursolique [24, 34, 38]. L'implication de ce dernier dans l'activité antifongique de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) n'a pas encore été confirmée ni d'ailleurs infirmée.

Néanmoins, depuis les travaux de Kaboré, nous avons suspecté l'acide ursolique d'être à l'origine ou de contribuer à l'activité antifongique de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*) [38]. La présente étude, dont l'objectif principal était de vérifier cette assertion a permis de noter que ni l'acide ursolique isolé de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*), ni celui acheté dans le commerce n'a manifesté une activité antifongique contre les souches de dermatophytes utilisées : *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii*.

Ce résultat semble montrer que l'acide ursolique n'est pas à l'origine de l'activité antifongique de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). En revanche, l'acide ursolique possède des propriétés anti-inflammatoire et antibiotique qui lui permettent d'intervenir dans le traitement des dermatoses et teignes [25].

Par ailleurs, l'harounoside ou l'azaanthraquinone pourrait être suspectée d'intervenir dans l'activité antifongique de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). En effet, ces molécules présentent une analogie de structure avec le pentalongin, molécule antifongique identifiée dans la drogue fraîche de la plante.

Au terme de cette étude, nous suggérons que :

- Des études complémentaires soient effectuées afin d'isoler et d'identifier les supports moléculaires de l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae).
- Des investigations supplémentaires pour déterminer la contribution de l'acide ursolique dans l'activité antifongique des extraits de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae).
- Une préparation galénique antifongique à partir de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae).
- Des essais cliniques soient effectués avec cette forme galénique.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

1-Adjanohoun E J, Ahyi M R A, Ake A L, Dan Dicko L, Daouda H, Delmas M, De Souza S, Garba M, Guinko S, Kayonga A, N'golo D, Raynal J-L, Saadou M. Médecine traditionnelle et pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger. 2è édition. Paris : ACCT, 1985 : 142.

2-Adjanohoun E J, Ahyi M R A, Adjakidje V, Aké A L, Akoegninou A, Dalmeida J. Médecine traditionnelle et pharmacopée : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Bénin. Paris : ACCT, 1986 : 464.

3-Adjanohoun E J, Ahyi M R A, Aké A L, Akpagana K, Chibon P, El-Hadji A, Gbeassor M, Goudote F, Ginko S, Hodouto K, Lo I, Siameivi K M, Houngnou P, Kelta A, Kéoula Y, Kluga-ocloo W P, Taffame K K. Médecine traditionnelle et pharmacopée : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. Paris : ACCT, 1986 : 317.

4-Adjanohoun E J, Floret J J, Guinko S, Koumaré M, Ayi M R A, Raynal J-L, Aké A L. Médecine traditionnelle et pharmacopée : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali. 4è édition. Paris : ACCT, 1986 : 20-64.

5-Adewole L O, Clark A M, Hufford C D, Oguntimein O. Azaanthraquinone : an antimicrobial alkaloid from *Mitracarpus scaber*. *Planta Med.* 65, 1999 : 447- 448.

6-Agneray J, Bourlioux P, Doutrepuich C, Farinotti R, Pays M. *Infectiologie.* Paris : Groupe Liaisons SA, 1995, (5) : 335-369.

7-Akbarsha M A, Palanisamy M, Murugaian P, Lakshmi Latha P N. Ursolic Acid Generates Symplasts in Rat Spermatogenic Clones. *Phytotherapy Research*, (12), 1998 : 32-36.

8-Baba-Moussa F, Akpagana K, Bouchet P. Antifungal activities of seven West African Combretaceae used in traditional medicine. *Journal of ethnopharmacology*, (66), 1999 : 335-338.

9-Badillet G, Traoré F. Dermatophytes et sérologie HIV positive. Bull. sco. Fr. Mycol. Méd., 1987 : 16, (1), 95-98.

10-Bazex J. Intertrigo : Orientation diagnostic. Rev. Prat. Paris : 1992, (42), 13 : 1689-1692.

11-Bazex J, Loche F. Les infections à dermatophytes de la peau glabre et des plis : diagnostic et traitement. Rev. du Prat. Paris : 1996, 46, 1135-1139.

12-Bonga G M, Vangah -Manda M, De Souza C, Guede-guina F R. Mise en évidence de phytostéroïdes antifongiques contre *Cryptococcus neoformans*. Revue méd. Pharm. Afr., 1995, 9, (1) : 21-28.

13-Bouchet Ph. Abrégé de cryptogamie. Paris : Masson, 1979 : 170-177.

14-Bouchet Ph, Guignard J L, Madulo-Leblond G, Regli P. Abrégé de Mycologie générale et médicale. Paris : Masson, 1989 : 179.

15-Bourée P. Aide mémoire de parasitologie. Paris : Flammarion, 1983 : 289.

16-Bourée P. Maladies tropicales. Paris : Masson, 1987 : 135-137.

17-Bouquet A. Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo (Brazzaville). Paris : ORSTOM, 1969 : 211.

18-Caumes E. Atlas dermatologique du sida. Paris : Interligne, 1996 : 84-89.

19-Chouvalova E. Les maladies tropicales. Moscou : MIR, 1984 : 191-220.

20-Compaoré L. Etude des teignes du cuir chevelu en milieu scolaire dans la ville de Ouagadougou (Burkina Faso). Thèse Méd.1993, Fac. des Sciences de la Santé, Ouagadougou, 66 p.

21-Dorvault F. L'officine. 21e édition. Editions Vigot, Paris : 1982 : 175 - 180.

22-Dubertret L. Thérapeutique dermatologique. 1ère édition. Flammarion : Paris, 1991: 142-148.

23-Ekpendu T O E, Adesomoju A A, Ekundayo O, Okogun J I. Constituants of the volatile oil of *Mitracarpus scaber* Zucc. *Flavour and Fragrance Journal*, (8), 1993 : 269-271.

24-Ekpendu T O E, Akah B A, Adesomoju A A, Okogun J I. Anti-inflammatory and antimicrobial activities of *Mitracarpus scaber* extracts. *International Journal of Pharmacognosy*. 32, 1994 : (2), 191-196.

25-Es-Saady D, Naji A, Simon A, Chulia A J, Delage C. Effets biologiques de l'acide ursolique : Aperçu et perspectives. *Lyon Pharmaceutique*, 1994 : 45, (7), 399-404.

26-Esterre P, Bolron P, Agis F. Bilan des mycoses humaines rencontrées en Guadeloupe. *Bull. Sco. Path. Exo.*, 76, 1983 : 761-765.

27-Fabre J. Thérapeutique médicale. 2è édition. Paris : 1983 : 169-179.

28-Farnsworth N R, Akerele O, Bingel S A, Soejarto D D, Guo Z. Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bull. de l'OMS*, 64 (2), 1986 : 159-175.

29-Gentillini M, Duflo B. Médecine tropicale. 5è édition. Paris : Flammarion, 1993 : 247-250.

30-Germano'M P, Sanogo R, Costa C, Fulco R, D'Angelo V, Torre A E, Viscomi M G, De Pasquale R. Hepatoprotective Properties in the rat of *Mitracarpus scaber* (Rubiaceae). *Journal of pharmacy and pharmacology*.1999, 51 : 729-734.

31-Guigma Y I. Etude des agents des mycoses cutanéophanérogues à Bobo Dioulasso. Thèse de pharmacie. République de Côte d'Ivoire. 1996 : 96 p.

- 32-Guiguemdé T R, Tapsoba G P, Paré J L, Sawadogo O N.** Données préliminaires sur les mycoses cutanéophanérogues à Ouagadougou (Burkina Faso). *Med. Tropicale* 1992 ; 52 : 151-155.
- 33- Grigoriu D, Delcrétaz J, Borelli D.** *Traité de mycologie médicale*. 2^e édition, Paris : Doin, 1986 : 492.
- 34-Harouna H, Faure R, Riad E, Debrauwer L, Saadou M, Balansard G, Boudon G.** Harounoside a pentalongin hydroquinone diglycoside from *Mitracarpus scaber*. *Phytochemistry*, 39, (6), 1995 : 1483-1484.
- 35-Hugo D.** Nouveaux antifongiques dans le traitement des mycoses cutanées superficielles. *Ann. Dermatol. Vénéreol.* 1993, 120 : 21-31.
- 36-Irobi O, Daramola S O.** Antifungal activities of crude extracts of *Mitracarpus villosus* (*Rubiaceae*). *Journal of ethnopharmacology*.1993 ; 40 : 137-140.
- 37-Jacquemin P, Jacquemin J-L.** *Abrégé de parasitologie clinique*. 3^e édition, Paris : Masson, 1987 : 241-250.
- 38-Kaboré W N R.** Contribution à l'étude structurale d'un principe antifongique isolé de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). Thèse de Pharm. Université de Ouagadougou, 1999, (33), 5-11.
- 39-Kalanda K, Bolamba K.** Contribution à la connaissance des plantes médicinales du Haut Zaïre : Les plantes utilisées contre les maladies de la peau à Kisangani. *Revue Méd. Pharm. Afr.*,1994, 8, (2) : 179-186.
- 40-Kambou Y S E.** Contribution à l'étude de l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber* Zucc (*Rubiaceae*). Thèse de Pharm. université de Ouagadougou 1999 : No17.
- 41-Kerharo J, Adam J G.** *La pharmacopée sénégalaise traditionnelle : plantes médicinales et toxiques*. Paris : Vigot Frères, 1974 : 692.

42-Laboratoires Cilag-chimie. Epidémiologie des dermatomycoses. Econazole : Pévaryl. Laboratoire Cilag-chimie : Paris, 1977 : 5-39.

43-Larivière M, Beauvais B, Derouin F, Traoré F. Parasitologie médicale. Paris : édition Marketing, 1987 : 212-218.

44-Le Guyadec J, Le Guyadec T. Quelle prévention des teignes en milieu scolaire ? Ann. Dermatol.Vénérolog. 2000 ; 127 : 450-454.

45-Mestre-Deharo C, Berbis Ph, Regli P, Goudard M, Privat Y. Incidence des dermatophytes d'importation à Marseille : Bilan de 3 ans d'activité d'un laboratoire hospitalier de mycologie. Ann. Dermatol.Vénérolog., 1999, 116 : 489-490.

46-Mobié M, Bonga G M, Vangh-Manda M, De Souza C, Guede-Guina F R. Action antifongique d'une huile végétale sur *Trichophyton rubrum*. Revue Méd. Pharm. Afr. 1997-1998, (11-12) : 185-192.

47-Moulis C, Pélissier Y, Damba D, Fouraste I. Pentalogin, an antifungal naphthoquinoid pigment from *Mitracarpus scaber*. Second International Congress on Ethnopharmacology, (1992) Uppsala, Sweden.

48-Nacoulma G O. Plantes médicinales et pratiques médicinales traditionnelles au Burkina Faso. Cas du plateau central. Tome 2. Doctorat ès sciences naturelles université de Ouagadougou 1996 : 187-282.

49-Nikiéma J-B. Contribution à l'étude phytochimique de *Lepdenia hastata*. Doctorat ès sciences pharmaceutiques. Université Libre de Bruxelles. 1997.

50-Ntsame-obame S, Badiane M, Daffe B M, Richard Temple A, Diallo S, Lo I, Diagne S. Plantes de la pharmacopée sénégalaise : Activité antifongique « in vitro » des folioles de diverses espèces sénégalaises du genre *Cassia* : *Cassia alata* L., *Cassia siberiana* D.C., *Cassia occidentalis* L., *Cassia Tora*. (*Caesalpiniaceae*). Revue Méd. Pharm. Afr., 1991, 5, (1) : 49-54.

51-O'Fel A. Parasitologie Mycologie : Maladies parasitaires et fongiques. Association des professeurs de parasitologie. 3è édition. Paris : Edition Crouan et Roques, 1982 : 349.

52-O.M.S. Rapport du premier atelier inter-pays sur les médicaments traditionnels (Burkina Faso, Guinée, Mali). Ouagadougou : O.M.S., 1994.

53-O.M.S. Médicaments utilisés en dermatologie : Mycoses Superficielles. Genève : O.M.S., 1999 : 14-15.

54-O.M.S., U.I.C.N., W.W.F. Principes directeurs pour la conservation des plantes médicinales. O.M.S., 1993 : 57p.

55-Peyron N, Picot E, Meynadier J. Infection à dermatophytes de la peau glabre et des plis : Diagnostique et traitement. Rev. Prat., Paris : 1993, 43, 4 : 507-512

56-Pialat J P, Hoffman P, Moulis C, Fouraste I, Labiadalle S. Synthesis and extraction of pentalogin, a naphthoquoid from *Mitracarpus scaber*. Natural Product Letters 1998, (12) : 23-30.

57-Pierard G E, Caumes E, Franchimont C, EstradaJ A. Dermatologie tropicale. Editions de l'université de Bruxelles, Bruxelles : 1993 : 273-280.

58-Plouvier V. Complément sur la répartition de l'acide ursolique dans quelques groupes de dicotylédones. C. R. Acad. Sc. Paris, 280, 1975 : 653-656.

59-Regli P, Goudard M, Berbis P, Latourelle P, Privat Y. Dermatophytes d'importation : Incidence sur le bilan annuel d'activité d'un laboratoire de mycologie en dermatologie hospitalière. Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd., 1987, 16, (1) : 91-94.

60- Sanogo R, Germano M P, De Pasquale R, Keita A, Bisignano G. Selective antimicrobial activities of *Mitracarpus scaber* Zucc against *Candida* and *Staphylococcus* sp. Phytomedine. 1996 ; 2 (3) : 265-268.

61-Savel J. Mycologie médicale, le praticien et les voyages tropicaux : épidémiologie clinique et diagnostic thérapeutique. Diffusion Edition Publicité pour les laboratoires Roland-Marie, Montreuil : 1975 : 314-325.

62-Sayag Y. Trichophytos : Un siècle de progrès. Ann. Dermatol. Vénéreol., 1989, 116 : 947-954.

63-Stalder J F, Litoux P. Mycoses cutanées superficielles : Généralités. Prat. Med., 1986, 36, 5-7.

64-Tapsoba M L G. Contribution à l'étude des mycoses cutané-phanériennes et de leurs agents étiologiques dans les consultations dermatologiques à Ouagadougou (Burkina Faso). Thèse de Méd. 1991, Fac. des Sciences de la Santé de Ouagadougou 83p.

65- Testa J. Les mycoses en République centrafricaine : Aspects Epidémiologique, clinique et thérapeutique. Mémoire de DEA en Santé Publique ; Paris VI, 1987 ; 100p.

66-Testa J, Kaimba C, Delmont J. Traitement traditionnel des teignes en RCA. Revue Méd. Pharm. Afr., 1991, 5, (2) : 151-154.

67-Touraine R, Revuz J. Abrégé de dermatologie clinique et vénéréologie. 3è édition Paris : Masson, 1991.

68-Tourte-Schaefer C, Dupouy-Camet J, Viscens I, Viguié C, Ancelle T, Agbo K, Lapierre J. Aspects épidémiologiques des teignes du cuir chevelu au Togo. Bull. Sco. Path. Exo., 84, 1991, 673-674.

69-Traoré A, Kouéta F, Kyélem N, Yé D, Kam K L, Sanou I, Dao L, Sawadogo A S. Les dermatoses infectueuses de l'enfant dans un service de dermatologie en milieu tropical (Burkina Faso). Burkina Médical, 2, (2), 1998 : 40-43.

70-Viguié-Vallanet C. Les teignes. Ann. Dermatol. Vénéreol., 1999 ; 126 : 349-356.

71-Vlietinck A J, De Bruyne T, Aspens and L A Pieters. Plant-Derived Leading Compounds Chemotherapy of Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection. *Planta Medica* 64, 1998 : 97-109.

72-Wasternack C, Atzorn R, Blume B, Léopold J, Parthier B. Ursolic acid inhibits synthesis of jasmonate-induced proteins in Barley leaves. *Phytochemistry*, 35, (1), 1994 : 49-54.

73-Yaméogo A M. Contribution à l'étude d'une plante spontanée sénégalaise utilisée en médecine traditionnelle locale, *Mitracarpus scaber* Zucc (1827) Rubiaceae. Thèse de pharm. Université de Dakar 1982, No29.

74-Yanoní-Angate A. Le développement de la recherche clinique en médecine traditionnelle. *Revue Med. Pharm. Afr.* 1993, 7, (2) : 148-149.

75-Zouré D. Les médecins face à la médecine traditionnelle au Burkina Faso. Mémoire de Maîtrise en Sociologie 1996 ; Faculté des Langues, des Lettres, des Arts, des Sciences Humaines et Sociales ; Université de Ouagadougou.

Des études ont permis d'identifier dans la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae) plusieurs molécules notamment l'harounoside, l'azanthraquinone, l'acide ursolique. Cependant, l'implication de ces molécules dans l'activité antifongique de la drogue sèche de cette plante n'a pas encore été établie. Une étude récente a permis de suspecter l'acide ursolique d'intervenir dans l'activité antifongique de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae).

C'est la raison pour laquelle, nous avons entrepris d'étudier la contribution de l'acide ursolique dans l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae). Au cours de cette étude, nous avons d'abord comparé l'activité antifongique des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle sur les souches de dermatophytes les plus isolées au Burkina Faso et selon un protocole mis au point. En effet, une CCM analytique a mis en évidence l'acide ursolique dans ces deux extraits.

A l'issue de ces tests, l'extrait à l'acétate d'éthyle a manifesté l'activité antifongique la plus marquée sur *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii*.

L'acide ursolique isolé de cet extrait par CCM préparative et l'acide ursolique du commerce ont été testés sur les mêmes souches de dermatophytes, aux concentrations respectives de 10, 20, 30 et 40 mg/ml. Aucune activité antifongique n'a été notée.

L'acide ursolique semble ne pas avoir une l'activité antifongique sur les souches de dermatophytes testées, du moins lorsqu'il est utilisé seul. Néanmoins, il possède des propriétés antibiotique et anti-inflammatoire qui lui permettent d'intervenir dans le traitement des teignes et des dermatoses.

Par ailleurs, l'harounoside ou l'azanthraquinone pourrait être suspecté d'intervenir dans l'activité antifongique de la drogue sèche de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae) eu égard à leur analogie de structure avec la pentalongin, molécule antifongique identifiée dans la drogue fraîche de la même plante.

Mots clés : *Mitracarpus scaber* Zucc, Acide ursolique, Activité antifongique

ATTESTATION DE CORRECTION

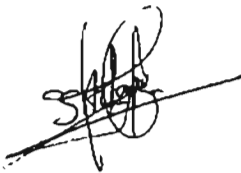
Nous soussignés, certifions avoir revu la thèse de Melle BALIMA Raïssa Nathalie intitulée :
« Contribution de l'acide ursolique dans l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber* Zucc
(Rubiaceae). »

Fait à Ouagadougou, le 30 juillet 2002

Directeur de thèse



Président du jury



P. A. SABA