

BURKINA FASO
UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU
UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES DE LA SANTE

Année universitaire -2000-2001

Thèse N° 07

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE
L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DE
Borassus aethiopum Mart.
(Arecaceae)**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 15 Mars 2001
Pour l'obtention du grade de Docteur en PHARMACIE
DIPLOME D'ETAT

Par

GNANOU DAHODA

Né le 23 Décembre 1972 à Oress-Krobou (R.C.I)

JURY

Président : Pr E. BASSENE (Faculté de Médecine, Pharmacie de Dakar)

Membres Pr A. SABA (UFR/SEA Université de Ouagadougou)

Pr A. TRAORE (UFR / SDS Université de Ouagadougou)

Dr J. -B. NIKIEMA (UFR / SDS Université de Ouagadougou)

Dr L. K. TRAORE (UFR / SDS Université de Ouagadougou)

Directeur de Thèse : Pr B. KOUDOGBO Codirecteurs : -Dr J.-B. NIKIEMA

-Dr L. K. TRAORE

LISTE DU PERSONNEL

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

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

LISTE DU PERSONNEL ADMINISTRATIF

Directeur	Pr. Amadou SANOU
Directeur Adjoint	Pr. Ag. Y. Joseph DRABO
Directeur de la Section Pharmacie	Pr. I. Pierre GUISSOU
Directeur de la Section Technicien Supérieur de la Santé	Pr. Blaise KOUDOGBO
Directeur des Stages de la Section Médecine	Pr. Ag. Y. Joseph DRABO
Directeur des Stages de la Section de Pharmacie	Dr. OUEDRAOGO / Rasmata TRAORE
Directeur de la Section Technicien Supérieur de la Santé	Pr. Blaise KOUDOGBO
Coordonnateur C.E.S. de Chirurgie	Pr. Amadou SANOU
Secrétaire Principal	M. Fakouo TRAORE
Chef de Service Administratif et Financier (C S A F)	Mme Christine NARE
Conservateur de la Bibliothèque	M. Salif YADA
Chef de la Scolarité	Mme Kadi ZERBO
Secrétaire du Directeur	Mme Habi KEITA
Secrétaire du Directeur Adjoint	Mme KABRE Hakiéta
Audiovisuel	M. Alain Pascal PITROIPA
Reprographie	M. Abdoulaye BAGUYAN
Service Courrier	M. Ousmane SAWADOGO

LISTE DES ENSEIGNANTS DE L'UFR/SDS

ENSEIGNANTS PERMANENTS

Professeurs titulaires

Rambré Moumouni OUMINGA	Anatomie organogenèse 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

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

Maitres de Conférences

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

Assistants associés

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

Maitres-Assistants

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
Boubacar TOLRE	Gynéco-Obstétrique
Michel AKOTIONGA	Gynécologie-Obstétrique

Rasmata	OUEDRAOGO/TRAORE	Bactério-Virologie
Alain	ZOUBGA	Pneumologie
Boubacar	NACRO	Pédiatrie
Abel	KABRE	Neuro-Chirurgie
DAO / Maïmouna	OUATTARA	ORL
KYELEM / Nicole Marie	ZABRE	Maladies Infectieuses
TRAORE / Antoinette	BELEM	Pédiatrie
Kapouné	KARFO	Psychiatrie
Timothée	KAMBOU	Chirurgie
Jean Baptiste	NIKIEMA	Pharmacognosie
Ali	NTAKARA	Cardiologie

Assistants Chefs de cliniques

T.Christian	SANOUE (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
K. André	SAMANDOULOGOU	Cardiologie
Rigobert	THIOMBIANO	Maladies Infectieuses
Raphaël	DAKOURE	Anatomie-Chirurgie

Assistants

O Robert.	ZOUNGRANA	Physiologie
Bobliwendé	SAKANDE	Anatomie-Pathologique
Raphaël	SANOU (in memoriam)	Pneumo-phthisiologie
Oumar	TRAORE N°2 (in memoriam)	Radiologie
Pingwendé	BONKOUNGOU	Pédiatrie
Arsène M. . D.	DABOUE	Ophthalmologie
Nonfounikoun Dieudonné	MEDA	Ophthalmologie
Athanase	MILLOGO	Neurologie
Vincent	OUEDRAOGO	Médecine du Travail
Christophe S.	DA	Chirurgie
Nazinigouba	OUEDRAOGO	Réanimation
Aurélien Jean	SANON	Chirurgie
LOUGUE / SORGHO	Claudine	Radiologie
YE / OUATTARA	Diarra	Pédiatrie
Bernabé	ZANGO	Chirurgie
Valerie L. Adélaïde	NEBIE	Cardiologie
Blandine	THIEBA	Gynécologie-Obstétrique
Abdel Karim	SERME	Gastro-Enterologie
Moussa	BAMBARA	Gynécologie-Obstétrique
Fatou	BARRO	Dermatologie
Olga	LOMPO	Anatomie Pathologique
Appolinaire	SAWADOGO	Gastro-Entérologie
Martial	OUEDRAOGO	Pneumo-Phtisiologie
Moussa	KERE	Santé Publique

Appolinaire	SAWADOGO	Gastro-Entérologie
Martial	OUEDRAOGO	Pneumo-Phtisiologie
Moussa	KERE	Santé Publique
Laurent	OUEDRAOGO	Santé Publique
Innocent	NACOUлма	Orthopédie-Traumatologie
Pascal. Antoine	NIAMPA	Dermatologie
MILLOGO/TRAORE	Françoise Danielle	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

Assistants Biologistes des Hôpitaux

Lassina	SANGARE	Bactério-Virologie
Idrissa	SANOU	Bactério-Virologie
Harouna	SANON	Hématologie/Immunologie
Issa	SOME	Chimie Analytique
Rasmané	SIEMDE	Galénique

Assistants associés

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

ENSEIGNANTS NON PERMANENTS

Unité de Formation et de Recherche en Sciences Exactes et Appliquées (UFR/SEA)

Professeurs Titulaires

Akry	COULIBALY	Mathématiques
Laou Bernard	KAM (in memorian)	Chimie
Guy V.	OUEDRAOGO	Chimie Minérale

Maîtres de Conférences

Boukary	LEGMA	Chimie-Physique Générale
François	ZOUGMORE	Physique
Adama	SABA	Chimie Organique

Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre (UFR / SVT)**Professeurs Titulaires**

Alfred S.	TRAORE	Immunologie
Sita	GUNKO	Botanique-Biologie Végétale
Laya	SAWADOGO	Physiologie-Biologie Cellulaire
Patoin Albert	OUEDRAOGO	Zoologie

Maîtres de Conférences

Philippe	SANKARA	Cryptogamie-Phytopharmacie
Gustave	KABRE	Biologie Générale

Maîtres-Assistants

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

Assistants

Apolinaire	BAYALA (in memoriam)	Physiologie
Jeanne	MILLOGO	T.P. Biologie-Végétale

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

Didier	ZONGO	Génétique
--------	-------	-----------

ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mme Henriette BARY		Psychologie
Aimé	OUEDRAOGO	Ophtalmologie
R. Joseph	KABORE	Gynécologie-Obstétrique
Dr Bruno	ELOLA	Anesthésie-Réanimation
Dr Michel	SOMBIE	Planification
Dr Nicole	PARQUET	Dermatologie
M.	GULLERET	Hydrologie
M. DAHOU (in memoriam)		Hydrologie
Dr Bréhima	DIAWARA	Bromatologie
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 Aline	TIENDREBEOGO	Chimie Analytique et contrôle medic.
Dr Noël	ZAGRE	Nutrition
Dr TRAORE / COULIBALY Maminata		Biochimie
Dr Seydou	SOURABIE	Pharmacognosie

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

Pr. Lamine	DIAKHATE	Hématologie (Dakar)
Pr. Abibou	SAMB	Bactério-Virologie (Dakar)

Pr. José Marie AFOUTOU	Histologie-Embryologie (Dakar)
Pr. Makhtar WADE	Bibliographie (Dakar)
Pr. M. K .A. EDEE	Biophysique (Lomé)
Pr. Ag. Mbayang NDIAYE-NIANG	Physiologie (Dakar)
Pr. Ag. R DARBOUX	Histologie-Embryologie (Bénin)
Pr. Ag. E. BASSENE	Pharmacognosie (Dakar)
Pr M. BADIANE	Chimie Thérapeutique (Dakar)
Pr B. FAYE	Pharmacologie (Dakar)

O.M.S.

Dr Jean-Jacques BERJON	Histologie-Embryologie (Creteil)
Dr Frédéric GALLEY	Anatomie Pathologique (Lille)
Dr Moussa TRAORE	Neurologie (Bamako)
Pr. Auguste KADIO	Pathologies infectieuses et parasitaires (.Abidjan)
Pr Jean Marie KANGA	Dermatologie (.Abidjan)
Pr. Arthur N'GOLET	Anatomie Pathologique (Brazzaville)

Mission Française de Coopération

Pr. Etienne FROGE	Médecine Légale
Pr AYRAUD	Histologie-Embryologie
Pr. Henri MOURAY	Biochimie (Tours)
Pr. Denis WOUESSI DJEWE	Pharmacie Galénique (Grenoble / France)
Pr. M. BOIRON	Physiologie

Mission de l'Université Libre de Bruxelles (ULB)

Pr. Marc VAN DAMME	Chimie Analytique-Biophysique
Pr. Viviane MOES	Galénique

DEDICACES

A mon Cher Père

Merci pour tout l'effort consenti pour moi et le soutien permanent que tu m'as apporté.

A ma très chère Mère

Merci pour tout ce sacrifice et longue vie à toi maman. Affectueusement.

A Cher Tonton Damas et famille

Merci infiniment. Tu représentes pour moi un 2nd Père.

A mes Frères et Sœurs

Que le tout Puissant veille sur vous et vous accompagne toute votre vie !

En mémoire de YAYA

Que le Seigneur t'accueille auprès de lui !

A la grande Famille KOUASSI-BOSSON

Merci pour l'hospitalité

En mémoire de J-B KOUA

Merci encore et repose en paix.

REMERCIEMENTS

Aux grandes familles YAO, GNANOU, et TRAORE

Merci.

A la famille YRA

Merci pour le soutien logistique.

A la Famille Gnamba

Recevez l'expression de toute ma reconnaissance.

A tous mes Amis et Amies

Bibiane, Fidel, Alassane, Fati, Combary, Ahoua, Abdoulaye, Daouda, Boukary, Dieudonné, Ludovic et tous ceux dont les noms n'ont pu être cités, merci à vous.

A mes Promotionnaires

Merci pour la collaboration lors de ce long parcours parsemé d'embûches.

Au Personnel de l'IRSS

En particulier Mrs YARRO, KADEBA, Drs LOMPO, SOME... Merci pour votre aide..

Aux Drs I. SOME, S. TRAORE, C. BRIQUET ET V. MURAILLE

Recevez tous mes remerciements.

A tout le Personnel du laboratoire de biologie du CHN-YO

En particulier ceux des services de parasitologie et de bactériologie, merci pour le soutien matériel.

Au Personnel du Service de Dermatologie et Vénérologie du CHN-YO.

Drs BARRO, NYAMBA, Pr TRAORE et tous les autres agents, veuillez accepter tous mes remerciements pour votre contribution.

Au Personnel du laboratoire d'analyse Sainte Elizabeth

Je vous suis reconnaissant pour cette collaboration.

A mes oncles et tantes

Kalifa, Moussa, Zama, Lamfiè, merci.

A M^{me} KABORE de la Pharmacie de l'hôpital et son

Personnel

Merci pour votre contribution.

Au Dr SANOU du Camp de l'Unité

Recevez tous mes remerciements pour le milieu de culture.

Au Dr Sawadogo de la Pharmacie de la Fraternité et son

Personnel

Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

A tous mes Enseignants

Merci pour m'avoir fait bénéficier de votre savoir qui fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A tous mes correspondants

Merci pour votre soutien.

A NOS MAITRES ET JUGES

A notre Maître et Président du Jury

Professeur Emmanuel BASSENE

Enseignant de Pharmacognosie

Vos qualités professionnelles et scientifiques ne sont plus à démontrer.

C'est d'ailleurs à juste titre que vous acceptez juger ce travail.

Nous vous en sommes profondément reconnaissant.

A notre Maître et Directeur de Thèse

Professeur Blaise KOUDOGBO

Enseignant de Toxicologie

Nous avons apprécié en vous votre attachement au travail bien fait et surtout votre gentillesse et votre simplicité. Nous vous prions d'accepter ici, la manifestation de notre sincère et entière satisfaction.

A notre Maître et Codirecteur de Thèse

Docteur Jean Baptiste NIKIEMA

Enseignant de Pharmacognosie

Nous avons retenu de vous un homme plein de gentillesse, de simplicité et surtout prêt à apporter son aide. Recevez ici l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Maître et Codirectrice de Thèse

Docteur Lady Kadiatou Marcelle TRAORE

Enseignante de Parasitologie et de Mycologie

C'est avec plaisir que vous avez accepté de co-diriger ce travail. Nous vous adressons tous nos sincères remerciements pour votre appui matériel et technique.

A notre Maître et Juge

Professeur Adama SABA

Enseignant de Chimie Organique

C'est avec plaisir et admiration que nous avons suivi le cours de chimie organique dispensé avec beaucoup de professionnalisme. Veuillez accepter l'expression de notre reconnaissance et nous vous remercions pour l'aide apporté lors de ce travail.

A notre Maître et Juge

Professeur Adama TRAORE

Enseignant de Dermatologie et de Cosmétologie

Notre intégration dans votre service s'est réalisée avec beaucoup de facilités. Nous vous remercions aussi bien pour cet accueil chaleureux, que pour votre enseignement qui nous a été d'un apport bénéfique pour ce travail.

SOMMAIRE

INTRODUCTION & BUT	1
GENERALITES.....	3
CHAPITRE 1 : Généralités sur les dermatophytes.....	3
1) Définition.....	3
2) Origine phylétique des dermatophytes.....	3
3) Classification.....	5
4) Epidémiologie.....	5
4-1) Origine et habitat.....	5
4-2) Distribution géographique.....	6
4-3) Mode de contamination.....	6
5) Diagnostic biologique.....	7
5-1) Prélèvement.....	7
5-2) Examen microscopique direct.....	7
5-3) Culture.....	8
5-4) Identification.....	8
5-5) Antifongigramme.....	9
6) Thérapeutique antifongique.....	9
6-1) Définition des antifongiques	9

6-2) Les moyens.....	10
6-2-1) Antifongiques naturels.....	10
6-2-2) Antifongiques chimiques.....	11

CHAPITRE 2 : Généralités sur *Borassus aethiopum*

Mart.	12
1) Rappels sur la famille.....	12
2) Origine phylétique de <i>Borassus aethiopum Mart.</i>	13
3) Description botanique.....	14
3-1) La tige.....	14
3-2) Les feuilles.....	14
3-3) Les fleurs.....	14
3-4) Les fruits.....	14
4) Répartition géographique.....	16
5) Noms en langues locales	16
6) Usages traditionnels.....	16
6-1) Usages alimentaires.....	16
6-2) Usages technologiques.....	17
6-3) Utilisations en médecine traditionnelle africaine	17

OBJECTIFS	19
1) Objectif général.....	19
2) Objectifs spécifiques.....	19
METHODOLOGIE	20
1) Cadre de l'étude.....	20
2) Matériel.....	20
2-1) Matériel végétal.....	20
2-2) Champignons.....	20
2-3) Matériel technique.....	22
2-3-1) Matériel d'étude phytochimique.....	22
2-3-2) Matériel d'essais pharmacologiques.....	22
3) Méthodes.....	23
3-1) Préparation des extraits végétaux.....	23
3-1-1) Extraction par le dichlorométhane.....	23
3-1-2) Extraction par le mélange dichlorométhane-méthanol 1:1v/v.....	24
3-1-3) Extraction par l'éthanol 95°.....	24
3-1-4) Extraction par l'eau distillée.....	24
3-2) Essais pharmacologiques des extraits végétaux.....	25
3-2-1) Essai pharmacologique préliminaire.....	25
3-2-2) Etude dose effet.....	25

3-3) Screening phytochimique.....	28
3-3-1) Recherche des triterpènes.....	28
3-3-2) Recherche des flavonoïdes.....	29
3-3-3) Recherche des saponosides.....	30
3-3-4) Recherche des tanins.....	30
3-3-5) Recherche des alcaloïdes.....	31
3-4)-Fractionnement de l'extrait au mélange dichlorométhane- méthanol 1:1 v / v.....	32
3-5) Test pharmacologique des fractions chromatographiques.....	33
3-6)-Traitement des données.....	33
RESULTATS	34
1)-Résultats de l'extraction.....	34
2)-Résultats de l'essai pharmacologique préliminaire.....	34
3)-Résultats de l'étude dose effet	35
4)-Résultats du screening phytochimique.....	41
5)-Résultats du fractionnement.....	45
6)-Résultats du test pharmacologique des fractions chromatographiques.....	48
COMMENTAIRES & DISCUSSION.....	49
CONCLUSION & PERSPECTIVES.....	54

RESUME.....	56
SUMMARY.....	57
ANNEXES.....	58
1) Liste des abréviations.....	58
2) Liste des formules chimiques.....	58
3) Liste des symboles.....	59
4) Liste des figures.....	59
5) Liste des tableaux.....	60
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	61

INTRODUCTION & BUT

La tradithérapeutique est une pratique utilisée depuis jadis par nos ancêtres pour le traitement de différentes affections. Elle tient encore une place importante de nos jours malgré les progrès de la médecine moderne. La médecine traditionnelle utilise généralement des plantes quelques fois aux propriétés multiples [21]. Bon nombre d'entre elles ont fait l'objet d'études scientifiques et leurs efficacités ont été démontrées. D'autres par contre demeurent encore peu ou mal connues. Il appartient donc aux chercheurs d'œuvrer à l'exploration de cette richesse naturelle que constituent les plantes. Cela permettrait non seulement de comprendre cette médecine, mais aussi de la valoriser et de la rationaliser à la lumière des techniques scientifiques modernes. Ainsi, de nouvelles molécules pourraient être isolées pour la mise au point de nouveaux médicaments, afin de lutter contre les germes devenus de plus en plus résistants aux antibiotiques actuels. Cet état de fait est conforté non seulement par la recrudescence de certaines maladies infectieuses, mais aussi par les difficultés éprouvées dans leur traitement [37]. C'est le cas de certaines affections fongiques qui nécessitent l'introduction dans l'arsenal thérapeutique de nouveaux médicaments plus efficaces.

Par ailleurs, la thérapeutique antifongique dispose d'une gamme assez variée de médicaments, mais leurs prix ne sont malheureusement pas à la portée de toutes les bourses. Il est donc important que d'autres voies de recherches soient explorées dans le but d'aboutir à des médicaments antifongiques financièrement plus accessibles. A ce titre, les plantes pourraient constituer une source importante de substances antifongiques.

Ainsi, au Burkina Faso, de nombreuses plantes sont traditionnellement utilisées pour le traitement des mycoses superficielles. Ces affections cutanéophanéariennes, dues à des champignons microscopiques sont assez fréquentes, car elles représentent plus de 14 % des consultations au CHN-YO.

Borassus aethiopum Mart., est bien connu en milieu traditionnel burkinabé comme ayant des propriétés antimycosiques. Ses fleurs mâles sont pour cela utilisées pour le traitement des mycoses cutanées, des escarres, de la gale [40 ; 41] et bien d'autres affections.

C'est la raison pour laquelle, nous nous proposons, de contribuer à la mise au point d'un phytomédicament antifongique en recherchant les propriétés biologiques de cette plante.

Après quelques éléments de généralités sur les dermatophytes et sur *Borassus aethiopum*, notre étude consistera à :

- Extraire la drogue végétale par des solvants de polarités croissantes,
- Tester les extraits obtenus sur des dermatophytes, dans le but d'évaluer leur activité,
- Effectuer un screening phytochimique des extraits actifs par chromatographie sur couche mince,
- Isoler la fraction la plus active par chromatographie sur colonne.

Ce travail, à notre connaissance, est le premier du genre en ce qui concerne *Borassus aethiopum*. Il constitue le point de départ d'une série d'études dont la finalité est de mettre au point un phytomédicament antifongique efficace et financièrement accessible.

GENERALITES

CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LES

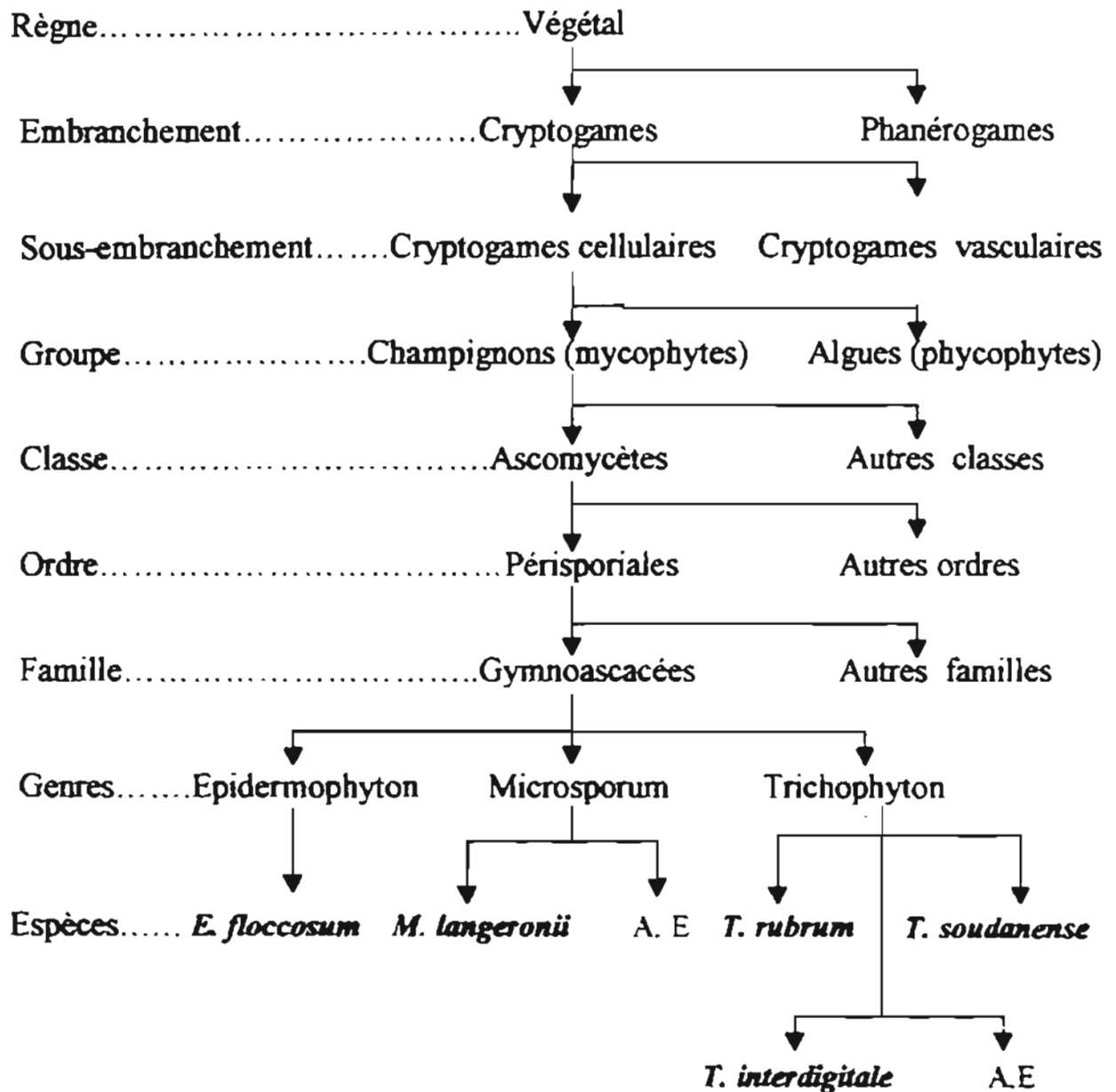
DERMATOPHYTES

1) Définition

Les dermatophytes sont des champignons filamenteux rattachés aux Ascomycètes, (famille des Gymnoascacées) [10]. Ils sont responsables des mycoses de la peau et ses annexes connues sous le nom de dermatophytoses ou encore dermatophyties [4 ; 23]. Ce sont des champignons kératophiles et qui sécrètent des substances antigéniques appelées trichophytine ou épidermophytine selon le genre [13].

2) Origine phylétique des dermatophytes

Se basant sur les classifications des champignons de Parmentier J. L. (1973) [44], Grigoriu D. et coll.(1986) [25] et Lutz L.[35], la filiation des dermatophytes peut être dressée comme l'indique la figure 1.



A E : Autres espèces

Figure 1 : Situation des dermatophytes étudiés dans le règne végétal

3) Classification

La classification actuellement en vigueur est celle de Emmons (1934). Il s'agit de la troisième grande classification après celles de Sabouraud (1910) et de Langeron et coll. (1930). Celle-ci, très simple, répartit les dermatophytes en trois genres en tenant compte de leurs caractères botaniques [11 ; 14 ; 25]. Il s'agit des genres Trichophyton, Microsporum et Epidermophyton.

-Genre Microsporum

Il présente des macroconidies de grande taille, fusiformes et verruqueuses. Les microconidies sont piriformes. Ce genre parasite les cheveux, les poils et la peau glabre.

-Genre Epidermophyton

Les macroconidies sont en massue à parois cloisonnées et minces, tandis que les microconidies sont généralement absentes. Il parasite exclusivement la peau.

-Genre Trichophyton

Les macroconidies sont allongées en saucisse et à parois minces. Les microconidies sont rondes ou piriformes. C'est un parasite de la peau, des ongles, des poils et des cheveux.

4) Epidémiologie

4-1) Origine et habitat

Le réservoir naturel des dermatophytes est le sol où ils vivent en saprophytes. Certains d'entre eux par contre, ne sont adaptés qu'à la vie

parasitaire. C'est le cas par exemple de *Trichophyton rubrum* et de *Trichophyton interdigitale*.

4-2) Distribution géographique

Les dermatophyties sont des affections cosmopolites, mais il existe quelques différences dans la répartition des espèces. En effet, *Trichophyton violaceum* et *Trichophyton scholeinii*, par exemple, sont plus fréquents en Afrique du Nord et au Proche Orient. Par contre *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton interdigitale* sont rencontrés partout [25]. Cette différence tend à s'atténuer de nos jours du fait du brassage des populations.

Au Burkina Faso, les études antérieures, menées par Tapsoba (1991) [46] Guiguemdé et coll. (1992) [28], Guigma (1996) [27] et Compaoré [18] ont montré une prédominance des trichophyties et des microsporidies.

4-3) Mode de contamination

Il varie selon le type de parasite :

* Parasites anthropophiles

La contamination est inter humaine, du malade au sujet sain ou par l'intermédiaire de matériels contaminés. (Exemple : *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton interdigitale*).

* Parasites zoophiles

L'homme se contamine par contact direct avec l'animal malade ou un poil parasite traînant sur le sol ou les meubles (cas de *Microsporum canis*,...).

* Parasites géophiles

La transmission à l'homme se fait par contact avec le sol et le fumier contaminés (cas de *Microsporum gypseum*).

5) Diagnostic biologique

Ce diagnostic permet de confirmer ou non le diagnostic posé par le clinicien. Il comporte plusieurs étapes successives [12 ; 15 ; 25] :

5-1) Prélèvement

La qualité du prélèvement est très importante en mycologie car les résultats de l'examen biologique en dépendent. Il doit donc être riche et fait avant tout traitement antifongique ou après une fenêtre thérapeutique d'au moins cinq jours. Plusieurs techniques peuvent être utilisées selon la localisation et le type de lésions. Il s'agit du grattage, brossage, raclage etc... Le matériel nécessaire pour ce prélèvement se compose de pinces, curettes, lames de Bistouri, grattoirs de Vidal, paires de ciseaux et de boîtes de Pétri en verre.

5-2) Examen microscopique direct

Il consiste à observer le champignon tel qu'il se présente dans les lésions. Le prélèvement est alors éclairci à la potasse à 30 % ou au chlorallactophénol avant observation. L'examen direct des ongles et des squames permet de mettre en évidence les filaments mycéliens. L'observation des poils et des cheveux montre en plus des mycéliums, le type de parasitisme pileaire tel que décrit par Sabouraud. Au nombre de cinq, ils constituent un élément d'orientation pour l'identification du dermatophyte en cause. Il s'agit des types favique, endothrix, microïde, mégaspore et microsporique.

5-3) Culture

La culture est nécessaire quel que soit le résultat de l'examen direct car celui-ci n'est pas suffisant pour une identification fiable du dermatophytes. Elle comporte plusieurs étapes :

Δ Ensemencement

Il se fait sur milieu de Sabouraud avec chloramphénicol et actidione (cycloheximide), qui inhibent respectivement les bactéries et les moisissures contaminantes. Le milieu coulé en pente dans des tubes à essai stériles est ensemencé avec des fragments de prélèvement obtenus au moyen d'une lame de Bistouri stérile. Le dépôt se fait, en quinconce, en trois ou quatre points sur les bords de la pente au contact du verre, à l'aide d'une øse stérile.

Δ Incubation

Elle se fait à 27°C à l'étuve ou à température ambiante et on observe jusqu'au début de la pousse.

5-4) Identification

Elle est basée sur la vitesse de pousse, les caractères morphologiques de la culture, et le siège des lésions dermatologiques.

Δ Examen macroscopique

On note l'aspect et la couleur de la surface et du revers de la culture, la consistance des colonies et la présence éventuelle de pigments diffusibles.

Δ Examen microscopique

Cet examen permet d'identifier le dermatophyte avec certitude. La méthode généralement utilisée, consiste à observer entre lame et lamelle un fragment de mycélium finement divisé dans une goutte de lactophénol au Bleu Coton. La seconde méthode dite du drapeau de Roth, permet d'obtenir une empreinte de la surface de la culture sur un carré de cellophane adhésive, transparente. Le carré est déposé dans une goutte de lactophénol au Bleu Coton sur une lame porte-objet. L'ensemble est recouvert d'une lamelle et observé au microscope. Trois éléments essentiels sont à rechercher lors de cet examen :

- Les organes de fructification (spores, asques, chlamydospores...), leur disposition et leurs formes,
- Les organes d'ornementation (vrilles, organes pectinés),
- L'aspect des filaments.

5-5) Antifongigramme

Il consiste à tester la sensibilité du germe aux différents antifongiques. Il est rarement effectué car la plupart des dermatophytes sont presque toujours sensibles à la griséofulvine.

6) Thérapeutique antifongique

6-1) Définition des antifongiques

Les antifongiques sont des substances capables de détruire sélectivement ou non les différents champignons rencontrés en mycologie. Ils s'administrent par voie locale ou générale [41].

6-2) Les moyens

Les antifongiques utilisés en thérapeutique peuvent être classés en deux groupes selon leur origine. Il s'agit des antifongiques naturels et chimiques.

6-2-1) Les antifongiques naturels

❖ Les antifongiques polyéniques

Ce sont des fongostatiques qui agissent par altération de la perméabilité de la membrane cellulaire avec fuite de métabolites essentiels. Ce sont :

-Amphotéricine B Fungizone®

Elle a un large spectre et agit sur les champignons filamenteux et lévuriformes.

-Nystatine Mycostatine®

Son spectre d'action est limité aux levures surtout du genre Candida.

❖ La griséofulvine Griséfuline®, Fulcine®

C'est un antifongique hautement fongistatique. Elle agit par perturbation de la perméabilité de la membrane cellulaire. Elle est spécifique des dermatophytes.

6-2-2) Les antifongiques chimiques

❖ La fluoro-5-cytosine Ancotil®

C'est un anti-métabolite qui agit par compétition avec la cytosine. Elle est active sur les levures et les dermatophytes.

❖ Les dérivés imidazolés

Ils inhibent la biosynthèse de l'ergostérol présent dans la membrane des levures. Ils sont actifs sur les levures et certains dermatophytes. Ce sont

-Kétoconazole	Nizoral®
-Miconazole	Daktarin ®
-Econazole	Pévaryl®
-Clotrimazole	Trimysten®
-Fenticonazole	Lomexin®

❖ Les Allylamines

-Terbinafine	Lamisil®
--------------	----------

C'est un antifongique actif sur les dermatophytes mais peu efficace contre les levures

CHAPITRE 2 : GENERALITES SUR *Borassus*

aethiopum Mart.

1) Rappels sur la famille

Borassus aethiopum encore appelé rônier appartient à la famille des Palmae ou Arecaceae. Ce sont des plantes ligneuses pouvant atteindre plusieurs mètres de haut. Cette famille est l'une des plus grandes des phanérogames. Elle regroupe 6 tribus comportant 13 genres et plus de 1000 espèces. [19]

On distingue la tribu des :

- Coryphées qui regroupe les genres Chamærops, Phœnix et Coripha.
- Lépidocaryées qui se compose des genres Raphia, Métroxylon et Calamus.
- Cocosées qui rassemble les genres Cocos et Elæis.
- Arécées qui est composée des genres Areca et Kentia.
- Phytéléphasiées dont le genre Phytelephas.
- Borassées constituée des genres Hyphaene et Borassus

La tige des plantes de cette famille comporte des entre-nœuds courts et présente à sa base de nombreuses racines adventives. Au sommet se trouve une couronne de feuilles. Les jeunes feuilles non déployées, sont entières et pliées le long des nervures secondaires. Les plus âgées se déchirent en suivant ces nervures donnant ainsi un aspect palmé chez la plupart des espèces. Les inflorescences sont des spadices composés à fleurs souvent unisexuées.

2) Origine phylétique de *Borassus aethiopum* Mart

En se référant à la classification des angiospermes de CRETE P. (1965) [19], *Borassus aethiopum* peut être situé dans le règne végétal comme le montre la figure 2.

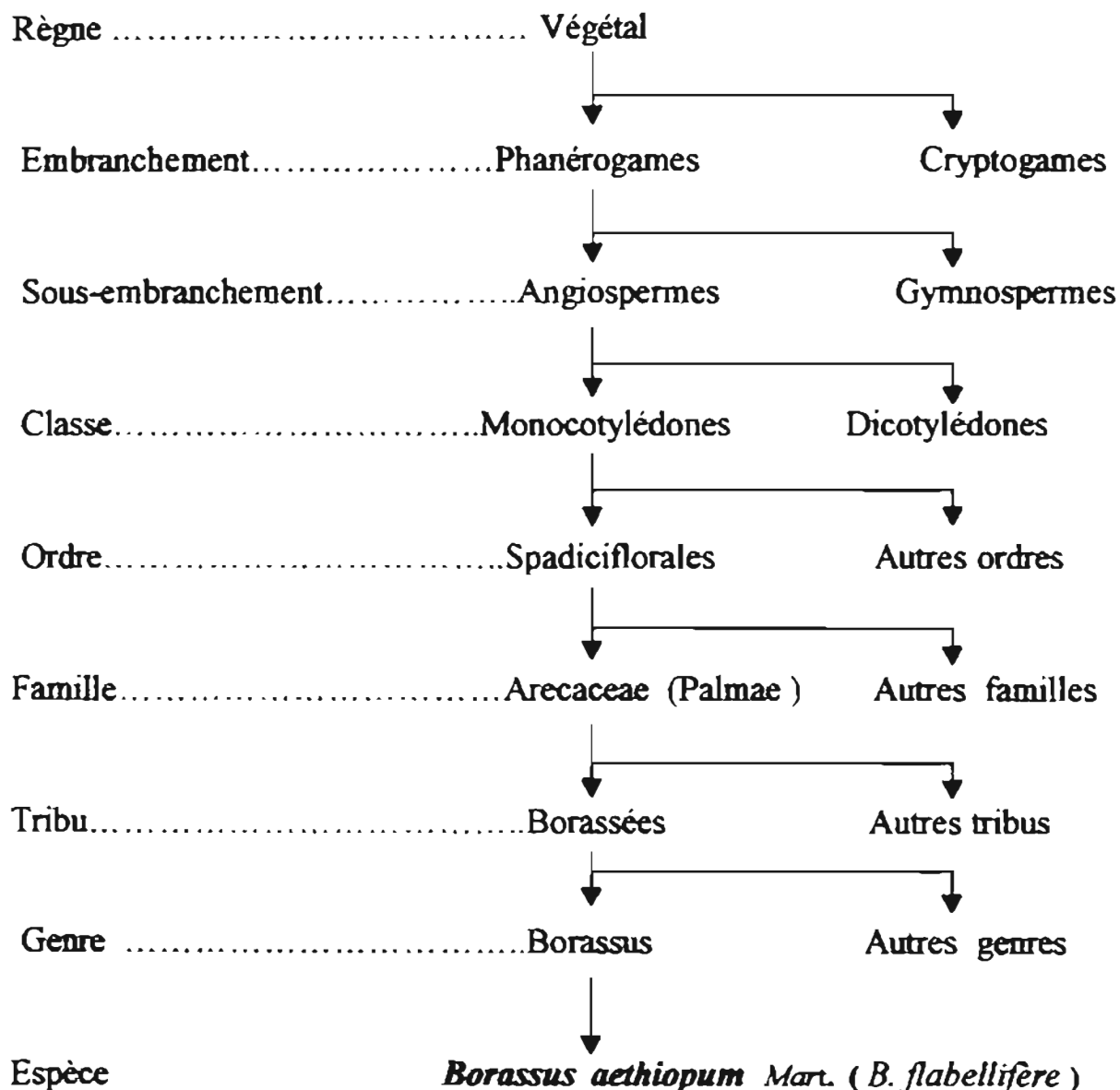


Figure 2 : Situation de *Borassus aethiopum* Mart. dans le règne végétal

3) Description botanique

3-1) La Tige

Borassus aethiopum est une plante pluriannuelle à tige dressée, de 20 à 30 m de haut appelée stipe. Chez la plante jeune, les pétioles des vieilles feuilles recouvrent le stipe de la base au sommet. Chez l'arbre adulte, les feuilles âgées tombent en laissant le stipe nu (Figure 3). C'est un stipe irrégulièrement cylindrique, présentant un renflement au tiers supérieur [7 ; 19 ; 26]

3-2) Les feuilles

Chez l'arbre adulte le stipe est surmonté d'une couronne de feuilles flabelliformes longuement pétiolées mesurant 2 à 2,5 m de long et atteignant parfois 1,80 m d'envergure.

3-3) Les fleurs

Borassus aethiopum est une plante dioïque (à sexe séparé). Les inflorescences sont insérées à l'aisselle des feuilles au sommet du stipe. Les régimes mâles atteignent 1,5 m de long et portent des épis cylindriques latéraux (Figure 3).

3-4) Les fruits

Ce sont de grosses drupes vertes, en grappes pendantes, sphériques. A maturité, elles sont jaune -orangées et odorantes contenant trois grosses graines. L'albumen devient alors corné, protégé par une épaisse coque. Le mésocarpe du fruit est fibreux et charnu.



Figure 3 : *Borassus aethiopicum* Mart. : Plante, mâle et ses fleurs.

4) Répartition géographique

Le rônier est une plante rencontrée en zones tropicales et subtropicales. Il vit généralement en groupe formant de nombreux peuplements de rôniers ou rôneraies. Il est retrouvé en Afrique tropicale, du Sénégal jusqu'en Afrique orientale et même en régions semi-arides [48].

5) Noms en langues locales

Sébé	Bambara
Koanga ou Koom bédre	mooré
Akot ou Soubé	Peulh
Sabouze	Djerma
Kuhe ou Koue	Baoulé
Ndof ou Dof	Wolof

6) Usages traditionnels

Le rônier est une plante beaucoup sollicitée dans le milieu traditionnel. Il fait l'objet d'une exploitation abusive dans de nombreux pays de la sous région [22 ; 8]. Toutes les parties de cet arbre sont utiles. Parmi ces nombreuses utilisations, les usages alimentaires et technologiques l'emportent sur les usages cosmétiques et en médecine traditionnelle africaine [26 ; 17].

6-1) Usages alimentaires

➤ :La sève :

Sa fermentation donne le vin de palme qui aurait des vertus rafraîchissantes et tonifiantes.

➤ **Le fruit :**

L'albumen incomplètement formé est très apprécié.

Le mésocarpe du fruit mur à pulpe rouge est consommé en période de disette.

➤ **L'embryon :**

Il est séparé de la tigelle, et consommé grillé ou bouilli.

➤ **Le bourgeon terminal ou "chou palmiste" :**

Il est utilisé comme légume.

➤ **Les inflorescences :**

La cendre obtenue par calcination des fleurs mâles est utilisée pour la fabrication de sel de cuisine.

6-2) Usages technologiques

➤ **La tige :**

Elle est utilisée comme pilier dans la construction des maisons et des ponts.

➤ **Les feuilles :**

Elles sont employées dans la confection des toitures et dans la vannerie.

6-3) Usages en médecine traditionnelle africaine

➤ **Les inflorescences :**

Le calcinât ou la poudre d'épis mâles est utilisé (e) sous forme de pommade pour traiter les escarres, les mycoses cutanées rebelles et la gale [48, 21].

➤ **L'huile des noix :**

Elle est utilisée en massage contre les gibbosités, [2].

➤ **Les feuilles :**

Le calcinât, en boisson dans l'eau, traiterait la bilharziose viscérale [1].

➤ **Les duvets des jeunes feuilles :**

Leur usage local aurait des propriétés hémostatiques.

➤ **La tigelle de la noix germée**

Son décocté lutterait contre l'impuissance sexuelle [38].

➤ **Les racines :**

Le décocté est utilisé, par voie orale, comme antiasthmatique et anti-infectieux [39].

➤ **La sève fermentée (vin de palme) :**

Elle est utilisée comme boisson stimulante, rafraîchissante et aphrodisiaque [8].

NOTRE CONTRIBUTION

OBJECTIFS

1-) Objectif général

Contribuer à la connaissance des principes antifongiques des fleurs mâles de *Borassus aethiopum Mart.*

2-) Objectifs spécifiques

- 1) Extraire la poudre de fleurs à l'aide de solvants de polarités croissantes.
- 2) Etudier l'activité antifongique, *in vitro*, des extraits sur des dermatophytes.
- 3).Réaliser le screening phytochimique des extraits actifs par chromatographie sur couche mince.
- 4) Fractionner par chromatographie sur colonne l'extrait le plus actif.
- 5) Tester les différentes fractions afin d'identifier celle qui possède l'activité antifongique la plus marquée.

METHODOLOGIE

1) Cadre de l'étude

Plusieurs sites de travail ont permis la réalisation de cette étude. Il s'agit notamment des laboratoires :

- Sainte Elisabeth, qui a abrité les travaux de mycologie et de tests antifongiques.
- de Pharmacognosie de L'UFR / SDS, où l'étude phytochimique a été réalisée,
- de Chimie de l'I.R.S.S., au niveau duquel les extraits végétaux ont été pesés et solubilisés
- de Biologie du C.H.N-YO où, la stérilisation du matériel a été effectuée

2) Matériel

2-1) Le matériel végétal

La drogue végétale est constituée d'épis de fleurs mâles déjà sèches de *Borassus aethiopum Mart.* Ils ont été récoltés en février 1999 dans la ville de Ouagadougou, concassés puis finement pulvérisés. La poudre ainsi obtenue a été conservée jusqu'à la mise en route de l'étude phytochimique.

2-2). Les champignons

Cinq dermatophytes ont été choisis parmi les plus couramment rencontrés au Burkina Faso. Il s'agit de *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii* et de *Epidermophyton floccosum* (tableau I)

Ces dermatophytes ont été isolés et identifiés par le laboratoire Sainte Elisabeth à partir de produits pathologiques prélevés sur des malades.

Tableau I : Quelques caractéristiques botaniques et topographiques permettant l'identification des dermatophytes étudiés.

Espèces		<i>Trichophyton. rubrum</i>	<i>Trichophyton interdigitale</i>	<i>Trichophyton soudanense</i>	<i>Microsporium langeronii</i>	<i>Epidermophyton floccosum</i>
Délai de pousse		6-18 j	4 -6 j	7-18 j	12-16 j	3-5 j
Aspect macroscopique des cultures	Surface des colonies	de couleur variable, duveteuse poudreuse ou cotonneuse	blanchâtre, duveteuse cotonneuse ou poudreuse	jaune doré, glabre surélevée, avec des rayons qui pénètrent la gélose..	blanchâtre, glabre ou peu duveteuse, parfois poudreuse	rase, de couleur gris-verdâtre, avec parfois de fins duvets blancs
	Revers	pourpre ou rouge	jaune	rouille ou carotte	chamois, marron clair	jaune ou orange
Aspects microscopiques des colonies	Mycélium	ramifié et septé en raquette	ramifié en bois de cerf,	ramifié en buisson d'épines	trapus, avec filaments distaux renflés	souvent en chaînes de chlamidospores
	Macroconidies	allongées en saucisse, multiseptées et à parois lisses,	en saucisse, avec 1 ou 2 cloisons et peu nombreuses	absentes	en navette, à parois verruqueuse, multiseptées, mais rares	en massue, groupées en régime de bananes, et à parois lisses
	Microconidies	piriformes ou arrondies	piriformes ou arrondies, très nombreuses	piriformes ou arrondies mais rares	rars ou absentes	absentes
	Chlamidospores	+/- nombreuses	+/- nombreuses	rars	souvent nombreuses	souvent très nombreuses
Sites des lésions		Pieds, mains, ongles, poils, peau glabre cheveux, plis	Pieds, mains, ongles, peau glabre inter orteils	Mains et ses ongles, poils, cheveux peau glabre	Peau glabre poils, cheveux	Peau glabre, grands plis, inter orteils

2-3) Matériel technique

2-3-1) Matériel d'étude phytochimique

Il se compose de :

-Extraits au dichlorométhane, éthanolique, au mélange dichlorométhane - méthanol 1;1 v/v et aqueux (macéré et décocté),

-Plaques pour C.C.M : Gel de silice G₆₀F₂₅₄ sur support de verre,

-Verrerie (Pipettes, Cuves, Percolateur, Eprouvettes, Colonne...),

-Flacons bruns en verre,

-Silice pour colonne,

-Etuve,

-Réactifs de révélation

*Réactif de Draggendorf : Iodobismuthite de potassium.

*Vapeurs ammoniacales,

*Potasse à 2 % m / v dans l'éthanol,

*Acide sulfurique à 3 % v/v dans l'éthanol,

*Chlorure ferrique à 2 % m/v dans un mélange eau- méthanol 1 : 1 v/v.

*Diphénylborinate sodique à 2 % m/v dans l'éthanol.

-Solvants : Ethanol 95°, eau distillée, méthanol, dichlorométhane, acide acétique, toluène, butanol-2, acétate d'éthyle.

-Lampe à U.V.

2-3-2) Matériel d'essai pharmacologique

Il comprend :

-Extraits au dichlorométhane, éthanolique, au mélange dichlorométhane-méthanol 1;1 v/v et aqueux (macéré et décocté)

-Dermatophytes : *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton soudanense*, *Epidermophyton floccosum* et *Microsporum langeronii*

-Milieu de Sabouraud avec chloramphénicol et actidione,

-Boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre,

-Emporte-pièce stériles de 6mm de diamètre,

-Pipettes Pasteur stériles,

-Tubes à essai stériles,

-Solvants : eau distillée stérile, sérum physiologique.

-Billes de verre stériles.

-Etuve et Bec Bunsen,

-Flacons en verre,

-Autoclave,

-Poupinel,

-Seringues de 5 et 10 ml.

3-) Méthodes

3-1) Préparation des extraits de poudre de fleurs de *Borassus aethiopum*.

La méthode d'extraction utilisée est la percolation. Il s'agit d'une extraction par gradient de polarité, consistant à épuiser successivement la drogue avec des solvants de polarités croissantes. A cet effet, une prise d'essai de 300 g

de poudre de fleurs mâles a été extraite successivement par quatre solvants :

3-1-1) Extraction par le dichlorométhane

Les 300g de poudre sont humectés et laissés en macération pendant 24h avec 500ml de dichlorométhane. La percolation a été réalisée avec 400ml de ce solvant. La solution obtenue est évaporée sous pression réduite à 45°C. Le marc est récupéré et séché pour l'extraction suivante.

3-1-2) Extraction par le mélange dichlorométhane-méthanol 1:1v/v

Le marc issu de l'extraction au dichlorométhane est macéré pendant 24h avec 500ml de mélange dichlorométhane-méthanol 1:1v/v. La percolation est ensuite réalisée avec 400ml de ce mélange. L'extrait obtenu est évaporé à 50°C sous pression réduite. Le marc est récupéré et séché pour la prochaine extraction.

3-1-3) Extraction par l'éthanol 95°

Le marc issu de l'extraction précédente est mis à macérer avec 500 ml d'éthanol 95° durant 24h et percolé avec 400 ml du même solvant. Le percolat est ensuite évaporé sous pression réduite à 55°C. Le marc est récupéré et séché pour l'extraction suivante.

3-1-4) Extraction par l'eau distillée :

- Préparation du macéré aqueux

Le marc issu de l'extraction à l'éthanol est macéré pendant 24h avec 800ml d'eau distillée puis percolé avec 400ml de ce solvant. L'extrait obtenu est

mélangé avec 300ml d'éthanol 95°. Ce mélange (azéotrope) dont la température d'ébullition est très basse, permet une évaporation à 55°C sous pression réduite. Le marc récupéré est séché pour la prochaine extraction.

▪ Préparation du décocté aqueux

Le marc est porté à ébullition pendant 15 mn dans 700 ml d'eau distillée. La percolation est réalisée avec 400 ml d'eau après refroidissement. Le décocté obtenu est évaporé à 55°C sous pression réduite après avoir ajouté 300ml d'éthanol 95° pour former un mélange azéotrope.

Les cinq résidus, encore fluides, obtenus de l'évaporation des solvants d'extraction ont été séchés à 45°C à l'étuve jusqu'à obtention de résidus secs. Ces extraits secs ont été conservés au frais et à l'abri de la lumière.

3-2) Essais pharmacologiques des extraits végétaux

Il s'agit de tester la sensibilité des dermatophytes aux différents extraits végétaux par la technique de l'antifongigramme [32]. La méthode de diffusion en milieu gélosé a été utilisée [47]. Les disques d'antifongique ont été remplacés par des cupules contenant les extraits à tester. Cette étude a été faite en trois essais et a comporté deux étapes utilisant le même mode opératoire. Il s'agit de l'essai pharmacologique préliminaire et de l'étude dose effet.

3-2-1) Essai pharmacologique préliminaire

Il a pour but d'identifier les extraits actifs. Le test a été réalisé sur *Trichophyton rubrum*. Ce dermatophyte est le plus fréquent au Burkina Faso et généralement le plus résistant aux antifongiques [37]. La concentration unique de 50 mg/ml a été retenue pour chacun des cinq extraits. Le tween 80 utilisé (à 5 mg/ml) pour la cosolubilisation de deux extraits a été testé comme témoin

afin d'évaluer son activité. Il s'agit des extraits au dichlorométhane et au mélange dichlorométhane-méthanol 1 :1 v/v

3-2-2) Etude dose effet

Elle n'a concerné que les extraits actifs identifiés. Son but était de rechercher la relation qui pourrait exister entre la concentration des extraits actifs et le diamètre d'inhibition. Pour cela, une série de cinq concentrations obtenue par dilution d'ordre deux a été testée (200 ; 100 ; 50 ; 25 et 12,5 mg/ml). Ce test antifongique a été réalisé sur *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii* et *Epidermophyton floccosum*.

Le standard utilisé est la Nystatine sous forme de disques dosés à 100 UI, dans le but de comparer son activité antifongique à celle des extraits actifs.

* Préparation du milieu de culture

Elle utilise le milieu de Sabouraud avec chloramphénicol et actidione à raison de 45,5 g de poudre pour 1 l d'eau distillée. Le mélange est effectué sous agitation dans l'eau chaude et porté à ébullition pendant 10 mn. Le milieu est ensuite conditionné dans des flacons, autoclavé 15 mn à 120°C. et coulé en boîtes de Pétri de 90 mm. Une épaisseur uniforme de 3 à 4 mm de gélose est recommandée pour obtenir un bon antifongigramme. Les boîtes sont donc refroidies sur une surface horizontale puis séchées à l'étuve à 37°C.

* Préparation des cupules

Elle se fait à l'aide d'emporte-pièce stériles de 6 mm de diamètre. Ainsi quatre puits sont creusés autour de la gélose à distances régulières l'un de

l'autre. Le fond de chaque cupule est ensuite bouché avec une goutte de gélose vierge pour éviter la diffusion des extraits sous celle-ci.

✧ Préparation de l'inoculum

Il est préparé à partir d'une culture du dermatophyte à tester en tube à essai [37]. Un volume de 10 ml de sérum physiologique est introduit dans le tube contenant la culture au moyen d'une seringue stérile. La surface d'une colonie d' environ 1cm de diamètre est alors légèrement raclée avec une pipette Pasteur stérile. La solution est ensuite reprise dans un autre tube à essai contenant dix billes de verre et agité au vortex pendant 1mn pour fragmenter les mycéliums. Le surnageant obtenu après 1 mn de repos sera utilisé pour ensemençer les boîtes de Pétri.

✧ Ensemencement

La surface de la gélose est inondée avec 1 à 2 ml d'inoculum. L'excès éventuel est aspiré grâce à une pipette. Les boîtes sont séchées à l'étuve pendant 30 mn à 37°C couvercles entrouverts.

✧ Solubilisation et dépôt des extraits à tester

Les extraits aqueux et éthanolique sont directement dissouts dans l'eau distillée stérile. Les extraits au dichlorométhane et au mélange dichlorométhane-méthanol 1 v/v peu hydrosolubles, sont cosolubilisés grâce au tween 80. Chaque concentration retenue par extraits est déposée dans les quatre cupules de la boîte à raison de 50 µl. Ce qui correspond à une boîte de Pétri par concentration. Les boîtes sont laissées sur la paillasse durant au moins 4h pour permettre une diffusion uniforme des extraits dans la gélose.

✧ Incubation et lecture

L'incubation a lieu à la température ambiante ou à 27°C à l'étuve. Les boîtes sont observées tous les jours jusqu'à ce que les colonies envahissent la surface de la gélose à l'exception des zones d'inhibition.

La lecture consiste à mesurer, avec précision, les diamètres des zones d'inhibition au moyen d'une règle graduée. Un diamètre d'inhibition de 10 mm est considéré comme marquant le début d'une activité antifongique.

3-3) Screening phytochimique

Ce screening phytochimique des extraits actifs a pour but de rechercher les constituants chimiques susceptibles d'être à l'origine de leur activité antifongique. Cinq groupes chimiques ont ainsi été ciblés en raison de leur activité antifongique connue. Il s'agit notamment des triterpènes, des flavonoïdes, des tanins, des saponosides et des alcaloïdes. Il a concerné les extraits au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v, éthanolique (actifs) et au dichlorométhane (inactif) afin de comparer les plaques chromatographiques.

Ce criblage phytochimique peut être réalisé soit en milieu liquide par des réactions de caractérisation, soit par chromatographie sur couche mince (C.C.M). C'est la dernière méthode qui a été retenue pour sa sélectivité et les perspectives de purification qu'elle offre.

La C.C.M. est constituée de trois éléments [45] :

- Une phase stationnaire solide (Gel de silice $G_{60}F_{254}$) sur laquelle sont déposées les substances à analyser.
- Un éluant dont la composition est fonction du groupe chimique recherché.
- Une phase gazeuse, constituée de vapeurs de l'éluant employé.

Le dépôt des échantillons est fait en bandes de 4 mm à raison de 25 µl.

La révélation est réalisée grâce à un réactif général ou spécifique au groupe chimique [29].

3-3-1) Recherche des triterpènes

* La phase stationnaire est constituée de Gel de silice G₆₀F₂₅₄ sur support de verre.

* L'éluant (S₀) utilisé se compose du mélange toluène, dichlorométhane, méthanol (4 : 5 ; 1 v / v).

* Le témoin de triterpène choisi est l' α -amyrine à la concentration de 5 mg/ml dans le dichlorométhane.

* Les échantillons sont préparés en dissolvant les trois extraits dans les solvants d'extraction à raison de 20 mg par ml.

* La révélation a été faite en pulvérisant une solution d'acide sulfurique à 3 % v/v dans l'éthanol sur la plaque chromatographique qui est ensuite étuvée à 105°C pendant 10mn. Les triterpènes tétracycliques et les phytostérols donnent, dans ces conditions, une coloration violette qui vire au bleu.

Les triterpènes pentacycliques donnent une coloration violette persistante [43].

3-3-2)-Recherche des flavonoïdes

* La phase stationnaire est constituée de Gel de silice G₆₀F₂₅₄ sur support de verre.

* L'éluant se compose du mélange toluène, dichlorométhane, méthanol, acide acétique, butanol-2, acétate d'éthyle (5 ; 7.5 : 4 : 2 ; 3 : 1 v / v).

* Le flavonoïde de référence utilisé est rutine à 5 mg/ml dans le méthanol.

* Les échantillons ont été préparés en diluant 20 mg d'extrait dans 1 ml du solvant d'extraction.

* La révélation a été réalisée en exposant les plaques chromatographiques aux vapeurs d'ammoniaque ou en les pulvérisant avec une solution alcoolique

de KOH à 2 % m/v. Dans ces conditions, l'effet bathochrome des flavonoïdes en milieu basique entraîne une intensification de leur coloration jaune ou jaune orangée. Elles peuvent également être observées à la lampe à U.V. à 254 nm avant et après pulvérisation d'une solution de diphénylborinate de sodium.

3-3-3) Recherche des saponosides

- * La phase stationnaire est constituée de Gel de silice G₆₀F₂₅₄ sur support de verre
- * L'éluant se compose du mélange dichlorométhane, toluène, méthanol, acide acétique (5 ; 4 : 1: 1 v /v)
- * Les échantillons sont préparés à partir des extraits dilués à 20 mg/ml dans les solvants d'extraction.
- * La révélation est réalisée avec de l'acide sulfurique à 3 % v/v dans l'éthanol. Après étuvage à 105°C pendant 10 mn, les saponines à génines stéroïdiques ou tripterpéniques tétracycliques donnent des spots violets virant rapidement au bleu. Les saponines à génines triterpéniques pentacycliques donnent une coloration violette persistante.

3-3-4).Recherche des tannins

- * La phase stationnaire est constituée de Gel de silice G₆₀F₂₅₄ sur support de verre.
- * L'éluant se compose du mélange eau, méthanol, butanol-2, acide acétique (3,5 : 1,25 : 10 : 1,25 V /V).
- * Le témoin utilisé est l'acide tannique.
- *Les trois extraits à analyser ont été dilués à 20 mg / ml dans les solvants d'extraction.

* La révélation a été réalisée avec du chlorure ferrique à 2 % m/v dans un mélange eau-méthanol 1:1 v /v. L'apparition d'une coloration bleue, révèle la présence de tanins.

3-3-5).Recherche des alcaloïdes

La C C M est réalisée sur les alcaloïdes bases. Elle se fait après extraction liquide / liquide des extraits à analyser par un solvant approprié. La figure 4 montre les différentes étapes de cette extraction.

Une prise d'essai de 50 mg d'extrait est triturée avec 25 ml d'eau distillée acidifiée par 3ml d'HCl 0,1M. Le mélange ainsi obtenu est extrait avec 25 ml de dichlorométhane. La phase aqueuse est alcalinisée avec 6 ml de NH_4OH 0.2 M et extrait par 25 ml de dichlorométhane dans une ampoule à décanter. La phase au dichlorométhane est déshydratée avec du Na_2SO_4 anhydre et évaporée pour la CCM.

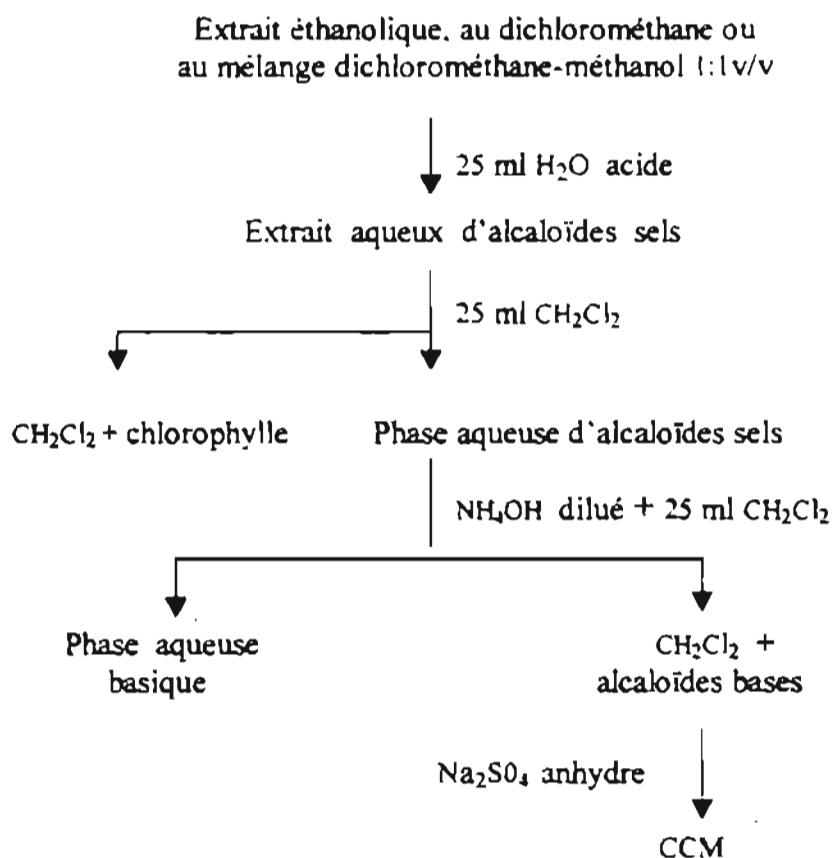


Figure 4 : Protocole d'extraction des alcaloïdes

* La phase stationnaire est constituée de Gel de silice G₆₀F₂₅₄ sur support de verre.

* L'éluant est composé du mélange toluène, dichlorométhane, méthanol, ammoniacale (1 ; 4 ; 1 ; 0,1 v / v).

* Les extraits à analyser sont dilués à 20 mg / ml dans les solvants d'extraction.

* La révélation a été réalisée par pulvérisation du réactif de Dragendhorf sur les plaques chromatographiques. La présence d'alcaloïdes se traduit par l'apparition d'une coloration rouge orangée.

3-4) Fractionnement de l'extrait au mélange dichlorométhane-méthanol

1:1 v/v

Cet extrait qui est le plus actif a été fractionné par chromatographie sur colonne (3 cm/1 m) afin d'isoler la fraction la plus active. A cet effet, la colonne est remplie au 2/3 avec une suspension de silice pour colonne dans du dichlorométhane. Une prise d'essai de 3,5g d'extrait est diluée dans le solvant d'extraction et déposée sur la silice. L'élution se fait par gradient de polarité croissante. Ainsi, l'éluant utilisé est un mélange de dichlorométhane et de proportions croissantes de méthanol évoluant de 5 en 5 jusqu'à 50 % v/v. Chaque palier correspond à 500 ml de ce mélange. Des volumes de 25 ml d'éluat sont récoltés et analysés par C.C.M dans un solvant de migration convenable. Les fractions ayant des chromatogrammes analogues sont rassemblées et évaporées sous pression réduite. Elles sont ensuite testées pour évaluer leur activité antifongique.

3-5) Test pharmacologique des fractions chromatographiques

Les fractions obtenues ont été testées sur *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton soudanense*, *Epidermophyton floccosum* et *Microsporum langeronii*. La concentration de 12,5 mg/ml a été retenue pour ces tests en tenant compte des résultats de l'étude préliminaire. Les fractions ont été solubilisées directement dans de l'eau distillée stérile à l'exception des fraction F₁ et F₃ dont la dissolution a nécessité l'usage d'un tensio actif (tween 80).

3-6) Traitement des données

Les données obtenues ont permis de tracer les différents graphiques grâce au logiciel Excel sur Windows 95.

RESULTATS

1) RESULTATS DE L'EXTRACTION

L'extraction des 300 g de poudre de fleurs a permis d'obtenir des résidus secs après évaporation des solvants d'extraction. Les rendements ont été calculés après détermination du poids des résidus (tableau II).

Tableau II : Résultats de l'extraction de la poudre de fleurs de *Borassus aethiopum*.

Extraits	au dichlorométhane	au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v	à l'éthanol 95°	aqueux	
				macéré	décocté
Poids des résidus secs en g	3.46	7.77	4.01	16.19	7.69
Rendements en %	1.15	2.59	1.34	5.40	2.56

Par ailleurs, des cristaux jaunâtres ont été observés dans les extraits éthanolique et au mélange dichlorométhane méthanol 1:1v/v.

2) RESULTATS DE L'ESSAI PHARMACOLOGIQUE PRELIMINAIRE

Ce test effectué à la concentration de 50 mg/ml a révélé que les extraits éthanolique et au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v sont très actifs sur *Trichophyton rubrum*. Les diamètres d'inhibition mesurés au bout de 7 jours d'incubation (culture optimale) donnent une moyenne de $30,9 \pm 2$ et $35,6 \pm 2$ mm respectivement pour ses deux extraits.

En revanche, les extraits aqueux et au dichlorométhane ainsi que le témoin de tween 80 n'ont manifesté aucune activité antifongique vis-à-vis du dermatophyte (tableau III).

Tableau III : Résultats de l'étude pharmacologique préliminaire

Produits testés	Extraits actifs		Extraits inactifs			Témoin
	E. EtOH	E. CH ₂ Cl ₂ / CH ₃ OH 1:1v/v	E. CH ₂ Cl ₂	macéré aqueux	décocté aqueux	tween 80
Concentrations en mg / ml	50	50	50	50	50	5
Volumes. par cupule en µl	50	50	50	50	50	50
Quantités par cupule en mg	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	0.25
D.I sur <i>Trichophyton rubrum</i> en mm	30,9 ± 2	35,6 ± 2	0	0	0	0

: D.I : Moyenne arithmétique des diamètres d'inhibition sur les trois essais.

E. EtOH : Extrait éthanolique ; E. CH₂Cl₂ : Extrait au dichlorométhane

E. CH₂Cl₂/ CH₃OH : Extrait au mélange dichlorométhane méthanol 1:1 v / v

3) RESULTATS DE L'ETUDE DOSE EFFET

Cette étude réalisée sur les cinq dermatophytes retenus, a montré que quatre d'entre eux sont très sensibles aux extraits éthanolique et au mélange dichlorométhane méthanol 1:1 v / v. Il s'agit notamment de *Trichophyton rubrum* (T.r), *Trichophyton interdigitale* (T i), *Microsporum langeronii* (M l) et de *Epidermophyton floccosum* (E f). Les diamètres d'inhibition ont été mesurés à J₇ pour les deux premiers germes, et à J₁₂ et J₅ respectivement pour les deux derniers. Leurs moyennes ont ainsi été calculées par concentration sur les trois

essais effectués. Ce qui a permis de tracer les courbes doses réponses en coordonnées arithmétiques et après transformation logarithmique des concentrations. Les équations des courbes ainsi que les coefficients de corrélation ont été déterminés.

Par contre, *Trichophyton soudanense* (*Ts*) s'est montré résistant à ces extraits, même à la plus forte concentration testée (200 mg / ml).

Ces résultats sont repris dans le tableau IV.

Tableau IV : Résultats de l'étude dose effet sur les cinq dermatophytes.

Produits testés	Extrait éthanolique					Extrait au mélange dichlorométhane méthanol 1:1v/v					Nys- tatine	
	12,5	25	50	100	200	12,5	25	50	100	200		100 U.I
Concentrations (C) en mg/ml	12,5	25	50	100	200	12,5	25	50	100	200	100 U.I	
Log (C)	1,1	1,4	1,7	2	2,3	1,1	1,4	1,7	2	2,3		
Quantités par cupule en mg	0.6	1.3	2.5	5.0	10	0.6	1.3	2.5	5.0	10		
Moyennes des diamètres d'inhibition D.I en mm	<i>T.r</i>	21,3 ± 1	25,7 ± 1	31,2 ± 2	37,4 ± 1	40,5 ± 2	28,4 ± 1	31,5 ± 1	36,1 ± 2	40,7 ± 1	44,8 ± 1	15,7 ± 1
	<i>T.i</i>	14,3 ± 1	18,4 ± 2	21,7 ± 1	26,6 ± 2	31,3 ± 1	18,3 ± 1	22,4 ± 2	27,1 ± 2	30,6 ± 1	35,7 ± 1	18,4 ± 2
	<i>M.l</i>	22,4 ± 2	27,3 ± 1	30,5 ± 1	33,7 ± 2	38,2 ± 1	29,5 ± 1	33,6 ± 2	37,8 ± 2	41,7 ± 1	45,4 ± 1	20,1 ± 2
	<i>E.f</i>	20,3 ± 2	23,5 ± 2	27,2 ± 1	32,4 ± 1	35,6 ± 1	24,5 ± 2	27,3 ± 1	32,7 ± 1	36,2 ± 2	39,7 ± 2	17,4 ± 1
	<i>T.s</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16,3 ± 1

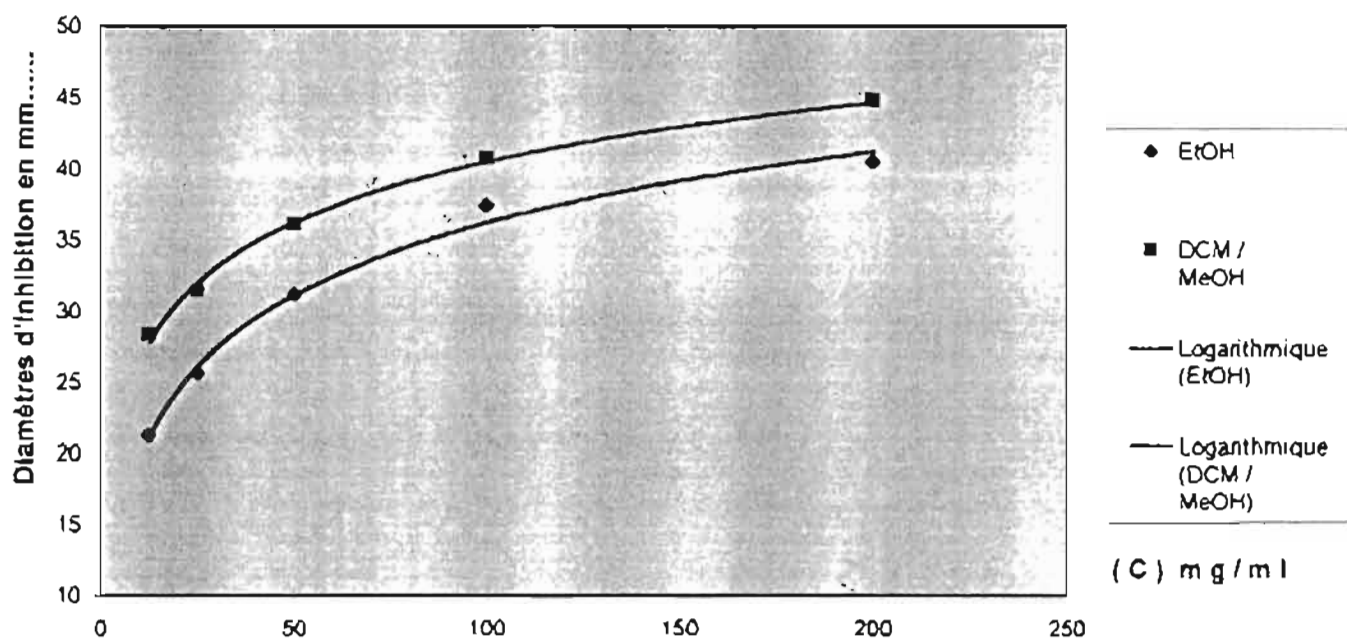


Figure 5 : Courbes dose effet des extraits EtOH et DCM / MeOH 1:1 v/v de fleurs mâles de *Borassus aethiopum* sur *Trichophyton. rubrum* | D I en fonction de (C)

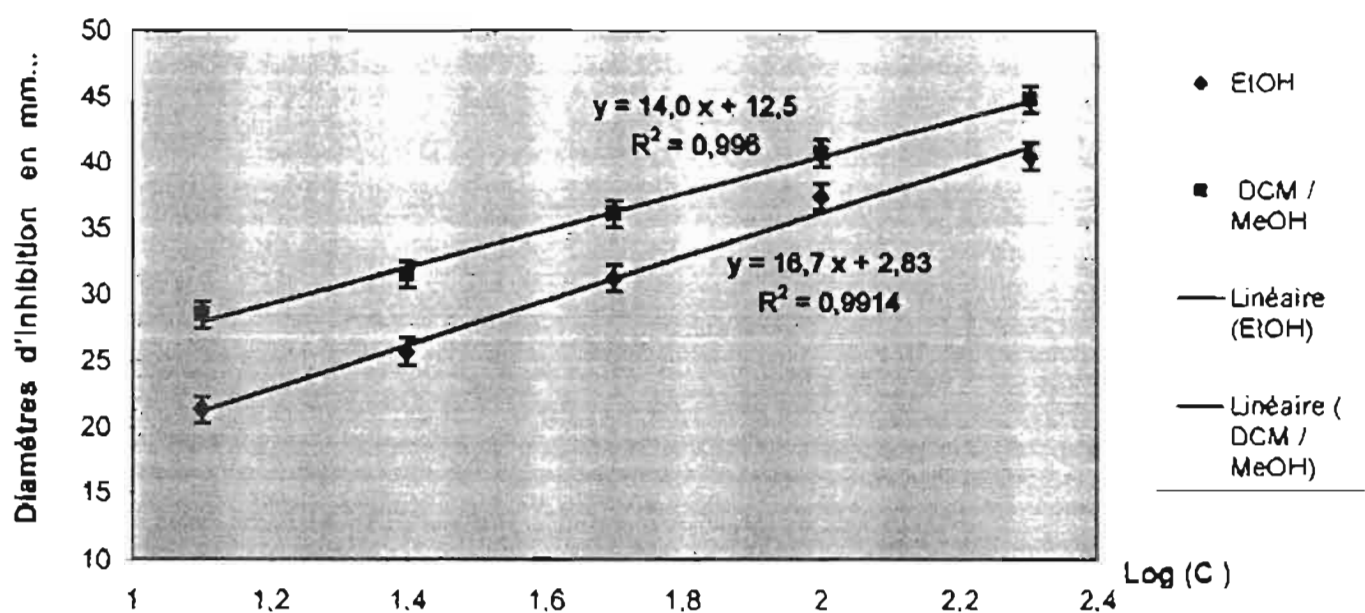


Figure 6 : Courbes dose effet des extraits EtOH et DCM/ MeOH 1:1 v/v de fleurs mâles de *Borassus aethiopum* sur *Trichophyton. rubrum* | D I en fonction de Log (C)

EtOH = Extrait éthanolique ; DCM / MeOH = Extrait au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v

D I = Diamètres d'inhibition en mm : (C) = concentration des extraits en mg/ml

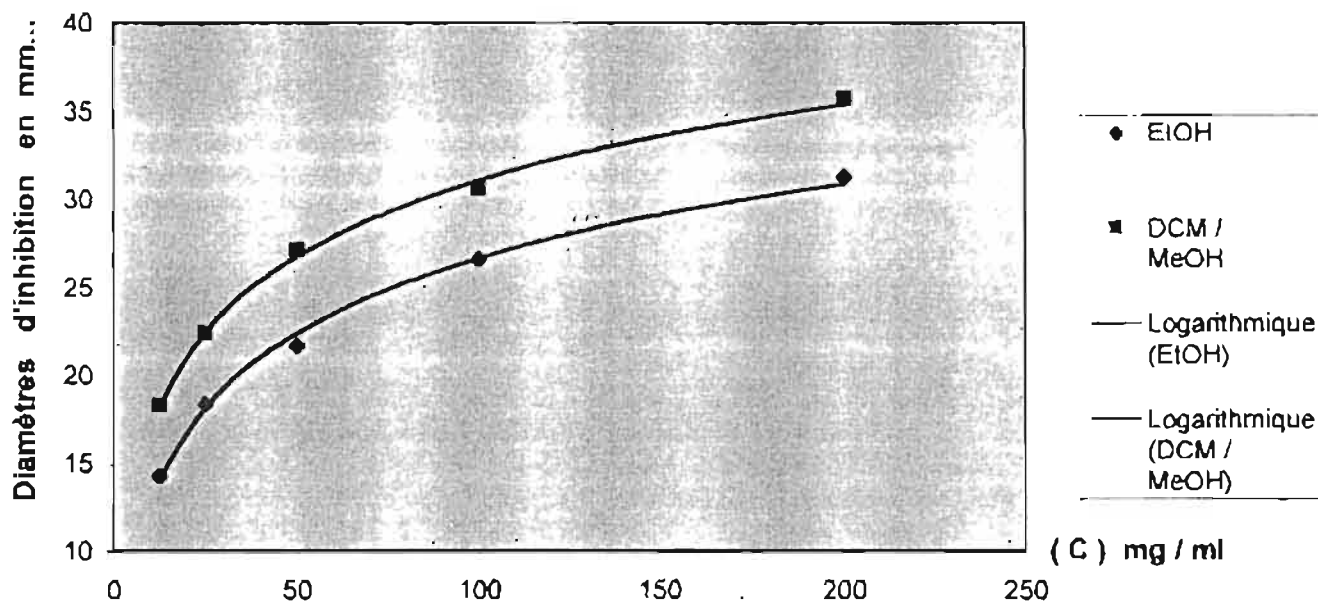


Figure 7 : Courbes dose effet des extraits EtOH et DCM /MeOH 1:1 v/v de fleurs mâles de *Borassus aethiopum* sur *Trichophyton. interdigitale* (DI en fonction de (C)

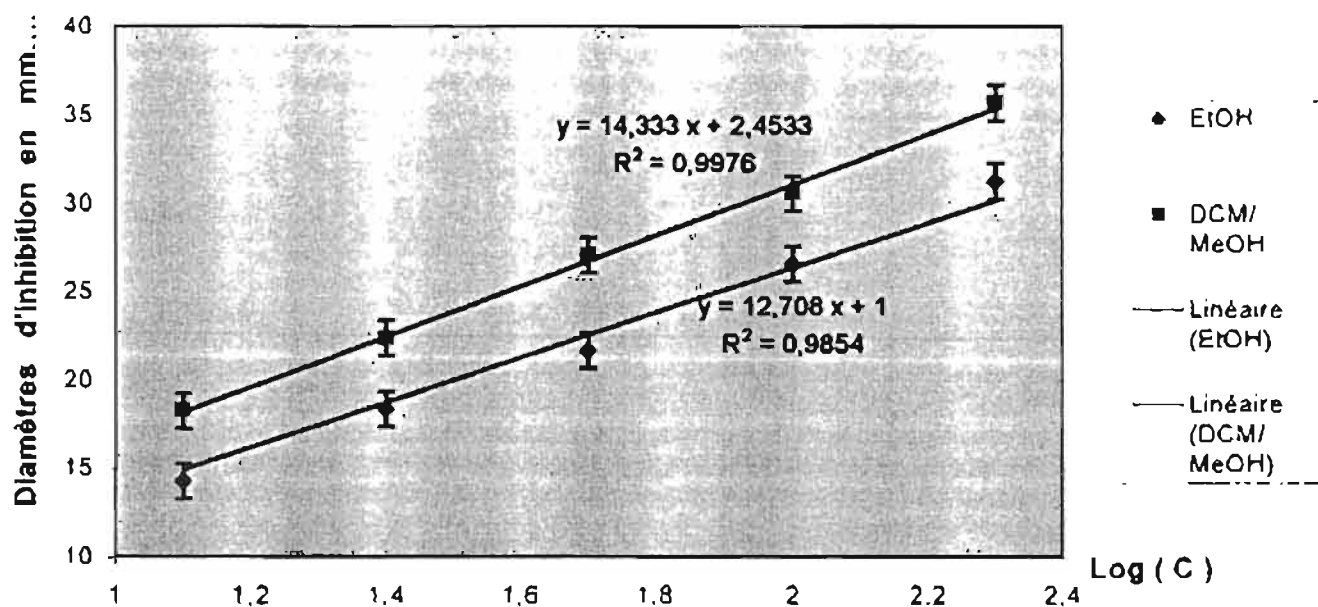


Figure 8 : Courbes dose effet des extraits EtOH et DCM /MeOH 1:1 v/v de fleurs mâles de *Borassus aethiopum* sur *Trichophyton. interdigitale* (DI en fonction de Log (C)

EtOH = Extrait éthanolique : DCM / MeOH = Extrait au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v

DI = Diamètres d'inhibition en mm : (C) = concentration des extraits en mg/ml

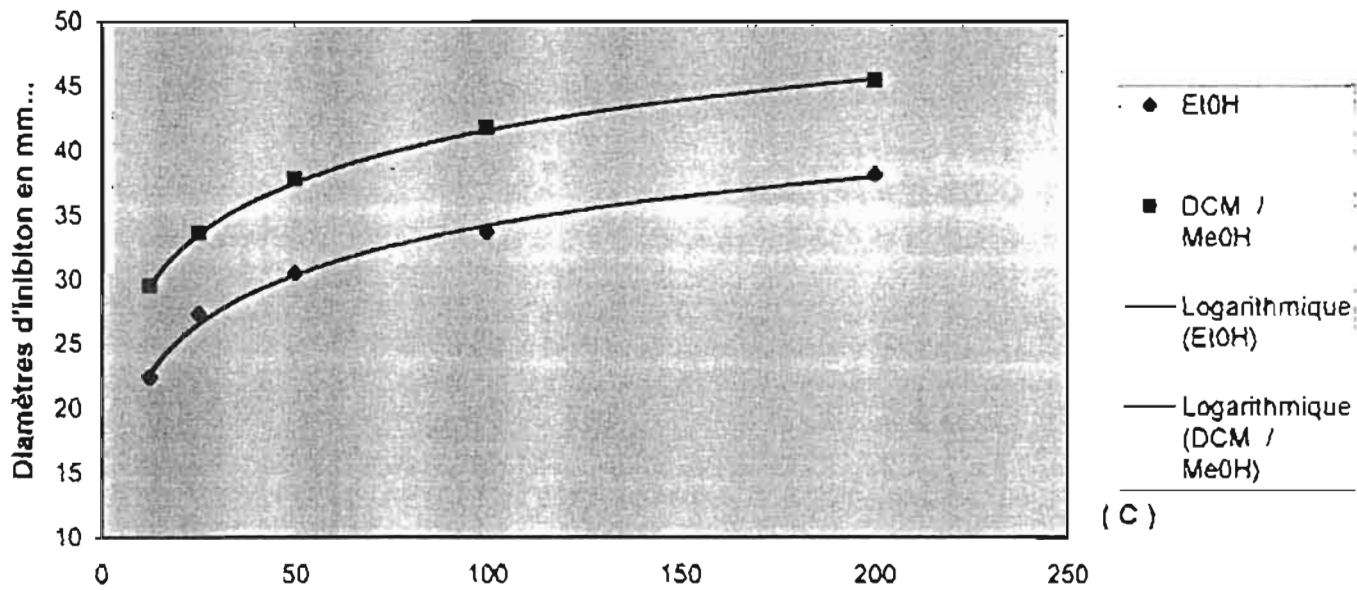


Figure 9 : Courbes dose effet des extraits EtOH et DCM / MeOH 1:1 v/v de fleurs mâles de *Borassus aethiopum* sur *Microsporium langeronii* (DI en fonction de (C))

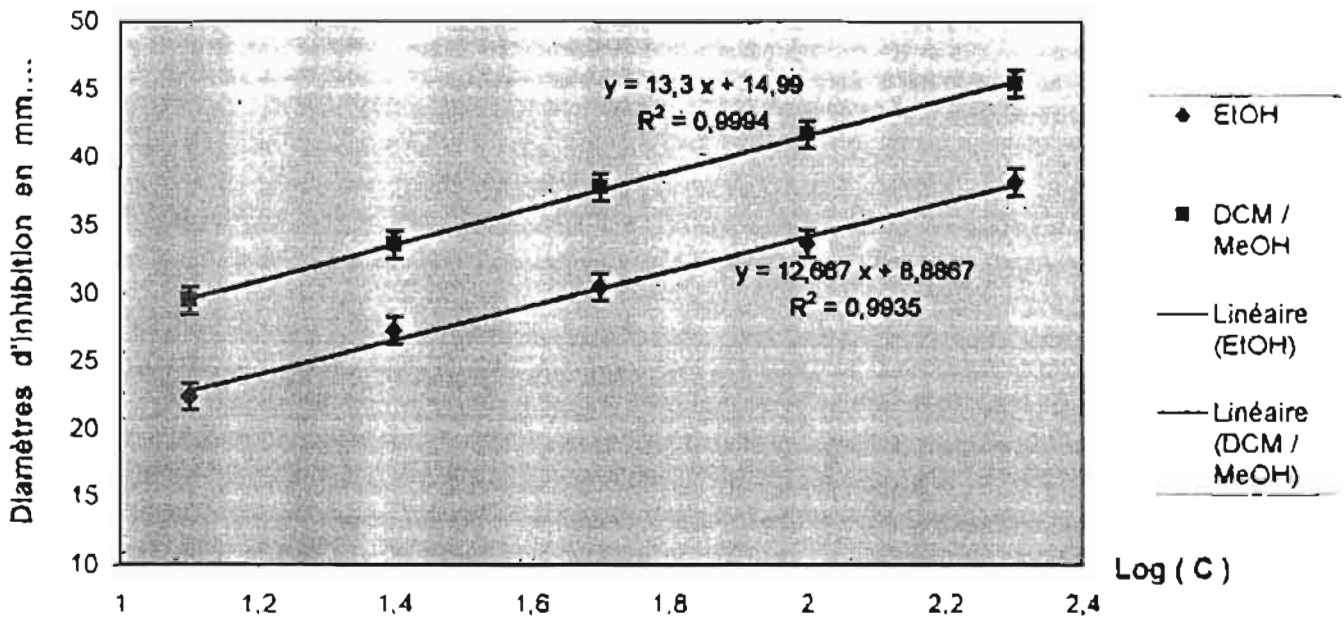


Figure 10 : Courbes dose effet des extraits EtOH et DCM / MeOH 1:1 v/v de fleurs mâles de *Borassus aethiopum* sur *Microsporium langeronii* (DI en fonction de Log (C))

EtOH = Extrait éthanolique ; DCM / MeOH = Extrait au mélange dichlorométhane méthanol 1:1 v/v

DI = Diamètres d'inhibition en mm : (C) = concentration des extraits en mg/ml

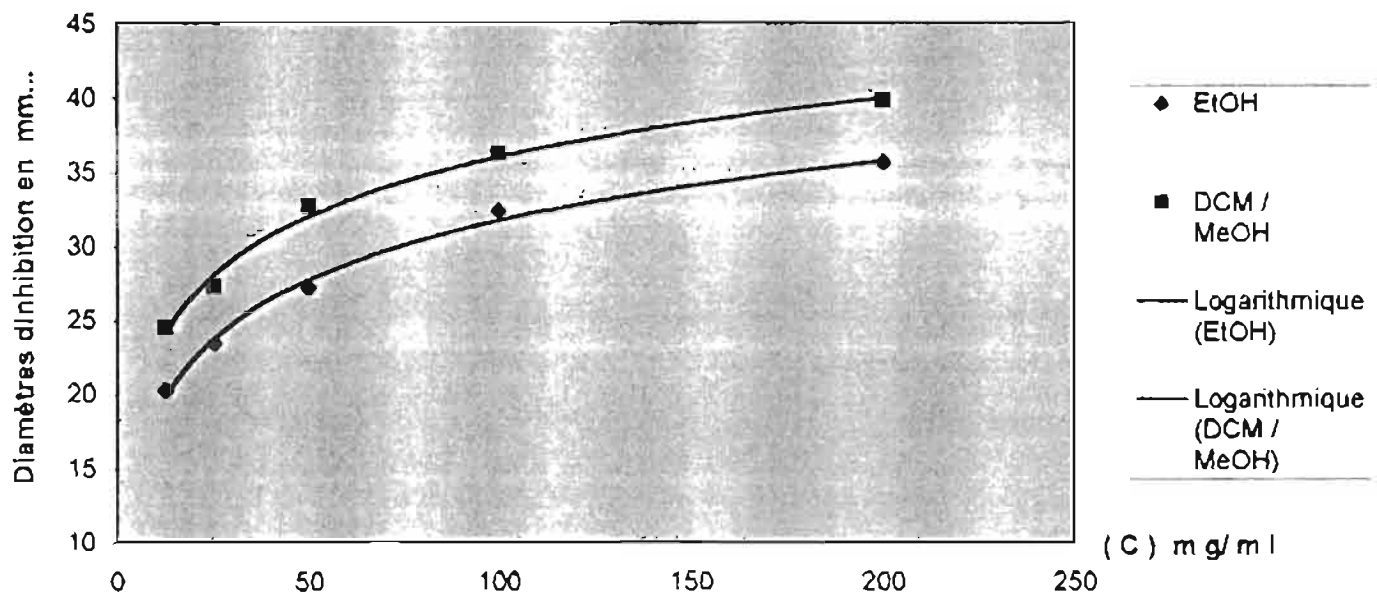


Figure 11 : Courbes dose effet des extraits EtOH et DCM /MeOH 1:1 v/v de fleurs mâles de *Borassus aethiopum* sur *Epidermophyton floccosum* (DI en fonction de (C))

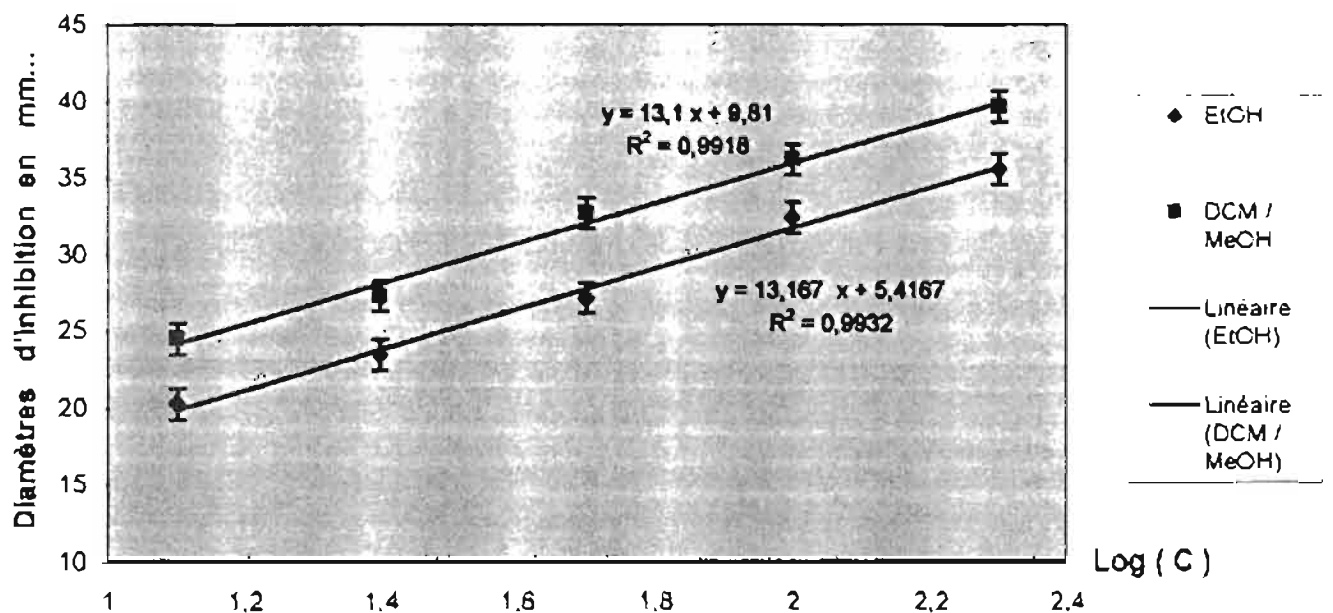


Figure 12 : Courbes dose effet des extraits EtOH et DCM /MeOH 1:1 v/v de fleurs mâles de *Borassus aethiopum* sur *Epidermophyton floccosum* (DI en fonction de Log (C))

EtOH = Extrait éthanolique ; DCM /MeOH = Extrait au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v

DI = Diamètres d'inhibition en mm ; (C) = concentration des extraits en mg/ml

4).RESULTATS DU SCREENING PHYTOCHIMIQUE

Le criblage phytochimique des extraits au dichlorométhane (inactif), au mélange dichlorométhane -méthanol 1:1v/v et éthanolique (actifs) a permis de suspecter des triterpènes et des flavonoïdes.

En effet, la recherche des triterpènes a montré deux spots communs aux trois extraits analysés en utilisant le système S₀ comme éluant. Les références frontales (Rf) mesurées sont de 0,58 et 0,54 (Figure 13).

En ce qui concerne les flavonoïdes, la CCM a permis de mettre en évidence cinq spots présents uniquement dans les deux extraits actifs. Ces spots se situent respectivement à des valeurs Rf de 0,82 ; 0,72 ; 0,62 ; 0,36 et 0,12 avec le système S₁ employé comme éluant. Le flavonoïde de référence (la rutine) se situe à une valeur Rf de 0,32 avec le même système (Figures 14 et 15). Ces résultats sont repris dans le tableau V.

Tableau V : Résultats du screening phytochimique

Extraits analysés	Groupes chimiques suspectés	Révélateurs	Colorations observées	Rf des spots	
				S ₀	S ₁
au dichlorométhane	triterpènes	H ₂ SO ₄ à 3% dans l'éthanol	Violette persistante	0,58	
				0,54	
éthanolique et au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v	flavonoïdes	UV (254 nm)	Fluorescence violette		0,82
		Vapeurs ammoniacales	Jaune ou jaune orangé		0,72
		KOH éthanolique à 2%			0,62
		Diphénylborinate de sodium à 2% dans l'éthanol			0,36
					0,12
				Rut 0,32	

S₁ : mélange toluène, dichlorométhane, méthanol, acide acétique, butanol-2, acétate d'éthyle (5; 7,5; 4; 2; 3: 1 v/v)

S₀ : mélange toluène, dichlorométhane, méthanol (4 : 5 : 1 v/v) ; Rut = rutine

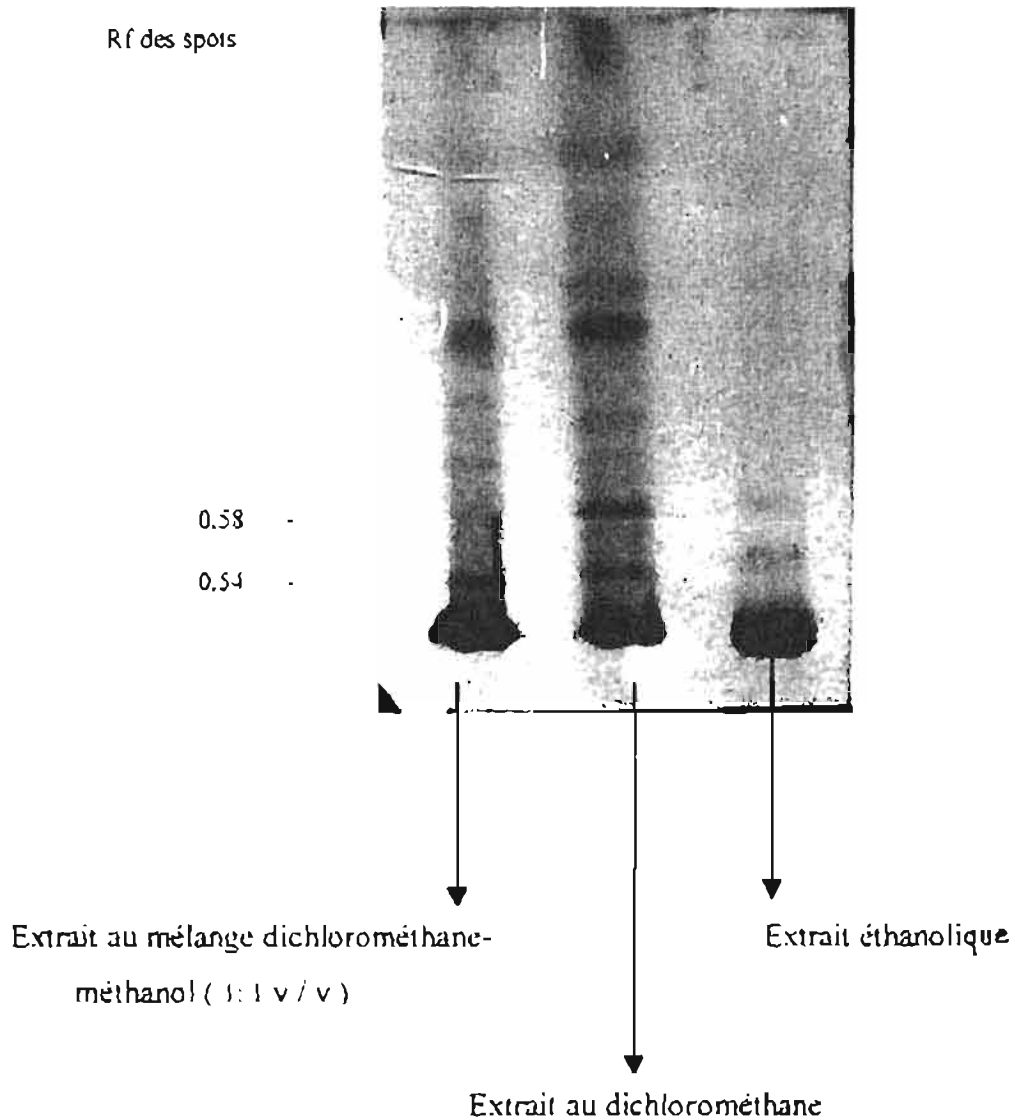


Figure 13 : Chromatogramme des extraits éthanolique, au dichlorométhane et au mélange dichlorométhane-méthanol 1 : 1 v / v de fleurs mâles de *Borassus aethiopum* Mart.

Eluant : mélange toluène, dichlorométhane, méthanol (4. 5. 1 v / v)

Réactif de révélation : H_2SO_4 à 3 % dans l'éthanol, pulvérisation et étuvage de la plaque à 105° pendant 10 mn.

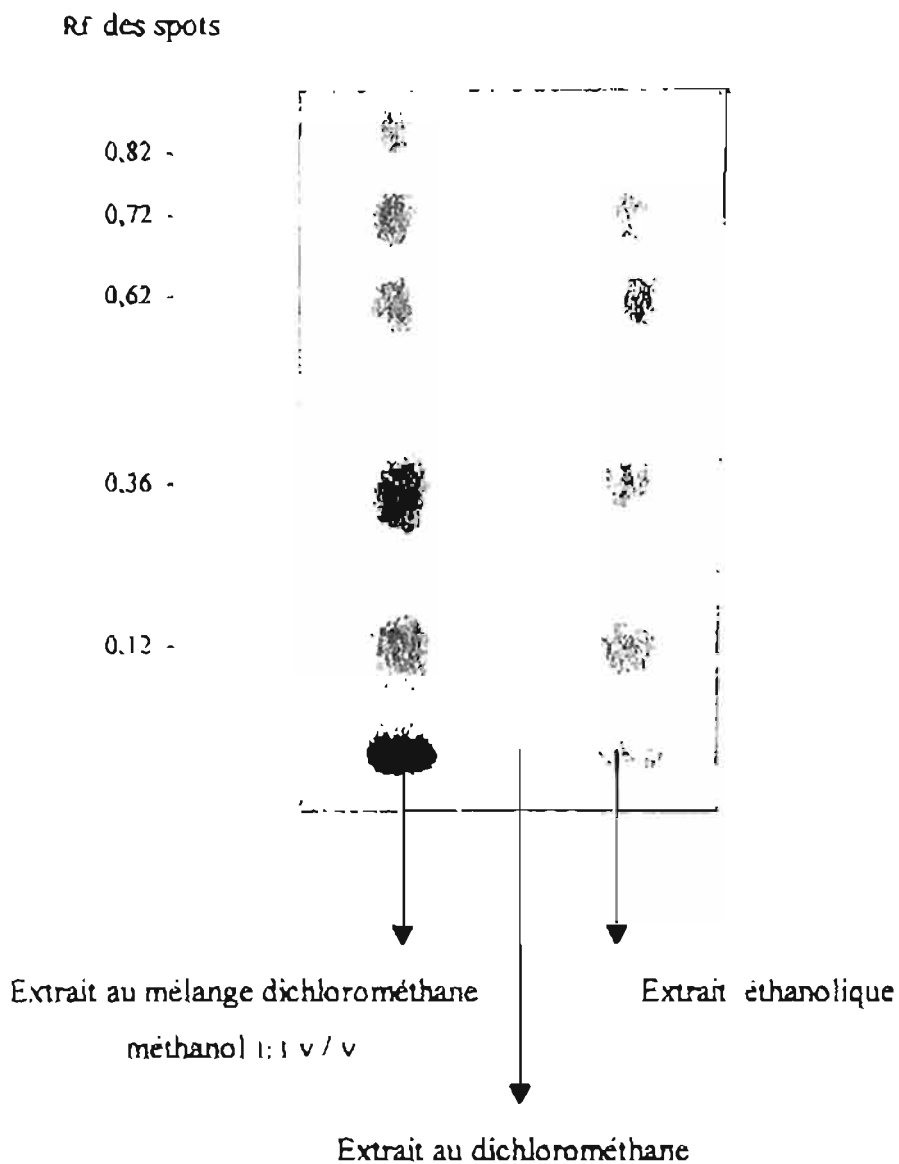


Figure 14 : Chromatogramme des extraits éthanolique, au dichlorométhane et au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v de fleurs mâles de *Borassus aethiopicum Mart.*

Eluant: mélange toluène, dichlorométhane, méthanol, acide acétique, butanol-2, acétate d'éthyle (5 : 7,5 : 4 : 2 : 3 : 1 v/v).

Réactif de révélation : KOH éthanolique à 2 % m/v

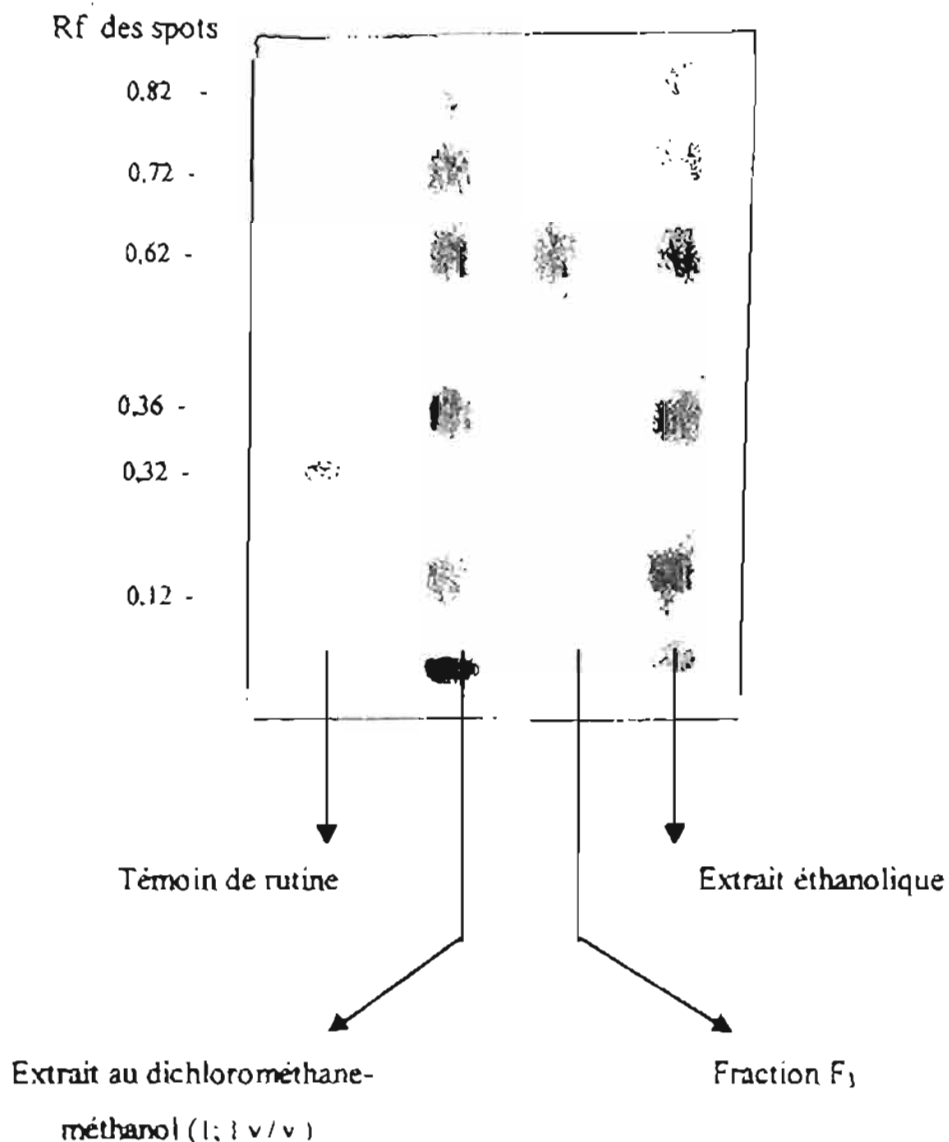


Figure 15: Chromatogramme des extraits éthanolique, au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v de fleurs mâles de *Borassus aethiopicum* Mart. de la fraction F₁ et témoin de rutine.

Eluant: : mélange toluène, dichlorométhane, méthanol, acide acétique, butanol-2, acétate d'éthyle (5 : 7,5 : 4 : 2 : 3 : 1 v/v).

Réactif de révélation : KOH éthanolique à 2 % m/v.

5) RESULTATS DU FRACTIONNEMENT

Le fractionnement des 3,5g d'extrait au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v a permis d'obtenir au total cinq fractions. Il s'agit d'une fraction triterpénique F_1 et de quatre fractions flavonoïdiques F_2 , F_3 , F_4 et F_5 (tableau VI). La fraction F_3 , dont le rendement est le plus élevé (3,33 %), est constituée essentiellement de cristaux. L'observation microscopique (x G 400), a montré qu'il s'agit de cristaux de formes allongées et généralement groupés en amas (Figures 16 et 17).

Tableau VI : Résultats du fractionnement de l'extrait au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v (le plus actif)

		Résultats de la C C M	
Fractions obtenues	Rendements en %	Groupes chimiques suspectés	Rf des spots
F_1	0.62	triterpènes (S_0)	0.57 et 0.55
F_2	0.71	flavonoïdes (S_1)	0.83 : 0.71 et 0.61
F_3	3.33		0.62
F_4	0.83		0,63 et 0.34
F_5	0,57		0.62 : 0.35 et 0.10

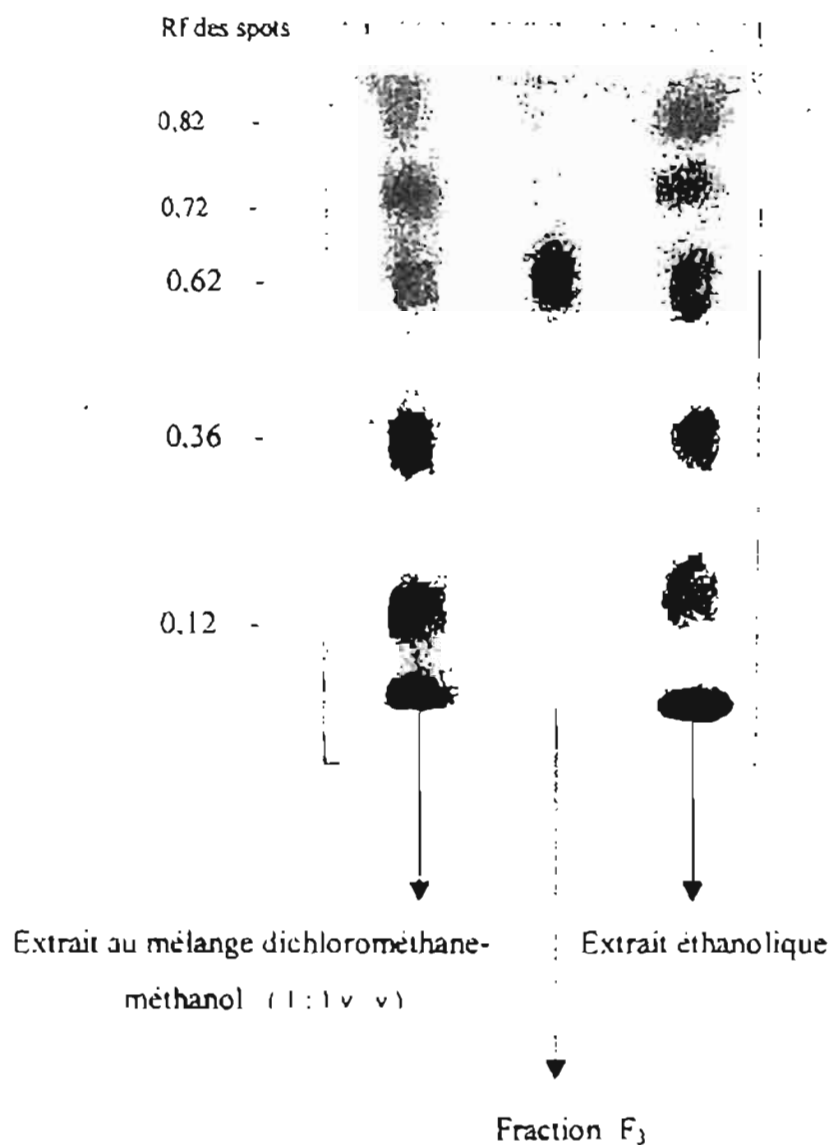


Figure 16 : Chromatogramme des extraits éthanolique, au mélange dichlorométhane-méthanol

1:1 v/v de fleurs mâles de *Borassus uethiopum* Mart et de la fraction F₃

Eluant : mélange toluène, dichlorométhane, méthanol, acide acétique, butanol-2, acétate d'éthyle (5: 7.5: 4: 2: 3: 1 v/v).

Réactif de révélation : KOH éthanolique à 2% m/v



Figure 17: Cristaux de la fraction F_3 vus au microscope (xG400) dans une goutte de
glycérine

6) RESULTATS DU TEST PHARMACOLOGIQUE DES FRACTIONS

Ce test antifongique a été réalisé à la concentration de 12,5 mg/ml sur *Trichophyton rubrum*, *Microsporum langeronii*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton soudanense* et *Epidermophyton floccosum*. Il a montré que la fraction triterpénique F₁ est inactive sur l'ensemble des germes testés. En revanche, les fractions flavonoïdiques F₂, F₃, F₄ et F₅ se sont toutes montrées actives à l'égard de *Trichophyton rubrum*, *Microsporum langeronii*, *Trichophyton interdigitale* et *Epidermophyton floccosum*. La fraction F₃ a manifesté l'activité antifongique la plus marquée sur les quatre dermatophytes sensibles. *Trichophyton soudanense* quant à lui, semble développer une résistance.

Tableau VII : Résultats du test antifongique des fractions chromatographiques

Dermatophytes testés	Diamètres d'inhibition des fractions chromatographiques en mm				
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅
<i>Trichophyton rubrum</i>	0	18,4 ± 2	38,7 ± 1	25,7 ± 1	15,5 ± 2
<i>Trichophyton soudanense</i>	0	0	0	0	0
<i>Trichophyton interdigitale</i>	0	12,1 ± 1	30,5 ± 2	22,4 ± 1	10,4 ± 2
<i>Epidermophyton floccosum</i>	0	14,5 ± 1	31,2 ± 1	20,7 ± 2	11,7 ± 1
<i>Microsporum langeronii</i>	0	17,2 ± 2	40,7 ± 1	24,3 ± 2	17,6 ± 1

COMMENTAIRES & DISCUSSION

La présente étude a consisté à rechercher les propriétés antifongiques des fleurs mâles de *Borassus aethiopum* qui, du reste, sont utilisées en médecine traditionnelle burkinabé comme antimycosique. Pour ce faire, la drogue végétale a été soumise à une étude phytochimique guidée par les tests pharmacologiques.

En effet, l'extraction de la poudre de fleurs a donné successivement les extraits au dichlorométhane, au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v, éthanolique, et aqueux (macéré et décocté). Le rendement le plus élevé a été obtenu avec le macéré aqueux (5,40 %), et le plus faible avec l'extrait au dichlorométhane (1,15 %). Ces résultats sont résumés dans le tableau II. Par ailleurs, des cristaux jaunâtres ont été observés dans les extraits éthanolique et au mélange dichlorométhane- méthanol 1:1 v/v (figure 17).

L'étude pharmacologique préliminaire des cinq extraits obtenus avait pour but d'identifier les extraits actifs. Elle a été réalisée sur *Trichophyton rubrum*, le dermatophyte le plus fréquent au Burkina Faso (30 %) [26] et généralement le plus résistant aux antifongiques [37]. Il ressort de cette étude que les extraits éthanolique et au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v sont très actifs sur ce germe à la concentration de 50 mg/ml. En effet, les diamètres d'inhibition mesurés sont de $30,9 \pm 2$ et $35,6 \pm 2$ mm respectivement pour ces deux extraits. Ce qui représente un rapport d'activité de 1,2 en faveur de l'extrait au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v (le plus actif). Le seuil de signification d'un diamètre d'inhibition étant de 10 mm, ces extraits se révèlent être très fongitoxiques à cette concentration.

En revanche les extraits aqueux et au dichlorométhane n'ont manifesté aucune activité antifongique vis-à-vis de ce germe à la concentration testée. Le tween 80 utilisé pour la cosolubilisation de l'extrait au dichlorométhane et au mélange dichlorométhane-méthanol a aussi été testé afin d'évaluer son activité.

Celui-ci s'est toutefois montré inactif sur *Trichophyton rubrum* à la concentration utilisée, soit 5 mg/ml.

Ce qui signifierait que son usage n'aurait pas d'incidence sur la fongitoxicité plus marquée de l'extrait au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1v/v. Ces résultats que résume le tableau III, montrent aussi que les deux extraits actifs sont ceux au niveau desquels les cristaux ont été observés.

L'étude dose effet des deux extraits actifs a montré une activité dose dépendante sur *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii* et *Epidermophyton floccosum* (figures 6, 8, 10 et 12). Parmi ces dermatophytes, *Microsporum langeronii* est le plus sensible à ces extraits suivi de *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum* et de *Trichophyton interdigitale*. *Trichophyton soudanense* par contre, semble résister à ces extraits actifs, même à la plus forte concentration testée, 200 mg / ml (tableau IV).

L'activité antifongique de l'extrait au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v (le plus actif) a été comparée à celle de la Nystatine (100 UI) utilisée comme standard. Les rapports d'activité obtenus (à 50 mg/ml) en faveur de cet extrait sont de 1,5 ; 2,3 ; 1,8 et 1,9 sur *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii* et *Epidermophyton floccosum* respectivement (tableau IV).

Les résultats de cette étude pharmacologique laissent entrevoir la présence probable de principes antifongiques qui seraient à l'origine de l'activité de ces extraits. C'est pourquoi, un screening phytochimique des extraits actifs a été effectué par CCM en vue de rechercher leurs constituants chimiques. Les plaques chromatographiques des deux extraits actifs ont alors été comparées à celles de l'extrait au dichlorométhane (inactif). Ainsi deux groupes chimiques ont été suspectés parmi les cinq initialement ciblés. Il s'agit des triterpènes et des flavonoïdes.

En effet, la CCM des extraits au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v, éthanolique et au dichlorométhane a permis d'observer deux spots de triterpènes dans les trois extraits analysés (Figure 13). Ceux-ci sont situés respectivement à des valeurs Rf de 0,54 et 0,58 en utilisant S₀ comme éluant. Ce qui nous amènerait à penser que cette activité antifongique n'est pas liée aux triterpènes, puisque suspectés aussi dans l'extrait au dichlorométhane qui s'est avéré inactif.

La recherche des flavonoïdes a permis, par contre, de mettre en évidence cinq spots retrouvés uniquement dans les deux extraits actifs (éthanolique et au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v). Il s'agit des flavonoïdes situés à des valeurs Rf de 0,82 ; 0,72 ; 0,62 ; 0,36 et 0,12 en utilisant le système S₁ comme éluant (figure 14). La rutine utilisée comme flavonoïde de référence se situe à une valeur Rf de 0,32 avec le même système (figure 15).

Au regard de ces résultats, l'hypothèse selon laquelle l'activité antifongique de ces résultats soit liée aux flavonoïdes suspectés semble plus probable. C'est pourquoi le fractionnement par chromatographie sur colonne de l'extrait le plus actif (au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v /v) a été envisagé afin de séparer ses constituants chimiques. Il a permis de suspecter une fraction triterpénique F₁ et quatre fractions flavonoïdiques F₂, F₃, F₄ et F₅. Les tests antifongiques ont montré que la fraction triterpénique F₁ n'a pas d'activité antifongique. Cependant, toutes les fractions flavonoïdiques sont actives sur les quatre dermatophytes sensibles. L'activité antifongique la plus marquée a été observée avec la fraction cristalline F₃ (tableau VII). Elle est 1,4 fois plus active que l'extrait initial (à 12,5 mg/ml) sur le germe le plus sensible (*Microsporum langeronii*).

Le screening phytochimique des fractions a montré que le flavonoïde (Rf = 0,62 : figure 16) suspecté dans la fraction F₃ est retrouvé au niveau des autres fractions flavonoïdiques (tableau VI). La fongitoxicité de ces fractions pourrait donc être

liée à ce flavonoïde. Nous pensons aussi qu'il pourrait s'agir d'une synergie d'action entre les différents composés de ce groupe chimique suspecté.

Cette étude nous a donc permis de soupçonner des flavonoïdes comme étant à l'origine des propriétés antimycosiques des fleurs de *Borassus aethiopum*. Le flavonoïde suspecté dans la fraction F₃ a donné l'activité la plus importante sur les quatre dermatophytes sensibles. Ce composé se présente au microscope sous forme de cristaux allongés généralement groupés et superposés en plusieurs couches (figure 17). Il pourrait s'agir d'un flavonoïde car certains d'entre eux cristallisent.

Cette activité antifongique des flavonoïdes n'est cependant pas surprenante puisqu'ils protégeraient le bois des arbres contre les attaques fongiques [44].

Ces résultats rejoignent ceux de nombreux auteurs qui ont démontré l'activité antifongique des flavonoïdes. Ainsi les flavonoïdes retrouvés au niveau de *Alpinia speciosa* par Bep auraient une action antifongique contre *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Epidermophyton floccosum* [6].

O'Neill et coll. ont aussi montré l'activité antifongique de la 4 et 7-hydroxyflavane sur *Botrytis cinerea* et *Cladosporium herbarum* [42].

Les Isoflavanes extraits de *Glycine max* et de *Cicer arietinum* par Krämer et coll. seraient actifs sur *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium digitatum* et *Fusarium culmorum* [34].

Mizobuchi et coll. ont montré aussi que la 6-Isopenténylnaringénine (une flavanone), avait une fongitoxicité très impressionnante sur *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton mentagrophytes*. Sa concentration minimale inhibitrice serait deux fois plus faible que celle de la griséofulvine considérée comme l'antifongique de référence dans le traitement des dermatophyties.

L'utilisation de ces produits en thérapeutique, pourrait s'avérer intéressant à plusieurs titres. En effet ils cumulent trois propriétés judicieusement exploitables surtout dans le traitement des formes inflammatoires et suintantes des mycoses superficielles. Il s'agit notamment de leurs propriétés antifongique, anti-inflammatoire et vitaminique P [16]. Leur usage permettrait non seulement de combattre l'agent causal, mais aussi l'inflammation souvent associée aux dermatophytoses. Aussi, l'augmentation de la résistance capillaire liée à la propriété vitaminique P serait-elle bénéfique dans le traitement des formes suintantes.

L'existence d'une très forte corrélation entre la concentration en extraits actifs et le diamètre d'inhibition, laisse penser à une possibilité de standardisation de formes galéniques à partir de cette plante.

Aux termes de cette étude, grâce à des tests phytochimiques et pharmacologiques, des flavonoïdes ont été suspectés comme étant responsables des propriétés antifongiques des fleurs de *Borassus aethiopum*.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Borassus aethiopum est une plante de la famille des Arecaceae pouvant atteindre 20 à 30 m de haut. C'est une plante rencontrée dans les régions tropicales et dont les usages sont multiples. Ainsi au Burkina Faso, ses fleurs mâles sont traditionnellement utilisées pour traiter les mycoses superficielles. C'est pourquoi cette étude a été initiée afin d'évaluer les propriétés pharmacologiques de ces fleurs.

Ainsi les tests antifongiques des extraits obtenus par épuisement successif de la poudre à l'aide de solvants de polarités croissantes ont montré une forte activité de deux d'entre eux. Il s'agit des extraits éthanolique et au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v qui ont manifesté une fongitoxicité très marquée vis-à-vis de la plupart des germes testés. L'extrait au mélange dichlorométhane -méthanol 1 :1 v/ v, qui est le plus actif est 2,3 fois plus efficace à 50 mg/ ml que le standard de Nystatine sur *Trichophyton rubrum*.

Le screening phytochimique des extraits actifs a permis de suspecter des flavonoïdes comme étant responsables de cette fongitoxicité. Cette suspicion a été renforcée par la CCM de la fraction la plus active (F₃). Cette fraction constituée de cristaux est 1,4 fois plus active que l'extrait initial sur *Microsporum langeronii* (le plus sensible des germes testés).

Ces résultats expérimentaux justifieraient non seulement l'usage traditionnel de ces fleurs comme antimycosique, mais aussi l'importance des plantes dans la recherche de nouvelles molécules actives.

Cette étude, quoique intéressante, a été émaillée de quelques difficultés. Il s'agit principalement du manque de souches et de la recherche d'éluant approprié pour les flavonoïdes. Les systèmes standards de solvants utilisés pour la CCM des flavonoïdes ne nous ont pas donné satisfaction. C'est ce qui explique la complexité de l'éluant utilisé. Aussi, le manque de disques de griséofulvine n'a-t-il pas permis de comparer les extraits actifs à cet antifongique considéré comme la référence en matière de dermatophytose. Cela pourrait néanmoins être

réalisé ultérieurement avec le produit purifié afin de mesurer réellement son efficacité. Ce travail mérite d'être poursuivi par l'isolement, la purification et l'étude structurale de la substance active. Ce qui permettrait d'envisager des essais toxicologiques puis la mise en forme galénique soit du produit naturel ou après hémisynthèse ou même synthèse totale.

RESUME

Les fleurs de *Borassus aethiopum* sont traditionnellement utilisées au Burkina Faso pour le traitement des mycoses superficielles. Cette étude avait pour but d'évaluer les propriétés antifongiques de cette plante sur les agents étiologiques les plus fréquents.

Pour cela, la poudre de fleurs a successivement été extraite par des solvants de polarités croissantes permettant ainsi d'obtenir cinq extraits. Il s'agit des extraits au dichlorométhane, au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v, éthanolique et aqueux (macéré et décocté).

L'étude de l'activité antifongique de ces extraits a été réalisée sur cinq dermatophytes par la méthode des cupules sur milieu de Sabouraud avec chloramphénicol et actidione. Elle a montré que les extraits éthanolique et au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v sont très actifs sur quatre des dermatophytes testés. Il s'agit de *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii* et *Epidermophyton floccosum*. *Trichophyton soudanense* par contre, semble résister aux mêmes extraits. Ces deux extraits, à la différence des autres, renfermaient des cristaux jaunâtres.

Le screening phytochimique des extraits actifs a permis de suspecter des flavonoïdes probablement à l'origine de cette activité antifongique. L'extrait le plus actif a donc été fractionné afin d'isoler la fraction la plus active. Les fractions flavonoïdiques obtenues se sont montrées toutes actives sur les quatre dermatophytes sensibles. La plus active a été la fraction F₃, constituée essentiellement de cristaux.

Nous avons ainsi, grâce à cette étude *in vitro*, prouvé les propriétés antimycosiques des fleurs de cette plante, qui seraient liées aux flavonoïdes suspectés.

Mots clés : Propriétés antifongiques, flavonoïdes, *Borassus aethiopum*. Mart.
et dermatophytes.

SUMMARY

The male flowers of *Borassus aethiopum* are traditionally used to treat skin fungal diseases in Burkina Faso. The aim of this study was to evaluate this antifungal propriety.

In this purpose, the powder of the flowers has been successively extracted by increasing polarity solvents. Five extracts have been obtained. It was about the dichlorométhanic, mixture dichlorométhane-méthanolic 1:1 v/v, ethanolic and aqueous extracts.

The pharmacological essay in Sabouraud medium showed that the ethanolic and the mixture dichlorométhane-méthanolic 1:1 v/v extracts are strongly active against almost of the dermatophytes used. This fungal toxicity concerned *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii* and *Epidermophyton floccosum*.

The phytochemical screening of the two active extracts by TLC. allowed suspecting flavanoïds to be responsible of this antifungal activity. Then, the dichlorométhane-méthanolic extract has been fractionated in order to isolate the most active fraction. The flavonïdic fractions obtained were all active against the four agents. But, the most active one was the crystalline fraction F₃ that TLC has suspected a flavonoïd.

The flavonoids suspected in the active extracts should probably be responsible of the antifungal propriety of the flowers of *Borassus aethiopum*.

Key words : Flavonoïds, antifungal activity, *Borassus aethiopum* Mat., and dermatophytes.

ANNEXES

1-) Liste des abréviations,

- A C C T : Agence pour la Coopération Culturelle et Technique.
- B F : Burkina Faso.
- CAMES : Conseil africain et malgache pour l'Enseignement Supérieur.
- TLC : Thin Layer Chromatography.
- C C M : Chromatographie sur couche mince.
- CHN-YO : Centre Hospitalier National Yalgado Ouedraogo.
- DCM = CH_2Cl_2 : dichlorométhane.
- UFR / SDS : Unité de Formation et de Recherche des Sciences de la Santé.
- UFR/ SEA : Unité de Formation et de Recherche en Sciences Exactes et Appliquées.
- IRSS : Institut de Recherche en Sciences de la Santé.
- Rf : Référence frontale.
- UV : Ultraviolet.

2-) Liste des formules chimiques

- EtOH : éthanol
- KOH : hydroxyde de potassium
- H_2SO_4 : acide sulfurique
- H_2O : eau
- HCl : acide chlorhydrique
- MeOH : méthanol
- Na_2SO_4 : sulfate de sodium
- NH_4OH : ammoniacque

3-) Liste des Symboles

h :	heure
°C :	degré Celsius
g :	gramme
ml :	millilitre
mm :	millimètre
mn :	minute
nm :	nanomètre
® :	registered name
UI :	unité internationale
µl :	microlitre
V/V :	volume/ volume
Ji :	i ^{ème} jour
J :	jour
Log :	Logarithme népérien
m :	mètre
mg :	milligramme

4-) Liste des figures

Figure 1 :	Situation des dermatophytes dans le règne végétal.....	4
Figure 2 :	Situation de <i>Borassus aethiopum</i> Mart. dans le règne végétal.....	13
Figure 3 :	<i>Borassus aethiopum</i> Mart : Plante mâles et ses fleurs	15
Figure 4 :	Protocole d'extraction des alcaloïdes.....	31
Figure 5 :	Courbe dose effet des extraits EtOH et DCM/MeOH 1 :1 v/v de fleurs mâles de <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Trichophyton rubrum</i> (DI en fonction de C).....	37

Figure 6 : Courbe dose effet des extraits Et0H et DCM/Me0H 1:1 v/v de fleurs mâles de <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Trichophyton rubrum</i> (DI en fonction de log C).....	37
Figure 7 : Courbe dose effet des extraits Et0H et DCM/Me0H 1:1 v/v de fleurs mâles de <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Trichophyton interdigitale</i> (DI en fonction de C).....	38
Figure 8 : : Courbe dose effet des extraits Et0H et DCM/Me0H 1:1 v/v de fleurs mâles de <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Trichophyton interdigitale</i> (DI en fonction de log(C)).....	38
Figure 9 : Courbe dose effet des extraits Et0H et DCM/Me0H 1:1 v/v de fleurs mâles de <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Microsporum langeronii</i> (DI en fonction de C).....	39
Figure 10 : Courbe dose effet des extraits Et0H et DCM/Me0H 1:1 v/v de fleurs mâlesde <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Microsporum langeronii</i> (DI en fonction de log(C)).....	39
Figure 11 : Courbe dose effet des extraits Et0H et DCM/Me0H 1:1 v/v de fleurs mâlesde <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Epidermophyton floccosum</i> (DI en fonction de C).....	40
Figure 12 : Courbe dose effet des extraits Et0H et DCM/Me0H 1:1 v/v de fleurs mâlesde <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Epidermophyton floccosum</i> (DI en fonction de log(C).....	40

5-) Listes des tableaux

Tableau I : Quelques caractéristiques botaniques et topographiques permettant l'identification des dermatophytes étudiés	21
Tableau II : Résultats de l'extraction de la poudre de fleurs de <i>Borassus</i> <i>aethiopum</i> Mart.....	34
Tableau III : Résultats de l'étude pharmacologique Préliminaire.....	35
Tableau IV : Résultats de l'étude dose effet.....	36
Tableau V : Résultats du screening phytochimique.....	41
Tableau VI : Résultats du fractionnement de l'extrait au mélange dichlorométhane-méthanol (1:1 v/v).....	45
Tableau VII : Résultats du test antifongique des fractions Chromatographiques.....	48

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1-Adjanohoun E.J., Ahyi M.R.A., Aké A.L., Akpayana K., Chibon P., El Adji A., Eymé J., Garba M., Gassita J.-N., Gbeassor M., Goudote E., Guinko S., Hodouto K.-K., Houngnon P., Kéita A., Keoula Y., Klouga ocloo W.P., Lô I., Siameivi K.M., Taffame K.K.

Médecine traditionnelle et pharmacopée : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. Paris : A.C.C.T., 1986 : 671 P.

2-Adjanohoun E.J., Aké A.L., Baniakina J., Chibon P., Cusset G., Doulou V., Enzanza A., Eymé J., Goudote E., Kéita A., Mbemba C., Mollet J., Moutsamboté J.-M., Mpati J., Sita P.,

Médecine traditionnelle et pharmacopée : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République populaire du Congo. Paris : A.C.C.T, 1988 : 605 P.

3-Badillet G.

Dermatophyties et dermatophytes. Atlas clinique et biologique. 3^e édition. Paris : Varia, 1991 : 303 P.

4-Basex J., Loche F.

Infection à dermatophytes de la peau glabre et des plis : Diagnostic et traitement. Revue du praticien. Paris : 1996 : Vol. 46 . 1135-1140.

5-Bassen E.

Cours de pharmacognosie 2. Dakar : 1992 : 125 P.

6-Bep O.B.

Médecinal plants in tropical west Africa. 1st édition. London Cambridge University press, 1986 : 375 P.

7-Berhaut J.

Flore du Sénégal. 2^e édition. Dakar : Clairafrique, 1967 : 177 P.

8-Blanc-Pamard C.

De l'utilisation des trois espèces de palmiers dans le Sud du « V Baoulé » (Côte d'Ivoire). Dans : Cahier ORSTOM, Série sciences humaines. 1980 : Vol. 17. N° 3-4, 247-255.

9-Bonga G.M., Vangha-Manda M., De Souza C., Guede Guina F. R.

Mise en évidence de phytostérols antifongiques contre cryptococcus néoformans. Revue Méd. Pharm. Afr. 1995 : Vol. 9. N° 1, 21-30.

10-Bouchet Ph.

Abrégé de cryptogamie. Paris : Masson. 1979 : 207 P.

11-Bouchet Ph., Guignard J.L., Modulo-Leblond G., Regli P.

Abrégé de mycologie générale et médicale. Paris : Masson, 1989 : 179 P.

12-Bourée P.

Examen de laboratoire en médecine tropicale. Paris: Masson, 1987: 75-76.

13-Bourée P.

Maladies tropicales. Paris :Masson, 1987 : 396 P.

14-Bourée P.

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

15-Brumpt L., Brumpt V..

Travaux pratiques de parasitologie. 7^e édition. Paris: Masson, 1967: 341-387.

16-Bruneton J.

Pharmacognosie : Phytochimie. plantes médicinales. 2^e édition. Paris: Lavoisier, 1993 : 915 P.

17-Cassou J.

Le Parc à rôniers de Wolokonto dans le Sud- Ouest du Burkina Faso: Structure, dynamisme et utilisation de la rôneraie. D.E.S.S «Gestion des systèmes agro-sylvo pastoraux en zone tropicale ». Ouagadougou. 1996 : 87 P.

18-Compaoré L.

Etude des teignes du cuir chevelu en milieu scolaire dans la ville de Ouagadougou (B.F). Thèse Méd. Université de Ouagadougou. 1993. n°280: 66 P.

19-Crété P.

Précis de botanique. Tome II. Systématique des Angiospermes. Paris: Masson et C^{ie}, 1965 : 429 P.

20- De La Pradilla C.-F.

Les plantes contre douze parasitoses fréquentes. Ouagadougou IPA. 1980: 64 P.

21- De La Pradilla C.-F.

Des plantes qui nous ont guéris. Ouagadougou. Petit séminaire de Pabré. 1982 : 208 P.

22- Eldin M., Milleville P.

Les risques en agriculture. Paris : ORSTOM, 1989 : 619 P.

23- Gentilini M., Danis M., Brücker G., Duflo B., Richard Lenoble D.

Diagnostic en parasitologie. Paris : Masson, 1983 : 153 P.

24- Gentilini M., Duflo B.

Médecine tropicale. 4^e édition. Paris : Flammarion, 1986 : 839 P.

25- Grigoriu D., Delacrétaz J., Borelli D.

Traité de mycologie médicale. 2^e édition. Paris : Doin, 1986 : 492 P.

26- Gschladt W.

Le rônier au Dallol Maouri, Niger. Dans: Bois et forêt des tropiques. 1972 :

Vol. 145, 3-6.

27- Guigma Y. I.

Etude des agents des mycoses cutané-phanériennes à Bobo Dioulasso. Thèse de Pharmacie. République de Côte d'Ivoire. 1996 : 96 P.

28- Guiguemdé T. R., Tapsoba G. P., Paré J. L., Sawadogo O.

Données préliminaires sur les mycoses cutané -phanériennes à Ouagadougou (Burkina Faso). Médecine tropicale. 1992 : Vol. 52 , 151-155.

29- Hamon M., Mahuzier G.

Abrégé de chimie analytique. Tome II. Méthodes de séparation. 2^e édition. Paris : Masson, 1986 : 262 P.

30- Jaenchen D. E.

Thin-Layer chromatography. In : Hand book of instrumental techniques for analytical chemistry. Frank Settle. 1997 : 221-239.

31- Jawetz E., Melnick J.L., Adelberg E.A.

Review of medical microbiology. 14th édition. Lange, 1980 : 593 P.

32- Kalhem G.

Recherches préliminaires de plantes à propriétés antifongiques parmi la flore sénégalaise. Dans : Médecine traditionnelle et pharmacopée africaines. 4^e Colloque du CAMES. Libreville. 1979: 56-63.

33-Kambou Y. S.

Contribution à l'étude de l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber* Zucc. Thèse de Pharmacie. Ouagadougou (BF). 1999 : 58 P.

34-Krämer R.P., Hindorf H., Jab H.C., Kallage J., Zilliken F.

Antifungal activity of Soybean and Chickpea isoflavonoïds and their reduced derivatives. In :Phytochemistry. 1984 : Vol. 23. N° 10, 2203-2205.

35-Lutz L.

Traité de cryptogamie. 2^e édition. Paris : Masson et c^{ie}, 1948 : 708 P.

36-Mizobuchi S., Sato Y.

A new flavanone with antifungal activity isolated from Hops. In: Agricultural and biological chemistry. 1984 : Vol. 48. N° 11, 2771 – 2775.

37-Mobié M., Bonga G.M., Vangha –Manda M., De Souza C.

Action antifongique d'une huile végétale sur *Trichophyton rubrum*. Revue méd. Pharm. Afr. 1997-1998 : Vol. 11-12, 185-192.

38-Nacoulma O.

Plantes médicinales et pratiques médicinales traditionnelles au B.F. Cas de du plateau central. Tome I. Doctorat ès sciences naturelles : Université de Ouagadougou. 1996 : 320 P.

39-Nacoulma O.

Plantes médicinales et pratiques médicinales traditionnelles au B.F. Cas du plateau central. Tome II. Doctorat ès sciences naturelles : Université de Ouagadougou. 1996. 285 P.

40-Nikiema J-B.

Contribution à l'étude phytochimique et pharmacologique de *Leptadenia hastata*. Doctorat ès sciences pharmaceutiques. Université Libre de Bruxelles. 1997.

41-O'fel A.

Parasitologie, Mycologie : Maladies parasitaires et fongiques. Association des Professeurs de parasitologie. 3^e édition. Paris: E. Crouan et Roques, 1982 : 349 P.

42-O'neill T. M., Mansfield J.W.

Antifungal activity of hydroxyflavans and other flavonoïds. In: Transactions of the british mycological society. 1982: Vol. 79. N° 2, 229-237.

43-Paris R. R., Moyse H.

Matière médicale. Tome I. Paris : Masson et c^{ie}, 1965 : 416 P.

44-Parmentier J-L.

Les cryptogames. Atlas de Botanique. Paris: Gange Batelière, 1973: 107 P.

45-Rouessac F., Rouessac A.

Analyse chimique: Méthode et technique instrumentales modernes. 2^e édition. Paris : Masson, 1995 : 303 P.

46-Tapsoba G. M. L.

Contribution à l'étude des mycoses cutané-phanériennes et de leurs agents étiologiques dans les consultations dermatologiques à Ouagadougou. Thèse Méd. Université de Ouagadougou : 1991. N° 12.

47-Vandepitte J., Enybaek K., Piot P., Heuck C.C.

Bactériologie clinique: Techniques de base pour le laboratoire. Genève: O.M.S. 1994 : 121 P.

48-Von Maydell H.J.

Arbres et arbustes du Sahel. Leurs caractéristiques et leurs utilisations. Office allemande de la Coopération Technique. Eschbern : 1983 : 531 P.

UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES DE LA SANTE

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et mes condisciples :

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

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

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

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

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

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

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ACTIVITE
ANTIFONGIQUE DE
Borassus aethiopum Mart.
(Arecaceae)**

Les fleurs mâles de *Borassus aethiopum* sont traditionnellement utilisées au Burkina Faso pour le traitement des mycoses superficielles. Cette étude avait pour but d'évaluer les propriétés antifongiques de ces fleurs sur les agents étiologiques les plus fréquents.

Pour cela, la poudre de fleurs a successivement été extraite par des solvants de polarités croissantes permettant ainsi d'obtenir cinq extraits. Il s'agit des extraits au dichlorométhane, au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v, éthanolique et aqueux (macéré et décocté).

L'étude de l'activité antifongique de ces extraits a été réalisée sur cinq dermatophytes par la méthode des cupules sur milieu de Sabouraud avec chloramphénicol et actidione. Elle a montré que les extraits éthanolique et au mélange dichlorométhane-méthanol sont très actifs sur *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii* et *Epidermophyton floccosum*. L'extrait au mélange dichlorométhane-méthanol 1:1 v/v s'est montré le plus actif sur ces dermatophytes. *Trichophyton soudanense* par contre, semble résister aux mêmes extraits. Ces deux extraits actifs, à la différence des autres, renfermaient des cristaux jaunâtres.

Le screening phytochimique par CCM des extraits actifs a permis de suspecter des flavonoïdes probablement à l'origine de cette activité antifongique. L'extrait le plus actif a donc été fractionné afin d'isoler la fraction la plus active. Les fractions flavonoïdiques obtenues se sont montrées toutes actives sur les quatre dermatophytes sensibles. La fraction F₃ constituée essentiellement de cristaux a manifesté l'activité antifongique la plus marquée.

Nous avons ainsi, grâce à cette étude *in vitro*, prouvé les propriétés antimycosiques des fleurs mâles de cette plante, qui seraient liées aux flavonoïdes suspectés

Mots clés: Propriétés antifongiques, flavonoïdes, *Borassus aethiopum* Mart, et dermatophytes.