

BURKINA FASO
.....
UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU
.....
UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN SCIENCES DE LA SANTE
Section Pharmacie
.....

Année Universitaire 2000 - 2001

Thèse n° 05

Contribution de la caractérisation des principes
antiplasmodiques de *Gardenia sokotensis* Hutch

(*Rubiaceae*)

Chez la souris NMRI infectée par *Plasmodium berghei*

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 10 Mars 2001

Pour obtenir le

Grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

par

YAGO Dicko Ismaël

Né le 13 septembre 1972 à Bobo-Dioulasso

Jury

Président : Pr B. KOUDOGBO (UFR/SDS, Ouaga)
Membres : Pr I. Z. KABORE (IRSS, Ouaga)
: Pr E. BASSENE (Faculté de Médecine -Pharmacie et Odonto-stomatologie, Dakar)
: Dr L. K. TRAORE (UFR/SDS, Ouaga)
: Dr J. B. NIKIEMA (UFR/SDS, Ouaga)

Directeur de thèse : Pr T. R. GUIGUEMDE

Co- directeurs : Dr J. B. NIKIEMA

: Dr M. TRAORE /COULIBALY

**Contribution à la caractérisation des principes
antiplasmodiques de *Gardenia sokotensis*
Hutch (*Rubiaceae*) chez la souris NMRI
Infestée par *Plasmodium berghei***

Travail réalisé:

- au Département de Médecine, Pharmacopée traditionnelles / Pharmacie (MEPHATRA / PH) de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé;
 - au Laboratoire de Pharmacognosie de la F.S.S ;
 - au Laboratoire de Parasitologie - Entomologie du Centre Muraz ;
- du 16 Décembre 1998 au 20 Février 2000.

Liste du Personnel Administratif

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 des Stages de la Section Médecine	Pr. Ag. Y Joseph DRABO
Directeur des Stages de la Section de Pharmacie	Dr OUEDRAOGO / Rasmata TRAORE
Coordonnateur C.E.S. de Chirurgie	Pr Amadou SANOU
Secrétaire Principal	M. TRAORE Fakoua
Chef de Service Administratif et Financier (CSAF)	Mme Christine NARE
Conservateur de la Bibliothèque	M Salif YADA
Chef de la Scolarité	Mme Kadı ZERBO
Secrétaire du Directeur	Mme Habi KEITA
Secrétaire du Directeur Adjoint	Mme KABRE Hakiéta
Audiovisuel	M. Alain Pascal PITROIPA
Reprographie	M Abdoulaye BAGUIYAN
Service Courrier	M Ousmane SAWADOGO

LISTE DES ENSEIGNANTS DE L'UFR/SDS

ENSEIGNANTS PERMANENTS

Professeurs titulaires

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

Professeurs associés

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

Maîtres 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 LINGANI	Néphrologie
Oumar TRAORE N°1	Orthopédie-Traumatologie
Kampadilemba OUBA	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

Maîtres-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 TOURL

Gynéco-Obstétrique

Michel AKOTIONGA

Gynécologie-Obstétrique

Rasmata OUEDRAOGO TRAORE

Bactério-Virologie

Alan ZOUBGA

Pneumologie

Boubacar NACRO

Pédiatrie

KABRI Abel

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 NIAKARA	Cardiologie

Assistants Chefs de cliniques

T.Christian SANOU (in memoriam)	Oto Rhino Laryngologie
Doro SERME (in memoriam)	Cardiologie
Hamadé OUEDRAOGO	Anesthésie-Réanimation physiologie
Alexis ROUAMBA	Anesthésie-Réanimation physiologie
M. Théophile COMPAORE	Chirurgie
Y. Abel BAMOUNI	Radiologie
André K. SAMANDOULOUGOU	Cardiologie
Rigobert THIOMBIANO	Maladies Infectieuses
Raphaël DAKOURE	Anatomie-Chirurgie

Assistants

Robert O. ZOUNGRANA	Physiologie
Bobliwendé SAKANDE	Anatomie-Pathologique
Raphaël SANOU (in memoriam)	Pneumo-phtisiologie
Oumar TRAORE, N°2 (in memoriam)	Radiologie
Pingwendé BONKOUNGOU	Pédiatrie
Arsene M. D. DABOUL	Ophthalmologie
Nonfounkoun Dieudonne MFDA	Ophthalmologie
Athanase MHELOUO	Neurologie

Vincent OUEDRAOGO	Médecine du Travail
S. Christophe DA	Chirurgie
Nazinigouba OUEDRAOGO	Réanimation
Aurélien Jean SANON	Chirurgie
LOUGUE / SORGHO Claudine	Radiologie
YE / OUATTARA Diarra	Pédiatrie
Bernabé ZANGO	Chirurgie
L. Valerie Adélaïde NEBIE	Cardiologie
Blandine THIEBA	Gynécologie-Obstétrique
Abdel Karim SERME	Gastro-Entérologie
Moussa BAMBARA	Gynécologie-Obstétrique
Fatou BARRO	Dermatologie
Olga LOMPO	Anatomie Pathologique
Appolinaire SAWADOGO	Gastro-Entérologie
Martial OUEDRAOGO	Pneumo-Phthisiologie
Moussa KERE	Santé Publique
Laurent OUEDRAOGO	Santé Publique
Innocent NACOULMA	Orthopédie-Traumatologie
P. 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
Dieudonne OUEDRAOGO	Chirurgie maxillo-faciale

Assistants Biologistes des Hôpitaux

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

ENSEIGNANTS NON PERMANENTS Faculté des Sciences et Techniques (FAST) Professeurs Titulaires

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

Maîtres de Conférences

Boukary	LEGMA	Chimie-Physique Générale
François	ZOUGMORE	Physique
Adama	SABA	Chimie Organique
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
Georges Annicet OUEDRAOGO	Biochimie

Faculté des Sciences Economiques et de Gestion (FASEG)

Maître-Assistant

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

Assistants

Mamadou BOLY	Gestion
--------------	---------

Faculté de Droit et Sciences Politiques (FDSP)

Assistants

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

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. GUILET	Hydrologie
M. DAHOUC (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 Aljne TIENDREBÉGO	Chimie Analytique et contrôle médic.
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. M. K. A. EDEE	Biophysique (Lomé)
Pr. Mbayang NDIAYE-NIANG	Physiologie (Dakar)
Pr. 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

A NOS MAITRES ET JUGES

*A notre maître et Directeur de thèse
Le Pr Tinga Robert GUIQUEMDE
Professeur titulaire de Parasitologie.*

De vous, nous retiendrons les immenses connaissances que vous possédez, votre simplicité et votre disponibilité malgré vos multiples occupations. Nous espérons que ce travail que vous nous avez confié sera à la hauteur de vos attentes.

*A notre maître et président de Jury
Le Pr Blaise KOUDOGBO
Professeur titulaire de Toxicologie.*

Nous avons toujours apprécié vos immenses qualités scientifiques et humaines, votre rigueur. Nous vous remercions et vous exprimons notre profonde gratitude pour avoir accepté de présider le jury chargé de juger ce travail.

*A notre maître et juge
Le Pr Issaka Z. KABORE
Directeur de Recherche au CNRST.*

Nous vous sommes reconnaissant de l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury. Sincères remerciements à vous.

*A notre maître et juge
Le Pr Emmanuel BASSENE
Professeur titulaire de Pharmacognosie.*

Nous sommes très heureux de vous compter parmi le jury chargé de juger ce travail. Vous nous avez apporté beaucoup lors de vos cours de Pharmacognosie et de phytothérapie ce qui nous persuade qu'une fois de plus, votre contribution et votre jugement ne feront qu'honorer et améliorer ce document. Merci.

A notre maître et juge,

le Dr Lady Kadidiatou TRAORÉ

Maître - Assistant de Parasitologie

Nous sommes très touchés de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail. Vos cours de Parasitologie - Mycologie ont été beaucoup appréciés par nous et nous sommes persuadés que votre apport grandira davantage ce document. Merci

A notre maître et codirecteur

Le Dr Jean – Baptiste NIKIEMA.

Maître – Assistant de Pharmacognosie.

Très modeste et disponible vous avez toujours été là pour nous éclairer dans la réalisation de ce travail. Votre gentillesse et vos immenses connaissances scientifiques nous ont toujours impressionné et animé en nous le désir de connaître davantage. Sincère reconnaissance et grand merci à vous.

A notre maître et codirectrice

Le Dr Maminata COULIBALY

Attachée de Recherche au CNRST.

Nous vous sommes reconnaissants pour vos critiques constructives, suggestions et encouragements et votre constante disponibilité. Soyez en remerciée.

DEDICACES

** A Dieu le Père, le Fils et le Saint Esprit*

pour tous les bienfaits reçus.

** A mon père (In memoriam)*

Papa, je t'ai peu connu car tu nous as prématurément quitté ; mais ton honnêteté, ta générosité, ton amour pour autrui m'ont marqué.

Que de joie et de bonheur pour moi si tu étais encore de ce monde.

Repose en paix.

** A ma mère*

Seule après la perte cruelle de papa, tu as su trouver les ressources nécessaires pour nous élever.

Sois assurée de mon éternel amour.

** A mes frères et sœurs (Belomi, Rachid, Lidwine, Eric)*

Chacun de vous a toujours su m'apporter à sa manière son soutien lors de mes études.

Que, cette solidarité entre nous se renforce.

** A ma tante Madame SOULAMA Agnès et son époux*

Pendant la préparation de ce travail vous m'avez beaucoup soutenu et encouragé. J'espère ne vous avoir pas trop importuné.

** A tous mes oncles et tantes (François, Richard, Madeleine, Patrice, Madame KORSAGA Claudine et son époux,.....)*

** A mes Grands-Parents*

** A mes cousins et cousines (Nathalie, Edwige, Serge, Asseta, Liliane, Maman, Silvestre, Audrey, Valérie, Gérard,)*

** A GUIGUEMDE A., KABORE P., NEZIEN D.*

Pour l'ambiance chaleureuse et fraternelle qui a régné entre nous pendant la réalisation de ce travail. Que cette solidarité demeure toujours.

** A ZERBO O., OUEDRAOGO H., SERME L.,*

Plus que des amis vous avez été des frères pour moi. Que l'esprit qui a prévalu entre nous se maintienne.

** A SINON L., OUEDRAOGO M., SAWADOGO R., BATIONO A.,
WANDJAGABOU M., COULDIATY L., BAMBARA O., OUATTARA S.,
YAMEOGO S., YE E., SAWADOGO A., OUEDRAOGO I.*

** A KABORE Evelyne*

** A OUEDRAOGO Nathalie*

** A tous mes promotionnaires*

Pour toutes ces années passées ensemble

** A tous ceux que je n'ai pas pu citer*

Sans rancune

REMERCIEMENTS

** Au personnel du Centre Muraz*

- Dr TINTO H. pour les critiques constructives, les suggestions, les encouragements

- Major Bakary, Odile, Adama, Tamboula,... pour l'esprit de collaboration

** Au Dr KARGOUGOU A.* et à tout le personnel de la banque de sang pour leur compréhension qui m'a permis de me déplacer afin de réaliser ce travail.

** Au Dr SAWADOGO S.* de la Pharmacie de la Fraternité et à son personnel pour m'avoir encadré lors de mes stages officinaux

Sincères remerciements

** Au personnel de l'I.R.S.S.*

- Mr KINDA

- Mr YARO

** A Mr TIENDREBEOGO Oumarou* qui a œuvré à la saisie de ce document.

Grand merci

** A Mlle Valérie*

** Au Dr OUEDRAOGO Adissa*

“L’unité de formation et de Recherche en Sciences de la Santé a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu’elle n’entend leur donner aucune approbation ni improbation”

**"En attendant que de mes veines parte
Cette exécration, horrible fièvre quarte
Qui me consume et le corps et le cœur,
Et me fait vivre en extrême langueur..."**

Pierre de Ronsard 1560

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
I - ENONCE DU PROBLEME.....	3
II - RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	
II - 1 - Le Paludisme.....	5
II - 1.1 - <i>Cycle évolutif des Plasmodiums humains</i>	5
II - 1.1. 1 - Cycle chez l'homme	5
II - 1. 1. 2 - Cycle chez l'anophèle.....	6
II - 1. 2- <i>Physiopathologie du paludisme</i>	7
II - 1. 2. 1- Effets généraux.....	7
II - 1.2. 2- Effets sur les principaux organes.....	7
II - 1.3 - <i>Résistances médicamenteuses</i>	10
II - 1.4 - <i>Classification des antipaludiques</i>	11
II - 1.4. 1- Selon le mode d'action dans le parasite	11
II - 1.4. 2 Selon le point d'impact sur le cycle de vie du parasite.....	12
II - 1. 5- <i>Plasmodium berghei</i>	18
II - 1.5. 1-Classification.....	18
II - 1.5 2- Cycle évolutif.....	18
II - 1.5 3-Biologie.....	18
II - 1.6 - <i>Les antiplasmodiques d'origine végétale</i>	19
II -2- <i>Gardenia sokotensis</i> Hutch (<i>Rubiaceae</i>).....	23
II - 2.1 - <i>Données botaniques</i>	23
II - 2.1.1- Généralités sur les <i>Rubiaceae</i>	23
II - 2.1.2- Caractéristiques de <i>Gardenia sokotensis</i> Hutch.....	25
II - 2.2- <i>Données ethnobotaniques</i>	25
II - 2.2 1- Noms en langues vernaculaires	25
II - 2.2 2- Usages en médecine traditionnelle.....	27
II - 2.2 3- Autres utilisations.....	27

II - 2.3- <i>Données Phytochimiques</i>	27
II - 2.4- <i>Données Pharmacologiques</i>	28
III - ETUDE REALISEE	
III - 1- Objectifs de l'étude.....	29
IV - MATERIEL ET METHODES	
IV - 1 - Cadre de l'étude	30
IV - 2 - Matériel.....	30
IV - 3 - Méthodes.....	33
IV - 3.1 - <i>Méthode d'extraction</i>	33
IV - 3.2 - <i>Cosolubilisation</i>	35
IV - 3.3 - <i>Etude phytochimique</i>	35
IV - 3.4 - <i>Fractionnement</i>	38
IV - 3.5 - <i>Etude pharmacologique</i>	40
V - RESULTATS DE L'ETUDE.....	42
VI - DISCUSSION.....	55
CONCLUSION ET SUGGESTIONS	60
VII - REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	61

Lexique des Sigles et des Abreviations

µg	microgramme
ml	millilitre
µm	micromètre
<i>G. sokotensis</i>	<i>Gardenia sokotensis</i>
<i>G. Lutea</i>	<i>Gardenia lutea</i>
<i>P. falciparum</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>P. ovale</i>	<i>Plasmodium ovale</i>
<i>P. vivax</i>	<i>Plasmodium vivax</i>
<i>P. Malariae</i>	<i>Plasmodium malariae</i>
<i>P. berghei</i>	<i>Plasmodium berghei</i>
I.R.S.S	Institut de Recherche en Science de la sante
UFR/SDS	Unité de formation et de Recherche en sciences de la santé
U.O	Université de Ouagadougou
N.M.R.I.	Naval Médical Research Institute
O.M.S	Organisation Mondiale de la Santé
C.I.R.D.E.S.	Centre International de Recherche pour le Développement de l'Elevage en Zone Subhumide
Eau P.P.I.	Eau pour Préparation Injectable
CH ₂ Cl	Dichlorométhane
E.P.	Ether de pétrole
H.A.	Hydroalcoolique
I.P.	Intraperitonéale
C.I.50	Concentration Inhibitrice 50%
D.E.50	Dose effet 50 %
CCM	Chromatographie sur couche mince
CC	Chromatographie sur colonne
CH ₃ OH	Méthanol

CH ₃ CH ₂ OH	Ethanol
A.F.A.B.	Atelier de Fabrication d'Aliment pour Bétail
U.V.	Ultra Violet
V/V	Volume /Volume
Rf	Référence frontale
E1	Extrait à éther de pétrole
E2	Extrait au dichlorométhane
E3	Extrait au mélange dichlorométhane méthanol (7-3 v/v)
E4	Extrait au mélange dichlorométhane méthanol (3-7 v/v)
E5	Extrait au mélange éthanol-eau (9-1 v/v)
E6	Extrait à l'eau
F1	Fraction obtenue avec le pas de gradient constitué par le mélange dichlorométhane-méthanol (85-15 v/v)
F2	Fraction obtenue avec les pas de gradient constitués par le mélange dichlorométhane-méthanol (75-25 v/v)
F3	Fraction obtenue avec le pas de gradient constitué par le mélange dichlorométhane-méthanol (70-30 v/v)
RMN	Résonance magnétique nucléaire
cm	

INTRODUCTION

Le paludisme ou malaria ou encore fièvre des marais est une maladie parasitaire endémoépidémique tropicale et intertropicale sévissant dans la ceinture de pauvreté du monde donc au Burkina Faso.

Dans ce pays le nombre de cas est évalué à 500 000/an en moyenne [1,2] et il est incriminé dans 9,2% des décès d'enfants [3].

Le paludisme représente la pathologie parasitaire la plus fréquente dans le monde [4].

Il est provoqué par des hématozoaires du genre *Plasmodium* découvert en 1880 par Charles Laveran. Ross en 1897, a montré que ces parasites sont transmis à l'homme par des moustiques femelles du genre *Anophèle* [5].

Le traitement de cette érythrocytopathie pose de plus en plus problème avec la résistance des parasites au traitement et celle des vecteurs aux insecticides [6]; d'où l'intérêt de travailler à la mise au point de nouvelles thérapeutiques.

C'est dans ce sens que la pharmacopée traditionnelle constitue une source de métabolites secondaires d'intérêt thérapeutique pouvant concourir à la mise au point de nouveaux médicaments antipaludiques. Ceci est d'autant plus exact que de nombreuses molécules utilisées en thérapeutiques sont d'origine végétale.

Ainsi les *Quinquinas* et l'*Artemisia* ont donné naissance à des antipaludiques très efficaces comme la quinine et l'artémisinine.

En outre une étude chimique approfondie réalisée à partir de la quinine a permis l'hémisynthèse et la synthèse de l'antipaludique le plus utilisé à l'heure actuelle à savoir la chloroquine.

Ces résultats nous donnent de bonnes raisons de croire qu'un espoir sérieux pourrait venir des plantes pour le traitement du paludisme à souches de *P. falciparum* résistantes aux antipaludiques couramment utilisés.

C'est pour contribuer à la connaissance des métabolites secondaires de *Gardenia sokotensis* Hutch (*Rubiaceae*) pouvant exercer une telle activité que nous avons entrepris la présente étude qui d'ailleurs est motivée par des travaux antérieurs [7,8] dont les résultats reflètent l'intérêt que peut avoir cette plante dans le traitement du paludisme.

Cette étude contribuera à la connaissance des principes antiplasmodiques contenus dans *G. sokotensis*. Elle consistera à réaliser une extraction par épuisement avec six solvants de polarité croissante afin d'identifier par CCM l'extrait ayant la plus importante activité antiplasmodique in vivo sur les souris infestées par *Plasmodium berghei*. Cet extrait sera fractionné par chromatographie sur colonne et les constituants de la fraction la plus active, caractérisés par CCM.

I - ENONCE DU PROBLEME

Le paludisme constitue à l'heure actuelle un problème majeur de santé publique.

La lutte contre cette pathologie est inscrite comme une question prioritaire pour l'O.M.S depuis la fondation de celle-ci en 1948 [9].

Ceci se justifie par le fait qu'elle a une incidence négative sur la morbidité et la mortalité générales, ainsi que sur l'activité économique.

En effet dans le monde, le paludisme est responsable de 10 à 30 % de toutes les admissions à l'hôpital et de 15 à 25 % de tous les décès d'enfants de moins de 5 ans [10].

En Afrique 270 à 480 millions de personnes sont atteintes avec 1,4 à 2,6 millions de décès chaque année [10].

Le coût total du paludisme y compris les soins de santé et les pertes en production a été estimé à 1,8 milliards de dollars U.S pour l'Afrique tropicale en 1995 [11].

Cette incidence du paludisme sur la vie des populations est rendue plus complexe par le fait que l'arsenal thérapeutique antipaludique reste assez restreint à l'heure actuelle et que l'on note un faible développement de molécules de nouvelles générations.

Il est à craindre que l'apparition de plus en plus importante de souches de *Plasmodiums* résistants aux antipaludiques disponibles nous prive de toute thérapie médicamenteuse efficace dans un proche avenir.

Une telle situation sur le plan thérapeutique accompagnée d'une résistance accrue du vecteur aux insecticides, montre l'importance de la recherche en matière de mise au point de nouveaux médicaments utilisables dans le traitement des accès palustres.

Plusieurs façons de contribuer à la résolution d'un tel problème existent. Une des possibilités consiste à synthétiser de nouvelles molécules en s'inspirant des données biologiques et biochimiques les plus récentes et en s'appuyant sur des modélisations à l'aide de systèmes informatisés.

Cependant la mise en œuvre d'une telle possibilité reste hors de portée de façon générale de la plupart des pays concernés par cette pathologie et plus particulièrement du Burkina Faso où les moyens financiers mis à la disposition de la recherche restent très limités.

Une autre possibilité consiste à mener une étude phytochimique et pharmacologique approfondie sur des espèces végétales pouvant renfermer des antipaludiques nouveaux.

Ainsi, au Burkina Faso, pays disposant d'une flore extrêmement riche dans sa diversité, des études ont été menées dans ce but sur certaines espèces végétales par COULIBALY M. [7], OUEDRAOGO M. [8] et BALKOUMA P. [12].

Les résultats obtenus à la suite de ces travaux sont encourageants. C'est pour cette raison que *G. sokotensis*, une plante de la famille des *Rubiaceae* a retenu notre attention. En effet les études antérieures réalisées par COULIBALY, M. et OUEDRAOGO A. ont montré que l'extrait hydroalcoolique de cette plante possédait une activité antiplasmodique *in vitro* avec une C.I.₅₀ de 55,15 µg/ml [7] et une activité antiplasmodique *in vivo* sur des souris infestées par *P. berghei* avec une DE₅₀ de 348 mg/Kg. [8]

La présente étude qui devra permettre de cibler davantage les constituants actifs de la plante est fondée sur un fractionnement (extraction par gradient de polarité) et une purification (chromatographie sur colonne de gel de silice) phytochimiques guidées par la recherche de l'activité antiplasmodique *in vivo* sur des souris infestées par *P. berghei*.

II-1- Le Paludisme

II-1.1- Cycle évolutif des *Plasmodiums humains* [13]

Il est complexe et comprend schématiquement 3 étapes dont 2 se déroulent exclusivement chez l'homme alors que la troisième commence dans l'organisme humain mais ne peut se poursuivre que chez l'anophèle femelle, vecteur exclusif du paludisme humain.

II-1.1.1- Cycle chez l'homme

Il comporte 2 étapes qui sont toutes des schizogonies c'est-à-dire des multiplications asexuées. La première se déroule dans les hépatocytes (schizogonie exo-érythrocytaire) et la seconde dans les hématies (schizogonie érythrocytaire). Au cours de la première phase il n'y a pas de manifestations cliniques à l'opposé de la seconde.

La contamination se produit lors de la piqûre par laquelle l'anophèle injecte sa salive « anesthésique » dans la plaie qu'il a forée : cette salive contenant également les sporozoïtes qui sont les formes infectantes du parasite.

II-1.1.1.1- Schizogonie exo-érythrocytaire

Le sporozoïte pénètre dans une cellule hépatique et prend alors le nom d'hépatozoïte. Le noyau du parasite se divise un très grand nombre de fois et forme un schizonte géant de 50 à 100 μm . Lorsque le schizonte est mûr chaque noyau entouré de cytoplasme devient un mérozoïte.

Ce premier cycle hépatique qui va du sporozoïte à la dispersion de la première génération de mérozoïtes dure 6 à 10 jours pour *P. falciparum*, 12 jours pour *P. vivax* et *P. ovale* et 18 jours pour *P. malariae*. Cette durée additionnée à la période de parasitémie asymptomatique correspond à la phase d'incubation du paludisme.

II - 1.1. 1.2- Schizogonie érythrocytaire

Une partie des mérozoïtes (ou peut être la totalité dans le cas de *P. falciparum*) va passer dans le sang et pénétrer dans des hématies. Le mérozoïte se fixe d'abord à la surface du globule rouge puis, par un mécanisme mal élucidé provoque la déformation en cupule de la membrane globulaire autour de lui. Cette membrane va ensuite se refermer sur elle-même et le parasite se trouve ainsi inclus dans une vacuole intra cytoplasmique. Il s'y développe et devient un trophozoïte qui grandit et donne un schizonte lequel formera le corps en rosace ; l'hématie parasitée éclate et les mérozoïtes sont libérées. Chaque mérozoïte pénètre dans une nouvelle hématie et le cycle recommence.

II-1.1.1.3- Sporogonie

Après plusieurs cycles schizogoniques érythrocytaires, certains schizontes mûrs que rien ne semble distinguer des autres vont se transformer en gamétocytes faisant du sujet un « réservoir de parasites ».

II - 1.1. 2 Cycle chez l'anophèle

C'est à partir du sujet porteur de gamétocytes que le vecteur intervient et c'est dans son organisme que le cycle pourra et devra obligatoirement se poursuivre. Lorsque l'anophèle femelle pique ce sujet il puise dans le sang les *plasmodiums*. Toutes les formes circulantes sont tuées et digérées à l'exception des gamétocytes mâles et femelles qui subiront des transformations pour donner des gamètes mâles et femelles. La fécondation a lieu et donnera naissance à un œuf mobile d'où son nom d'ookinète. Il traverse la paroi de l'estomac du moustique et s'immobilise sous la membrane qui tapisse sa paroi externe et devient un oocyste qui donnera plusieurs sporozoïtes (environ 10.000 sporozoïtes /Oocyste). Lorsque l'oocyste est mûr(sporocyste) il éclate et libère les sporozoïtes. Ceux-ci sont mobiles et gagnent par leurs propres moyens les glandes salivaires de l'anophèle.

Ils seront inoculés nuitamment à l'homme sain ; lors du repas sanguin avec la salive. La durée de cette évolution chez le moustique vecteur est d'une quinzaine de jours lorsque la température baisse. Au dessus d'un certain seuil thermique, elle s'arrête complètement (18°C pour *P. falciparum*).

II-1.2- Physiopathologie du paludisme [14]

Elle est encore très imparfaitement connue.

III- 1.2.1 – Effets généraux

Tous d'abord il faut noter que les stades exo-érythrocytaires ne donnent lieu à aucune pathologie. La schizogonie érythrocytaire provoque une anoxie dans tous les organes par 3 mécanismes différents. L'activité de multiplication du parasite entraîne la sécrétion du « *Tumor Necrosis Factor* » (T.NF) par les macrophages activés par les interleukines des lymphocytes TCD4⁺. Cette cytokine jouera un rôle dans la production des lésions vasculaires causant des nécroses hémorragiques.

Des ralentissements circulatoires sont causés au niveau des capillaires par la perte d'élasticité des érythrocytes parasités. S'il s'agit de *Plasmodium falciparum* l'adhérence des érythrocytes parasités à l'endothélium du réseau veineux post-capillaire pourra aller jusqu'à l'anoxie tissulaire. L'anémie s'installe progressivement due à l'hémolyse permanente.

II-1.2.2- Effets sur les principaux organes

II-1.2.2.1.- Le sang

Les érythrocytes sont détruits par les parasites qu'ils hébergent. Quant aux hématies non parasitées de sujet en accès de paludisme, elles peuvent être agglutinées par le sérum de *Coombs*, preuve qu'elles sont recouvertes d'immunoglobulines plasmatiques. La présence de ces dernières ne s'explique

que si des antigènes plasmodiques solubles dans le plasma ont au préalable adhéré à la surface de ces globules. En présence de complément ces érythrocytes opsonisés subissent l'hémolyse ou sont phagocytés par les macrophages.

L'hémoglobine libérée par l'hémolyse provoque une surcharge rénale et est partiellement transformée dans le foie en bilirubine.

L'excès est éliminé dans les urines (hémoglobinurie). L'hémolyse brutale et massive est la cause du syndrome appelé « fièvre bilieuse hémoglobinurique » («*Black Water Fever*»). La quinine fut accusée d'être le facteur déclenchant chez des sujets présentant de fortes parasitémies.

D'autre part, l'utilisation de l'hémoglobine par le parasite amène la précipitation dans son cytoplasme de granules de pigment (hémozoïne). Le pigment accumulé dans le cytoplasme du schizonte est relargué dans le plasma lors de la libération des mérozoïtes. Il est phagocyté par les macrophages et les histiocytes (leucocytes mélanifères). L'hémosidérine de couleur jaune sombre provient de la transformation de l'hémoglobine et de l'hémozoïne par les histiocytes.

Les thrombocytes, enfin, sont détruits par des mécanismes encore mal précisés.

II -1. 2.2.2- La moelle osseuse

La lignée érythrocytaire est hypertrophiée pour compenser l'anémie. Les lignées leucocytaires sont peu perturbées. En cas d'infection à *Plasmodium falciparum* des schizontes y sont retrouvés.

II- 1.2.2.3- La rate

L'augmentation du volume notée dans l'infection paludéenne est provoquée par l'hypertrophie de la pulpe blanche (petits et grands lymphocytes, cellules réticulaires, macrophages).

On observe une rate congestive, de consistance molle. Sa rupture est aisée à cause de la fragilité augmentée de la capsule. Sa couleur rouge foncé, parfois brune est due à l'accumulation du pigment repris par les phagocytes. La splénomégalie constitue un signe qui accompagne le développement de la parasitémie.

II-1.2.2.4 - Le foie

La schizogonie exo-érythrocytaire ne produit aucune lésion inflammatoire. L'hypertrophie du système reticulo-endothélial (cellules de Küpffer) chargée de la phagocytose des débris et des pigments arrive à obstruer les veines et ne survient qu'à la longue chez des sujets qui ont fait des accès de malaria à répétition.

II-1.2.2.5 - Les reins

La formation de complexe antigène anticorps et leur dépôt dans la membrane basale cause une surcharge du rein et une diminution de la capacité d'épuration de cet organe déjà anormalement sollicité en cas d'hémolyse. La thrombose des artérioles des glomérules rénaux l'anoxie des cellules des tubes contournées et l'apparition des signes de glomérulonéphrite sont des phénomènes souvent observés. Le blocage rénal par destruction massive de globules rouges est le danger principal de la fièvre bilieuse hémoglobinurique.

II-1.2.2 6 - Le système nerveux central

La schizogonie profonde de *Plasmodium falciparum* est à l'origine de complications redoutables dont la malaria cérébrale. Celle-ci consiste en des thromboses capillaires responsables des lésions vasculaires et hémorragiques, provoquant des altérations dégénératives des cellules nerveuses, entourées d'infiltrats cellulaires.

L'expression symptomatologique consistera en une hémiplégie ou des convulsions (zones motrices), des troubles thermorégulateurs avec hyperpirexie une altération progressive de la conscience.

II-1.2.2. 7- Le placenta

Les villosités placentaires baignent dans de larges sinus où le sang maternel circule au ralenti. Les espaces entre les villosités sont un excellent refuge pour les hématies parasitées par *Plasmodium falciparum*. L'accumulation des globules rouges parasités, collant les uns aux autres, détruits sur place, crée un appel de macrophages. Cet engagement peut causer un blocage des espaces inter-villeux et une thrombose placentaire.

La diminution des échanges fœto-maternels est une des raisons pour lesquelles la chimioprophylaxie est préconisée chez la femme enceinte : elle vise à abaisser le nombre de parasites en circulation.

II- 1. 3- Les résistances médicamenteuses

Elles constituent un véritable problème de santé surtout par la résistance de *P falciparum* aux schizonticides sanguins.

En Afrique la chimio résistance suspectée en 1975 à Madagascar et au Mozambique n'a été confirmée qu'en 1978 au Kenya en Tanzanie et en 1980 à Madagascar [15] ; en 1988 au Burkina-Faso et au Mali [16]

En 1990 Guiguemdé et coll [17] ont évalué la chloroquino résistance qui est de 8% à Ouaga et 14% à Bobo chez les sujets symptomatiques. Au Burkina-Faso en zone de transmission intermédiaire particulièrement à Ouagadougou de 1992 (8,5%) à 1994 (20%) on a une tendance à la hausse tandis qu'à Fada on a observé un pic de chloroquino résistance de 54,9% en 1997. Cependant il faut retenir que les taux d'échec thérapeutique étaient inférieurs à 30%. [18]

Par contre au Bénin en 1996 des études ont révélé une résistance inférieure à 5 % alors qu'en 1988 on avait 25 % de résistance à Porto Novo et 45 % en 1992 à Cotonou. On a donc une tendance à la baisse. [19]

De façon générale le taux de résistance à la chloroquine est de 25% dans les pays d'Afrique australe et de l'Est et de 20% en Afrique de l'Ouest [20].

II-1.4- *Classification des antipaludiques*

Ils sont utilisés dans le but d'effectuer un traitement suppressif, curatif ou prophylactique, radical, anti-rechute ou présomptif [14]. Ces médicaments sont classés selon leur mode d'action dans le globule rouge parasité en lysosomotropes et antimétabolites ou selon leur point d'impact sur le cycle de vie du parasite en schizonticides et en gamétocytocides.

II- 1.4.1- Selon le mode d'action dans le parasite

II- 1.4.1.1- Lysosomotropes

II- 1.4.1.1.1- Quinine

II -1.4.1.1.2- Amino4 quinoléines

II -1.4.1.1.3- Amino alcools ou 4. Quinoléine méthanol

II -1.4.1.2- Antimétabolites

II -1.4.1.2.1- Antifoliques

II -1.4.1.2.2- Antifoliniques

II- 1.4.2- Selon le point d'impact sur le cycle de vie du parasite

II -1.4.2.1- Schizonticides [21]

II- 1.4.2.1.1- Quinine

Alcaloïde extrait du quinquina par les Français Pelletier et Caventou en 1820, la quinine est le premier antipaludique naturel et demeure l' antipaludique majeur.

La quinine est une base bivalente faible qui donne des sels basiques et des sels neutres. En thérapeutique on emploie les sels basiques qui sont nécosants. Les sels utilisés sont le chlorhydrate basique. Par voie orale son absorption est rapide et presque complète(95%).La concentration plasmatique maximale est obtenue en 1 à 3 heures mais son élimination est rapide avec une demi-vie de 11 à 18 heures. Sa structure chimique est représentée au niveau de la figure n° 1

II- 1.4.2.1.2- Amino⁴quinoléines

Antipaludiques les plus largement prescrits, ils le sont sous forme de chloroquine et d'amodiaquine dont l'activité à posologie égale est en pratique identique sur les souches sensibles. L'absorption des amino⁴ quinoléines est rapide, mais les concentrations plasmatiques après une prise orale sont variables d'un individu à un autre. Leur élimination est très lente. L'inconvénient majeur de ces médicaments est l'apparition depuis les années 1960 de souches résistantes de *P. falciparum*. Les structures chimiques des amino ⁴ quinoléines les plus utilisés en l'occurrence la chloroquine et l'amodiaquine sont présentées au niveau de la figure n° 1

II- 1.4.2.1.3- Le Quinghaosu (Extrait *Artemisia annua*)

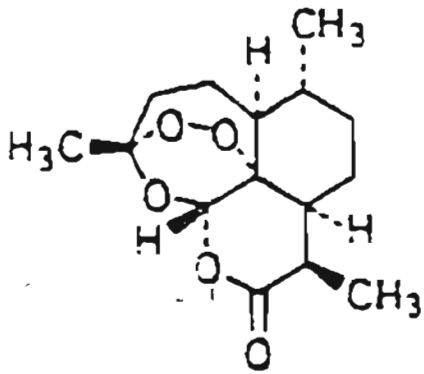
Sesquiterpène lactone peroxyde (confère figure n°1) isolé en 1973 d'*Artemisia annua* L en Chine le Quinghaosu est un nouveau schizontocide dont il existe plusieurs dérivés : l'artémisinine, l'artésunate, l'arthémeter, la dihydroartémisinine.

D'activité rapide mais brève le Quinghaosu agit sur les souches chloroquino-résistantes et en cas d'accès pernicieux. La dihydroartémisinine est le plus puissant des dérivés de l'artémisinine qui sont l'Artémisinine, l'artésunate et l'Arthemeter [22]

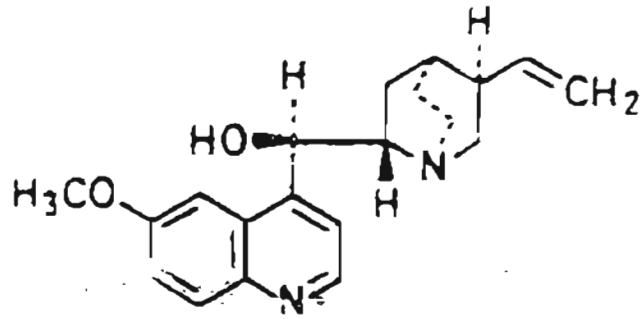
II- 1- 4- 2- 1- 4- Aryl amino alcools [21]

Cette catégorie comprend une 4-quinoléine-méthanol, la méfloquine ou WR142. 490 dont les taux sanguins efficaces sont atteints 4 à 8 heures après une prise orale. Elle a une demi-vie longue de 7 à 30 jours et est contre indiquée chez la femme enceinte et l'enfant de moins de 15 kg. Elle est active sur *P. falciparum* chloroquino-résistant ou non, ainsi que sur les souches résistantes aux autres antimalariques. Comme autre molécule de ce groupe chimique on a l'halofantrine qui est, un 9-phénanthrene-méthanol d'absorption rapide mais variable augmentée par la prise simultanée d'aliments. L'halofantrine a une demi- vie courte de 1 à 2 jours. Elle est contre-indiquée chez la femme enceinte; elle est active sur des souches de *P. falciparum* chloroquino- résistantes.

Une autre molécule de ce groupe l'enpiroline qui est un 4-pyridine-, méthanol (WR180. 490) est encore à l'étude.



Artémisinine ou Qinghaosu



Quinine

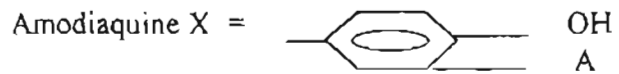
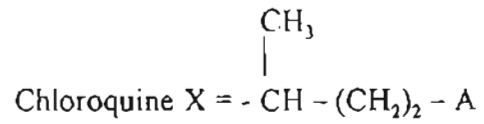
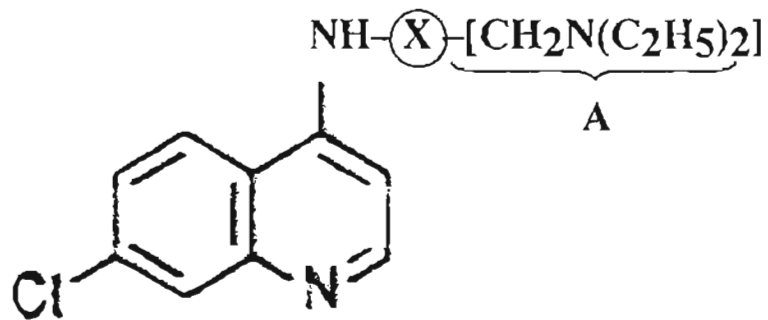


Figure n° 1 : Structures chimiques de quelques antipaludiques modernes

II- 1.4.2.1.5- Antifoliques [21]

Cette catégorie comprend les sulfamides et les sulfones. Ils ont un mode d'action identique en inhibant la transformation de l'acide para-amino-benzoïque dont l'hématozoaire a besoin pour sa croissance par le blocage de l'activité de la synthétase de l'acide dihydrofolique.

Parmi les sulfones on propose la diaminodiphényl sulfone (D.D.S.) Disulone^R ou Dapsone qui a une activité rapide. Comme sulfamides on a les sulfamides à longue durée d'action telles que la sulfadoxine (Fanasil) et la sulfaméthopyrazine (sulfalène^R Kelfizine^R). Sulfamides et sulfones ne sont pas employés isolément mais en association aux antifoliques.

II -1.4.2.1.6 - Antifoliques [21]

Ils regroupent les diguanides ou biguanides dont le plus connu est le chlorhydrate de proguanil (Paludrine^R) et les diaminopyrimidines dont la pyriméthamine (malocide^R, Daraprim^R) et le triméthoprime. Ce sont des inhibiteurs de la réductase de l'acide dihydrofolique.

II- 1.4.2.1.7 - Antibiotiques [21]

Les cyclines (tétracycline 1g/j ; doxycycline 200-400mg/j) sont faiblement et lentement schizontocides. La clindamycine est également schizontocide. Des macrolides comme l'érythromycine ou la spiramycine ont également été utilisées en associations avec des quinoléines. Les nouvelles fluoroquinolones sont utilisées.

II- 1.4.2.1.8 - Associations [21]

II -1.4.2.1.8.1 - Associations fixes

* Sulfamides + Pyriméthamine. Le fansidar^R associe un sulfamide à longue durée d'action, la sulfadoxine (fanasil^R) à la pyriméthamine et agit par blocage séquentiel de deux enzymes intervenant dans la biosynthèse de l'acide folique chez le parasite. Dans les cas graves, cependant, il convient d'associer la quinine par voie I.V

* Sulfones + Pyriméthamine. On peut retenir l'association de DDS (Dapsone^R) à la pyriméthamine.

* Sulfadoxine + Pyriméthamine + Mefloquine commercialisée sous le nom Fansimef*.

II- 1.4.2.1.8.2 - Associations libres

Quinine + cyclines dans les accès graves à *P.falciparum* dus à des souches de sensibilité diminuée à la quinine avec une efficacité à condition de maintenir 10 jours la double prescription

II- 1.4.2.2- Gamétocytocides [21]

Ce sont des amino 8 quinoléines qui agissent en inhibant la transformation des gamétocytes du sang humain en gamètes chez le moustique. Ils entravent ainsi le cycle sporogonique et bloquent la transmission de l'espèce plasmodiale. Pamaquine, Rhodoquine, Quinocide et Primaquine sont les seules à avoir réellement un effet sur les gamétocytes de *P. falciparum* mais elles sont toutes toxiques. Actuellement seule la primaquine est disponible dans certains pays (15mg/j pendant 14 jours).

Les avantages et les inconvénients de certains de ces schizonticides sont présentés dans le tableau n° 1

TABLEAU I : Avantages et inconvénients des antimalariques dans le traitement du paludisme à *P. falciparum* .

	AVANTAGES	INCONVENIENTS ET LIMITES
Quinine	Efficacité rapide, sauf dans certaines régions (Asie)	Traitement de plusieurs jours. Effets secondaires fréquents
Méfloquine	Très efficace – Résistance Rare. Traitement de 24 heures	Coût – Tolérance médiocre Pas de présentation injectable
Halofantrine	Résistance rare Traitement de 24 heures	Coût – Absorption irrégulière – Pas de forme injectable
Chloroquine	Faible coût – très active sur les souches sensibles. Bien tolérée.	Extension des résistances
Amodiaquine	Active sur les souches modérément résistantes à la chloroquine	Extension des résistances
Sulfadoxine-Pyriméthamine	Prise unique. Pas de résistance croisée avec la chloroquine	Apparition de résistances
Sulfadoxine-Pyriméthamine-Méfloquine	Actif sur les souches chloroquino-résistantes. Restriction dans la sélection de souches résistantes.	Coût – Tolérance moyenne

Les posologies usuelles d'utilisation de ces médicaments sont indiquées dans le tableau n° II

TABLEAU II : Posologies moyennes des schizonticides (exprimée en gramme de la molécule base)

	ADULTES	ENFANTS
Quinine	1,5 g par jour x 5 à 7 jours	25 mg/kg x 5 à 7 jours
Méfloquine	1,5 g par 24 heures en 3 prises	25 mg/kg en 3 prises
Halofantrine	Idem	Idem
Chloroquine et Amodiaquine	1,5 à 2.5 g en 3 à 5 jours	25 à 35 en 3 à 5 jours
Sulfadoxine-Pyriméthamine	3 comprimés en 1 prise	½ comprimé 10 kg de poids
Sulfadoxine-Pyriméthamine-Méfloquine	Idem	Idem

II- 1. 5 - *Plasmodium berghei*

II- 1. 5.1- Classification [14]

Les espèces du genre *Plasmodium* sont regroupées en 9 sous genres dont 3 sont parasites des mammifères, 4 sont parasites des oiseaux et 2 sont parasites des sauriens(lézards).

Les 3 sous genres parasites des mammifères sont *Plasmodium* (P) ; *Vinckeia* (V) et *Laverani* (L)

Plasmodium (V) *berghei* Vincke et Lips 1948 qui infeste les rongeurs, constitue un modèle de laboratoire très utilisé.

II -1.5.2- Cycle évolutif [23]

L'infection commence par l'injection des sporozoïtes provenant des glandes salivaires de l'anophèle infesté (hôte définitif) appelé *Anopheles stephensis*. Au niveau du foie du rongeur (hôte intermédiaire) une schizogonie exo érythrocytaire commence. Cette phase dure 48 à 60 heures et donne des mérozoïtes. Les mérozoïtes issus de cette schizogonie vont ensuite envahir les globules rouges de la circulation sanguine, subir une maturation et devenir des trophozoïtes puis des schizontes pouvant produire 6 à 10 mérozoïtes. Ceux-ci peuvent ré-envahir les hématies ou devenir des gamétocytes qui seront pris par l'anophèle femelle lors de son repas sanguin. Ces gamétocytes vont devenir des gamètes qui donnent après fécondation un ookinète, se transformant par la suite en oocyste. L'oocyste mûre va libérer des sporozoïtes qui vont se localiser dans les glandes salivaires de l'anophèle pendant 10 à 12 jours.

II- 1. 5. 3- Biologie [23]

Le *Plasmodium berghei* est un parasite des rats, des souris et des hamsters. Il infecte aussi certaines espèces de moustique tel que *Anopheles stephensis*. Il est virulent et fatal pour les jeunes souris et rats. Chez l'anophèle

femelle sa température optimale de développement est de 22°C. La taille des oocytes est de 45 µm avec un temps de maturation de 12 heures.

Chez le rat et la souris, la schizogonie exo-érythrocytaire va donner des schizontes pouvant produire 8 à 18 mérozoïtes. Ces cellules de prédilection sont les réticulocytes.

II- 1. 6- *Antiplasmodiques d'origine végétale*

II- 1. 6. 1- Les alcaloïdes

II -1. 6.1.1 – Les bisbenzylisoquinoléines

II -1. 6.1.1.1- La tétrandrine

Elle fut isolée de *Stephania tetrandra* S. Moore qui était utilisée comme antirhumatisme ou analgésique en Chine.

La tétrandrine possède une structure similaire à celle des amino 4 et des amino 8 quinoléines. *In vitro* elle est plus efficace sur les souches chloroquino-résistantes de *P.falciparum* que sur celles sensibles d'après les études de YE et VANDYKE en 1989.

La tétrandrine associée à la chloroquine préviendrait l'émergence de la chloroquino - résistance [24]

II- 1. 6.1.1.2 - La Phaeanthine

Enantiomère de la tétrandrine, elle fut isolée de *Triclisia patens* (*Menispermaceae*). En 1991 Ekong et coll ont montré qu'elle était active *in vitro* sur *P.falciparum*. [25]

II- 1. 6.1.1.3 - La 7- O – Diméthyltétrandrine et la limacine

Elles furent isolées respectivement de *Strychnopsis thouarsii* et de *Spirospermum penduliform* Thon. Elles ont une activité antiplasmodique *in vitro* avec une C.I.₅₀ de 740 nmoles et 789 nmoles contre 214 nmoles pour la quinine [26].

A l'image de la tétrandine ces principes potentialisent l'effet de la chloroquine sur les souches résistantes.

II- 1- 6- 1- 2- La fébrifugine et l'isofébrifugine

L'activité antipaludique de l'extrait de *Dichroea fébrifuga* (*Saxifragaceae*) a été mise en évidence en 1947 par Spencer et coll.

La fébrifugine isolée en 1948 a cependant été limitée dans son emploi et son développement du fait de sa toxicité. [27]

II- 1- 6- 1- 3- La Berbérine

Ce principe actif est retrouvé chez les *Annonaceae* les *Berberidaceae* et les *Menispermaceae*.

Son activité a été démontrée *in vitro* (Phillipson et Wright, 1991) [28]

II- 1.6.1.4. Les alcaloïdes anticancérigènes

Comme exemple on a la vinblastine isolée de *Catharanthus roseus* (*Apocynaceae*) active sur *P. falciparum*. (Nkunya, 1992). [28]

II- 1.6.1.5. Les alcaloïdes acridiniques

Ils ont été isolés de *Citrus grandis*. L'atalaphillinine est active *in vivo* sur *P. berghei* chez les souris en I.P. avec une élimination complète des parasites à la dose de 50mg/ Kg pendant trois (03) jours [28, 29]

II- 1.6.1.6. Les alcaloïdes indoliques

La 4-méthoxy-1 vinyl-béta -carboline et la 6-hydroxy - 4-méthoxy - 1 vinyl - bêta carboline ont montré une activité antiplasmodique *in vitro* sur certaines souches résistantes de *P. falciparum* [28].

On peut citer également la strychnopentamine et la 3', 4' dihydrousambarensine isolées de *Strychnos usambarensis* actives *in vitro* sur *P. falciparum* mais inactives *in vivo* sur *P. berghei* [29].

II- 1. 6.2 - Terpenes

II -1. 6.2 .1 – Les sesquiterpènes lactones

II -1. 6.2.1.1 – Artémisinine ou Qinghaosu

Il a été isolé en 1971 par des chimistes chinois des feuilles de *Artemisia annua* L. (*Asteraceae*) ; plante utilisée traditionnellement pour ses propriétés antipyrétiques et antipaludiques (Bougnoux et Ancelle, 1993) [30]. L'étude des relations structure activité du Qinghaosu a mis en évidence que l'endopéroxyde est indispensable à l'activité antiplasmodique

II- 1. 6.2.1.2 - La cynaropicrine : elle a été isolée de *Vernonia glutonosa*.

Elle est active *in vitro* mais inactive *in vivo*

II- 1. 6.2.1.3 - La parthénine : elle a été isolée de *Parthénium myserophonus* (*Asteraceae*) son activité antiplasmodiale a été démontrée *in vivo*.

II- 1. 6.2.2 - Les Quassinoides (triterpénoïdes)

Ce sont des principes actifs amers présents chez la plupart des *Simaroubaceae* . 26 quassinoides ont été testés *in vitro* sur *P. falciparum* [31]
Les quassinoides sont des inhibiteurs potentiels de la synthèse protéique chez *P. falciparum* ayant un faible effet sur la glycolyse.

II- 1. 6.2.3 – Les Limonoïdes des *Meliaceae*

Certains telles que la gédunine, la dihydrogédunine et la nimbidine ont été testées *in vitro* avec des C.I.₅₀ comprises entre 0,5 et 3 µg/ml. [28]

II- 1.6.3 - Quinones, composés phénoliques et autres produits secondaires

- Les naphthoquinones : elles sont actives *in vitro* sur *P. falciparum* et sont faiblement toxiques

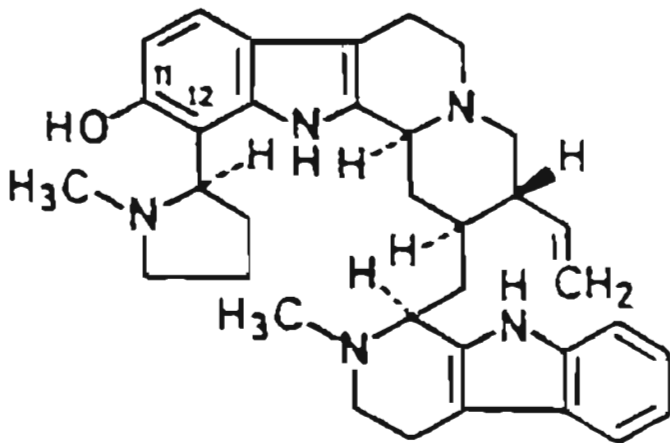
- Le gossypol (polyphénol) est actif *in vitro* sur *P. falciparum* [29]

Certains flavonoïdes (artémétine, casticine) ont une activité antiplasmodique mais à dose élevée [28]. Leurs structures sont représentées par la figure n° 2

La quinine premier antipaludique d'origine naturelle appartient au groupe des quinones.

Les principaux modes d'action de ces composés impliquent soit :

- une intercalation avec l'ADN (Berbérine)
- une inhibition de la synthèse protéique (quassinoïdes)
- une alkylation (quinones)
- une augmentation du stress oxydant dans les globules rouges parasités



Strychnopentamine

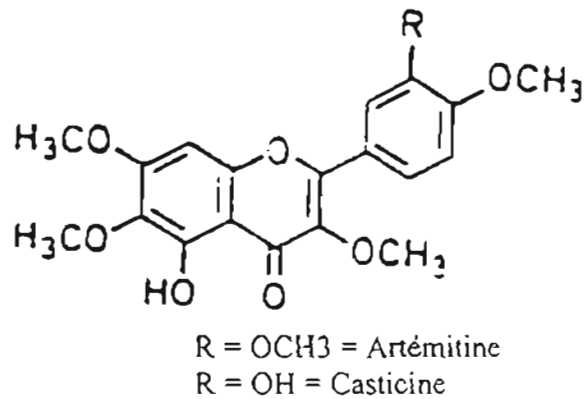


Figure n° 2 : Structures chimiques de quelques antipaludiques d'origine végétale

II- 2 - *Gardenia sokotensis* Hutch (*Rubiaceae*)

II- 2.1- *Données botaniques*

II- 2.1.1. *Généralités sur les Rubiaceae*

Les *Rubiaceae* sont des plantes ligneuses ou herbacées, à feuilles simples, entières ou rarement dentées. Le fruit est une capsule, une baie ou un schizocarpe se divisant en 2 mericarpes indéhiscents, uniseminés. [32] Elles sont riches en alcaloïdes souvent en quantité importante : dérivés de la quinoléine (quinine etc.) , des bases puriques (caféine etc.) Ces alcaloïdes sont souvent mal définis (émétine, yohimbine, etc.).On retrouve aussi des colorants anthracéniques et des tanoïdes.

Les *Rubiaceae* sont des plantes amères, toniques, fébrifuges, excitatrices, diurétiques.[33]

Cette famille est représentée en Afrique intertropicale par une centaine de genres et environ 600 espèces dont les principaux sont : *Gardenia*, *Nauclea*, *Mitragyna* *Oldenlandia*, *Borreria*, *Mitracarpus*, *Pavetta*, *Fadogia*, *Feretia*. [34] La place de *Gardenia sokotensis* dans le règne végétal est donnée par la figure n° 3.

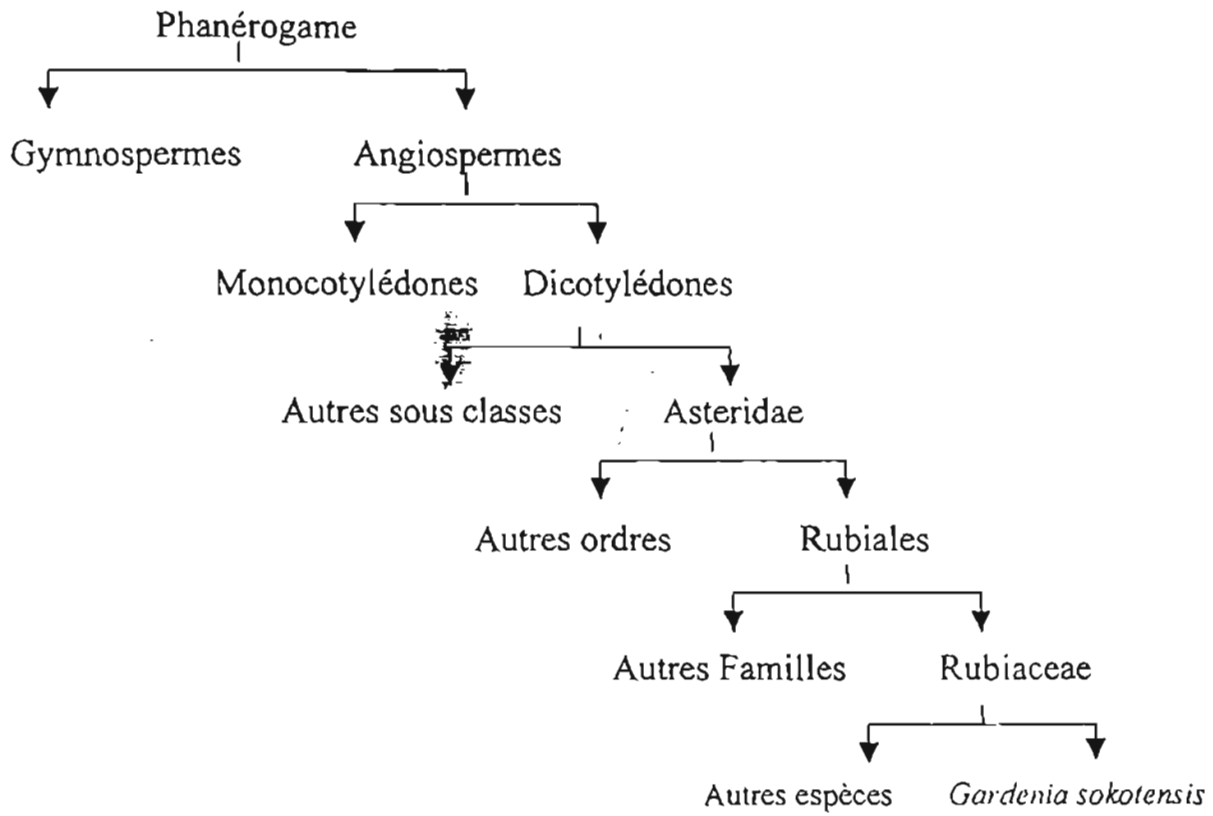


Figure n° 3 : Place de *Gardenia sokotensis* dans le règne végétal

II-2.1.2. Caractéristiques de *Gardenia sokotensis* Hutch

II-2.1.2.1- Caractères botaniques

C'est un arbuste de 1 à 2 m aux feuilles allongées, elliptiques obtuses aux deux (02) bouts de 4 à 10 cm sur 2 à 4,5 cm, pubescentes, opposées sur les rameaux à fleurs (confère figure n° 4). Les fleurs sont solitaires pédonculées, 5 mères biperianthées, hermaphrodites actinomorphes blanchâtres. Le calice gamosépale verdâtre est long de 4 à 5 mm. La corolle à préfloraison tordue blanchâtre infundibuliforme est longue de 12 à 15 mm. Les fruits ont 1 cm environ de diamètre.

II-2.1.2.2- Cycle végétatif

La floraison s'effectue d'avril à juillet, les fruits mûrissent de mai à juillet. [35]

II-2.1.2.3- Distribution et habitat

Sa distribution est commune dans la zone soudanienne. On la retrouve dans la brousse ou sur les termitières ; la plupart du temps sur sol gravillonnaire, sur des collines et des stations rocheuses arides. Ses besoins en eau sont restreints.

Au Burkina- Faso, *Gardenia sokotensis* est abondante dans les régions de Korsimoro, Kaya, Gourcy. Sur le plateau central elle est devenue rare à cause de sa surexploitation à des fins médicinales.

II-2. 2- *Données ethnobotaniques*

II-2. 2.1- Noms en langues locales, nationales [35, 37, 38]

Mooré : Tang-rakwenga , Tang-rambrzounga.

Bambara : farakoloti

Gulmancema : Pkabicain

Senoufo : Téghèle nyunke kacerge (des hautes collines)

Haoussa : gau dan dute

Malinké : Hata-Kulu-tié (Qui casse le rocher)

Dogon : wobusge

Minyanka : kacerpere

Gardenia sokotensis est représentée par la figure 4



Figure 4 : *Gardenia sokotensis* HUTCH (photo prise à Fada au Burkina Faso)

II 2. 2.2.- Usages en médecine traditionnelle

Gardenia sokotensis est employée seule ou associée à d'autres plantes en vue du traitement de plusieurs affections :

- Paludisme : le décocté des rameaux feuillés est prescrit en lavement et bain. [39]
- Accès fébrile : le décocté des rameaux feuillés est prescrit en boisson et bain pendant 4 jours. [40]
- Ictère-fortifiant : la poudre de la partie aérienne délayée dans de la bouille est prescrite en boisson. [40]
- Gastro-Entérite : le décocté des rameaux feuillés en association avec le *Crossopteryx febrifuga* est prescrit en boisson [35]
- Hypertension artérielle : le décocté du mélange des feuilles, racine, écorce est prescrit en boisson. [41]
- Asthénie sexuelle masculine : le décocté des racines est prescrit en boisson. [42].

II- 2. 2.3- Autres utilisations

Le bois dur est utilisé pour fabriquer des objets tels que les cuillères, les manches de couteaux [35]. Les branches servent à faire des épingles à cheveux dans le Fouta-Djallon [38]. Le bois est également utilisé comme bois de feu [42].

II- 2. 3- Données phytochimiques

Des études effectuées sur l'espèce nigérienne ont mis en évidence la présence d'alcaloïdes ainsi que de saponosides. [43]

Les travaux de Coulibaly M. au Burkina Faso en 1996 ont révélé la présence de saponosides, tanins, stérols triterpènes, alcaloïdes.[7]

En 1998 au Burkina Faso Ouédraogo A. [8] a montré à travers ses travaux l'existence de groupes chimiques identiques à ceux trouvés par Coulibaly M à l'exception des caroténoïdes, anthracenosides absentes lors des travaux de Coulibaly mais présentes au niveau des résultats de Ouédraogo A., et des

III-ETUDE REALISEE

III1- OBJECTIFS DE L'ETUDE

III.1 Objectifs de l'étude

III-1.1. Objectif général

Caractériser les principes antiplasmodiques de *G. sokotensis* actifs sur la souris infestée par *P. berghei*.

III-1.2. Objectifs spécifiques

- 1- Préparer des extraits à partir de la poudre des feuilles de *G. sokotensis* avec plusieurs solvants de polarité croissante.
- 2- Identifier par CCM de gel de silice $G_{60} F_{254}$ l'extrait ayant la meilleure activité antiplasmodique in vivo chez la souris.
- 3- Fractionner l'extrait antiplasmodique le plus actif par CC de gel de silice.
- 4- Identifier par CCM de gel de silice $G_{60} F_{254}$ la fraction ayant la meilleure activité antiplasmodique in vivo chez la souris

IV - M A T E R I E L E T M E T H O D E S

IV- 1- Cadre de l'étude

Les structures suivantes ont pris part à nos travaux :

- l'Institut de Recherche sur les Sciences de la Santé
- Le Laboratoire de Pharmacognosie de l'UFR/SDS
- le Laboratoire de Galénique de l'UFR/SDS
- le Laboratoire de Toxicologie de l'UFR/SDS
- le Laboratoire de Parasitologie/Entomologie du Centre Muraz de Bobo

Dioulasso.

IV - 1.1 - l'Institut de Recherche sur les Sciences de la Santé (I.R.S.S.).

Une unité du département Médecine -Pharmacopée traditionnelle /Pharmacie (MEPHATRA/PH) a procédé à la récolte, au séchage et broyage de la matière première.

IV -1.2 - L'UFR/SDS

Les extractions, le screening et le fractionnement ont été effectués au Laboratoire de Pharmacognosie.

La cosolubilisation a été effectuée au Laboratoire de Galénique. Le Laboratoire de Toxicologie nous a été utile pour l'évaporation à sec de nos extraits.

IV -1.3 - Le Centre Muraz

C'est au niveau du Laboratoire de Parasitologie /Entomologie du Centre Muraz que nous avons réalisé l'étude de l'activité antiplasmodique.

IV -2 - Matériel d'étude

Il est constitué de poudre obtenue à partir de rameaux feuillés de *Gardenia sokotensis Hutch* récoltés dans la région de Fada N'Gourma en octobre 1998.

La matière première récoltée est lavée par trempage dans l'eau, séchée à l'abri du soleil puis réduite et finement broyée. La poudre végétale obtenue a été conditionnée dans des sachets de 1 kg.

IV -2.2- Matériel biologique

IV- 2.2.1 - Souris NMRI

Ce sont des souris albinos femelles de souches NMRI(Naval Médical Research Institut) âgées de 2 mois environ et pesant à peu près 30g.

La source d'approvisionnement est le Centre International de Recherche pour le Développement de l'Elevage en zone Sub-humide (C.I.R.D.E.S.)

Elles sont nourries aux granulés provenant de l'Atelier de Fabrication d'Aliment pour Bétail (A.F.A.B) de Bobo -Dioulasso. Elles vivent dans les mêmes conditions de température (25°C) et d'humidité. Le copeau est changé toutes les 24 heures.

IV- 2.2.2- *Plasmodium berghei*

Il a été fourni par l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers au Laboratoire de Parasitologie/Entomologie du Centre Muraz.

Il est entretenu soit sur la souris N.M.R.I. soit conservé dans un milieu de conservation et gardé dans de l'azote liquide.

IV -2.3 - Matériel d'étude phytochimique

- Réactif de liebermann
- Percolateur
- Plaque de silicagel G₆₀ F₂₅₄
- Rotavapor
- Coton
- Solution de diphenyl borinate de sodium à 1%

- Papier
- Solvants (eau distillée, dichlorométhane, éther de pétrole, méthanol, éthanol)
- Appareil à ultra son
- Lyophilisateur
- Lampe U. V.
- Pulvérisateur pour CCM
- Micro capillaires
- Eluants : * Système S₁ : éther de pétrole - toluène - acetate d'ethyle- acide acétique (5-2-2-1,5)
- * Système S₂ : 2- butanol - eau- acide acétique (10-1-0,50)

IV- 2.4- Matériel d'étude biologique

- Seringues à insuline 1ml
- Tubes héparinés
- Tubes à essai
- Microscope optique
- Trousse de dissection
- Lames
- Tween 80
- Field
- Ether Gifrer
- coton
- Eau P.P.I.

IV -3- METHODES

IV - 3.1- Méthode d'extraction

La poudre végétale a été soumise à des extractions successives à l'aide des solvants de polarité croissante (confère figure 5). Les solvants utilisés sont : l'éther de pétrole, le dichlorométhane, le mélange dichlorométhane - méthanol (7-3 v/v) ; le mélange dichlorométhane -méthanol (3-7 v/v), le mélange éthanol-eau (9-1v/v) et l'eau.

IV-3.1.1- Extraction à l'éther de pétrole

La poudre végétale (300g) a été mise à macérer pendant 24 heures dans 500ml d'éther de pétrole. A la fin de la macération, une percolation est réalisée avec 500 ml d'éther de pétrole à un débit de 1ml / 2mn. La solution obtenue est évaporée sous pression réduite. Le résidu est conservé à -4°C et à l'abri de la lumière jusqu'à la mise en route du test antiplasmodique. Le marc est séché à l'air libre et gardé pour les extractions suivantes.

IV- 3.1.3- Extraction au CH₂ CL₂

Le marc issu de l'extraction à l'E.P est mis à macérer pendant 24 heures dans 500 ml de CH₂ CL₂. A la fin de la macération on a effectué une percolation avec 500ml du solvant de macération à un débit de 1ml / 2mn. La solution au CH₂ CL₂. obtenue est évaporée sous pression réduite. Le résidu est conservé à -4°C et à l'abri de la lumière jusqu'à la mise en route du test antiplasmodique. Le marc est séché à l'air libre et gardé pour les extractions suivantes.

IV -3.1.3- Extraction à l'aide du mélange CH₂ CL₂/CH₃OH (7-3 V/V)

Le marc issu de l'extraction au CH₂ CL₂ est mis à macérer pendant 24 heures dans 500 ml du mélange CH₂ CL₂/CH₃OH (7-3 V/V). A la fin de la macération, une percolation est réalisée avec 500 ml du solvant de macération à un débit de

1ml / 2mn. La solution recueillie est évaporée sous pression réduite. Le résidu est conservé à -4°C et à l'abri de la lumière jusqu'à la mise en route du test antiplasmodique. Le marc est séché à l'air libre et gardé pour les extractions suivantes.

IV -3.1.4- Extraction au mélange CH₂ CL₂/CH₃OH (3-7 V/V)

Le marc issu de l'extraction au mélange CH₂ CL₂/CH₃OH (7-3 V/V) est mis à macérer pendant 24 heures dans 500 ml du mélange CH₂ CL₂/CH₃OH (3-7 V/V). A la fin de la macération une percolation est réalisée avec 500 ml du solvant de macération à un débit de 1ml / 2mn. La solution recueillie est évaporée sous pression réduite. Le résidu est conservé à -4°C et à l'abri de la lumière jusqu'à la mise en route du test antiplasmodique. Le marc est séché à l'air libre et gardé pour les extractions suivantes.

IV-3.1.5- Extraction au mélange CH₃ CH₂ OH-H₂O (9-1 V/V)

Le marc issu de l'extraction au mélange CH₂ CL₂/CH₃OH (3-7 V/V) est mis à macérer pendant 24 heures dans 500 ml du mélange CH₃ CH₂ OH-H₂O (9-1 V/V). A la fin de la macération une percolation est réalisée avec 500 ml du solvant de macération à un débit de 1ml / 2mn. La solution obtenue est évaporée sous pression réduite. Le résidu est conservé à -4°C et à l'abri de la lumière jusqu'à la mise en route du test antiplasmodique. Le marc est séché à l'air libre et gardé pour les extractions suivantes.

IV- 3.1.6- Extraction à H₂O

Le marc issu de l'extraction au mélange CH₃ CH₂ OH-H₂O (9-1 V/V) est mis à macérer pendant 24 heures dans 500 ml d'eau distillée. A la fin de la macération une percolation avec 500 ml du solvant de macération à un débit de 1ml / 2mn.

La solution aqueuse obtenue est évaporée sous pression réduite. Le résidu est conservé à -4°C et à l'abri de la lumière jusqu'à la mise en route du test antiplasmodique.

IV-3.2 - Cosolubilisation

Les extraits à l'éther de pétrole (E1), au dichlorométhane (E2), au mélange dichlorométhane-méthanol (7-3, V/V) (E3) et au mélange dichlorométhane-méthanol (3-7, V/V) (E4) ont été cosolubilisés dans de l'eau avec du tween 80. La concentration de tween 80 utilisée est de 25% par rapport au poids de l'extrait.

La cosolubilisation consiste dans un premier temps à solubiliser l'extrait dans le solvant d'extraction. Le tween 80 est ajouté à cette solution et l'ensemble est évaporé sous pression réduite pour obtenir un résidu qui est soluble dans l'eau.

IV-3.3 - Etude phytochimique

Le screening chimique de nos extraits a été réalisé par chromatographie sur couche mince. Les groupes chimiques suivants ont été recherchés :

- les triterpènes et les phytostérols,
- les flavonoïdes,
- les saponosides
- les tanins.
- les alcaloïdes

IV -3.3.1- Recherche des triterpènes et des phytostérols

Phase stationnaire : Gel de silice G₆₀ F₂₅₄

Eluant : S₁

solution de dépôt : les solutions de dépôt à la concentration de 10 mg/ml sont déposées à raison de 20 µl et en bande de 0,5 cm sur les chromatoplaques.

Révélation : elle a été faite par pulvérisation sur les chromatoplaques d'une solution d'acide sulfurique à 3 % dans de l'éthanol. Les chromatoplaques sont ensuite placées à l'étuve à 110°C pendant 10 mn.

Les triterpènes pentacycliques donnent une coloration violette persistante. Les triterpènes tétracycliques et les phytostérols donnent une coloration violette qui vire rapidement au bleu.

V -3.3.2- Recherche de flavonoïdes

Phase stationnaire : Gel de silice G₆₀ F₂₅₄

Eluant : S₂

Solution de dépôt : les solutions de dépôt à la concentration de 10 mg/ml sont déposées à raison de 20 µl et en bande de 0,5 cm sur les chromatoplaques.

Révélation : elle a été faite avec une solution de diphenyl borinate de sodium à 1% dans du méthanol. Les chromatoplaques sont alors observées à l'U.V. à 254 et 375 nm. Dans ces conditions on observe alors une intensification de la coloration jaune par effet bathochrome.

IV. 3.3.3 Recherche de saponosides

Phase stationnaire : Gel de silice G₆₀ F₂₅₄

Eluant : S₂

Solution de dépôt : les solutions de dépôt à la concentration de 10 mg/ml sont déposées à raison de 20 µl et en bande de 0,5 cm sur les chromatoplaques.

Révélation : elle a été faite par pulvérisation sur les chromatoplaques d'une solution d'acide sulfurique à 3% dans de l'éthanol. Les chromatoplaques sont ensuite placées à l'étuve à 110°C pendant 10mn.

Les saponosides triterpeniques donnent une coloration violette persistante. Les saponosides stéroïdiques donnent une coloration violacée qui vire rapidement au bleu.

IV -3.3.4- Recherche des tanins

Phase stationnaire : Gel de silice G₆₀ F₂₅₄

Eluant : S₂

Solution de dépôt : les solutions de dépôt à la concentration de 10 mg/ml sont déposées à raison de 20 µl et en bande de 0,5 cm sur les chromatoplaques.

Révélation : elle a été faite par pulvérisation sur les chromatoplaques d'une solution de chlorure ferrique à 2 % dans un mélange eau - méthanol (2-3 v/v). Dans ces conditions les tanins donnent une coloration bleue verdâtre.

IV 3.3.5- Recherche des alcaloïdes

Phase stationnaire : Gel de silice G₆₀ F₂₅₄

Eluant : CH₂CL₂ - CH₃OH - NH₄OH - C₇H₈
(10-2,5-0,25-2,5 v/v)

Solution de dépôt : les extraits E2 et E3 sont dissous dans leurs solvants d'extraction puis on procède à une extraction liquide - liquide avec un mélange eau- acide acétique (10-3 v-v).

La phase aqueuse est recueillie et on y ajoute de l'ammoniaque et du dichlorométhane.

La phase organique renferme alors les alcaloïdes bases et a constitué la solution de dépôt à raison de 20 μ l et en bande de 0,5 cm sur la chromatoplaque.

Révélation : elle a été faite par pulvérisation sur les chromatoplaques du réactif de Dragendorff. Les alcaloïdes apparaissent alors colorés en rouge-orange.

IV-3.4- Fractionnement de l'extrait au mélange dichlorométhane - méthanol (7-3 v/v).

L'extrait au mélange dichlorométhane-méthanol (7-3 v/v), E3 a été fractionné par chromatographie sur colonne de gel de silice. La colonne est remplie au 2/3 à l'aide d'une suspension de silice pour colonne dans le dichlorométhane.

L'extrait à fractionner est dissout dans le dichlorométhane et déposé au sommet de la colonne de silice. La phase mobile est ensuite introduite. Elle est constituée de dichlorométhane contenant des proportions croissantes de méthanol (0 ; 2,5; 5; 10; 15; 25; 30%).

Des fractions d'environ 10 ml sont récoltées et analysées par CCM en utilisant comme éluant le mélange cyclohexane, toluène, acétate d'éthyle (3-1-1-v/v).

La révélation est faite par pulvérisation sur les chromatoplaques d'une solution d'acide sulfurique à 3% dans de l'éthanol. Les chromatoplaques sont ensuite placées à l'étuve à 110°C pendant 10mn.

Les fractions qui présentent un chromatogramme similaire sont regroupées et évaporées sous pression réduite.

Sur les trois fractions obtenues deux ont été testées afin d'évaluer leur activité antiplasmodique.

Les différentes étapes de l'extraction et du fractionnement de l'extrait le plus actif sont indiquées par la figures 5.

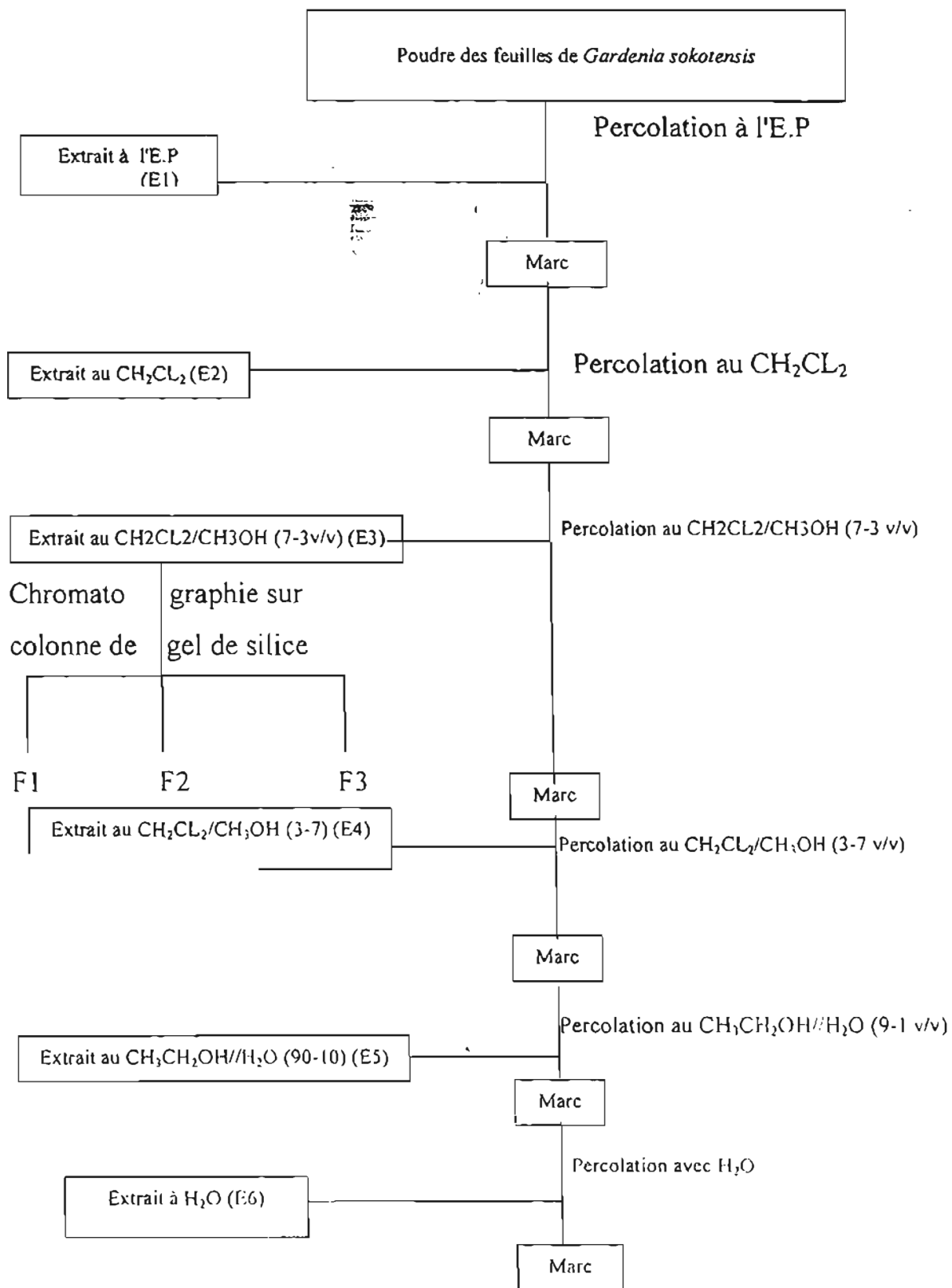


Figure 5 : Schéma d'extraction et de fractionnement des extraits de *G. sokotensis*.

IV-3.5- Etude pharmacologique

L'étude de l'activité antiplasmodique a été effectuée selon le test de 4 jours de Peters [46,47].

Les souris sont mises dans les mêmes conditions (alimentation, température du milieu) pendant toute la durée de l'expérience.

Pour chaque extrait ou chaque dose d'extrait un test est effectué trois fois avec à chaque fois un lot de 5 souris d'environ 30g. Chaque souris reçoit approximativement en I.P (Intraperitonéale) 10^7 érythrocytes parasités obtenus par dilution du sang parasité d'une souris infestée. Les souris sont préalablement mise à jeun 24 heures avant le début du test.

En plus de ces lots test, un lot témoin a été également constitué de la même façon qui a reçu en, I.P environ 10^7 érythrocytes parasités.

L'extrait E3, cosolubilisé avec du tween 80, passé à l'ultra son et dissous dans de l'eau physiologique puis filtrés est administrée à 0,4ml / 24h.

A Jo après l'infestation le produit est administré par voie I.P à raison de 0,2ml le matin et 0,2ml le soir, par souris. Les témoins recevant de l'eau physiologique.

Le volume maximum à injecter est de 0,4ml [48]. A J₁, J₂, J₃ on a répété les mêmes doses. A J₄, des frottis minces ont été réalisés, colorés au Field et lus au microscope optique à l'objectif 100 pour déterminer les densités parasitaires ; celles-ci permettant de calculer la réduction de la parasitémie par rapport au lot témoin.

Pourcentage des hématies parasitées = P (Nombre d'hématies parasitées de x champs / Nombre d'hématies de x champs) x 100.

$$\text{Pourcentage de réduction de la parasitémie } P' = \frac{(P_1 - P_2)}{P_1} \times 100$$

P_1 = pourcentage de globules rouges parasités du lot témoin.

P_2 = pourcentage de globules rouges du lot traité.

V - RESULTATS DE L'ETUDE

IV-3-6- Traitement des données relatives à la DE50

La droite de régression a été utilisée pour le traitement statistique des données de la DE50 au moyen du logiciel Excel.

V-1 Rendement de l'extraction

Le tableau I résume le rendement de l'extraction réalisée. Les différents rendements sont exprimés par rapport à la prise d'essai qui était de 300 g

Tableau I - Rendement de l'extraction

	E1	E2	E3	E4	E5	E6
r (%)	2,11	11,25	3,57	2,85	2,45	7,9

L'extrait au dichlorométhane (E2) a donné le rendement le plus important (11,25%) suivi de celui de l'extrait aqueux (7,90%). Le rendement le plus faible est obtenu avec l'extrait à l'éther de pétrole (E1).

r = rendement

E1 = Extrait à l' éther de pétrole

E2 = Extrait au dichlorométhane

E3 = Extrait au mélange dichlorométhane - méthanol (7-3 v/v)

E4 = Extrait au mélange dichlorométhane - méthanol (3-7 v/v)

E5 = Extrait au mélange éthanol-eau (9-1 v/v)

E6 = Extrait à l'eau

V-2 Rendement du fractionnement de l'extrait le plus actif

La quantité d'extrait engagé pour le fractionnement était de 4g. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau II.

Tableau II : Rendement du fractionnement

	F1	F2	F3
Quantité (mg)	602	160	41

La fraction F1 a fourni la quantité la plus importante soit 602 mg.

F1 = Fraction obtenue avec le pas de gradient constitué par le mélange dichlorométhane-méthanol (85-15 v v)

F2 = Fonction obtenue avec les pas de gradient constitués par les mélanges dichlorométhane- méthanol (80-20 v/v) et (75-25 v/v)

F3 = Fraction obtenue avec les pas de gradient constitué par le mélange dichlorométhane- méthanol (70-30 v/v)

Tableau de volumes d'élution

Solvant	Volumes	Fraction isolée
CH ₂ CL ₂	400 ml	-
Méthanol 2,5 % dans CH ₂ CL ₂	200 ml	-
5 %	200 ml	-
10 %	200 ml	-
15 %	300 ml	F ₁
20 %	200 ml	F ₂
25 %	800 ml	F ₂
30 %	200 ml	F ₃

V - 3 - Résultats de la CCM

La CCM a permis de mettre en évidence des flavonoïdes, des saponosides et des triterpènes dans les extraits E2, E3 et E5 (confère tableau III).

Il faut noter que la recherche des alcaloïdes s'est révélée négative aussi bien dans la poudre végétale que dans les extraits actifs (E2 et E3).

Tableau III / résultats de la CCM

	Rf	Coloration			Groupes Chimiques suspectés
		Avant révélation	Liebermann	Diphénylborinate de sodium	
Extrait E ₃ dans S ₁	0,12		Violette		Saponoside
	0,98	-	Violette		Triterpène
	0,66	Jaune	-	Intensification de la coloration	Flavonoïdes
	0,83	Jaune	-		
	0,94	Jaune	-		
Extrait E ₃ dans S ₁	0,73		Violette	-	Saponoside Triterpenique
	0,58	Jaune	-	Intensification de la coloration	Flavonoïdes
	0,92	Jaune	-		
					Triterpène
Extrait E ₂ dans S ₁	0,94		Violette		Flavonoïdes
	0,75	Jaune	-	Intensification de la coloration	
	0,84	Jaune	-		
Extrait E ₂ dans S ₁	0,80	Jaune	-	Intensification de la coloration	Flavonoïdes
Extrait E ₅ dans S ₁	0,73		Violette		Saponoside Triterpenique
	0,59	Jaune	-	Intensification de la coloration	Flavonoïdes
	0,31				Bleue Verdâtre
Extrait E ₄ dans S ₁		-	-	-	-
Fraction F ₂ dans S ₁	0,12	-	Violette	-	Saponosides
	0,66	Jaune	-	Intensification de la coloration	Flavonoïdes
	0,83	Jaune	-		
Fraction F ₁ dans S ₁	0,92	Jaune	-	Intensification de la coloration	Flavonoïdes
Fraction F ₁ dans S ₁	0,98	-	Violette		Triterpène
	0,83	Jaune		Intensification de la coloration	Flavonoïdes
	0,94	Jaune			

Les extraits les plus actifs E₂, E₃ et E₅ ont en commun des flavonoïdes avec des saponosides triterpéniques retrouvés dans E₃ et E₅ mais pas dans E₂ (confère figures 8 et 9).

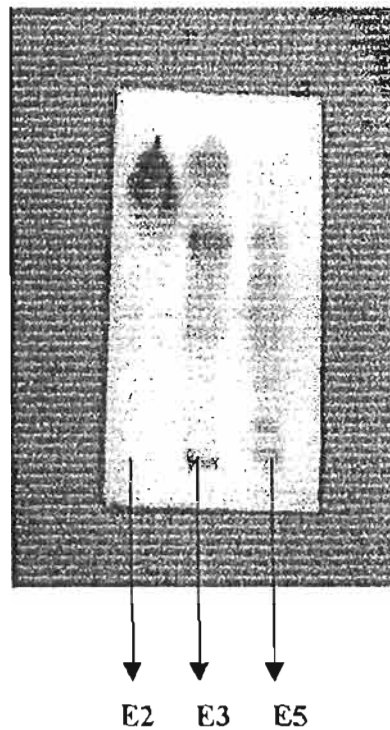


Figure 6 : Chromatogramme des extraits E2, E3, E5 dans S_2 (Révélation au Liebermann)

Phase stationnaire : gel de silice $G_{60} F_{254}$

Eluant $S_2 = 2$ - butanol - eau - acide acétique (10-1-0,5 v/v)

A la valeur RF de 0,73 nous notons la présence de saponoside triterpénique dans l'extrait E3

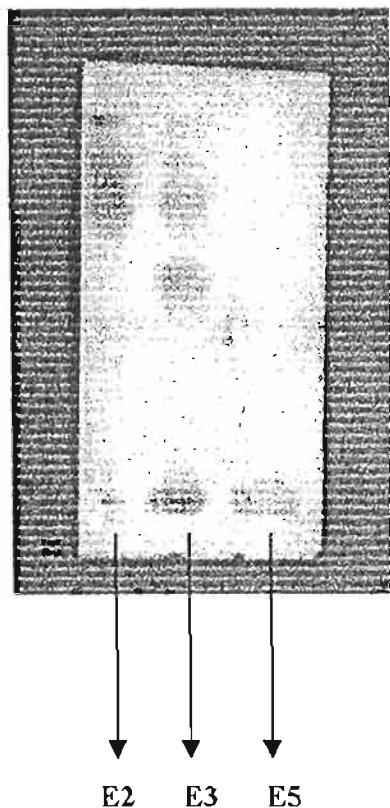


Figure 8 : Chromatogramme des extraits E2, E3, et E5 dans S₁
 (Révélation au diphenyl borinate de sodium)

Phase stationnaire : gel de silice G₆₀ F₂₅₄

Eluant S₁ : éther de pétrole - toluène - acétate d'éthyle - acide acétique
 (5-2-2-1,5 v/v)

Aux valeurs RF de 0,66; 0,83 et 0,94 nous observons la présence de flavonoïdes dans l' extrait E3



Figure 8 : Chromatogramme des extraits E2, E3, et E5 dans S₁
 (Révélation au diphenyl borinate de sodium)

Phase stationnaire : gel de silice G₆₀ F₂₅₄

Eluant S₁ : éther de pétrole - toluène - acétate d'éthyle - acide acétique
 (5-2-2-1,5 v/v)

Aux valeurs RF de 0,66; 0,83 et 0,94 nous observons la présence de flavonoïdes dans l' extrait E3

La fraction F_1 contient essentiellement des flavonoïdes et un triterpène alors que la fraction F_2 renferme des flavonoïdes et des saponosides. (Confère figures 9 et 10).

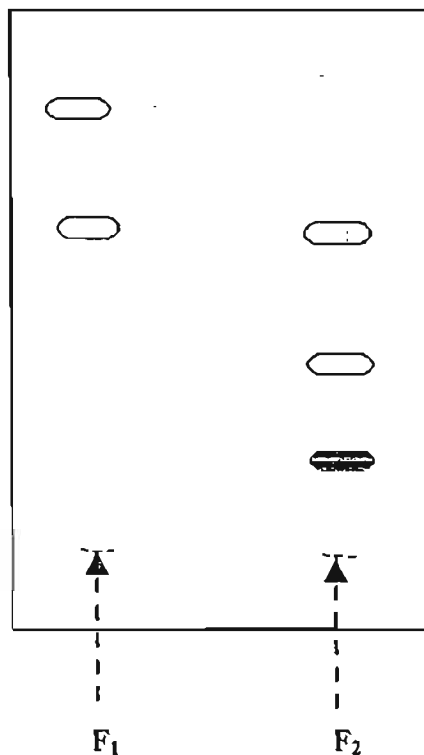


Figure 9: Chromatogramme des fractions F_1 et F_2 dans S_1 (Révélation au Liebermann)

Phase stationnaire: Gel de silice $G_{60} F_{254}$

Eluant S_1 : ether de pétrole - toluène acétate d'éthyle - acide acétique (5-2-2-1,5 v/v)

Aux valeurs R_f de 0,83 et 0,94 pour F_1 et 0,66 et 0,83 pour F_2 on note la présence de flavonoïdes alors qu'à la valeur R_f de 0,12 dans F_2 on note la présence de saponosides

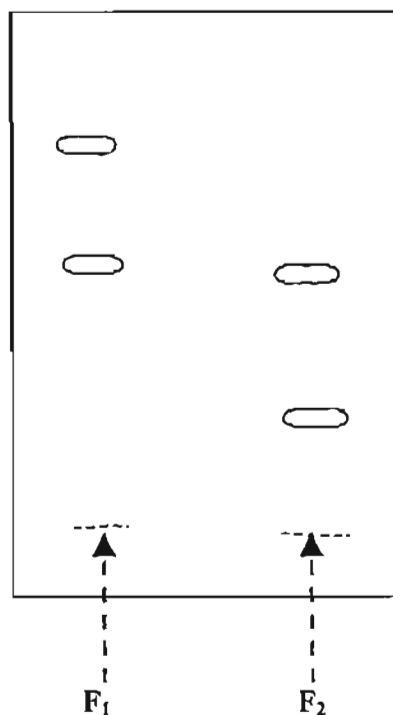


Figure 10: Chromatogramme des fractions F₁ et F₂ dans S₁ (Révélation au diphenyl borinate de sodium)

Phase stationnaire: Gel de silice G₆₀ F₂₅₄

Eluant S₁: ether de pétrole - toluène - acétate d'éthyle - acide acétique (5-2-2-1,5 v/v)

Aux valeurs R_f de 0,83 et 0,94 pour F₁ et 0,66 et 0,83 pour F₂ les spots représentés correspondent à des flavonoïdes.

V-4- Résultats pharmacologiques

V-4- 1- Activité antiplasmodique des différents extraits

L'activité antiplasmodique des différents extraits testés est présentée dans le tableau IV. Tous les extraits testés à la dose de 500 mg/Kg présentent une activité.

Tableau IV : Pourcentage de réduction de la parasitémie selon le type d'extrait et le test à la dose de 500 mg/Kg

	Types d'extraits					
	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Test 1	22	74	78	15	40	17
Test 2	33	71	95	34	57	20
Test 3	27	70	88	28	48	15
Moyenne	27	72	87	26	48	17
Ecart Type	5	2	7	8	7	2

L'extrait le plus actif est E3 avec 87% de réduction de la parasitémie suivi de E2 avec 72 % puis E5 avec 48 % de réduction de la parasitémie à la dose de 500 mg/kg.

V-4-2- Relation dose-activité antiplasmodique de l'extrait le plus actif (E3)

Une gamme de doses 50, 100, 200, 300, 400, 500 mg/kg a été choisie afin d'établir la courbe dose effet de l'extrait E3 de *G. sokotensis* (confère figures 11 et 12). Les résultats obtenus avec cette gamme de doses sont indiqués dans le tableau V.

Tableau V : Pourcentage de réduction de la parasitémie en fonction de la dose d'extrait E3 administrée et du test.

	Doses mg/kg					
	50	100	200	300	400	500
Test 1	35	49	57	68	88	95
Test 2	38	51	54	82	80	94
Test 3	26	40	53	65	78	79
Moyenne	33	47	55	72	82	89
Ecart - Type	5	5	2	7	4	7

Nous constatons que plus la dose d'extrait administrée est élevée plus la réduction est importante. A la dose de 50 mg / kg on a la plus faible réduction (33 %) alors qu'à 500 mg/kg on a la plus forte réduction (89 %). La D.E. 50 obtenue est de 116 mg/kg à partir de l'équation de la figure 11.

La figure 11 représente l'effet dose dépendante de l'extrait le plus actif en fonction du pourcentage de réduction de la parasitémie et du logarithme des doses.

La figure 12 représente l'effet dose dépendante de l'extrait le plus actif en fonction du pourcentage de réduction de la parasitémie et des doses.

Figure 11: Effet dose dependante de l'extrait le plus actif (E-3) de *Gardenia sokotensis*

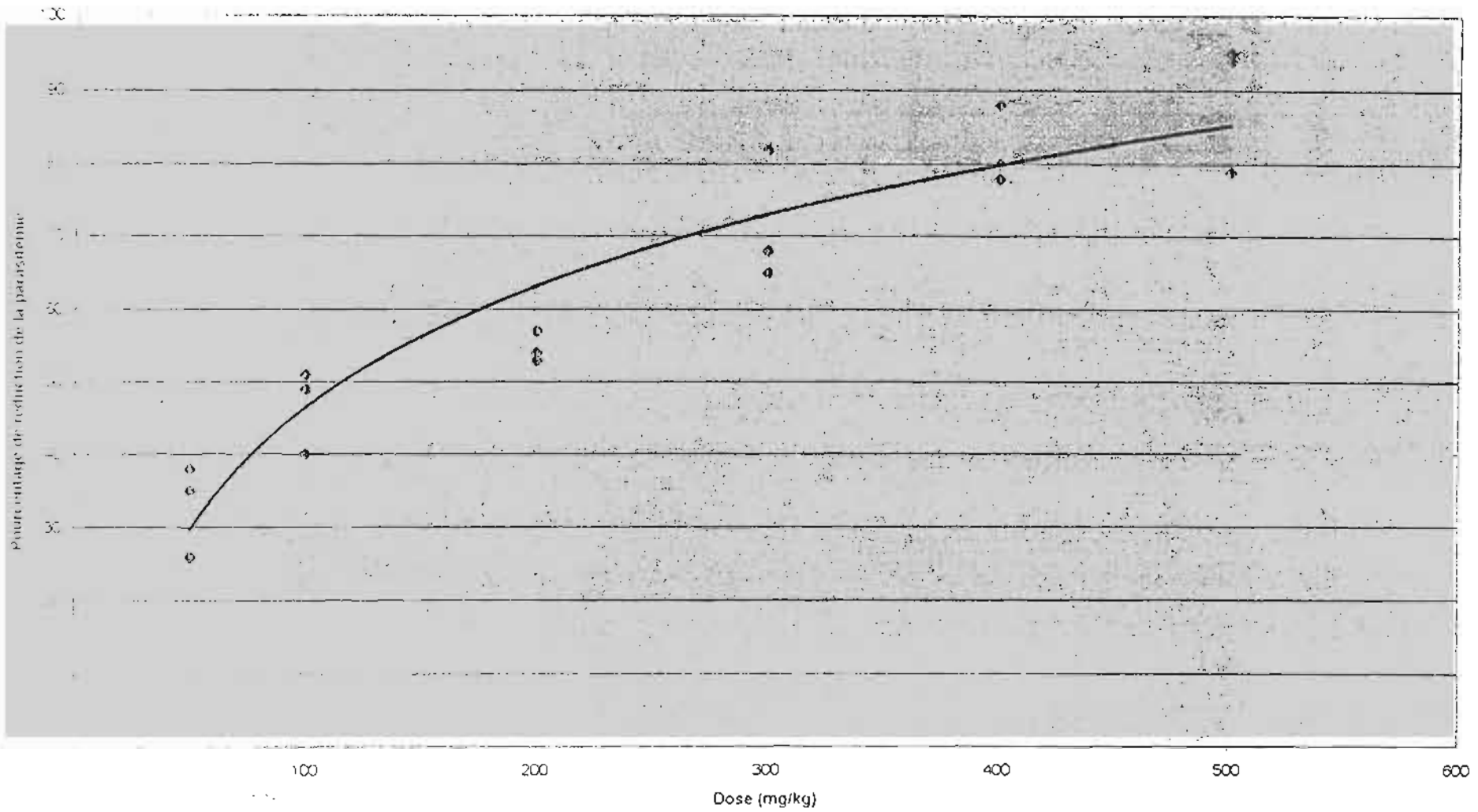
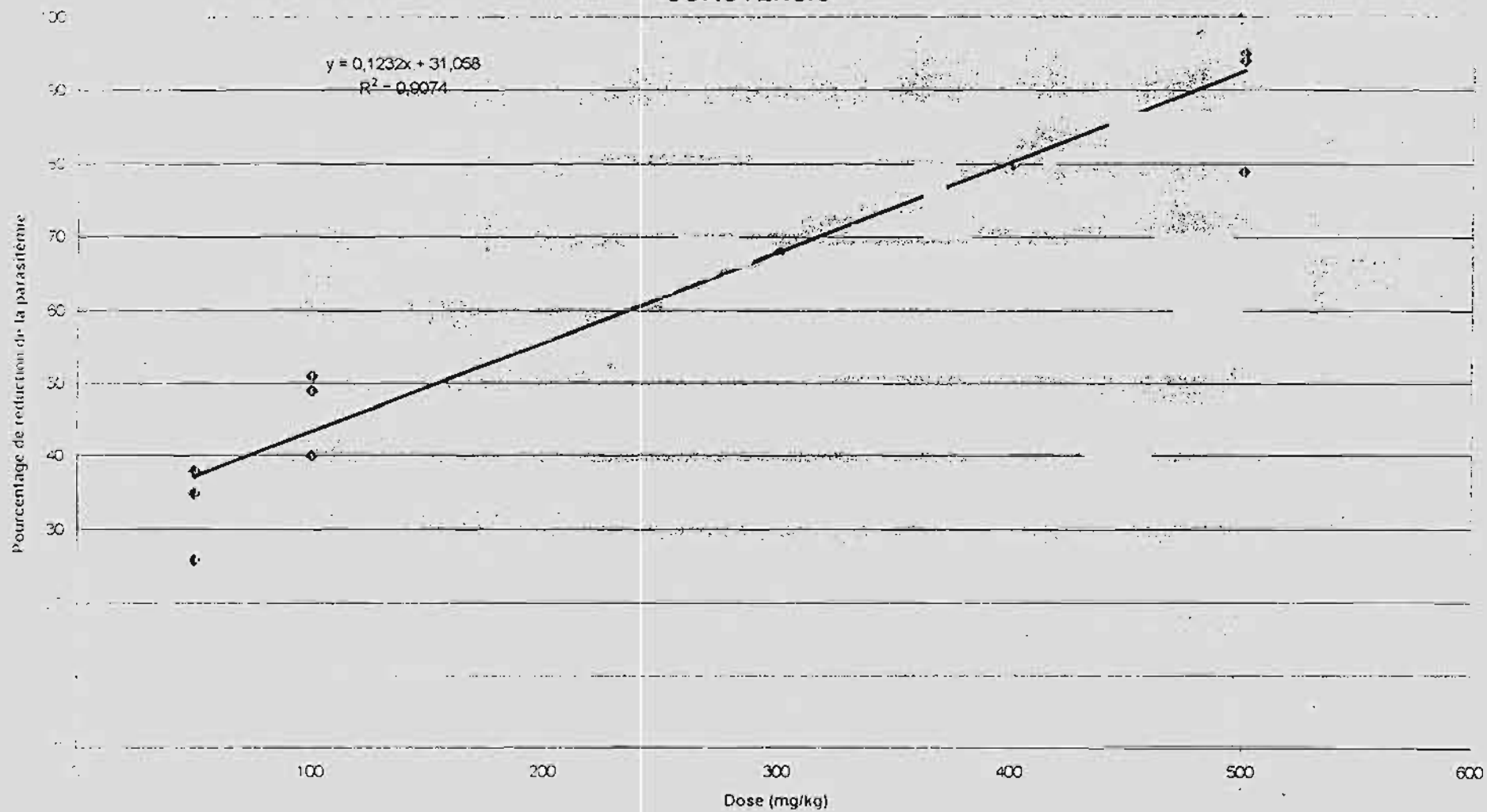


Figure 12 : EFFET DOSE DEPENDANTE DE L'EXTRAIT LE PLUS ACTIF(E3) de *GARDENIA SOKOTENSIS*



V-4-3- Activité antiplasmodique des fractions

Les deux fractions testées à 50 mg/kg ont toutes eu un impact variable sur la parasitémie. Cet effet de réduction de la parasitémie est présenté dans le tableau VI.

Tableau VI : Pourcentage de réduction de la parasitémie en fonction de la fraction et du test à la dose de 50 mg/kg

	Types de Fractions	
	F ₁	F ₂
Test 1	17	53
Test 2	23	42
Test 2	20	32
Moyenne	20	42
Ecart Type	3	9

Les deux fractions F₁ et F₂ ont été testés à la dose de 50 mg/kg. F₂ s'est révélée la plus active avec une réduction de la parasitémie de 42 %.

VI - DISCUSSION

LA METHODE D'EXTRACTION

La méthode d'extraction que nous avons utilisée est fondée sur l'épuisement successif de la poudre végétale à l'aide de 6 solvants de polarité croissante qui sont: l'éther de pétrole, le dichlorométhane, le mélange dichlorométhane-méthanol (7-3,v/v), le mélange dichlorométhane-méthanol (3-7,v/v), le mélange éthanol-eau (9-1,v/v) et l'eau.

Cette méthode diffère sensiblement de celle utilisée par OUEDRAOGO et COULIBALY [7-8] qui ont eu recours au soxhlet pour un épuisement exhaustif à l'aide d'un seul solvant.

L'extraction par épuisement, utilisée dans le cadre de ce travail, permet de regrouper les constituants chimiques en fonction de leur polarité. Ceci constitue un premier pas dans le processus devant conduire à la purification et à l'isolement des principes actifs (P.A).

Nous avons choisi d'extraire les P.A par percolation après 24 heures de macération. Ceci est explicable par le fait que certains P.A d'origine naturelle sont thermosensibles et de ce fait difficilement extractibles au soxhlet sans dégradation.

En effet, un screening préliminaire effectuée par OUEDRAOGO et complété dans le cadre de cette étude a montré que des flavonoïdes pourraient être impliqués dans l'activité antiplasmodique de *G. sokotensis*.

C'est ainsi que nous avons optimisé l'extraction en procédant par percolation, méthode qui permet d'éviter la dégradation des flavonoïdes dont la thermosensibilité est bien connue.

ETUDE PHYTOCHIMIQUE

La méthode utilisée pour le screening phytochimique est fondée sur la chromatographie sur couche mince (CCM) suivie d'une révélation à l'aide d'un réactif approprié.

Les différents groupes chimiques qui ont fait l'objet de cette étude, ont été recherchés en fonction de la chimiotaxonomie des *Rubiaceae*, des études antérieures effectuées sur *G. sokotensis*, de la solubilité dans les solvants d'extraction et enfin des substances naturelles généralement incriminées dans l'activité antiplasmodique des drogues végétales.

Le screening phytochimique a été fondé sur ces trois extraits (Extrait au dichlorométhane, extrait au mélange dichlorométhane - méthanol (7-3 v/v) et extrait au mélange éthanol-eau (9-1 v/v).) qui, au niveau des essais pharmacologiques, ont manifesté l'activité antiplasmodique la plus significative.

Nous pensons que ces extraits concentrent la majeure partie des substances antiplasmodiques contenues dans *G. sokotensis*.

Ce screening fondé sur ces extraits nous a permis de suspecter la présence de flavonoïdes, de saponosides, de triterpènes et de tanins.

L'extrait le plus actif à savoir E3 concentre essentiellement des flavonoïdes et de saponosides.

On peut ainsi suspecter la présence de trois types de flavonoïdes situés respectivement à des valeurs Rf de 0,66 ; 0,83 ; 0,94.

La CCM a détecté également dans cet extrait E3 la présence de deux types de composés triterpéniques qui se situent respectivement à des valeurs Rf de 0,12 et 0,98.

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par OUEDRAOGO qui n'a pu détecter qu'un seul type de flavonoïdes.

Cette différence pourrait se situer au niveau des méthodes d'extraction.

L'extrait le plus actif (E3) a été fractionné par chromatographie sur colonne de gel silice ce qui a permis de recueillir trois fractions F1, F2 ET F3.

Le but de cette opération était d'isoler davantage les principes actifs (P.A) afin de permettre une purification des substances responsables de l'activité antiplasmodique de *G. sokotensis*; ceci devant ouvrir la voie à l'identification de ces constituants grâce à l'utilisation de techniques spectrales comme la spectrométrie UV visible, la spectrométrie RMNet la spectrométrie de masse. Dans le cadre de ce travail nous nous sommes limités au fractionnement de l'extrait le plus actif à savoir E3.

Le screening phytochimique effectué sur les fractions issues de la CC et analysées par CCM en utilisant S1 comme éluant indique la présence de flavonoïdes et de saponosides dans la fraction F2.

Ceci nous donne de bonnes raisons de croire que ces substances peuvent être impliquées dans l'activité antiplasmodiques de *G. sokotensis*.

PHARMACOLOGIE

Tous les extraits ont été testés pour évaluer leur activité antiplasmodique. Il ressort de ces tests que l'extrait E3 est le plus actif. Le pourcentage de réduction de la parasitémie de cet extrait est de 87% lorsqu'il est testé à la dose de 500 mg/kg.

Cet extrait a également montré une activité dose dépendante.

Nous avons constaté que l'activité était répartie sur la quasi totalité des extraits. Ceci peut être expliqué par le fait qu'il pourrait exister dans la plante plusieurs substances actives.

De même nous pouvons formuler également une autre hypothèse sur la solubilisation du ou des substances actives dans les différents solvants utilisés pour l'extraction. Cette dernière hypothèse est fort peu probable compte tenu du profil des chromatogrammes obtenus sur couche mince.

De ce fait , nous pensons que *G. sokotensis* concentre plusieurs substances actives sur le *P. berghei*.

Les principales substances actives se concentrent dans l'extrait E3.

Le screening phytochimique des extraits les plus actifs ainsi que des fractions obtenus montre que les flavonoïdes et les saponines pourraient constituer les principales substances antiplasmodiques de *G. sokotensis*.

Ces résultats confirment ceux de OUEDRAOGO et COULIBALY qui ont mis en évidence des flavonoïdes dans l'extrait hydroalcoolique de *G. sokotensis*.

Le fait que des flavonoïdes semblent être doués d'une activité antiplasmodique n'est pas très surprenant compte tenu du fait que les flavonoïdes, substances largement répandues dans la nature sont doués de propriétés biologiques extrêmement variées.

Un volet important de la recherche actuelle sur les antiradicaux libres et le processus de vieillissement concerne les flavonoïdes [49].

On a également identifié des flavonoïdes antibactériens, antiviraux, anticancéreux.

CASTRO O. et coll ont identifié de flavonoïdes de certaines plantes, comme étant des composés actifs *in vivo*, contre *P. berghei*.

Ace titre, ils ont isolé la flavone quercétone de *Cedrela tonduzii* [50].

De même BRANDÃO M.G. et coll au Brésil ont caractérisé comme substances actives *in vitro* sur *P. falciparum* des flavonoïdes [51].

VALSARAJ R. et coll en Inde ont également démontré une activité antimalarique *in vitro* de flavonoïdes extrait de *Terminalia bellerica* [52].

CHANPHEN R. et coll en Thaïlande ont isolé les exiguaflavones A et B d'*Artemisia indica* qui ont montré une activité antimalarique *in vitro* contre *P. falciparum* [53]

PHILLIPSON et WRIGHT prouvèrent que l'artémitine et la casticine (flavonoïdes) avaient une activité antiplasmodique [28].

Selon les résultats obtenus par OUEDRAOGO [8] la quinine donne dans les mêmes conditions expérimentales que nous une D.E.₅₀ de 14,84 mg/kg.

Au regard de ce résultat nous pouvons dire que notre extrait le plus actif à savoir l'extrait E3 est environ 8 fois moins actif que la quinine. Ce pendant la quinine est un produit pur par opposition au notre.

La D.E.₅₀ de notre extrait le plus actif est trois (3) fois inférieure à celle trouvée par OUEDRAOGO pour l'extrait hydroalcoolique de la même plante.

La méthode d'extraction que nous avons utilisée a donc permis de cibler davantage les constituants antiplasmodiques de *Gardenia sokotensis*.

CONCLUSION ET SUGGESTIONS

Les travaux que nous avons réalisés sur l'activité antiplasmodique des extraits de *Gardenia sokotensis* sur des souris NMRI infestées par *P. berghei* nous ont permis de déterminer comme extrait le plus actif, l'extrait au mélange dichlorométhane-méthanol (7-3 v/v) (E3) avec 87% de réduction de la parasitémie.

Tous les extraits testés ont cependant présenté une activité variable ce qui nous a fait penser qu'il existerait dans la plante plusieurs substances actives.

L'extrait le plus actif E3 renfermerait au vu de la CCM réalisée des flavonoïdes, des triterpènes, des saponosides, composés également mis en évidence par OUEDRAOGO A. [8] et COULIBALY M. [7].

Cet extrait E3 a été fractionné par chromatographie sur colonne de gel de silice. Trois fractions ont alors été obtenues. Ce sont F1, F2, F3 isolées à l'aide de dichlorométhane contenant respectivement 15% ; 20% et 25% ; 30% de méthanol.

La fraction F2 a présenté la meilleure activité antiplasmodique avec une réduction de la parasitémie de 42% à la dose de 50mg / kg . Cette fraction aurait comme composants majeurs des flavonoïdes et des saponosides.

Au regard de tout ceci nous avons émis l'hypothèse que les flavonoïdes seraient principalement responsables de l'activité antiplasmodique.

Nous suggérons donc :

- d'isoler les flavonoïdes et de les tester;
- de procéder à l'identification des flavonoïdes ce qui conduirait à des possibilités de synthèse et d'hémisynthèse de nouvelles molécules;
- d'étudier l'activité antiplasmodique de ces flavonoïdes en association avec des antipaludiques modernes dans le but d'une probable amélioration de l'activité par une action synergique.

VII - REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**1 - MINISTERE DE LA SANTE ET DE L'ACTION SOCIALE ET DE LA FAMILLE,
DIRECTION DES ETUDES ET DE LA PLANIFICATION (BURKINA FASO)**

Statistiques sanitaires 1993, Rapport annuel : 91p.

**2 - MINISTERE DE LA SANTE ET DE L'ACTION SOCIALE ET DE LA FAMILLE,
DIRECTION DES ETUDES ET DE LA PLANIFICATION (BURKINA FASO)**

Statistiques sanitaires 1994, Rapport annuel : 101p.

3 – GAZIN P.

Paludisme au Burkina Faso : étude épidémiologique de la transmission des indices parasitologiques de la morbidité, de la létalité. Thèse de l'Université de Montpellier 1990.

4 – CASTELLY F., CAROSI G.

Handbook of malaria infection in the tropic.
Bologna : health cooperation papers, 1997 : p 252

**5 - BAUDON D., GAZIN P., SANON J.M., OUEDRAOGO L., OUEDRAOGO I.,
GUIGUEMDE T. R., CARNEVALE P.**

Morbidité palustre en milieu rural au Burkina Faso : étude de 526 accès fébriles.
Médecine d'Afrique Noire, 1986 ; 33 (11) : 195-7

6 – PAYNE D.

Parasitology Today 3, 1987 : 241 – 246.

7 – COULIBALY M.

Contribution à l'étude in vitro de l'activité antiplasmodique d'extraits de quelques plantes médicinales au Burkina Faso : activité antiparasitaire des extraits comparée avec quelques médicaments de synthèse. Thèse de 3^{ème} cycle en sciences 1996 FAST Ouagadougou.

8 – OUEDRAOGO A.

Etude in vivo de l'activité antiplasmodique de l'extrait hydroalcoolique de *Gardenia sokotensis* Hutch (*Rubiaceae*) chez la souris N.M.R.I. infestée par *Plasmodium berghei*.
Thèse de Pharmacie, FSS, Université de Ouagadougou 1998.

9 - OMS

Aide mémoire n° 94 Révisé, Octobre 1988.

10 – TRIGG P., KONDRACHINE A.

Stratégie mondiale de lutte antipaludique, *Santé du monde* n° 3 Mai – Juin 1998

11 – LIESE B. H.

Un frein au développement économique, *Santé du monde* n° 3 Mai – Juin 1998

12 – BALKOUMA P.

Etude de l'activité antiplasmodique *in vivo* de l'extrait hydroéthanolique de *Cochlospermum tinctorium* A. Rich (*Cochlospermaceae*) sur la souris N.M.R.I. infestée par *Plasmodium berghei*.

Thèse de doctorat de Pharmacie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université du Mali .
1999.

13 – GOLVAN Y. J.

Éléments de parasitologie médicale. Flammarion 4^e édition Paris, 1983 : pp 571.

14 – WERY M.

Plasmodiums parasites de l'homme in Protozoologie médicale Aupelf – UREF, 1995 : pp273.

15 – EKANEM J. O.

Treatment regimens for malaria as a function of level of chemo resistance in Africa *Malaria Paludisme et maladies infectieuses* 1994, 1 : 96-97.

16 – LE BRAS J., BASCO L. K.

Traitement. Chimiorésistance des *Plasmodiums*, in Paludisme. M. Danis et J. Mouchet
Ellipses/ Aupelf éd 1991 : 146.

**17 – GUIGUEMDE T.R., GBARY A. R, BOUREIMA H., COMLANVIE E.,
FAYE O., GAYIBOR A., LAMIZANA L., MAIGA A.S., NIANG D.S.**

Point actuel sur la chimiorésistance du paludisme des sujets autochtones dans les états de l'OCCGE *Ann soc Bel med Trop* 1991 ; 71-199-207.

18 - DJIRE A.A.

Analyse de l'évolution de la chimiorésistance du paludisme au Burkina Faso de 1992 à 1998.
Thèse de Pharmacie , FSS, Université de Ouagadougou 1999.

**19 – MINISTERE DE LA SANTE DE LA PROTECTION SOCIALE ET DE LA
CONDITION FEMININE (BENIN)**

Service des statistiques, de la documentation et de la recherche opérationnelle septembre 1997, annuaire 1996, pp46.

20 – MBUGUA J. K.

Conférence panafricaine sur le paludisme. *Afrique médecine et santé* n° 8 novembre – décembre 1998.

21 – GENTILINI M., DANIS M., RICHARD – LENOBLE D.

Paludisme *in* Maladies Parasitaires édition J.B, Baillères 1981 : pp253.

22 – KLAYMAN D. L., AGER JR AL, FLECHENSTEIN, LIN A. J.

Current applications *in* malaria treatment recent date of obtained with transdermal formulations. *Am. J. Trop. Med. Hyg* ; 1991. 45 : 602.

23 – COXF.E.G.

Major animal models *in* Malaria research : Malaria parasites of rodents. Species *in* Malaria : principles and practice of Malariology. Edited by W.H. Wernsdorfer Sir J.Mc Gregor. 1988. vol2 :Churchill Livingstone 1506-1927.

24 – YE Z. G., VAN DYKE K.

Selective antimalarial activity of tetrandrine against chloroquine resistant *Plasmodium falciparum*. *Biomedical and Biophysical Research Communication*. 1989; Vol 159 n1 ; 242-248.

25 – EKONG R., PARTRIDGE S.J., ANDERSON M. M.

Plasmodium falciparum : effect of phaeanthine, a naturally occurring bis-benzyl isoquinoline alkaloid on chloroquine resistant and sensitive parasites *in vitro*, and its influence, on chloroquine activity. *Annals of Tropical Medicine and parasitology*, vol 85, n° 2 ; 205-213.

26 – RATSIMAMANGA – URVERG S., ROSOANAIVO P., RAMIARAMANANA L. (1991)

in vitro antimalarial activity and chloroquine potentiating action of two Bisbenzyl isoquinoline enantiomer alkaloid isolated from *Strychnopsis tourarssii* and *Spirospermum penduliform*. *Planta Medica*

27 – KROGS GAARD – LARSEN P., BRIGGER CHRISTENSEN S., HELMER K. (1983)

Natural products and drug development Alfred Benson symposium 20, 183 : pp 559.

28 – NKUNYA M.H.H. (1992)

Progress in search for antimalarials. Published by Napreca Addis Abeba University Addis Abeba, 1992 : pp35.

29 – WRIGHT W. C., BRAY H. D, O'NEIL J. M. WURHUST D.C., PHILLIPSON J. D., QUENTIN-LECLERCQ J., ANGENOT L. (1991)

Antiamoebic and antiplasmodial activities of alkaloids isolated from *Strychnos usambarensis* *Planta Medica*. 57,337-340

30 – BOUGNOUX M. H., ANCELLE T.

Place de l'arthemeter parmi les dérivés du Qinghaosu. *Cah Sante* vol 3 n° 4 juillet - Août 1993 : 308-313.

31 – BRYSKIER A., LABRO M. T. (1988)

Paludisme et médicaments, Ed. Arnette, 1998 : pp 276.

32 – CRETE P.

Précis de Botanique Tome II Systématique des Angiospermes Masson et Cie, 1965 ; pp 385.

33 – DUVINGNEAUD P., VAN BOCKSTAL L.

Systématique des plantes supérieures vol 2 : Dicotyledones. Presses universitaires de Bruxelles, 1973 – 1975 : pp 289.

34 – GUINKO S., MILLOGO R. J., BOUSSIM M. J.

Caractéristiques de quelques familles d'angiospermes représentées dans l'Ouest Africain, Travaux pratiques et dirigés de botaniques, U.O. 1995.

35 – DENIS MALGRAS R.P.

Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. Edition Karthala 22-25-bl Arago 75013 Paris ACCT 13 Quai André Citroën 75015, 1992 : pp 397.

36 – AKE ASSI L., GUINKO S.

Plants used in traditional medicine in west Africa Edition Roche, Bâles, Suisse, 1963 : pp 43.

37 – DALZIEL J. M., HUTCHINSON J.

The useful plants of West Tropical Africa. Crown Agents for Oversea Government London, 1937 : pp 339.

38 – AUBREVILLE A.

Flore forestière soudano-guinéenne. Société d'édition géographiques maritimes et coloniales Paris; 1950 : 265 – 460.

39 – DAKUYO Z.

Le paludisme en Afrique, *Vie et Santé* n° 10, 1992.

40 – AKE ASSI L., GUINKO S.

Plantes utilisées dans la médecine traditionnelle en Afrique de l'Ouest. Edition Roche, 1991
Bâles, Suisse : pp 151.

41 – ADJANOHOUN E. J., AHYI M. R. A., AKE ASSI L., AKPAGANA K., CHIBON P., EL-HADJI A., GBEASSOR M., GOUDOTE E., GUINKO S., HODOUTO K. ET COLL.

Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. Collection Médecine Traditionnelle et Pharmacopée. A.C.C.T. Paris, 1986 : pp 671.

42 - ADJANOHOUN E. J., AHYI M. R. A., AKE ASSI L., DAN DICKOL L., DAOUDA H. DELMAS M. DE SOUZA S. GARBA M. GUINKO S. KAYONGA A. ET COLL

Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger. Collection Médecine Traditionnelle et Pharmacopée A.C.C.T. Paris, 1985 : pp 250.

43 – BORO K.

Quelques Rubiacées utilisées en médecine traditionnelle. Rapports bibliographiques de 5^{ème} année. Faculté de Pharmacie, Université de Paris V, 1978 : p 30.

44 – HAKIZAMUNGU E., WERI M.

L'usage des plantes médicinales dans le traitement du paludisme en médecine traditionnelle rwandaise. *Bull. Med. Trad. Pharm*, 1988, vol 2, n° 1 : 11-12.

45 – EL- THAHIR A., SATTI G.M., KHALID S.A.

Antiplasmodial activity of selected sudanese medicinal plants with emphasis on *Acacia nilotica*. *Phytother. Res.* 1999 Sept ; 13 (6) : 474-8.

46 – PETERS W.

Drug resistance in Plasmodium berghei Vincke and lips 1948 chloroquine resistance. *Experimental parasitology* 1965. 17 : 80-89.

47 – PETERS W., PARTUS J. H., ROBINSON B. L. (1975)

Ann Trop Med Parasitology 1975. 69 :155-171.

48 – MC LED L. J.

Pharmacological experiments on intact preparation by the staff of the department of Pharmacology University of Edinburgh or Churchill Livingstone Edinburgh. London, and New-York 1970 : p9.

49 – BRUNETON J.

Phytochimie, Plantes médicinales 2^{ème} édition Paris, Technique et Documentation Lavoisier 1993 : pp 915.

50 – CASTRO O., BARRIOS M., CHINCHILLA M., GUERRERO O.

Chemical and biological evaluation of the effect of plant extract against *Plasmodium berghei*, Universidad Nacional Departamento de Química, Heredia, Costa Rica.

**51 – BRANDAO M.C., KRETTLI A. U., SOARES L. S., NERY C.G.,
MARRINUZZI H.C.**

Antimalarial activity of extracts and fractions from *Bidens pilosa* and other *Bidens* species (*Asteraceae*) correlated with the presence of acetylene and flavonoid compound. Laboratorio de Farmacognosia, Faculdade de Farmacia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brasil.

**52 – VALSARAJ R., PUSHANGADAN P., SMITT U. W., ADSERSEN A.,
CHRISTENSEN S.B. SITTIE A., NYMAN U., NIELSEN C., OLSEN C.E.**

New anti HIV-1, antimalarial, and antifungal compounds from *Terminalia Bellerica*. *J. Nat. Prod.* 1997 Jul ; 60 (7) : 739-42.

**53 – CHANPHEN R., THEBTARANONTH Y., WANAUPATHAMKUL S.,
YUTHAVONG Y.**

Antimalarial principles from *Artemisia indica*. National Center for Genetic Engineering and biotechnology (BIOTEC) / National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Rama 6 Road, Bangkok 10400, Thailand.

R E S U M E

R E S U M E

L'activité antiplasmodique de *Gardenia sokotensis* Hutch (*Rubiaceae*) a été démontrée *in vitro* et *in vivo* (extrait hydro- alcoolique) par des études antérieures.

A la suite de ces travaux notre étude s'est effectuée dans le but de poursuivre l'identification du ou des principes antiplasmodiques de *G. sokotensis*.

C'est ainsi que nous avons réalisé une extraction par épuisement successif de la poudre des feuilles avec des solvants de polarité croissante, éther de pétrole, dichlorométhane, dichlorométhane-méthanol (7-3, v/v), dichlorométhane-méthanol (3-7, v/v), méthanol-eau (9-1, v/v), eau.

Les extraits obtenus ont été testés *in vivo* sur la souris NMRI infestée par *P. berghei* par voie intra-péritonéale afin de déterminer le plus actif. Nous avons utilisé pour cela le test de Peters.

L'extrait le plus actif, E₃ (extrait au mélange dichlorométhane-méthanol (7-3, v/v) avec une DE₅₀ de 116 mg/kg a été fractionné sur colonne de gel de silice. Les fractions obtenues ont été également testées pour déterminer la plus active qui fut F₂ (Fraction obtenue avec le mélange dichlorométhane-méthanol (80-20 v/v) et (75-25, v/v).

Le screening phytochimique par CCM a révélé comme constituants essentiels des flavonoïdes et des saponosides triterpéniques.

Au vu des résultats nous avons suspecté comme principes antiplasmodiques les flavonoïdes essentiellement en association probable avec les saponosides triterpéniques.

Mots clés : Activité antiplasmodique *in vivo* ; souris ; *Plasmodium berghei* ; extraits; fractions ; *Gardenia sokotensis*.

Contribution to the characterisation of the antiplasmodic principles of *Gardenia sokotensis* Hutch (*Rubiaceae*) on the NMRI mouse infested by *Plasmodium berghei*

S U M M A R Y

The antiplasmodic activity of *Gardenia sokotensis* Hutch (*Rubiaceae*) was demonstrated *in vitro* and *in vivo* (extract HA) by previous studies.

Following these works our study was done at the aim to continue the identification of the antiplasmodic principles of *G. sokotensis*.

For that we realised an extraction by alternate washing of leaves' powder with solvent of growing polarity [petroleum ether, dichloromethan, dichloromethan-methanol (7-3 v/v;) dichloromethan- methanol (3-7 v/v), ethanol-water (9-1 v/v), water]

These extracts were tested *in vivo* on the NMRI mouse infested by *P. berghei* by I.P (Intraperitoneal) way in order to determine the most active.

We used for that Peters'test.

The most active extract, E₃ (dichloromethan- methanol (7-3 v/v;) extract with DE₅₀ of 116 mg/kg was fractionated by column chromatography.

The fractions obtained were also tested to find the most active which was the fraction F₂ (dichloromethan- methanol 20-25 % fraction).

The phytochemical screening by TLC (Thin Layer Chromatography) revealed as basic elements in E₃ (dichloromethan- methanol (7-3 v/v;) extract) flavonoïds and triterpenics saponosids but also in F₂ (dichloromethan- methanol (80-20 v/v;) and (75-25 v/v) fraction).

In analysing these results we have suspected as antiplasmodic principles the flavonoïds essentially in probable association with the triterpenics saponosids.

Key Words : Antiplasmodic activity *in vivo*, mouse ; *Plasmodium berghei* ; Extracts; fractions, *Gardenia sokotensis*.

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

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

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

Autorisation d'Imprimer

Visa du Directeur de Thèse

Visa du Président du jury

Visa du Directeur de l'UFR/SDS

Année 2000-2001

Contribution à la caractérisation principes antiplasmodique de *Gardenia sokotensis* Hutch (*Rubiaceae*) chez la souris NMRI infectée par *Plasmodium berghei*

R E S U M E

L'activité antiplasmodique de *Gardenia sokotensis* Hutch (*Rubiaceae*) a été démontrée *in vitro* et *in vivo* (extrait Hydro alcoolique) par des études antérieures.

A la suite de ces travaux notre étude s'est effectuée dans le but de poursuivre l'identification du ou des principes antiplasmodiques de *G. sokotensis*.

C'est ainsi que nous avons réalisé une extraction par épuisement successif de la poudre des feuilles avec des solvants de polarité croissante, éther de pétrole dichlorométhane, dichlorométhane-méthanol (7-3 v/v), dichlorométhane-méthanol (3-7 v/v), méthanol- eau (9-1 v/v), eau.

Les extraits obtenus ont été testés *in vivo* sur les souris NMRI infectée par *P. berghei* par voie intra-péritonéale afin de déterminer le plus actif. Nous avons utilisé par cela le test de Peters.

L'extrait le plus actif, E₃ (Extrait au mélange dichlorométhane-méthanol (7-3 v/v)) avec une DE₅₀ de 116 mg/kg a été fractionné sur colonne de gel de silice. Les fractions obtenues ont été également testées pour déterminer la plus active qui fut F₂ (Fraction obtenue avec le mélange dichlorométhane-méthanol (80-20v/v)et (75-25 v/v).

Le screening phytochimique par CCM a révélé comme constituants essentiels des flavonoïdes et des saponosides triterpéniques.

Au vu des résultats nous avons suspecté comme principes antiplasmodiques les flavonoïdes essentiellement en association probable avec les saponosides triterpéniques.

Mots clés : Activité antiplasmodique *in vivo* ; souris : *Plasmodium berghei* ; extraits; fractions : *Gardenia sokotensis*