

BURKINA FASO

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE
EN SCIENCES DE LA SANTE (UFR/SDS)

ANNEE UNIVERSITAIRE 2001-2002

THESE N°013

**CONTRIBUTION A L'ETUDE STRUCTURALE D'UN
PRINCIPE ANTIFONGIQUE ISOLE DES
INFLORESCENCES MALES DE BORASSUS
AETHIOPUM MART.
(Arecaceae)**

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 28 MARS 2002
POUR L'OBTENTION DU GRADE DE

DOCTEUR EN PHARMACIE (Diplôme d'Etat)

PAR

KANKARTI A. CHERIFA

Née le 15 DECEMBRE 1976 à Lomé (Togo)

Direction de la Thèse

Directeur de Thèse : Pr. KOUDOGBO Blaise
Codirecteurs : Pr. SABA Adama
Dr. NIKIEMA Jean Baptiste

Jury

Président : Pr. GUINKO Sita
Membres : Pr. POUSSET Jean-Louis
Pr. KOUDOGBO Blaise
Pr. SABA Adama
Pr. TRAORE Adama
Dr. TRAORE Lady Kadi

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU
Unité de Formation et de la Recherche
en Sciences de la Santé(UFR/SDS)

LISTE DES RESPONSABLES ADMINISTRATIFS

Directeur	Pr Amadou SANOU
Directeur Adjoint	Pr. Ag. Y. Joseph DRABO
Coordonnateur de la Section Pharmacie	Pr. Ag. Mamadou SAWADOGO
Coordonnateur de la Section Techniciens Supérieurs de Santé	Pr. Blaise KOUDOGBO
Coordonnateur des Stages de la Section Médecine	Pr. Ag. Y. Joseph DRABO
Coordonnateur des Stages de la Section Pharmacie	Dr. Jean – Baptiste NIKIEMA
Coordonnateur C.E.S.de Chirurgie	Pr Amadou SANOU
Secrétaire Principal	M. TRAORE Fakouo
Chef de Service Administratif et Financier (CSAF)	Mme Christine NARE
Responsable de la Bibliothèque	M. Salif YADA
Chef de la Scolarité	Mme Kadi ZERBO
Secrétaire du Directeur	Mme Michèle ILBOUDO
Secrétaire du Directeur Adjoint	Mme KABRE Hakiéta

LISTE DES ENSEIGNANTS DE L'UFR/SDS

ENSEIGNANTS PERMANENTS

Professeurs titulaires

Rambré Moumouni OUMINGA	Anatomie organogenèse et chirurgie
Hilaire TIENDREBEOGO(in memoriam)	Sémiologie et Pathologie médicales
Tinga Robert GUIGUEMDE	Parasitologie
Bobilwindé Robert SOUDRE	Anatomie Pathologique
Amadou SANOU	Chirurgie Générale et Digestive
Innocent Pierre GUISSOU	Pharmacologie et 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
Adama LENGANI
Oumar TRAORE n° 1
Kampadilemba OUOBA

Pédiatrie
Néphrologie
Orthopédie - Traumatologie
Oto Rhino Laryngologie

LISTE DES ENSEIGNANTS DE L'UFR/SDS
ENSEIGNANTS PERMANENTS

Professeurs titulaires

Rambré Mourmouni OUMINGA
Hilaire TIENDREBEOGO(in memoriam)
Tinga Robert GUIGUEMDE
Bobilwindé Robert SOUDRE
Amadou SANOU
Innocent Pierre GUISSOU
Bibiane KONE
Alphonse SAWADOGO

Anatomie organogenèse et chirurgie
Sémiologie et Pathologie médicales
Parasitologie
Anatomie Pathologique
Chirurgie Générale et Digestive
Pharmacologie et Toxicologie
Gynécologie -Obstétrique
Pédiatrie

Professeurs associés

Blaise KOUDOGBO

Toxicologie

Maîtres de Conférences

Julien YILBOUDO
Kongoré Raphaël OUEDRAOGO
François René TALL
Jean KABORE
Joseph Y. DRABO
Blaise SONDO
Jean LANKOANDE
Issa SANOU
Ludovic KAM
Adama LENGANI
Oumar TRAORE n° 1
Kampadilemba OUOBA
Piga Daniel ILBOUDO
Albert WANDAOGO
Adama TRAORE
Mamadou SAWADOGO
Arouna OUEDRAOGO
Joachim SANOU
Théophile L. TAPSOBA

Orthopédie - Traumatologie
Chirurgie -Traumatologie
Pédiatrie
Neurologie
Médecine interne/ Endocrinologie
Santé Publique
Gynécologie - Obstétrique
Pédiatrie
Pédiatrie
Néphrologie
Orthopédie - Traumatologie
Oto Rhino Laryngologie
Gastro -entérologie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie Vénérologie
Biochimie
Psychiatrie
Anesthésie - Réanimation
Biophysique - Médecine nucléaire

Maîtres - Assistants

Lady Kadidiatou TRAORE
Si Simon TRAORE
Abdoulaye TRAORE
Dama SANO
Patrice ZABSONRE
Jean Gabriel OUANGO
Georges KI - ZERBO

Parasitologie
Chirurgie
Santé Publique
Chirurgie Générale
Cardiologie
Psychiatrie
Maladies infectieuses

Rabiou CISSE
Blami DAO
Alain BOUGOUMA
Boubakar TOURE
Michel AKOTIONGA
Rasmata OUEDRAOGO/ TRAORE
Alain ZOUBGA
Boubacar NACRO
Abel KABRE
Maïmouna DAO/OUATTARA
Nicole Marie KYELEM / ZABRE
Antoinette TRAORE / BELEM
Kapouné KARFO
Timothée KAMBOU
Jean Baptiste NIKIEMA
Ali NIAKARA
André K. SAMANDOULGOU
Pingwendé BONKOUNGOU
Nonfounikoun Dieudonné MEDA
Athanasé MILLOGO
Nazinigouba OUEDRAOGO
Diarra YE /OUATTARA
Laurent OUEDRAOGO
Lassina SANGARE

Assistants

T. Christian SANOU(in memoriam)
Doro SERME(in memoriam)
Hamadé OUEDRAOGO
Alexis ROUAMBA
M. Théophile COMPAORE
Y. Abel BAMOUNI
Rigobert THIOMBLANO
Raphaël DAKOURE
Robert O. ZOUNGRANA
Bobliwendé SAKANDE
Raphaël SANOU(in memoriam)
Oumar TRAORE n° 2(in memoriam)
Arsène M. D. DABOUE
Vincent OUEDRAOGO
S. Christophe DA
Aurélien Jean SANON
Claudine LOUGUE / SORGHO
Barnabé ZANGO
L. Valérie Adélaïde NEBIE
Blandine THEIBA
Abdel Karim SERME
Moussa BAMBARA
Fatou BARRO
Olga LOMPO

Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Gastro – Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Bactério – Virologie
Pneumologie
Pédiatrie
Neuro – Chirurgie
ORL
Maladies infectieuses
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie
Pharmacognosie
Cardiologie
Cardiologie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Neurologie
Réanimation
Pédiatrie
Santé Publique
Bactério – Virologie

Oto Rhino Laryngologie
Cardiologie
Anesthésie – Réanimation Physiologie
Anesthésie – Réanimation Physiologie
Chirurgie
Radiologie
Maladies infectieuses
Anatomie – Chirurgie
Physiologie
Anatomie – Pathologique
Pneumo- phthisiologie
Radiologie
Ophtalmologie
Médecine du Travail
Chirurgie
Chirurgie
Radiologie
Chirurgie
Cardiologie
Gynécologie – Obstétrique
Gastro – Entérologie
Gynéco – Obstétrique
Dermatologie
Anatomie Pathologique

Appolinaire SAWADOGO
Martial OUEDRAOGO
Moussa KERE
Innocent NACOULMA
P. Antoine NIAMPA
Françoise Danielle MILLOGO / TRAORE
Z. Théodore OUEDRAOGO
P. André KOALAGA
Emile BANDRE
Syranyan SEKOULE
Dieudonne OUEDRAOGO
Moussa OUEDRAOGO

Assistants Biologistes des Hôpitaux

Idrissa SANOU
Harouna SANON
Issa SOME
Rasmané SEMDE
Jean SAKANDE

Gastro – Entérologie
Pneumo – Phtisiologie
Santé Publique
Orthopédie – Traumatologie
Dermatologie
Gynéco – Obstétrique
Santé Publique
Gynécologie – Obstétrique
Chirurgie Générale Digestive
Psychiatrie
Chirurgie Maxilo – Faciale
Pharmacologie

Bactério – Virologie
Hématologie/ Immunologie
Chimie Analytique
Galénique
Biochimie

ENSEIGNANTS NON PERMANENTS

UFR des Sciences de la Vie et de la Terre (UFR/SVT)

et

UFR des Sciences Exactes et Appliquées (UFR/SEA)

Professeurs Titulaires

Akry COULIBALY

Sita GUINKO

Guy V. OUEDRAOGO

Laya SAWADOGO

Laou Bernard KAM (in memoriam)

Patoin Albert OUEDRAOGO

Gustave KABRE

Mathématiques

Botanique - Biologie végétale

Chimie minérale

Physiologie – Biologie Cellulaire

Chimie

Zoologie

Biologie générale

Maîtres de conférences

Boukary LEGMA

François ZOUGMORE

Adama SABA

Philippe SANKARA

Chimie - physique générale

Physique

Chimie organique

Cryptogamie – phytopharmacie

Maîtres – Assistants

Makido B. OUEDRAOGO

Raymond BELEMTOUGOURI

Drissa SANOU

Génétique

T.P. biologie cellulaire

Biologie cellulaire

Assistants

Apolinaire BAYALA (in memoriam)

Physiologie

Institut de Développement Rural (IDR)

Maîtres de conférences

Didier ZONGO

Georges Annicet OUEDRAOGO

Génétique

Biochimie

UFR des Sciences Economiques et de
Gestions(UFR/SEG)

Maitres – Assistants

Tibo Hervé KABORE

Economie – Gestion

UFR des Sciences Juridiques et Politiques
(UFR/SJP)

Assistants

Jean Claude TAITA

Droit

ENSEIGNANTS VACATAIRES

M. DAHOU (in memoriam)
Dr. Annette OUEDRAOGO
Dr Adama THIOMBIANO
Dr Sidiki TRAORE
Mr Mamadou DIALLO
Dr Badiore OUATTARA
Dr Alassane SICKO
Dr Noël ZAGRE
Dr Maminata TRAORE / COULIBALY
Dr Seydou SOURABIE
Dr Félix KINI
Dr Lamine OUEDRAOGO
Dr Marie Françoise OUEDRAOGO
Mme Cécile OUEDRAOGO

Hydrologie
Stomatologie
Législation Pharmaceutique
Chimie Analytique
Anglais
Galénique
Anatomie
Nutrition
Biochimie
Pharmacognosie
Chimie
Biologie Cellulaire
Mathématique
Anglais

ENSEIGNANTS MISSIONNAIRES

A. U. .P. E.L.F

Pr. Lamine DIAKHATE
Pr. Abibou SAMB
Pr Mbayang NDLAYE-NLANG
Pr. Emmanuel BASSENE
Pr Mamadou BADLANE
Pr. Babacar FAYE

Hématologie (DAKAR)
Bactério - Virologie (DAKAR)
Physiologie (DAKAR)
Pharmacognosie (DAKAR)
Chimie Thérapeutique (DAKAR)
Pharmacologie(DAKAR)

Mission de l'Université Libre de Bruxelles (ULB)

Pr. Jean NEVE

Chimie thérapeutique

Mission avec les autres Universités

Pr. André BIGOT (UAC)
Pr. Raphaël DARBOU (UAC)

Immunologie
Anatomie Pathologique
Histologie – Embryologie

DEDICACE

Je dédie ce travail

à

Ma mère

Toi à qui je dois la vie

Toi qui as veillé plusieurs nuits auprès de moi essuyant mes larmes et me consolant.

Toi qui as toujours été attentive à tous mes problèmes

Toi qui t'es privée de tant de choses pour que je ne manque de rien

Toi qui as su m'inculquer la valeur du travail bien fait et de l'indépendance

Toi auprès de qui j'ai appris l'importance de l'humilité

Toi qui as toujours été un exemple pour moi

Toi qui as accepté supporter tant d'humiliations à cause de moi

Toi qui as toujours affronté les problèmes avec courage et dignité

Je te dédie ce travail en espérant qu'il sera pour toi un réconfort, et aussi qu'il me permettra de m'occuper de toi comme il se doit.

Tu es la meilleure.

à

Mon père

Pour m'avoir inspiré le choix de la pharmacie

Pour tous les efforts consentis pour ma réussite

Pour toute ton affection

Pour avoir toujours été attentif à mes problèmes

Pour avoir fait de mes études et de ma santé, une priorité

Ce travail est le résultat de tous tes efforts.

A mes frères et sœurs (Youssef, Fati, Minimon, Badji)

Vous qui vous êtes toujours occupé de moi

Vous qui avez toujours partagé avec moi, mes moments de joie et de tristesse

Vous qui m'avez toujours encouragé à bien travailler

Vous qui avez toujours été de bons exemples pour moi,

Ce travail est le fruit de votre encadrement.

Fasse Dieu que nous restions toujours solidaires.

REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait pas abouti sans la contribution de certaines personnes qui m'ont aidée tant matériellement que moralement

Qu'elles trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je remercie :

ALLAH Qui a bien voulu m'aider à surmonter les difficultés rencontrées durant tout mon cursus et particulièrement lors de la réalisation de ce travail.

Mes parents pour tous les sacrifices consentis pour ma santé, mon éducation

Mes frères et sœurs pour le soutien sans faille

Pr TIDJANI pour son soutien, puisse Dieu le remercier

SANT' ANNA IMRANA pour tout le soutien que tu m'as apporté durant tout le temps que nous avons passé ensemble. Tu as su assuré ton rôle de tuteur fasse Dieu que nous restions unis

Mes oncles, et tantes pour leur soutiens Tant matériel que moral

Mes cousins et cousines particulièrement Naïma

GOA Ogoa pour tout

KPEGLO Bibi pour ton soutien tant moral que logistique

TABO Madou pour avoir bien voulu m'aider au début de ce travail

Monsieur et madame HOUNTONDJI pour m'avoir accueilli mes premiers jours et pour m'avoir appris à voler de mes propres ailes. Je vous suis reconnaissante pour tout le soutien dont vous m'avez entouré

Mr DEPREZ pour avoir su remplacer toute ma famille. Des que je vous ai revu, vous n'avez ménagé aucun effort pour rendre mon séjour agréable

SAIZONOU SIDIKATH plus qu'une amie tu es une sœur pour moi

Mr et Mme SANOU

CORINE LAWSON qui m'a toujours prodigué de sages conseils

Mme DIAWARA pour l'affection maternelle que vous nous avez apportée

Mme OUEDRAOGO Hélène qui m'a encadré pendant mon stage de 5^e année

*Tous les professeurs de l'UFR SDS en général et ceux de la Pharmacie en particulier
Le personnel de laboratoire de biologie et de la banque de sang du CHNYO*

TAMBOURA pour son assistance

Le personnel de l'IRSS particulièrement Yaro

*Pr KAM, Pr NAKPANE, Pr ASSIMADI, Pr SANOU et Pr SEGBENA qui ont toujours
été attentifs à mes problèmes de santé*

Pr AKPAGANA Koffi pour ses conseils et son aide

Pr SANKARA pour le soutien matériel

Pr Saba pour le soutien tant matériel que moral

Dr SOURABJE pour vos conseils et votre aide

*Mes Compatriotes pour leur soutien (Robert, Victoire, Didier, Saga, Amma,
simpliste.....)*

TIENDREBEOGO Martin

Toute la communauté Islamique pour l'encadrement spirituel

Mes promotionnaires pour votre collaboration

Mes amis (Kadi, aida, Raïssa, Pablo et club, Abou, Ballah, Adama et club.....)

Tout ceux que je n'ai pas cité soit par oubli soit exprès.

Tout le personnel de Datakunskap en particulier Fabrice pour le soutien logistique

Mr SANOU Fatogoma

A
NOS MAITRES ET JUGES

A notre Président de jury, Monsieur GUINKO Sita, Vice Président chargé des enseignements et des innovations pédagogiques de l'université de Ouagadougou, Professeur en botanique-biologie végétale à l'UFR/SEA de Ouagadougou .

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Nous avons eu l'occasion de bénéficier de vos enseignements de qualité qui nous ont permis d'apprendre l'importance de la concision et de la précision.

Nous sommes certaines que vos critiques ne feront qu'améliorer la qualité de ce travail.

A notre Maître Monsieur POUSSET Jean-Louis, Professeur de pharmacognosie au Muséum national d'histoire naturelle de Paris,

Vous n'avez été informé qu' a la dernière minute et malgré cela, vous avez accepté juger ce travail .Nous vous sommes reconnaissantes et vous remercions pour l'honneur que vous nous faites

A notre Directeur de thèse, Monsieur KOUDOGBO Blaise, Professeur associé de toxicologie à l'UFR/SDS de Ouagadougou.

C'est un grand honneur que vous nous avez fait en acceptant de diriger ce travail. Nous louons votre simplicité, votre sociabilité et votre disponibilité permanente à transmettre des connaissances.

Votre rigueur scientifique fait de vous un de nos maîtres les plus respectés

Puisse ce travail être le témoignage de notre profonde reconnaissance et de notre profond respect.

Plus qu'un directeur, vous avez été un père pour nous.

A notre Codirecteur, Monsieur SABA Adama, Professeur de chimie organique à l'UFR/SEA de l'université de Ouagadougou.

Nous avons eu l'occasion d'apprécier votre enseignement très remarquable par sa précision et sa clarté.

Votre calme permanent, votre disponibilité, vos conseils constructifs, votre simplicité et votre application au service de l'étudiant font votre admiration.

Auprès de vous nous avons été à l'école de l'humilité, de la rigueur et de l'amour du travail bien fait.

Recevez nos vifs remerciements.

A notre Maître, Monsieur TRAORE Adama, professeur de dermatologie vénéréologie à l'UFR/SDS de l'université de Ouagadougou.

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Vous nous avez toujours encouragé lors de la réalisation de ce travail sans même savoir que vous allez le juger, nous vous sommes reconnaissantes.

La qualité de vos enseignements votre simplicité et votre sociabilité font votre admiration.

A notre Maître, Madame TRAORE Lady Kalidiatou, Maître assistant en parasitologie à l'UFR/SDS de l'université de Ouagadougou.

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Vous nous avez donné des éclaircissements sur ce travail toutes les fois que nous avons sollicité votre aide.

Nous vous sommes reconnaissantes.

L'unité de formation 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'attend leur donner aucune approbation ni improbation.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS	4
LISTE DES TABLEAUX	5
LISTE DES FIGURES	5
INTRODUCTION	8
CHAPITRE I : OBJECTIFS	10
1.1. OBJECTIF GENERAL	11
1.2. OBJECTIFS SPECIFIQUES	11
CHAPITRE II : GENERALITES	12
2.1. GENERALITES SUR LA FAMILLE DES (Arecaceae).....	13
2.1.1. SYSTEMATIQUE	13
2.1.2. DESCRIPTION DE LA FAMILLE DES ARECACEAE	14
2.1.3. REPARTITION DES ARECACEAE DANS LE MONDE.....	15
2.1.4. ETHNOBOTANIQUE DES ARECACEAE	15
2.2. GENERALITES SUR <i>BORASSUS AETHIOPUM</i> MART.....	16
2.2.1. APPELLATIONS.....	16
2.2.2. SYSTEMATIQUE	16
2.2.3. DESCRIPTION BOTANIQUE.....	17
2.2.4. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET UTILISATIONS	19
2.2.4.1. Distribution géographique.....	19
2.2.4.2. Utilisations.....	19
2.2.5. LES TRAVAUX ANTERIEURS SUR LES INFLORESCENCES	
MALES <i>DE Borassus aethiopum</i>	21
2.3. GENERALITE SUR LES DERMATOPHYTES	22
2.3.1. DEFINITION	22
2.3.2. CLASSIFICATION DES DERMATOPHYTES	22
2.3.3. EPIDEMIOLOGIE	23
2.3.3.1 Mode de contamination	23
2.3.3.2 Répartition géographique	23
2.3.4. DIAGNOSTIC.....	24
2.3.5. TRAITEMENT DES DERMATOPHYTIES.....	26
2.3.5.1. Traitement local.....	26
2.3.5.2. Traitement systémique	27
2.3.5.3. Quelques plantes utilisées pour soigner les mycoses	27
2.4. GENERALITES SUR LES METHODES SPECTRALES	29
2.4.1. LA SPECTROMETRIE D'ABSORPTION.....	29
2.4.1.1. Spectrométrie UV et visible	30
2.4.1.2. Spectrométrie infra rouge	31
2.4.2. SPECTROMETRIE DE MASSE.....	31
2.4.3. SPECTROMETRIE DE RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE.....	32
CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES.....	33
3.1 CADRE D'ETUDE	34
3.2. MATERIEL D'ETUDE.....	34
3.2.1 MATERIEL VEGETAL	34
3.2.2. MATERIEL POUR L'EXTRACTION.....	34

3.2.3 ELUANTS UTILISES POUR LA CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE.....	34
3.2.4 MATERIEL DE FRACTIONNEMENT ET DE REPURIFICATION.....	35
3.2.5. MATERIEL POUR LA DETERMINATION DU POINT DE FUSION..	35
3.2.6. MATERIEL POUR L'ETUDE SPECTRALE.....	35
3.2.7. MATERIEL POUR LES TESTS PHARMACOLOGIQUES	35
3.3. METHODES	36
3.3.1. EXTRACTIONS.....	36
3.3.1.1. Extraction par le dichlorométhane	36
3.3.1.2 Extraction par le dichlorométhane-méthanol (1/1 v/v).....	36
3.3.2 FRACTIONNEMENT DE L'EXTRAIT AU DICHLOROMETHANE-METHANOL (E2).....	37
3.3.3. PURIFICATION DE F3	37
3.3.4.METHODES UTILISEES POUR LES ESSAIS ANTIFONGIQUES	39
3.3.4.1. Préparation du milieu de culture.....	39
3.3.4.2. Préparation des cupules.....	39
3.3.4.3. Préparation de l'inoculum.....	39
3.3.4.4. Ensemencement	40
3.3.4.5. Incubation et lecture.....	40
3.3.5. ETUDE SPECTRALE	40
CHAPITRE IV : RESULTATS	42
4.1. RENDEMENT D'EXTRACTION (E2).....	43
4.2 FRACTIONNEMENT DE E2	43
4.3 PURIFICATION DE F3	43
4.4. TESTS ANTIFONGIQUES	46
4.5. CARACTERISTIQUES PHYSICO CHIMIQUES DES SUBSTANCES X1 et X2	50
4.6 SPECTROMETRIE.....	50
4.6.1. SPECTROMETRIE UV	50
4.6.2. SPECTROMETRIE RMN	51
CHAPITRE V : INTERPRETATIONS ET DISCUSSIONS.....	64
5.1. INTERPRETATIONS DES SPECTRES	65
5.1.1. SPECTRES UV ET VISIBLE DE X1 ET DE X2	65
5.1.2. SPECTRE RMN DU PROTON DE X1	65
5.1.3. SPECTRE RMN DU CARBONE 13 DE X1	65
5.1.4. SPECTRE RMN DU PROTON DE X2	65
5.1.5. SPECTRE RMN DU CARBONE 13 DE X2	67
5.2. DISCUSSIONS	68
CONCLUSION ET SUGGESTIONS	71
BIBLIOGRAPHIE	73
RESUME	81

LISTE DES ABREVIATIONS

B	:	Borassus,
CCM	:	Chromatographie sur Couche Mince,
CHNYO	:	Centre Hospitalier National Yalgado Ouedraogo,
Coll.	:	collaborateurs,
D.I.	:	diamètre d'inhibition,
E1	:	Extrait au dichlorométhane,
E2	:	Extrait au dichlorométhane-méthanol (1/1 : v/v),
IR	:	Infrarouge,
IRSS	:	Institut de Recherche en Sciences de la Santé,
j _i	:	j ^{ème} jour,
L.	:	langeroni,
M.	:	Microsporium,
R.	:	rubrum,
Rf	:	référence frontale,
RMN	:	Résonance Magnétique Nucléaire.
S.	:	soudanense,
S.M	:	Spectrométrie de masse,
SEA	:	Sciences exactes et appliquées,
T	:	Trichophyton,
UFR	:	Unité de formation et de recherche,
UV	:	Ultraviolet,

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Tableau montrant les résultats du fractionnement de E2.....	43
Tableau 2 : Caractéristiques chimiques de F3, X1 et X2	45
Tableau 3: Diamètres d'inhibition en millimètres (mm) obtenus avec X1, X2 et F3 testés à 12,5 mg/ml	46
Tableau 4: Résultats de l'étude dose/effet de la substance X2 sur <i>Trichophyton rubrum</i>	47
Tableau 5: Résultats de l'étude dose/ effet de la substance X2 sur <i>Trichophyton interdigitale</i>	48
Tableau 6: Résultats de l'étude dose effet de la substance X2 sur <i>Microsporium langeronii</i>	49

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Situation des Arecaceae au sein des Spermaphytes.....	13
Figure 2: Position systématique de <i>B. aethiopum</i> Mart.....	16
Figure 3: Plant mâle de <i>Borassus aethiopum</i>	18
Figure 4 : Inflorescences mâle de <i>Borassus aethiopum</i>	18
Figure 5 : Inflorescences mâles de <i>Borassus aethiopum</i> (drogue végétale).....	19
Figure 6: schéma d'extraction de fractionnement et de purification des substances à étudier	38
Figure 7: Plaque (support en verre) éluée avec S1	44
Figure 8: Plaque (support en verre) éluée avec S2	44
Figure 9: Plaque (support en aluminium) éluée avec S2	44
Figure 10: Courbe dose effet de la substance X2 isolée des fleurs mâles de <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Trichophyton rubrum</i> D.I en fonction de C.....	47
Figure 11: Courbe dose effet de la substance X2 isolée des fleurs mâles de <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Trichophyton rubrum</i> D.I en fonction de log(C)	47
Figure 12 : Courbe dose effet de la substance X2 isolée des fleurs mâles de <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Trichophyton interdigitale</i> D.I en fonction de C	48
Figure 13 : Courbe dose effet de la substance X2 isolée des fleurs mâles de <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Trichophyton interdigitale</i> D.I en fonction de log(C)	48
Figure 14 : Courbe dose effet de la substance X2 isolée des fleurs mâles de <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Microsporium langeronii</i> D.I en fonction de C.....	49
Figure 15 : Courbe dose effet de la substance X2 isolée des fleurs mâles de <i>Borassus aethiopum</i> sur <i>Microsporium langeronii</i> D.I en fonction de log(C)	49
Figure 16 : Spectre UV de X1	52
Figure 17 : Spectre dans le visible de X1	53
Figure 18 : Spectre UV de X1 après action de l' H ₂ SO ₄ et chauffage	54
Figure 19: spectre dans le visible de X1 et de X2 après action de l' H ₂ SO ₄ et chauffage	55
Figure 20) : Spectre RMN du proton de X1	56

Figure 21: Spectre RMN du carbone 13 de X1	57
Figure 22 : Spectre UV de X2 après action de l' H_2SO_4 et chauffage.....	58
Figure 23: Spectre UV de X2.....	59
Figure 24: Spectre dans le visible de X2.....	60
Figure 25: Spectre RMN du proton de X2	61
Figure 26 : Spectre RMN du proton de X2 (extension de la zone entre 0,8 et 1,5 ppm)	62
Figure 27: Spectre RMN de carbone de X2.	63

***CONTRIBUTION A L'ETUDE
STRUCTURALE D'UN PRINCIPE
ANTIFONGIQUE ISOLE DES
INFLORESCENCES MALES DE
BORASSUS AETHIOPUM MART.
(Arecaceae)***

INTRODUCTION

Les mycoses sont des infections superficielles ou profondes provoquées par les champignons microscopiques [13]. Dans la nature, environ 100 des 100000 champignons existants sont pathogènes et responsables de lésions plus ou moins graves évoluant souvent vers la chronicité. De ces cent champignons pathogènes, une cinquantaine environ est responsable de mycoses superficielles, vingt-cinq (25) de mycoses viscérales et vingt-cinq (25) autres de mycoses sous cutanées [13]. Ces chiffres montrent la prédominance de champignons responsables de mycoses superficielles dont les dermatophyties.

Dans les pays pauvres très endettés, les mycoses sont des affections très fréquentes du fait des conditions sociales très précaires et constituent un problème de santé public. De toutes les affections microbiennes, elles restent celles dont l'évolution chronique et parfois mortelle est la plus difficile à modifier [24].

Leur traitement est très long et l'arsenal thérapeutique utilisé est constitué de médicaments antifongiques onéreux. Le nombre relativement restreint d'antifongiques, le développement considérable des souches résistantes aux antifongiques sont des problèmes auxquels il faudra trouver une solution. A ceux ci, s'ajoutent l'apparition de plus en plus fréquente chez les sujets atteints du SIDA, de certaines affections mycologiques et l'importance du développement d'alternatives thérapeutiques du fait de la fréquence des réactions d'intolérance lors du traitement des mycoses chez ces malades [51]. Tous ces problèmes soulignent la nécessité de rechercher d'autres antifongiques. D'après l'étude réalisée en 1987 par Badillet et coll. [6] sur dermatophytes et sérologie V.I H. positive, 61% des patients malades du V. I. H. étaient porteurs de divers champignons pathogènes. Plus de 17% des 61% étaient porteurs de dermatophytes, avec *Trichophyton rubrum* en tête suivi de *Trichophyton interdigitale*.

Le monde végétal a été et continue d'être mis à contribution dans la lutte contre les maladies et particulièrement les mycoses. En effet, beaucoup de travaux ont permis de mettre en évidence, l'activité antifongique des constituants de plusieurs plantes :

- Une étude menée en 1999 par Kambou [38] a montré une activité antifongique de *Mitracarpus scaber* Zucc sur des dermatophytes.

- Une étude menée par Baba Moussa F. et coll. [4] en 1992 a également permis de mettre en évidence une activité antifongique de 5 combretaceae sur *Candida albicans* et sur certains dermatophytes.

- En outre, il ressort de l'étude menée en 2001 par Gnanou [25] qu'une fraction F3 de l'extrait E2 au dichlorométhane méthanol (1/1 : v/v) des inflorescences mâles de *Borassus aethiopum* Mart., (Arecaceae) a une activité antifongique sur *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Epidermophyton floccosum* et *Microsporium langeronii*. D'après cette même étude, cette fraction contiendrait une substance cristalline qui se comporte comme un flavonoïde. De plus, *Borassus aethiopum* est utilisé au Burkina Faso par certains tradipraticiens, dans le traitement des mycoses rebelles du SIDA.

Toutes ces données montrent clairement la possibilité de trouver de nouveaux antifongiques à partir des plantes.

Notons que, si l'activité antifongique de plusieurs plantes a été mise en évidence, beaucoup d'éléments manquent pour la mise au point de nouveaux médicaments. De ce fait, des recherches devront être faites dans ce sens. Nous nous proposons donc de contribuer à l'identification de la molécule antifongique contenue dans la fraction F3 identifiée par Gnanou [25] comme étant la fraction antifongique la plus active. Pour ce faire, nous allons isoler la substance active contenu dans cette fraction F3, la tester sur des dermatophytes tels que : *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton soudanense*, *microsporium langeronii* et l'analyser à l'aide de méthodes spectrales (UV, R.M.N).

CHAPITRE 1 : OBJECTIFS

1.1. OBJECTIF GENERAL

Notre objectif général est de contribuer à l'isolement et à l'identification d'une substance antifongique à partir des inflorescences mâles de *Borassus aethiopum* Mart. (Arecaceae).

1.2. OBJECTIFS SPECIFIQUES

Nos objectifs spécifiques pour arriver à notre objectif général sont les suivants:

- isoler la fraction active par fractionnement de l'extrait actif
- purifier cette fraction active
- tester la substance isolée après la purification de la fraction active sur des dermatophytes (*T. rubrum*, *T. soudanense*, *T. interdigitale*, *M. langeronii*)
- analyser cette substance par des relevés spectroscopiques notamment : la spectrométrie U.V., et la spectrométrie R.M.N.
- proposer une structure à cette substance.

CHAPITRE II : GENERALITES

2.1. GENERALITES SUR LA FAMILLE DES (Arecaceae) [15], [29], [35], [44], [55], [57]

2.1.1. SYSTEMATIQUE

Les Arecaceae représentent une grande famille des Angiospermes Monocotylédones. Ils appartiennent à l'ordre des Arécales et à la sous-classe des Arécidées (figure 1).

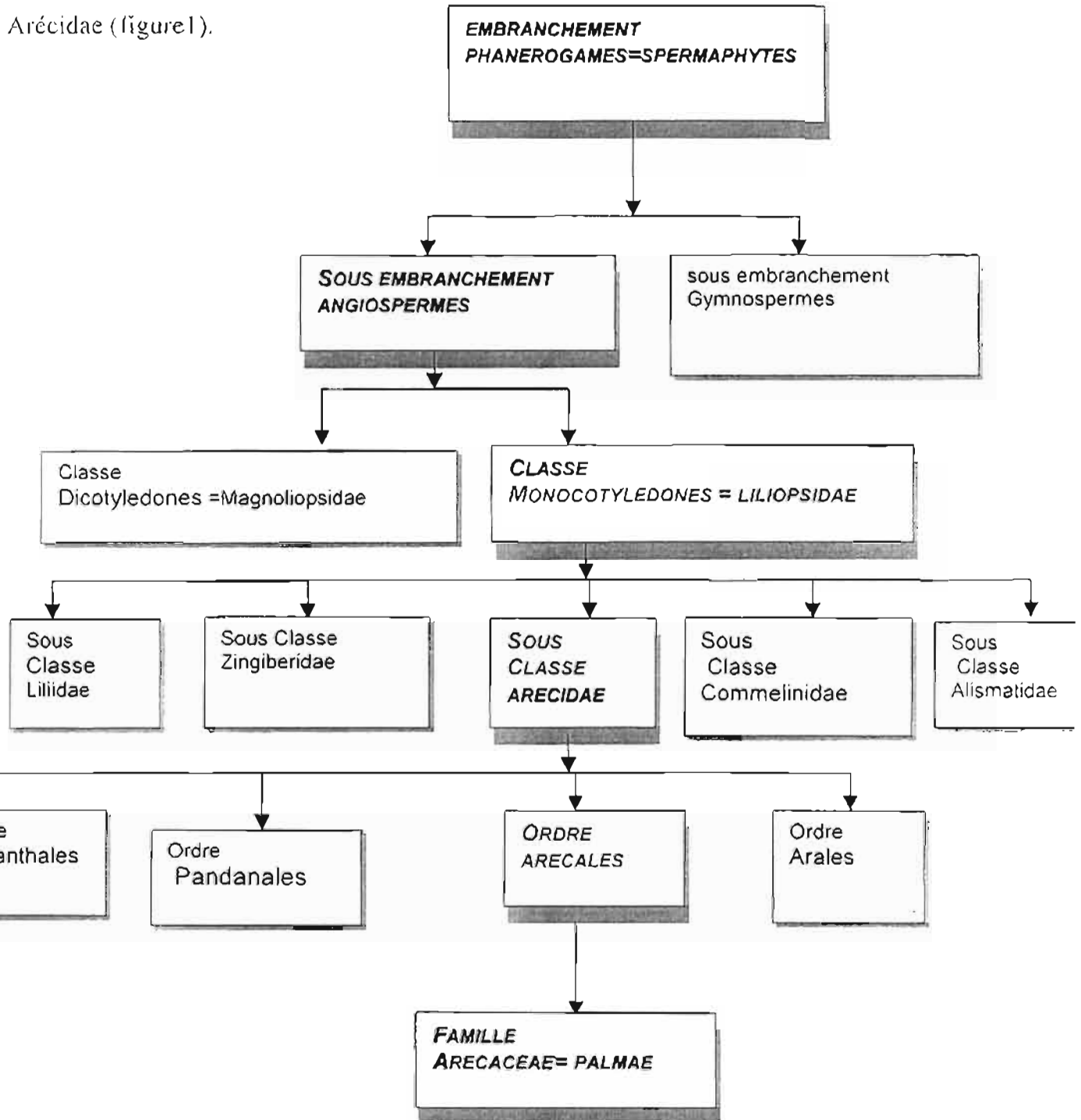


Figure1: Situation des Arecaceae au sein des Spermaphytes

2.1.2. DESCRIPTION DE LA FAMILLE DES ARECACEAE

Les Arecaceae ou Palmiers sont des arbustes trapus ou des arbres élancés avec une couronne de feuilles terminales. Certaines espèces ont cependant, un tronc rampant ou souterrain ou encore grimpant (plus de 150 mètres de long notamment chez les genres *Calamus* et *Ancistrophyllum*).

Le tronc n'est jamais ramifié sauf pour *Hyphaene thebaica*. Il peut être entièrement lisse ou muni d'épines. Il porte souvent les cicatrices des feuilles tombées ; il peut être aussi enveloppé de façon plus ou moins compact par les restes des gaines foliaires.

Les gaines foliaires, les pétioles et les folioles de certaines espèces sont épineuses. Les feuilles des espèces lianescentes sont munies de crochets leur permettant de grimper.

Les feuilles sont parfois de très grande taille allant jusqu'à 20 mètres et plus pour certains raphias. Elles sont en général composées pennées avec des folioles étroites et allongées et possèdent une gaine basale. Cependant, elles sont assez larges pour certains genres (*Podococcus*, *Sclerosperma*, etc.) et composées digitées pour d'autres (*Borassus* et *Hyphaene*).

Les inflorescences sont soit axillaires soit terminales et ramifiées présentant six tépales disposés en deux cycles.

Les panicules des fleurs, parfois de très grande taille, sont toujours entourées de grandes bractées ou spathe. Les fleurs sont soit dioïques, soit monoïques. Les fleurs mâles, petites et en grand nombre, ont souvent six étamines (parfois deux ou trois fois plus) disposées en verticilles de trois, avec des anthères biloculaires. Le pollen est binucléé et la pollinisation anémophile ou entomophile. Les fleurs femelles, plus grandes et en plus petit nombre, ont un ovaire supérieur. Les carpelles sont libres ou soudées en ovaires pluriloculaires à une loge fertile et deux loges stériles avortées. Les styles sont libres ou soudés.

Les fruits des palmiers sont des baies ou des drupes aux formes et dimensions extrêmement variables. La partie extérieure du fruit est souvent fibreuse et charnue est entourée chez le raphia et les roïns d'écailles losangiques. Les graines renferment un

petit embryon et un albumen abondant fournissant le coprah chez le cocotier (*Cocos nucifera*).

2.1.3. RÉPARTITION DES ARECACEAE DANS LE MONDE

La famille des Arecaceae comporte un peu plus de 200 genres et environ 3000 espèces.

Les Arecaceae se rencontrent dans toutes les régions chaudes, tropicales ou tempérées, en Amérique du sud particulièrement. Au Togo et au Burkina Faso, les Arecaceae se rencontrent dans les plaines et les montagnes depuis le sud jusqu'au nord.

2.1.4. ETHNOBOTANIQUE DES ARECACEAE

Les utilisations des Arecaceae sont multiples et il serait fastidieux de les énumérer toutes.

Elles fournissent entre autres des matériaux de construction (les troncs ou les stipes pour les charpentes et les feuilles et folioles pour les toitures et clôtures, les pétioles et les rachis pour les cloisons, les clôtures). Les feuilles de certaines espèces fournissent le raphia très apprécié dans la fabrication des objets d'art. Les feuilles, les inflorescences et les coques séchées de divers palmiers possèdent un fort pouvoir calorifique et sont utilisées comme combustibles domestiques. Les troncs des palmiers-lianes donnent le rotin utilisé pour les liens, les vanneries et l'ameublement. Des sèves, on tire le vin de palme. Les bourgeons terminaux sont utilisées comme légumes (chou palmiste). Les fruits de la plupart des Arecaceae sont comestibles (rônier et dattier) ou fournissent des matières grasses par leur pulpe ou par leur graine (noix de coco et de palme).

Beaucoup d'espèces de palmiers introduites ou non sont également des plantes horticoles et peuvent générer d'importants revenus.

En médecine traditionnelle, la sève d'*Ancistrophyllum secundiflorum* est utilisée comme vermifuge, tonifiant, contre la dysenterie et la fièvre. Le fruit et les feuilles d'*Areca catechu* sont utilisés comme laxatif et comme tonifiant. Les fruits et les racines de *Cocos nucifera* servent comme antidotes de poisons, cardiotoniques,

rafraîchissants, antifongiques et contre le paludisme et l'ictère. Les feuilles, les racines et les fruits d'*Elaeis guineensis* analgésiques, anti-bactériens et antidotes de poisons. Les écorces de tige et les feuilles de *Pandanus veitchi* soignent les dysenteries, les gastro-entérites. La sève et le fruit de *Phoenix dactylifera* sont des lubrifiants et rafraîchissants alors que les jeunes bourgeons possèdent des propriétés laxatives. La sève et le jus du fruit de *Phoenix reclinata* sont des tonifiants et entrent dans des remèdes contre la pleurésie. La sève de *R. hookeri* est utilisée contre la syphilis et est galactogène.

2.2. GENERALITES SUR *BORASSUS AETHIOPUM* MART..

2.2.1. APPELLATIONS [9], [29], [47], [62]

Borassus aethiopum Mart. est appelé le rônier, la mère des arbres et sentinelle de la savane en français; et run palm, tall palm, great fan, african fan palm en anglais [9], [29], [62].

Citons quelques noms de cette plantes dans différentes langues: Koan-hédéré (Moré) [47], agon (Mina) ; sébé, sibi (Malinké) [9] ; sèbè (Bambara) [9]; dul ou dulay (Dioula) [9], dubbi (Peuhl) [9]; akof (Maure) [9]; rôn, sibo, sibi (Wolof) [9]

2.2.2. SYSTEMATIQUE [28]

B. aethiopum appartient à la famille des Arecaceae et au genre *Borassus* :

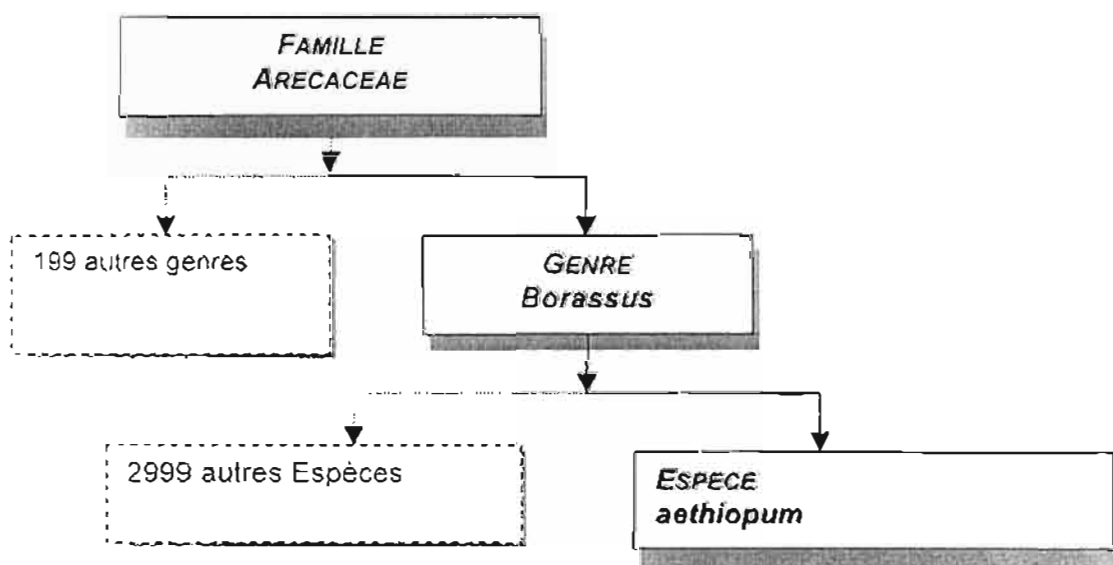


Figure 2: Position systématique de *B. aethiopum* Mart.

2.2.3. DESCRIPTION BOTANIQUE [8], [9], [28], [29], [31], [43], [47], [48], [56], [61]

B. aethiopicum est un palmier dioïque de grande taille, 20 à 25 m de haut et 30 à 90 cm de diamètre. Il se reproduit par semis et la germination dure un mois. Le tronc est droit et souvent légèrement enflé à mi-hauteur donnant l'aspect d'un fuseau. Il porte des cicatrices foliaires et est couvert, à son sommet, de bases foliaires. Les feuilles, en bouquet terminal, ont 1,5 à 4 m de long incluant le pétiole et la gaine basale. Le pétiole a une face supérieure concave et une face inférieure convexe et ses bords amincis sont durs et coupants. Le limbe, large de trois mètres, est arrondi, plissé en divers nombres et découpé au maximum à la mi longueur en lanières aiguës. Il a des nervations digitées.

L'inflorescence mâle est axillaire à axe principal atteignant 1,8 m de longueur. Elle est ramifiée dès la base et des rameaux courts apparaissent à l'aisselle de grandes bractées vertes lâchement imbriquées portant deux à trois spathes cylindriques. Les fleurs mâles petites et nombreuses, sont serrées les unes contre les autres et insérées à l'aisselle de bractéoles scarieuses imbriquées. La fleur mâle est composée de trois tépales externes libres entre eux, trois tépales internes soudés entre eux à la base et de six étamines à filet très court. L'inflorescence femelle est simple à fleurs peu nombreuses relativement grandes. Les fleurs femelles sont à tépales externes charnus et en forme de rein (reniformes). Les tépales internes sont semblables aux tépales externes mais plus petits. La fleur a six à neuf staminodes insérés à la base des tépales internes et des ovaires à trois loges. Ses stigmates sont sessiles.

L'infrutescence a une longueur de 1,8 m et se présente sous forme de grappes pendantes (25 à 50 kg) avec des régimes de fruits sphériques de couleur variant de l'orange au brun. La pulpe des fruits est blanchâtre, huileuse, juteuse, fibreuse contenant plusieurs nucules blanches riches en albumen qui donnent à maturité des graines. Elle a un parfum rappelant le melon et l'ananas. Le fruit est haut de 8 à 15 cm et épais de 6 à 12 cm. Sa base est entourée de tépales externes persistants et accrescents formant une espèce de cupule.

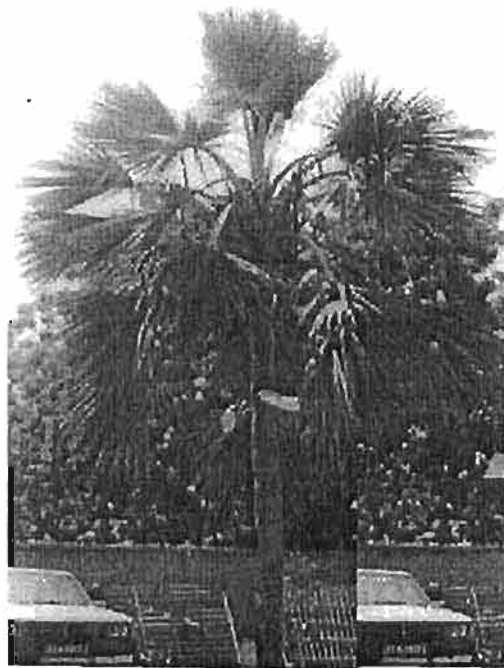


Figure 3: Plant mâle de *Borassus aethiopicum*



Figure 4 : Inflorescences mâle de *Borassus aethiopicum*

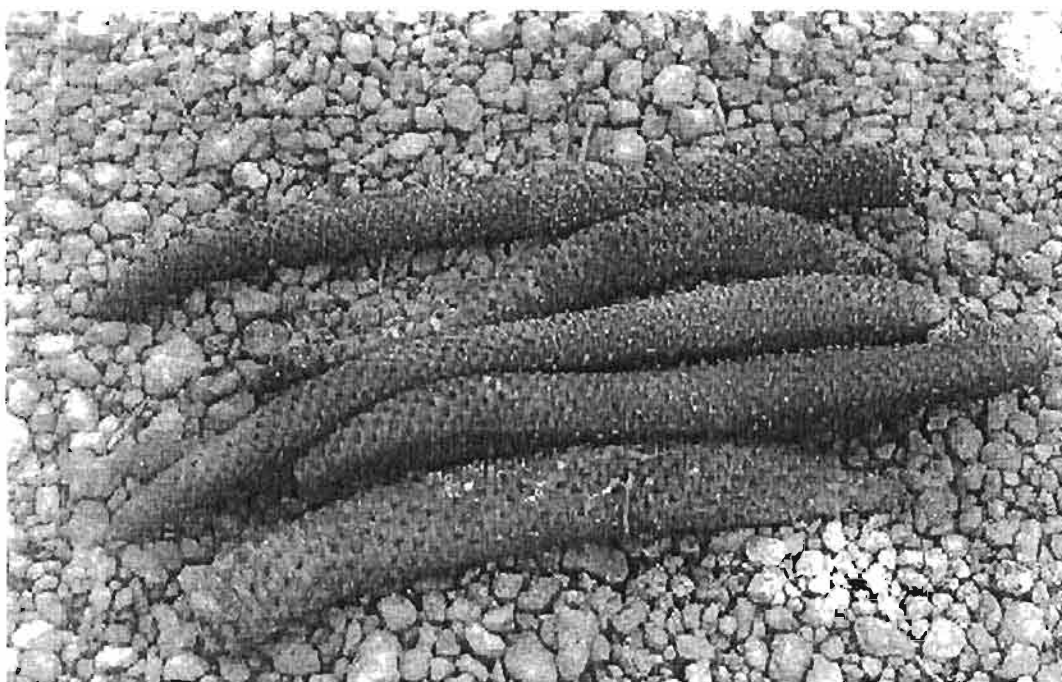


Figure 5 : Inflorescences mâles de *Brassia aethiopium* (drogue végétale)

2.2.4. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET UTILISATIONS [9], [15] [34],[47],[61],[62]

2.2.4.1. Distribution géographique

.Le rônier se rencontre depuis le Sénégal jusqu'en Éthiopie où il forme parfois d'importants peuplements notamment au Togo, au centre de la Côte d'Ivoire et au sud du Burkina Faso.

2.2.4.2. Utilisations

Toutes les parties de la plante sont diversement utilisées.

- *En médecine traditionnelle*

La poudre des fleurs mâles mélangée au beurre de karité guérit les escarres. Le carbonisât de cette poudre mélangé au beurre de karité est utilisé pour soigner les mycoses [47]. [61]. Le vin est utilisé comme rafraîchissant et stimulant et entre dans la composition de remèdes aphrodisiaques [9]. Le décocté des racines récoltées sur les jeunes pousses est donné en boisson pour soigner les affections des voies respiratoires (maux de gorge, bronchites, toux). Les chanteurs *Wolofs* au Sénégal en

consomment beaucoup pour soigner l'extinction de voix. La racine des jeunes plants serait également utilisée contre les laryngites, les pharyngites, les angines et comme anti-inflammatoire et antiseptique [9], [47]. Le fruit et la sève sont utilisés contre les affections bronchiques, la toux et l'asthme [34]. Le duvet qui entoure les jeunes feuilles arrête les hémorragies [9]. La décoction de l'écorce du tronc est donnée aux accouchées et serait galactogène [9]. Le pétiole de l'inflorescence aurait des propriétés diurétiques [9]. L'écorce, le pédoncule, la tige et les feuilles fraîches sont utilisés contre les troubles du sang et les ulcérations buccales .

▪ *Autres utilisations*

La partie périphérique du stipe donne du bois à fibre noire, très dur pratiquement imputrescible et non attaqué par les termites. Le stipe du palmier mâle est particulièrement apprécié comme bois d'œuvre car l'anneau dur est plus épais. Sectionné longitudinalement, il peut servir de gouttière. Evidé, il peut servir de tuyau. *B. aethiopicum* est héliophile et indique la présence d'eau souterraine. Le limbe sert à couvrir les maisons. Il est également utilisé comme parapluie. L'hypocotyle des jeunes plants bouillis sont très consommés. Le bourgeon terminal appelé chou palmiste est tendre et peut être mangé cru ou cuit. Dans certains pays comme la Côte d'Ivoire et le Burkina Faso (sud du pays), on exploite le rônier pour son vin. Les inflorescences mâles servent de nourriture aux vaches (région des savanes du Togo). Les jeunes noix sont très appréciés pour leur jus et leur amande. La pulpe du fruit bouillie est mangée au Togo. La pulpe du fruit est utilisée pour repousser les moustiques au sud du Togo. La graine évidée munie d'un bâton est utilisée comme sonnaille. Des parties du rônier sont également utilisées pour fabriquer des paniers, des sacs, des éventails et des gaines de couteaux.

2.2.5. LES TRAVAUX ANTERIEURS SUR LES INFLORESCENCES MALES DE *Borassus aethiopum* [25]

- *Activité antifongique des inflorescences mâles de Borassus aethiopum*

Le but de l'étude de Gnanou est d'évaluer les propriétés antifongiques de cette plante sur les agents étiologiques les plus fréquents.

Pour cela, des extractions ont été faites avec la poudre des inflorescences mâles. Ces extractions ont été successivement faites avec des solvants de polarité croissante : le dichlorométhane, le mélange dichlorométhane-méthanol (1/1 : v/v), l'éthanol et l'eau (macéré et décocté).

L'étude de l'activité antifongique des extraits obtenus a été réalisée sur cinq (5) dermatophytes sur milieu de SABOURAUD avec chloramphénicol et actidione. Elle a montré que les extraits éthanoliques et aux dichlorométhane-méthanol sont très actifs sur *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langéronii* et *Epidermiophyton floccosum*. *Trichophyton soudanense* semble résister à ces extraits. Ces deux extraits à la différence des autres renfermaient des cristaux jaunâtres. Les autres extraits semblent être inactifs sur les dermatophytes testés. L'extrait le plus actif E2 (dichlorométhane-méthanol (1/1 : v/v)) a été fractionné afin d'isoler la fraction la plus active F3. Les fractions se comportant comme contenant des flavonoïdes se sont montrées toutes actives sur les quatre dermatophytes sensibles.

- *Chimie des inflorescences mâles de Borassus aethiopum*

Le screening phytochimique réalisé par chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits actifs a permis de soupçonner les flavonoïdes comme étant responsables de cette activité antifongique. La fraction la plus active a été la fraction F3 constituée essentiellement de cristaux et ne présentant qu'un spot à un $R_f = 0,62$.

Dans l'extrait E2, Gnanou [25] a noté la présence de triterpènes et de flavonoïdes.

Cette étude a prouvé les propriétés antimycosiques des inflorescences mâles de cette plante. Elle a en outre permis de penser que cette propriété serait liée aux flavonoïdes.

2.3. GENERALITE SUR LES DERMATOPHYTES

2.3.1. DÉFINITION

Les dermatophytes sont des champignons filamenteux qui ont une affinité pour la kératine: épiderme, poils, cheveux, et ongle. Chez l'homme, ils sont responsables de diverses mycoses superficielles ou dermatophytoses [11], [19].

2.3.2. CLASSIFICATION DES DERMATOPHYTES [30], [50]

SABOURAUD propose en 1910 une classification des dermatophytes en 4 genres: l'Achorion agent du favus, Microsporum, Trichophyton, Epidermophyton qui parasite la peau glabre. En 1934 Emmon suggère une classification des dermatophytes en 3 genres: Microsporum, Trichophyton, Epidermophyton. Negroni et Ajello se sont ralliés à cette dernière classification respectivement en 1968 et 1978. Emmon et al maintiennent également cette classification que nous allons retenir ici. [30]

- Genre Epidermophyton [50]

Caractérisé par des macroconidies en massue à parois et cloison mince et par l'absence de microconidies. Ce genre attaque la peau.

- Genre Microsporum

Caractérisé par des microconidies en fuseau, de grandes tailles avec une membrane épaisse. Les champignons de ce genre attaquent la peau, les cheveux et les poils.

- Genre Trichophyton

2.3.3. EPIDEMIOLOGIE [25], [41], [60]

2.3.3.1 Mode de contamination

Il varie en fonction du champignon. On distingue:

- *Les espèces anthropophiles*

Ce sont des parasites strictement humains.

La contamination est inter humaine, de malade à sujet sain ou par l'intermédiaire de matériel contaminé. C'est le cas par exemple de *T. rubrum* et de *T. interdigitale*

- *Les espèces zoophiles*

Ce sont des parasites animaux qui contaminent facilement l'homme soit par contact direct avec l'animal soit par contact avec son poil. Exemples: *M. canis*, *T. mentagrophytes*.

- *Les espèces telluriques*

La contamination se fait par contact avec le sol contaminé. Exemple: *M. gypseum*.

2.3.3.2 Répartition géographique

Les dermatophyties sont cosmopolites même s'il existe des différences géographiques dans la répartition des espèces impliquées.

Notons cependant que du fait des brassages des populations, cette différence tend à disparaître.

En 1986, à l'issue d'une étude réalisée à Marseille sur les dermatophytes d'importation, Mestre-Deharo C. et coll. [45] ont montré que les dermatophytes d'importation représentent 11.6% de l'ensemble des dermatophytes isolés. Et que *T. rubrum* venait en tête suivi de *M. canis*

En 1989 cette même étude a montré que 14% des dermatophytes isolés étaient des dermatophytes d'importation. Il s'agissait essentiellement de *M. langeronii* qui vient en tête suivi de *T. soudanense* et vient après *T. violacéum*.

En 1989 cette même étude a montré que 14% des dermatophytes isolés étaient des dermatophytes d'importation. Il s'agissait essentiellement de *M. langeronii* qui vient en tête suivi de *T. soudanense* et vient après *T. violaceum*

Au Togo, une étude faite de 1985 à 1990 par Tourte-schaefer et al. [59] a permis d'isoler principalement *M. langeronii* et accessoirement *T. soudanense*.

En 1992, Guigemdé et coll [26] ont trouvé que *T. rubrum* est le plus isolé dans la ville de Ouagadougou lors d'une étude sur les mycoses cutané-phanériennes.

En 1993, suite à une étude sur les teignes du cuir chevelu en milieu scolaire à Ouagadougou, Compaoré [16] a montré une prédominance de *M. langeronii* suivi de *T. soudanense*. Les mêmes résultats ont été trouvés en 1994 par C. vigué [60] à l'issue d'une étude menée à ouagadougou sur les teignes.

Au regard de ce qui précède, nous pouvons dire que les dermatophytes varient d'une région à une autre et dans la même région, d'une période à une autre.

Cependant, *T. rubrum* est retrouvé partout dans le monde avec une plus grande fréquence [30].

2.3.4. DIAGNOSTIC

Le diagnostic d'une dermatophytie repose d'abord sur l'examen clinique des sujets atteints. Cette première phase doit être complétée par un examen biologique comportant l'isolement et la caractérisation des agents responsables. Il existe également des méthodes de diagnostic immunologique. Nous ne présenterons ici que le diagnostic biologique.

Diagnostic biologique

- Prélèvement [10], [41], [51]

Il doit être fait avant toute antibiothérapie ou après une fenêtre thérapeutique d'au moins 5 jours. On prélève toutes les lésions à la périphérie et séparément (possibilité d'avoir 2 dermatophytes associés et lésions allergiques stériles). Les techniques de prélèvement dépendent de la localisation et du type de lésion. On utilise généralement pour les prélèvements, un vaccinostyle (squame de la peau), une pince (cheveux et

poil), des ciseaux (ongles). Ces prélèvements doivent être recueillis et conservés dans des conditions parfaitement stériles avant d'être traités au laboratoire.

- Examen microscopique

Il est nécessaire de ramollir et d'éclaircir le prélèvement avant l'examen direct; on utilise pour ce faire soit la potasse à 30% soit le chloral lactophénol.

L'examen direct des cheveux permet de mettre en évidence les spores ou les filaments intra pilaires ou bien la gaine des spores ectothrix. L'examen des ongles et des squames permet de mettre en évidence les filaments mycéliens.

- Culture

Elle est indispensable pour déterminer exactement l'espèce et l'origine de la contamination pour en déduire le traitement

La culture se fait sur milieu de SABOURAUD additionné de chloramphénicol et de cyclohexidine dans le but d'inhiber respectivement les bactéries et les moisissures.

Les fragments prélevés sont déposés à l'aide d'un instrument stérile en quinconce en trois ou quatre points dans le milieu coulé en pente dans un tube à essai au contact du tube.

L'incubation se fait à l'étuve à 27°C. Certaines espèces poussent vite mais le délai d'un mois est nécessaire pour qu'une culture soit considérée comme négative.

- Identification

Elle se base sur les caractères macroscopiques et microscopiques des cultures

.Examen macroscopique

Il note l'aspect de colonies (poudreux, ras...), la couleur au recto et au verso de la culture, la diffusion éventuelle d'un pigment élaboré par le champignon dans la gélose.

.Examen microscopique

Elle se fait soit par dissociation d'un fragment superficiel, soit par prélèvement grâce à la technique du drapeau de roth ou encore par culture sur lame; on note:

- l'aspect du mycélium
- les organes de reproduction (spores, microconidies, chlamidospores)

- les organes d'ornementation (vrilles, organes pectinés)

- Antifongigramme

Il consiste en la recherche de la sensibilité des différents germes isolés aux différents antifongiques.

2.3.5. TRAITEMENT DES DERMATOPHYTIES

Le traitement des dermatophyties comporte habituellement un traitement antifongique local et/ ou général.

Pour instaurer un traitement antifongique, on tient compte de la localisation, de l'étendue des lésions, de leurs pluralités et du risque mesuré d'une antifongothérapie systémique.

2.3.5.1. Traitement local

Il est constitué de plusieurs traitements :

- traitement antiseptique.

L'utilisation des antiseptiques n'est pas obligatoire mais agit sur la présence d'agent infectieux (levures, bactéries...) fréquemment associés aux dermatophytes surtout dans les plis.

Quelques antiseptiques :

- des bains antiseptiques de permanganate de potassium dilué au 1/20000 ou de sulfate de cuivre (Metacuprol[®]), 1 comprimé pour 1 litre d'eau ;
- des dérivés iodés : Bétadine[®] solution dermatique
- un savon acide (Dennacide[®], Lactacyd[®]) ou un Carbanilide (Nobacter[®], Septivon[®])
- l'Hexamidine (Hexomédine[®], Cytéal[®])
- du nitrate d'argent à 0,5% si les lésions sont suintantes, fissurées ou vésiculobulleuses

- traitement kératolytique

en cas d'hyper kératose ou de croûtes du cuir chevelu

Quelques kératolytiques:

- acide salicylique

- préparation d'urée

- traitement antifongique spécifique topique

les antifongiques les plus actifs sur les dermatophytes :

tolnaftate (Sporoline[®]), Acide undecylénique (Mycodécil[®])

ciclopiroxolamine (Mycoster[®]); les dérivés imidazolés: Miconazol (Daktarin[®]),

Econazol (Pévaryl[®]), kétoconazol (Ketoderm[®]); les allylamines : Terbinafine

(Lamisil[®])

2.3.5.2.Traitement systémique [21]

Deux antifongiques sont disponibles, il s'agit de:

-antifongique fongistatique

Griséofulvine : son spectre d'activité est strictement limité aux dermatophytes.

Elle est active sur les 3 genres de dermatophytes (Microsporum, Trichophyton, Epidermophyton) et agit par inhibition des mitoses des micro organismes sensibles [23].

-dérivés imidazolés

kétoconazol (nizoral[®]) agit par l'inhibition de l'ergostérol qui est un composant essentiel de la membrane des cellules fongiques [23].

2.3.5.3.Quelques plantes utilisées pour soigner les mycoses [4], [25], [36], [38], [49]

Plusieurs études ont montré l'activité antifongique in vitro de certaines plantes utilisées en pharmacopée traditionnelle, citons en quelques unes :

En 1991, une étude menée à Dakar par Ntsame-Obame et coll. [49] a montré que les extraits aqueux lyophilisés des folioles de *Cassia alata*, *Cassia sieberianna* ont une activité antifongique sur *Trichophyton soudanense*.

En 1999, une étude menée à Ouagadougou par Kambou et coll. [38] a permis de mettre en évidence l'activité antifongique de l'extrait à l'acétate d'éthyle de la poudre sèche des feuilles de *Mitracarpus scaber* sur des dermatophytes.

En 2001, une étude réalisée par Gnanou [25] à Ouagadougou a permis de mettre en évidence l'activité antifongique des étamines des fleurs mâles de *Borassus aethiopicum* sur des dermatophytes.

En 1999, une étude réalisée par Baba-Moussa F, Akpagana K., Bouchet P.[4] a permis de mettre en évidence l'activité antifongique de sept combretaceae : *Combretum glutinosum* (partie utilisée : les feuilles), *Pteleopsis suberosa* (partie utilisée : l'écorce des tiges), *Terminalia avicennioides* (partie utilisée : les feuilles, l'écorce des tiges), *Combretum hipidum* (partie utilisée : les feuilles), *Combretum molle* (partie utilisée : les feuilles), *Combretum nigricans* (partie utilisée : les feuilles et la racine entière) et *Terminalia mollis* (partie utilisée : les feuilles et l'écorce des racines) sur certains dermatophytes et sur *Candida albicans*. L'étude a porté sur les extraits au mélange éthanol-eau (1/1 : v/v) des différentes parties des plantes précitées.

Certaines plantes sont également utilisées de façon traditionnelle dans le traitement des dermatophytes. Citons quelques unes utilisées à Kisangani [36]:

- la face inférieure des feuilles de *Ficus exasperata* vahl. (Moraceae) est utilisée pour frotter le cuir chevelu
- les feuilles de *Luffa aegyptiaca* Mill. (Cucurbitaceae) broyées additionnées à du natron sont appliquées sur les lésions.
- l'écorce pilée de *Voacanga africana* stapf. (Apocynaceae) est appliquée sur la plaque de teigne.
- les feuilles vertes de *Vitex doniana* sweet. (verbenaceae) sont broyées, mélangées à du natron et appliquées sur les lésions.
- on utilise le péricarpe des fruits de *Musa paradisiaca* L.(Musaceae) pour le traitement des mycoses
- on utilise le latex de *Carica papaya* L. (Caricaceae) pour le traitement des mycoses

- on utilise le latex et la racine de *Manihot glaziovii* Mull. (Euphorbiaceae).
- on utilise également les feuilles de *Hydrocharis chevleri* de Wild. (Hydrocapitaceae).

2.4.GENERALITES SUR LES METHODES SPECTRALES,[3], [27]

Après avoir isolé une substance naturelle, le problème se pose d'identifier ce produit c'est à dire de déterminer sa formule aussi complètement que possible. Pour ce faire, plusieurs méthodes peuvent être utilisées. Actuellement, celles qui donnent le plus d'informations sur la structure sont les analyses spectrométriques de masse (SM) et de résonances magnétique nucléaire (RMN).

A côté de ces méthodes, nous avons la spectrométrie d'absorption (ultra violet et infra rouge) qui donne moins d'informations.

Les spectres infra rouges (IR), bien que fournissant moins d'informations que la RMN et la masse, donnent un spectre complexe qui est un reflet de tous les détails de la structure moléculaire. Convenablement interprétés, ils fournissent sur les molécules étudiées, des renseignements qui peuvent être très précis. Les spectres IR contrairement aux spectres ultra violet sont individuels en ce sens que seules deux molécules parfaitement identiques peuvent avoir exactement le même spectre.

Les spectres ultra violets (UV) ne sont intéressants que, pour certains groupes chimiques présentant des insaturations. C'est ainsi que la spectrométrie UV contribue de façon importante à l'identification des flavonoïdes.

2.4.1. LA SPECTROMETRIE D'ABSORPTION

Lorsqu'un faisceau de lumière monochromatique traverse une substance transparente, une partie de son énergie peut être absorbée par le milieu matériel conformément à la loi de Beer- Lambert

Si l'on appelle I_0 son intensité avant l'absorption, et I son intensité après l'absorption, on a:

$$I/I_0 = e^{-\epsilon \cdot d \cdot c}$$

ϵ = coefficient d'extinction molaire ou indice d'absorbance molaire

l = longueur parcouru par le rayonnement

c = concentration de la substance

$$\log I/I_0 = -\epsilon lc = A$$

$\log I/I_0$ est appelé densité optique et est noté D.O.

Du point de vue expérimental, on se sert de la transmittance T

$$T = I/I_0$$

On a alors: D.O. = $\log(I/T) = \epsilon lc$

La représentation graphique de l'absorption d'un composé en fonction de la longueur d'onde de la lumière incidente est le spectre d'absorption.

Les domaines de longueur d'onde les plus couramment utilisés pour ces mesures sont :

L'ultra violet : longueur d'onde comprise entre 200 et 400nm ($200 \leq \lambda \leq 400$ nm)

Le visible : longueur d'onde comprise entre 400 et 800nm ($400 \leq \lambda \leq 800$ nm)

L'infrarouge : longueur d'onde comprise entre 2 et 15 μm ($2 \leq \lambda \leq 15$ μm)

2.4.1.1. Spectrométrie UV et visible [3], [44], [32]

C'est une spectrométrie qui a pour base l'absorption d'énergie. L'énergie mise en jeu varie en fonction de la longueur d'onde et généralement on distingue:

Ultra violet Lointain: longueur d'onde comprise entre 100 et 200 nm ($100 \leq \lambda \leq 200$ nm)
énergie comprise entre 140 et 280 Kcal mol⁻¹

Ultra violet Proche: longueur d'onde comprise entre 200 et 400 nm ($200 \leq \lambda \leq 400$ nm)
énergie comprise entre 80 et 140 Kcal mol⁻¹

Ultra violet Visible longueur d'onde comprise entre 400 et 800 nm ($400 \leq \lambda \leq 800$ nm)
($400 \leq \lambda \leq 800$ nm) énergie comprise entre 35 et 80 Kcal mol⁻¹

Les bandes d'absorption observées sur le spectre dans l'UV correspondent à la présence dans la molécule de groupement non saturés.

L'UV ne donne donc que des renseignements sur le degré d'insaturation d'une molécule d'où la nécessité d'utiliser d'autres méthodes pour avoir de plus amples informations.

2.4.1.2.Spectrométrie infra rouge [35]

C'est la spectrométrie vibrationnelle et rotationnelle. Notons cependant que la vibration est le phénomène le plus important.

Une molécule soumise à une irradiation IR absorbe une partie de cette irradiation conformément à la loi de BEER- LAMBERT et commence à vibrer.

A chaque groupes d'atomes susceptibles d'entrer en vibration ou en rotation, à une longueur d'onde donnée correspond une bande d'absorption caractéristique des liaisons chimiques présentes dans ce composé. L'absorption d'une radiation infra rouge aura pour effet de faire vibrer successivement les liaisons des atomes présents dans une molécule. Cette absorption conduit au spectre IR qui bien interprété permet d'identifier les fonctions présentes dans le composé.

2.4.2.SPECTROMETRIE DE MASSE [3],[44]. [32]

L'application de la spectrophotométrie de masse aux molécules organiques, implique leur bombardement par un faisceau d'électron de moyenne énergie sous vide poussé et l'analyse des fragments chargés ainsi formés.

La fragmentation se fait par l'ionisation des molécules. L'ionisation entraîne en effet une accumulation d'énergie qui en se dissipant peut entraîner la rupture des liaisons inter atomique et donner naissance à des fragments caractérisés par le rapport masse/charge (m/z).

Les différents fragments chargés ainsi produits sont accélérés avant de parvenir à un analyseur (filtre de masse) qui les sépare en fonction du rapport m/z .

Le spectre de masse représente sous forme graphique, l'abondance des ions sur la base de leur rapport m/z . Il fournit des renseignements sur la masse moléculaire, la disposition des groupes spécifiques dans la molécule ainsi que sur la formule de la molécule étudiée.

2.4.3. SPECTROMÉTRIE DE RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLEAIRE [3], [32], [42], [44]

Il s'agit de provoquer l'absorption par une molécule d'énergie rayonnante. La transition s'effectue entre deux niveaux d'énergie propre au noyau de certains atomes de cette molécule.

Seuls les noyaux possédant un spin non nul peuvent participer à cette résonance. Les atomes les plus classiquement étudiés par la RMN sont ^1H , ^{13}C qui ont un spin I égal à $1/2$.

Placés dans un champ magnétique, les noyaux possédant un spin non nul se comportent comme de petits aimants et peuvent prendre $2I+1$ orientations par rapport à ce champ magnétique donc deux orientations pour ^{13}C et ^1H .

Si on place l'échantillon dans un champ magnétique d'intensité convenable, et si on soumet simultanément cet échantillon à un rayonnement électromagnétique, de fréquence variable, on peut mettre en évidence une absorption de l'énergie rayonnante par l'échantillon qui se traduit concrètement par un pic d'absorption.

Le spectre RMN permet l'établissement de la structure moléculaire d'un composé par la détermination de la nature et de l'environnement des atomes en résonance. L'analyse des spectres RMN fait appel à trois éléments :

- Déplacement chimique : lié entre autre à la densité électronique du noyau et rend compte des écarts entre les signaux obtenus pour des noyaux de la même espèce mais soumis à des environnements différents.

- Couplage spin spin : rend compte de l'interaction entre les différents protons voisins au niveau du signal d'un type de proton. Il permet également d'identifier les protons qui se couplent réciproquement à partir de la constante de couplage.

- Intégration des signaux du spectre : elle rend compte de la proportionnalité entre le nombre de protons responsable des signaux et la surface de ces signaux.

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

3.1 CADRE D'ETUDE

La présente étude a été réalisée au laboratoire de pharmacognosie de l'UFR/SDS, au laboratoire de chimie bio-organique et de phytochimie de l'UFR/SEA, au laboratoire de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS) , au laboratoire de biologie du C.H.N.Y.O. et au laboratoire de spectrométrie et de dynamique moléculaire de Marseille.

3.2. MATERIEL D'ETUDE

3.2.1 MATERIEL VEGETAL

Il s'agissait des inflorescences mâles de *Borassus aethiopum* Mart., récoltées le 15/02/99 dans la ville de Ouagadougou. Ces inflorescences ont été concassées, finement broyées et la poudre obtenue a été conservée dans un sachet plastique correctement étiqueté.

3.2.2. MATERIEL POUR L'EXTRACTION

Il est constitué par :

une ampoule à macérer

un percolateur

un évaporateur rotatif Büchi

de la verrerie et des solvants tels que le dichlorométhane, le méthanol, l'éthanol

3.2.3 ELUANTS UTILISES POUR LA CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Nous avons utilisé les systèmes de solvants S1, S2 et S3

S1: Toluène - Dichlorométhane - Méthanol - Acide acétique - 2 butanol - acétate d'éthyl (5-7,25-4-2-3-1)

S2: Toluène - Dichlorométhane - Méthanol - Acide acétique - 2 butanol - acétate d'éthyl (5-7-4-2-3-1)

S2: Toluène - Dichlorométhane - Méthanol - Acide acétique - 2 butanol - acétate d'éthyl (5-7-4-2-3-1)

S3: Toluène - Dichlorométhane - Méthanol - Acide acétique - 2 butanol - acétate d'éthyl (1-7-2.5-0.25)

3.2.4 MATERIEL DE FRACTIONNEMENT ET DE REPURIFICATION

Nous avons utilisé pour fractionner et repurifier, le matériel suivant :

- des plaques chromatographiques gel de silice G₆₀F₂₅₄
- une colonne chromatographique (100 cm de long et 3 cm de diamètre)
- du gel de silice G₆₀ pour colonne (0,063 à 0.2mm)
- des éluants chromatographique : dichlorométhane contenant du méthanol dans les proportions 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 %
- des éluants pour CCM (voir 3.2.3)

3.2.5. MATERIEL POUR LA DETERMINATION DU POINT DE FUSION

Nous avons utilisé l'appareil Electrothermal IA 9100

3.2.6. MATERIEL POUR L'ETUDE SPECTRALE

Les spectres UV et visible ont été enregistrés à l'aide d'un appareil Shimadzu DATA recorder DRZ- 2, Shimadzu Dual. Wavelength TLC Scanner CS-93

Matériel utilisé pour les spectres RMN :

Les spectres RMN ¹H et ¹³C ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre BRUKER AMX 400.

3.2.7. MATERIEL POUR LES TESTS PHARMACOLOGIQUES

Nous avons utilisé pour les tests antifongiques, le matériel suivant :

- des boîtes de pétri (90 mm de diamètre)
- des Pipettes pasteurs stériles
- des billes de verres stériles

- du sérum physiologique
- des disques de kétoconazol (50µg)

- les dermatophytes : les quatre dermatophytes utilisés sont choisis parmi les plus couramment rencontrés au Burkina. Il s'agit de: *Tricophyton rubrum* (T. R), *Tricophyton interdigitale* (T. I), *Tricophyton soudanense* (T. S), *Microsporum langeronii* (M.L). Notons qu'à l'exception de *Microsporum langeronii*, les souches utilisées sont les mêmes que celles utilisées par Gnanou [25].

3.3. METHODES

3.3.1. EXTRACTIONS

La méthode d'extraction est la percolation. La matière végétale introduite dans le percolateur est soumise à un épuisement successif à l'aide de solvants de polarité croissante : dichlorométhane, dichlorométhane-méthanol (1/1 v/v), éthanol.

3.3.1.1. Extraction par le dichlorométhane

Un kilogramme de poudre des inflorescences mâles sèches de *Borassus aethiopicum* est introduit dans une ampoule à macération. Deux milles (2000) ml de dichlorométhane ajoutés et le mélange est laissé en macération pendant 24 h. A la fin de la macération, une percolation est effectuée à l'aide de 750 ml de dichlorométhane. La solution est recueillie goutte à goutte et évaporée sous pression réduite. Le résidu d'extraction est conservé à l'abri de la lumière.

Le marc séché est utilisé pour les prochaines extractions.

3.3.1.2 Extraction par le dichlorométhane-méthanol (1/1 v/v)

Le marc séché a été introduit dans l'ampoule à macération. On y a ajouté 2000 ml d'un mélange de dichlorométhane-méthanol dans les mêmes proportions (1/1 v/v) et on a laissé macérer pendant 24 h. On réalise ensuite une percolation avec 1500 ml du même mélange de solvant. L'extrait recueilli est évaporé sous pression réduite et conservé à l'abri de la lumière. Le marc est à nouveau séché.

du même mélange de solvant. L'extrait recueilli est évaporé sous pression réduite et conservé à l'abri de la lumière. Le marc est à nouveau séché.

3.3.2 FRACTIONNEMENT DE L'EXTRAIT AU DICHLOROMÉTHANE-MÉTHANOL (E2)

Le fractionnement est fait par chromatographie sur colonne de gel de silice.

La colonne (100 cm de long; 3 cm de diamètre) est remplie à l'aide d'une suspension de silice dans du dichlorométhane à raison de 80 g de silice pour un gramme de substance. Trois (3) g de l'extrait actif sont dissous dans le plus petit volume du mélange dichlorométhane-méthanol et la solution obtenue est déposée au dessus de la colonne. Cette colonne est éluée successivement avec du dichlorométhane contenant du méthanol dans les proportions: 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50% v/v. Le volume de chaque palier du gradient de polarité des différents éluants est 500 ml.

Des fractions de 5 à 10 ml sont récoltées et analysées par CCM de gel de silice G₆₀F₂₅₄ avec comme phase mobile le système de solvant S2.

La révélation des plaques est ensuite faite par les vapeurs d'ammoniac et par chauffage des plaques à 110°C pendant 10 minutes après pulvérisation de l'acide sulfurique 3% dans l'éthanol. Les fractions présentant des chromatogrammes semblables sont regroupées et évaporées sous pression réduite.

La fraction active est purifiée et utilisée pour l'identification des substances antifongiques.

3.3.3. PURIFICATION DE F3

La fraction active est évaporée sous pression réduite pour donner un résidu sec. Le résidu sec est purifié par une chromatographie sur couches minces préparatives sur gel de silice G₆₀F₂₅₄ en utilisant le système S2 comme éluant.

Les bandes correspondantes aux différentes substances contenues dans la fraction active sont grattées puis éluées à l'aide du dichlorométhane-méthanol (1/1 v/v).

Les solutions obtenues sont évaporées sous pression réduite pour donner des résidus de substances purifiées qui sont utilisées pour les études pharmacologiques et spectrales.

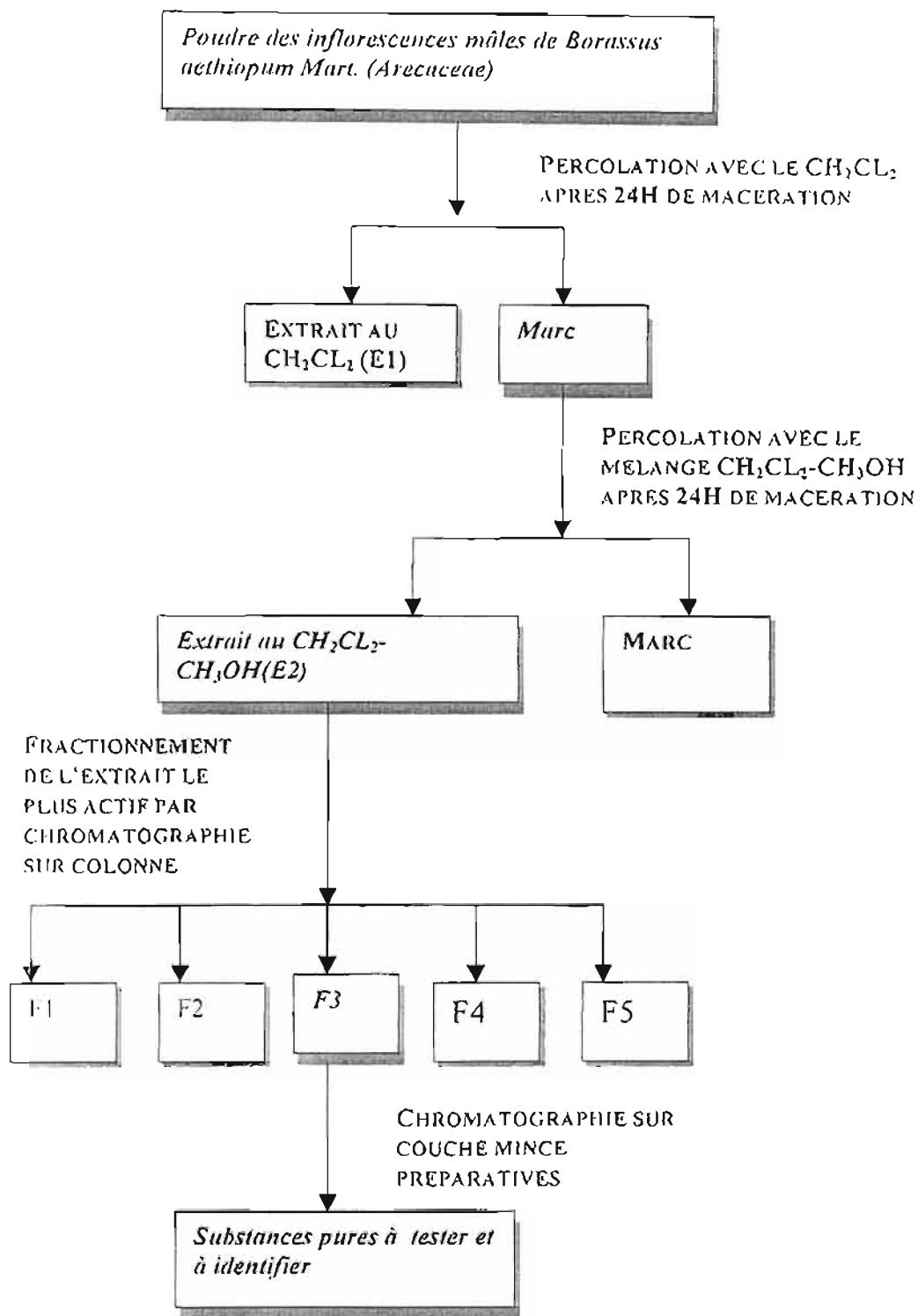


Figure 6: schéma d'extraction de fractionnement et de purification des substances à étudier

3.3.4.METHODES UTILISEES POUR LES ESSAIS ANTIFONGIQUES

La méthode de diffusion en milieu gélosé a été utilisée. Les dermatophytes utilisés sont les suivantes: *Tricophyton rubrum*, *Tricophyton soudanense*, *Tricophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii*.

La concentration de 12,5mg/ml est retenue pour un essai préliminaire permettant d'identifier des substances actives parmi celles isolées

Les tests sont ensuite réalisés avec les concentrations suivantes : 12,5 mg/ml ; 6,25 mg/ml ; 3,13 mg/ml ; 1,56 mg/ml ; 0,78 mg/ml. Les résultats obtenus ont permis de tracer les courbes dose effet sur les différents germes.

La solubilisation de la substance isolée a été réalisée par le tween 80 préalablement testé.

3.3.4.1. Préparation du milieu de culture

Nous avons utilisé pour préparer le milieu de culture, le milieu SABOURAUD contenant de l'actidione et du chloramphénicol en poudre (45,5g de poudre pour 1l d'eau distillée).

Le mélange est effectué sous agitation dans l'eau chaude et porté à ébullition pendant 10 mn. Le milieu est ensuite conditionné dans des flacons, mis à l'autoclave pendant 15 mn à 120°C et coulé dans des boîtes de pétris de 90 mm de diamètre. La gélose coulée a une épaisseur de 3 à 4 mm.

Les boîtes sont alors refroidies sur une surface horizontale.

3.3.4.2. Préparation des cupules

Les cupules sont faites de façon équidistante à l'aide d'emporte-pièces stériles de 6 mm de diamètre. Le fond de chaque cupule est alors bouché à l'aide d'une goutte de gélose

3.3.4.3. Préparation de l'inoculum.

L'inoculum est obtenu à partir de cultures jeunes de dermatophytes faites dans des tubes à essais sur gélose inclinée de SABOURAUD contenant de l'actidione et du

chloramphénicol. On a ensuite introduit dans les tubes contenant la culture jeune 10 ml de sérum salé physiologique. A l'aide d'une pipette stérile, la surface d'une colonie d'environ 1cm de diamètre est légèrement grattée.

Le soluté est transvasé dans un tube à essais contenant des billes de verres stériles et soumis à un agitateur afin de fragmenter les myceliums. Le surnageant constitue l'inoculum à utiliser pour l'ensemencement

3.3.4.4. Ensemencement

La surface de la gélose est inondée avec l'inoculum. L'excès éventuel est aspiré par une pipette. Les boîtes sont alors séchées à l'étuve à 37°C. Les substances isolées sont solubilisées avec du tween 80 et déposées dans les cupules à raison de 50 µl par cupule. Chaque concentration a été testée 3 fois.

Le témoin (kétoconazol) et le tween sont également déposés dans les cupules .

3.3.4.5. Incubation et lecture

L'incubation s'est faite à température ambiante et les boîtes observées tous les jours jusqu'à ce que les dermatophytes poussent.

La lecture a consisté en la mesure des diamètres d'inhibitions à l'aide d'une règle graduée. Les diamètres d'inhibitions ont été mesurés à j₃

Trois essais ont été réalisés et les moyennes des diamètres d'inhibitions ont été déterminées afin de tracer les courbes dose/ effet.

3.3.5. ETUDE SPECTRALE

Spectrométrie UV et visible

Nous avons tracé les spectres UV et visible en photodensitométrie.

10µl d'une solution de 3mg/ml de X1 et de X2 sont déposés sur des plaques chromatographiques G60 F254 avec support en verre. Ces plaques ont été éluées avec S2. Les spots repérés a l'aide d'une lampe UV(375nm) ont permis de tracer les spectres. Les coordonnées utilisées pour tracer les spectres sont :

Abscisse : 2

Ordonnées : 1

Spectrométrie RMN

L'échantillon est dissout dans du DMSO. Le tétraméthylsilane est utilisé comme standard interne.

CHAPITRE IV : RESULTATS

4.1. RENDEMENT D'EXTRACTION (E2)

Un (1) kilogramme de poudre a permis d'avoir 36,7 grammes de E2 soit un rendement de 3,7%.

4.2 FRACTIONNEMENT DE E2

Le fractionnement de E2 a permis d'isoler cinq (5) fractions dont F3 qui s'est montrée plus active sur les dermatophytes.

Tableau 1 : Tableau montrant les résultats du fractionnement de E2.

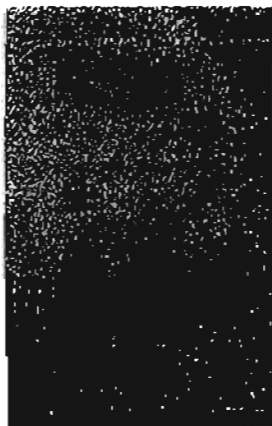
FRACTIONS	ELUANTS	RENDEMENTS
	Proportion en % (v/v) de méthanol dans le dichlorométhane	(%)
F1	15 à 20	0,60
F2	20 à 25	0,71
F3	25 à 30	3,33
F4	30 à 35	0,83
F5	40 à 50	0,57

4.3 PURIFICATION DE F3

La purification de cette fraction a permis d'obtenir 2 substances cristallines blanchâtres X1 et X2.

3,3 g de E2 ont permis d'avoir 30 mg de X1 et 35 mg de X2 soit des rendements respectifs de 0,9 et 1%.

Les substances X1 et X2 révélées à l' H_2SO_4 à 3 % dans l'éthanol donnent chacune un spot qui se colore au vert brun.(figures 7,8,9)



1 2 3

Figure 7: Plaque (support en verre) éluée avec S1

1 → Extrait actif (E2)

2 → Fraction active F3

3 → Substance active x2



4 5 6

Figure 8: Plaque (support en verre) éluée avec S2

4 → Extrait actif (E2)

5 → Substance active x2

6 → Substance active x1



7 8

Figure 9: Plaque (support en aluminium) éluée avec S2

7 → Substance active x2

8 → Substance active x1

Quelques caractéristiques des substances obtenues après purification de F3 sont résumées dans le tableau ci après.

Tableau 2 : Caractéristiques chimiques de F3, X1 et X2

Substance à analyser	Révélateurs	Colorations observées	Rf des spots (plaques avec support en verre)		Rf des spots plaques avec support en aluminium)
			S1	S2	S2
Fraction F3	H ₂ SO ₄ à 3% dans l'éthanol	Vert brun	0,56	0,50	0,36
	Vapeurs d'ammoniac	Jaune	0,50	0,60	-
	AlCl ₃ observé à l'UV 366 nm	Fluorescences jaune et violette	0,50 et 0,38	0,60 et 0,51	-
	Diphénylborinate de sodium (2% dans l'éthanol)	Jaune et tâche fugace	0,50 et 0,38	0,60 et 0,51	-
Substance X1	H ₂ SO ₄ à 3% dans l'éthanol	Vert brun	0,40	0,52	0,40
	Vapeurs d'ammoniac	Pas de spot coloré	-	-	-
	Diphénylborinate de sodium (2% dans l'éthanol)	Tâche fugace	0,40	0,52	-
	Observée à l'UV 366 nm	Fluorescence violette	0,40	0,52	0,40
	Observée à l'UV 375 nm	Fluorescence violette	-	0,52	0,40
Substance X2	H ₂ SO ₄ à 3% dans l'éthanol	Vert brun	0,33	0,41	0,33
	Vapeurs d'ammoniac	Pas de spot coloré	-	-	-
	Diphénylborinate de sodium (2% dans l'éthanol)	Tâche fugace	0,33	0,41	-
	Observée à l'UV 366 nm	Fluorescence violette	0,33	0,41	-
	Observée à l'UV 375 nm	Fluorescence violette	0,33	0,41	-

4.4. TESTS ANTIFONGIQUES

Le tween 80 testé à 5mg/ml s'est montré inactif sur tous les dermatophytes utilisés

Les tests antifongiques réalisés sur quatre dermatophytes que sont: *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii*, ont montré que toutes les 2 substances isolées étaient actives sur toutes les souches sauf *Trichophyton soudanense* (Tableau 3) à la concentration de 12,5mg /ml.

Seule X2 à été testée aux différentes concentrations (12,50 ; 6,25 ; 3,13 ; 1,56 ; 0.78 mg/ml) en vue de l'élaboration de la courbe dose effet. Elle s'est montrée active sur ces mêmes dermatophytes aux différentes concentrations testées. (Tableaux 4, 5 et 6)

Tableau 3: Diamètres d'inhibition en millimètres (mm) obtenus avec X1, X2 et F3 testés à 12,5 mg/ml

Dermatophytes	X1	X2	F3 [25]
<i>Trichophyton rubrum</i>	35±0,7	34,0±0,8	38,7±0,9
<i>Trichophyton interdigitale</i>	32±0,9	32,0±1,0	30,5±1,6
<i>Microsporum langeronii</i>	31,0±0,7	32±1,0	40,0±0,8
<i>Trichophyton soudanense</i>	0,0	0,0	0,0

Tableau 4: Résultats de l'étude dose/effet de la substance x2 sur *Trichophyton rubrum*

substance x2 isolée						témoins ketoconazol
concentration en mg/ml	12.50	6.25	3.13	1.56	0.78	
Log ϕ	1.10	0.80	0.49	0.19	-0.11	
quantité déposée par cupule(μ g)	625	312.5	156.25	78.125	39.0625	50.00
moyenne diamètre d' inhibition	34.00	32.00	31.00	28.00	23.00	49.00

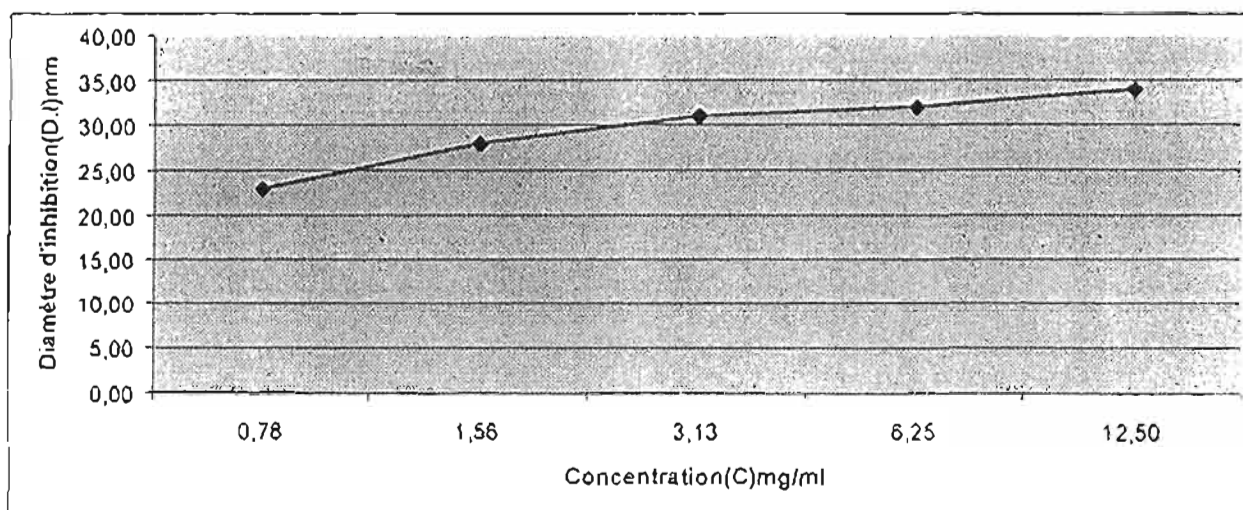


Figure 10 : Courbe dose effet de la substance x2 isolée des fleurs mâles de *Borassus aethiopum* sur *Trichophyton rubrum* D.I en fonction de C

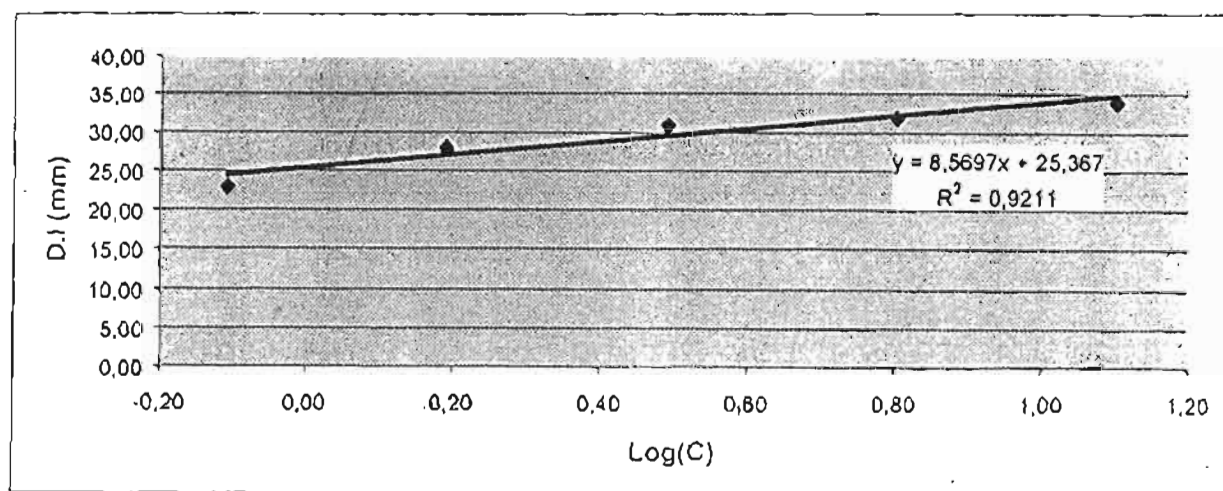


Figure 11: Courbe dose effet de la substance x2 isolée des fleurs mâles de *Borassus aethiopum* sur *Trichophyton rubrum* D.I en fonction de log(C)

Tableau 5: Résultats de l'étude dose/ effet de la substance x2 sur *Trichophyton interdigitale*

	Substance x2 isolée					témoins - kétoconazol
concentration en mg/ml	12.50	6.25	3.13	1.56	0.78	
Log \odot	1.10	0.80	0.49	0.19	-0.11	
quantité déposée par cupule(μ g)	625	312.5	156.25	78.125	39.0625	50.00
moyenne diamètre d' inhibition	32.00	28.00	25.00	24.00	22.00	40.00

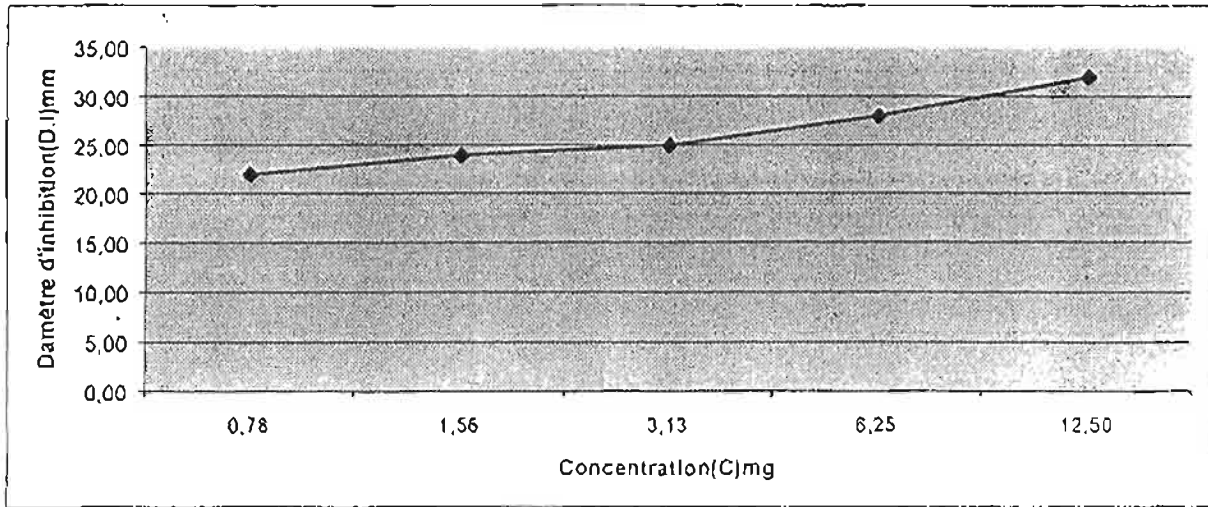


Figure 12 : Courbe dose effet de la substance x2 isolée des fleurs mâles de *Borassus aethiopum* sur *Trichophyton interdigitale* D.I en fonction de C

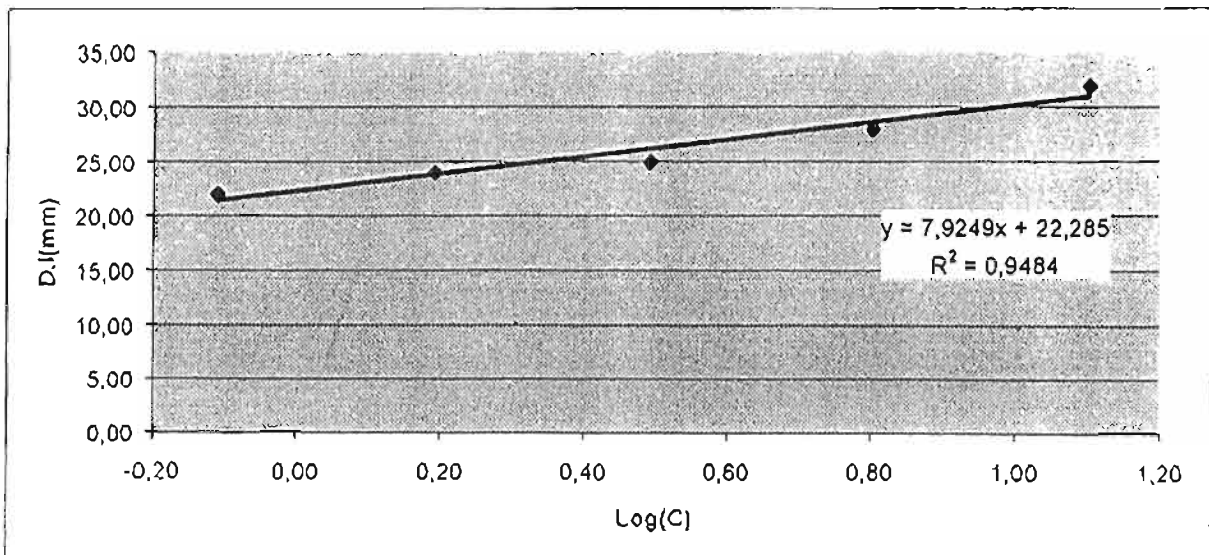


Figure 13 : Courbe dose effet de la substance x2 isolée des fleurs mâles de *Borassus aethiopum* sur *Trichophyton interdigitale* D.I en fonction de log(C)

Tableau 6: Résultats de l'étude dose effet de la substance x2 sur *Microsporium langeronii*

concentration en mg/ml	Substance x2 isolée					témoins kétoconazol
	12.50	6.25	3.13	1.56	0.78	
Log C	1.10	0.80	0.49	0.19	-0.11	
quantité déposée par cupule(µg)	625	312.5	156.25	78.125	39.0625	50.00
moyenne diamètre d' inhibition	32.00	31.00	27.00	22.00	20.00	40.00

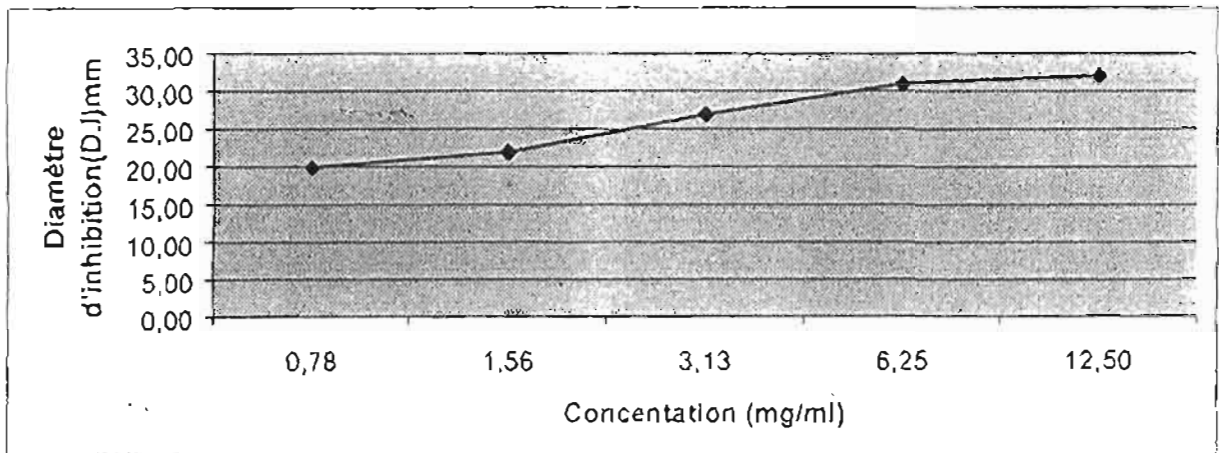


Figure 14 : Courbe dose effet de la substance x2 isolée des Neurs mâles de *Borassus aethiopicum* sur *Microsporium langeronii* D.I en fonction de C

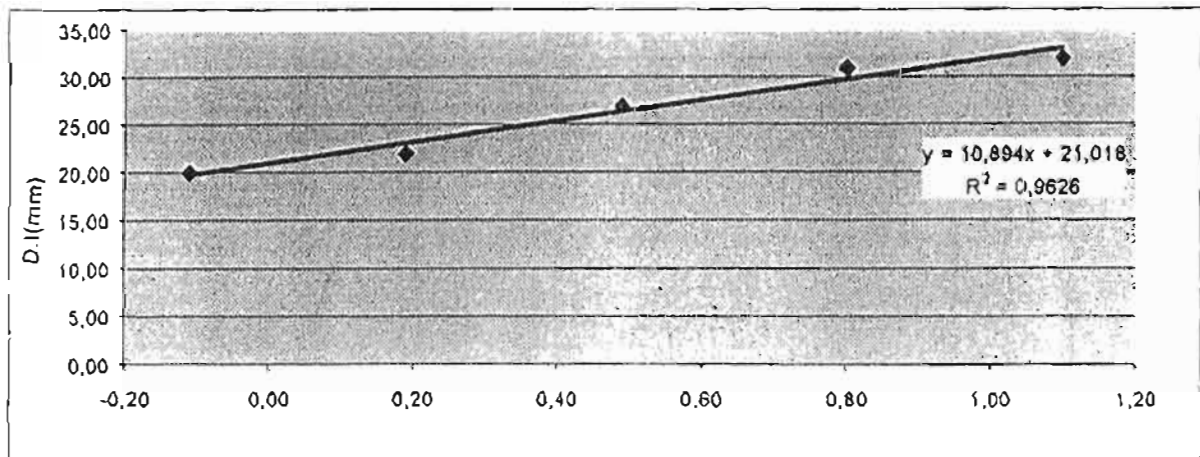


Figure 15 : Courbe dose effet de la substance x2 isolée des Neurs mâles de *Borassus aethiopicum* sur *Microsporium langeronii* D.I en fonction de log(C)

4.5. CARACTERISTIQUES PHYSICO CHIMIQUES DES SUBSTANCES X1 et X2

- Caractéristiques de X1

Le composé X1 isolé des inflorescences mâles de *Borassus aethiopum* se présente sous forme d'une poudre blanchâtre brillante. Il est soluble dans le mélange dichlorométhane -méthanol (1/1:v/v), dans l'acétone, le diméthyl sulfoxyde, le méthanol, très soluble dans le butanol, et insoluble dans l'eau, le chloroforme et le dichlorométhane. Son point de fusion est compris entre 262 et 265°C. Notons cependant qu'entre 190 et 210 °C, le composé noircit.

- Caractéristiques de X2

Le composé X2 également isolé des inflorescences mâles de *Borassus aethiopum* se présente sous forme de cristaux blancs en forme d'aiguillon . Il est soluble dans le mélange dichlorométhane -méthanol (1/1:v/v), dans l'acétone, le diméthyl sulfoxyde, le méthanol, très soluble dans le butanol, et insoluble dans l'eau, le chloroforme et le dichlorométhane.

Son point de fusion est compris entre 264 et 267°C. Notons cependant qu'entre 195 et 200 °C, le composé noircit.

Il donne une réaction négative à la cyanidine.

4.6 SPECTROMETRIE

4.6.1.SPECTROMETRIE UV

Les spectres électroniques de X1 et de X2 n'ont montré aucun pic (figures 16 et 17 ; 23 et 24).

Après révélation à l' H₂SO₄ et chauffage à 110°C, on observe pour X1 et pour X2, 3 pics respectivement à : 290, 432, et 512 nm (figures 18, 19, 22).

4.6.2.SPECTROMETRIE RMN

Les spectres RMN du proton et du carbone de X1 sont représentés respectivement par les figures 20 et 21.

Les spectres RMN du proton et du carbone de X2 sont représentés respectivement par les figures 25, 26, et 27

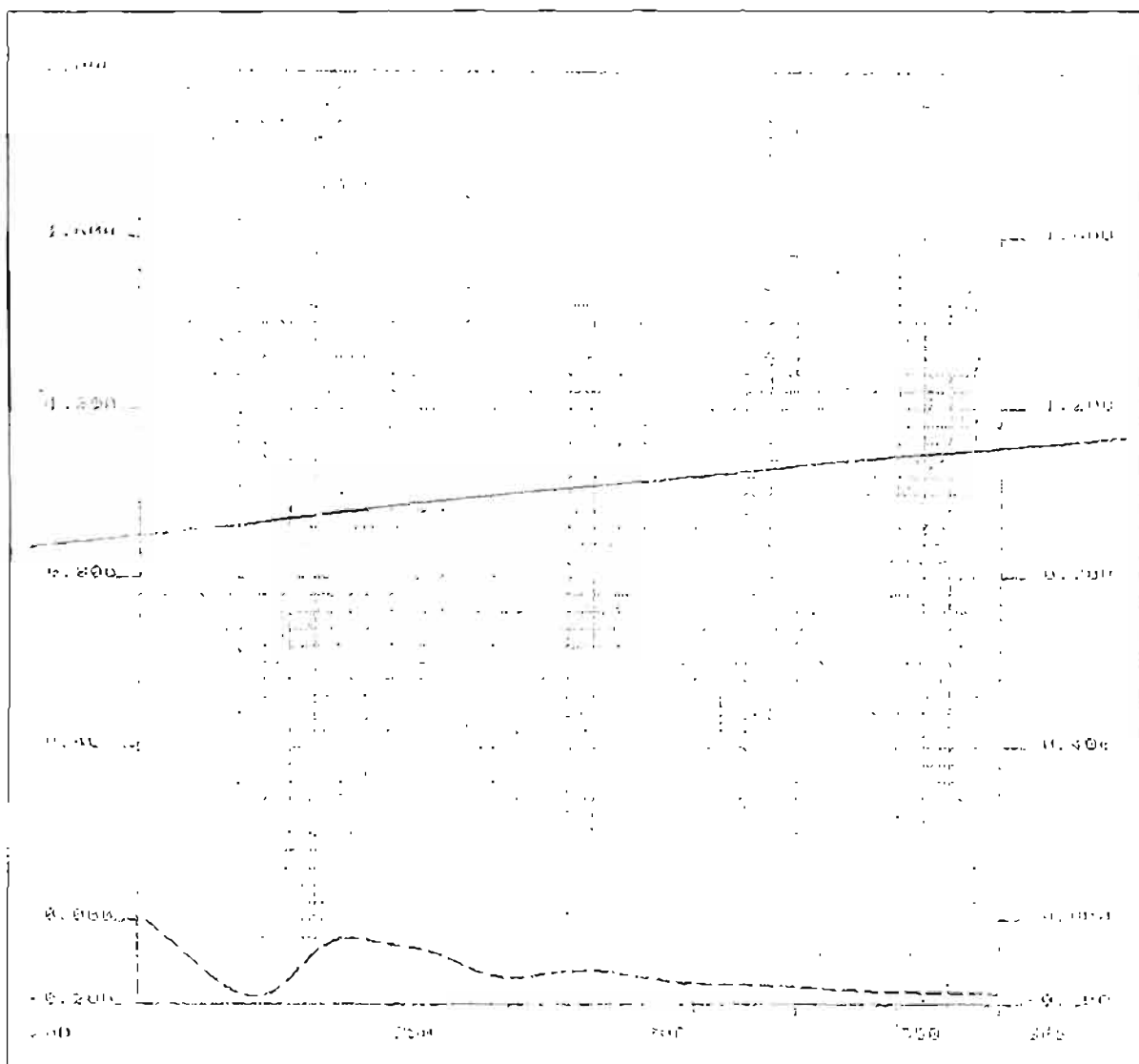


Figure 16 : Spectre UV de xl

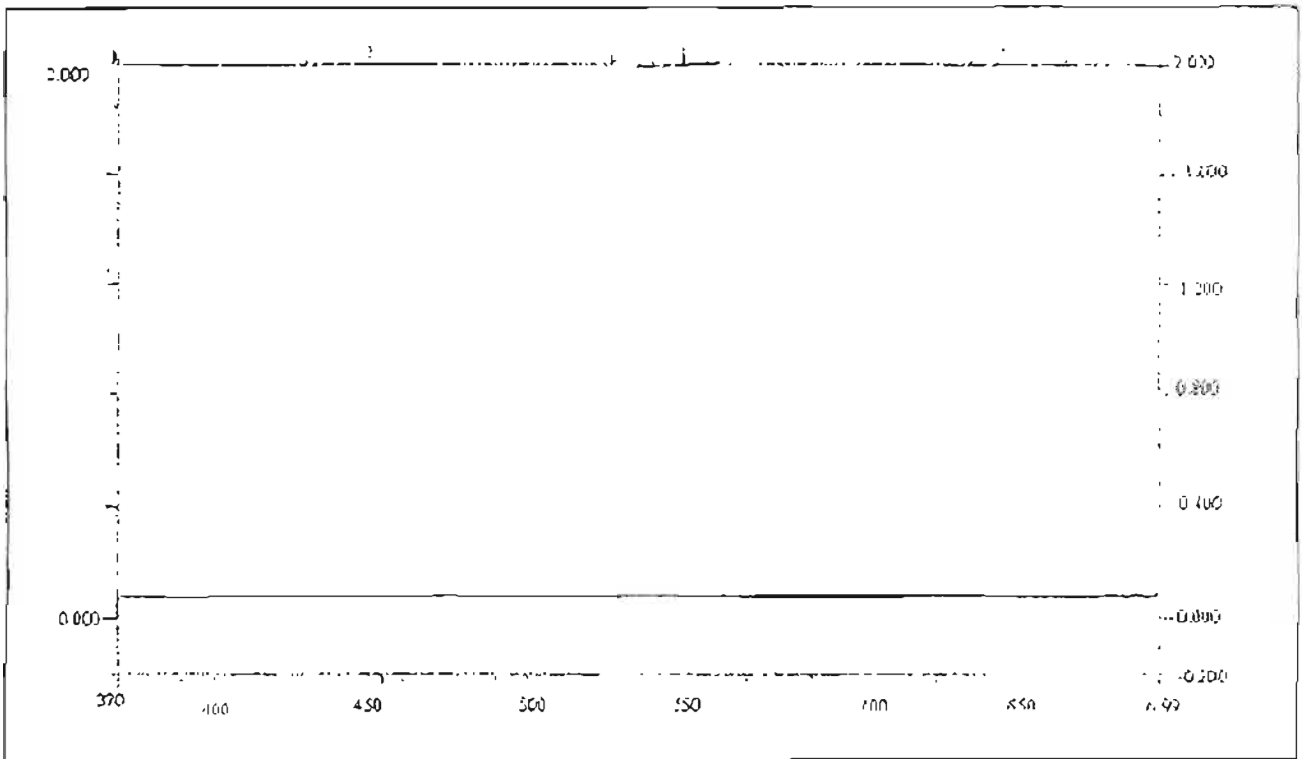


Figure 17 : Spectre dans le visible de x1

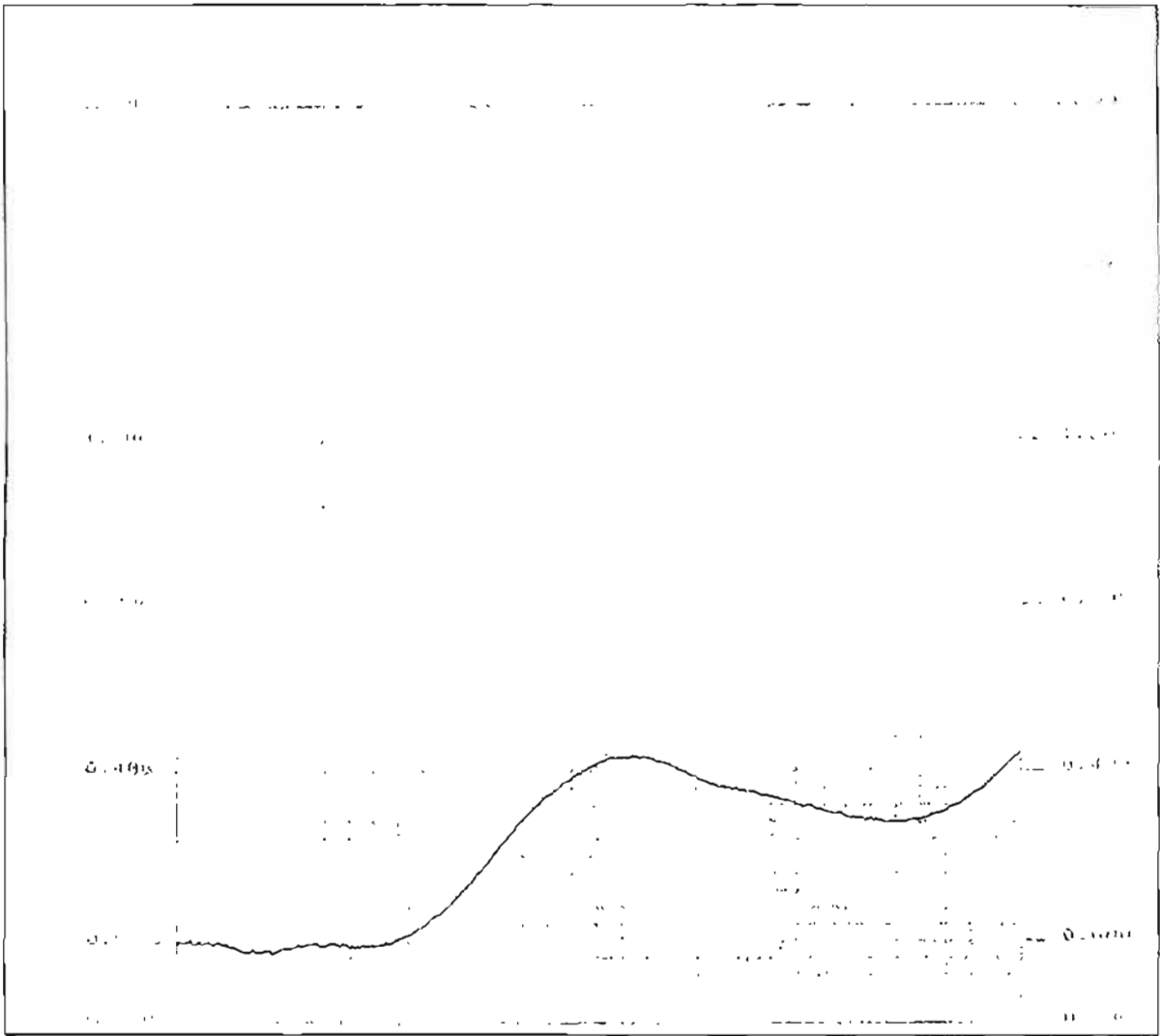


Figure 18 : Spectre UV de x1 après action de l' H2SO4 et chauffage

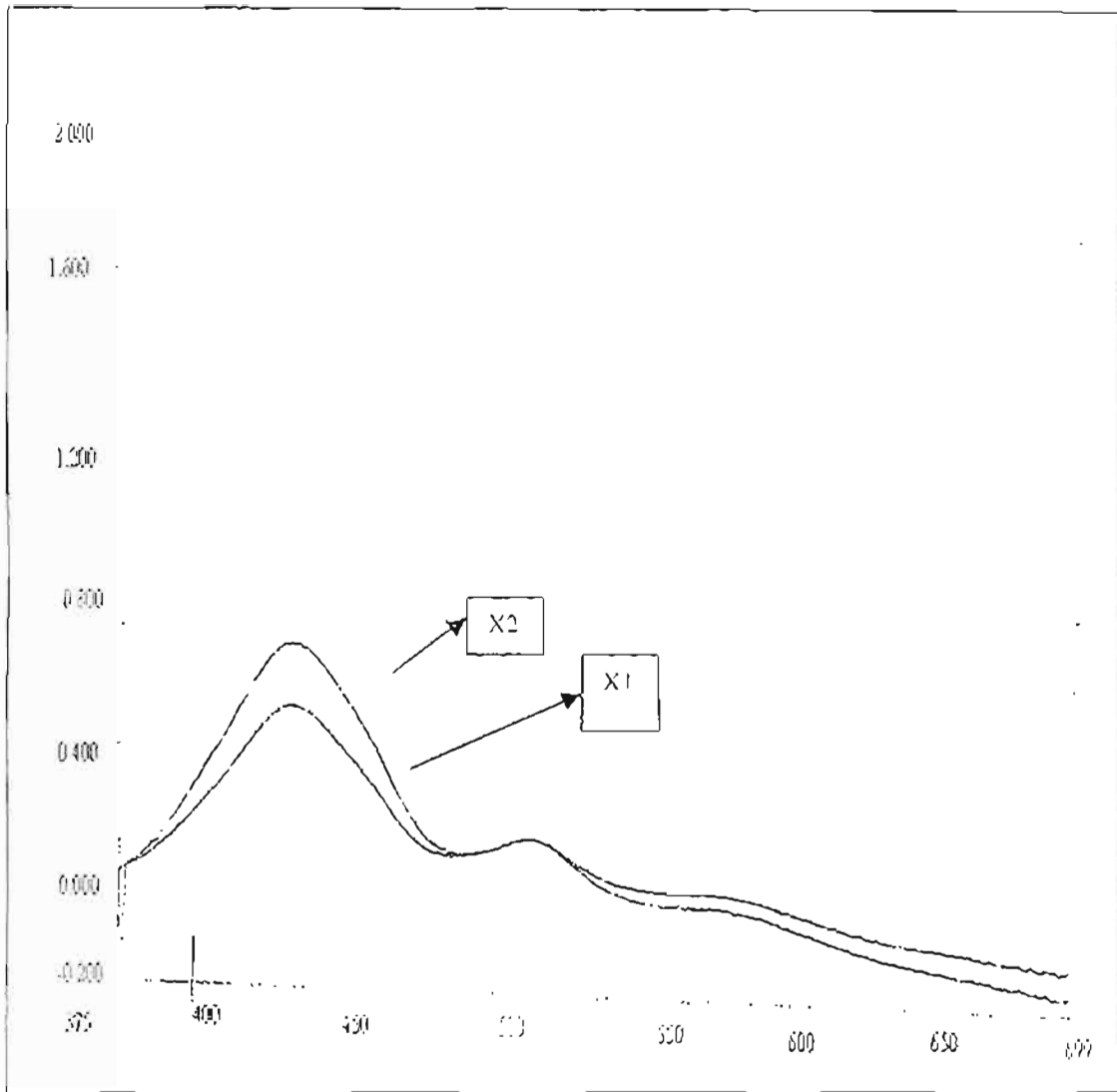


Figure 19: spectre dans le visible de x1 et de x2 après action de l'H₂SO₄ et chauffage

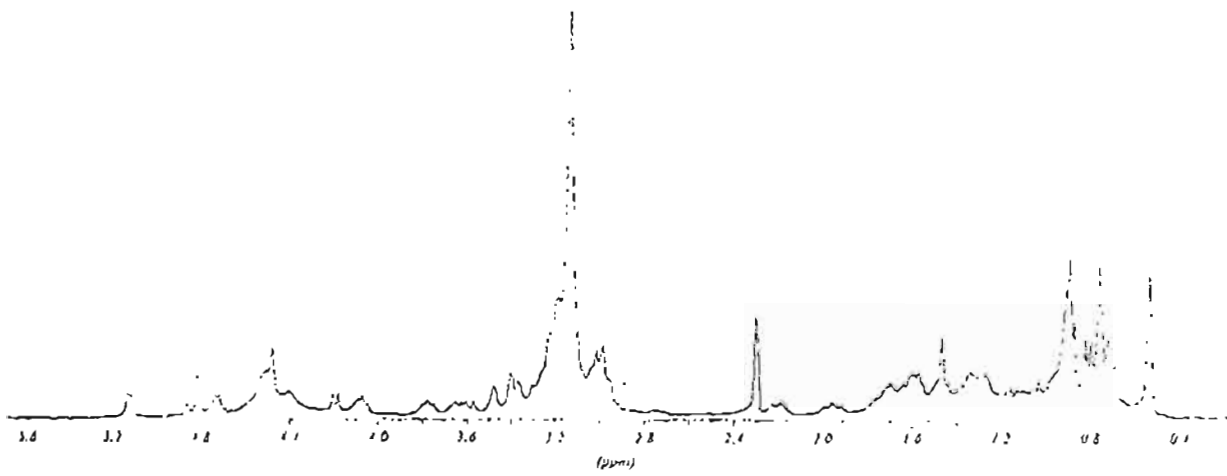


Figure 20 : Spectre RMN du proton de X1

V12_C13C7A32_01190_1a (13)

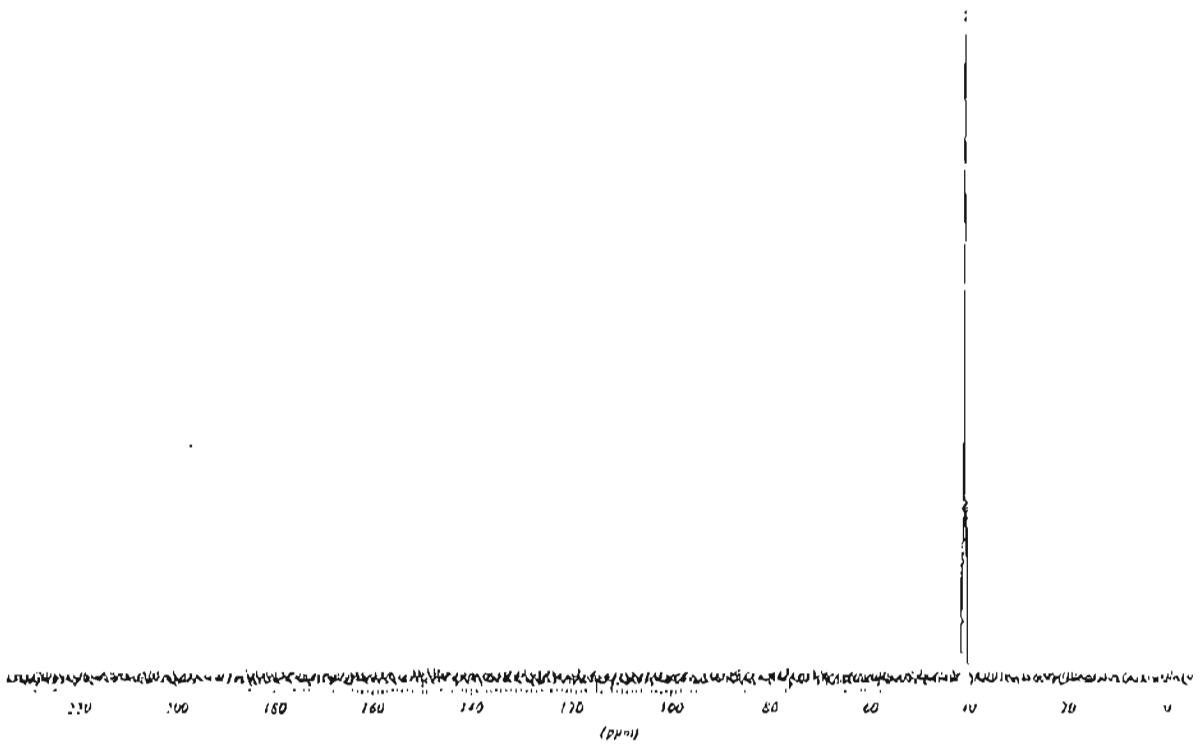


Figure 21: Spectre RMN du carbone 13 de XI

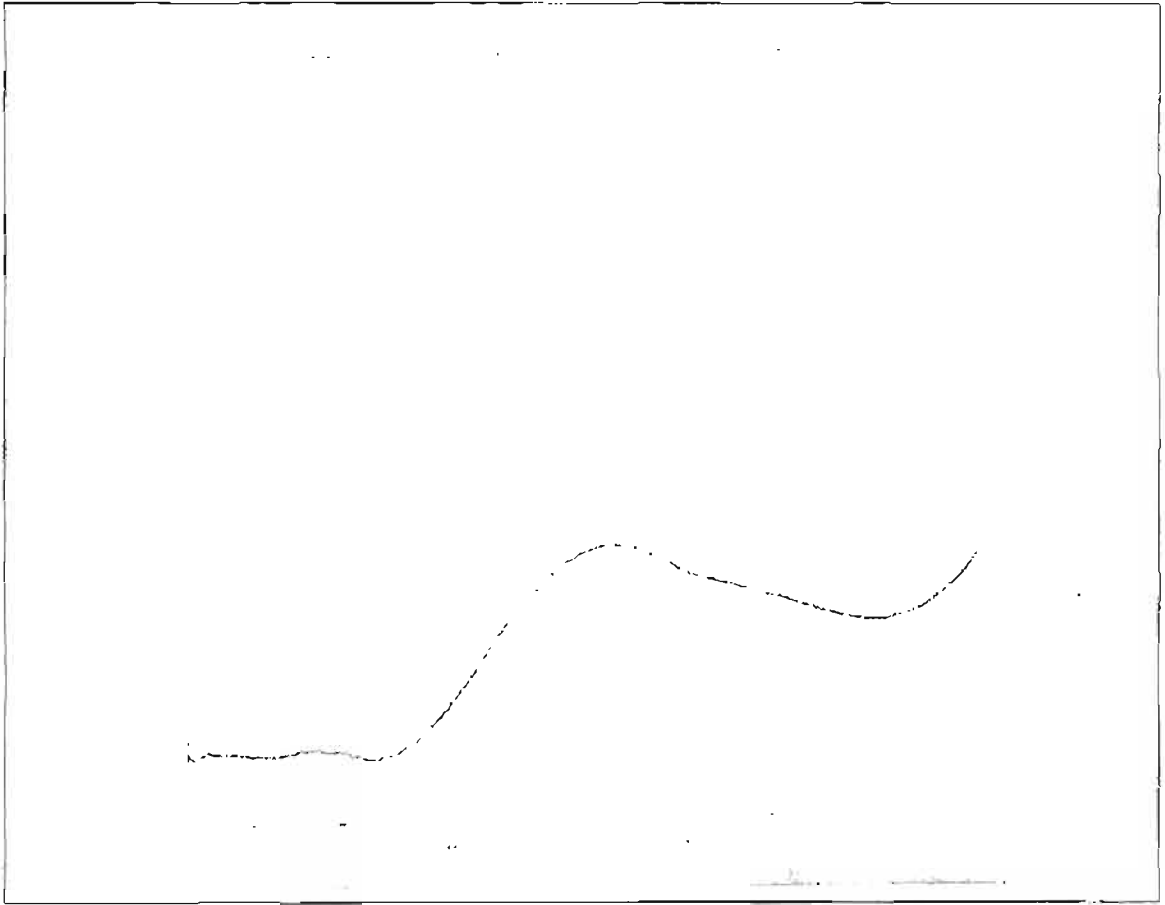


Figure 22 : Spectre UV de X2 après action de l' H_2SO_4 et chauffage

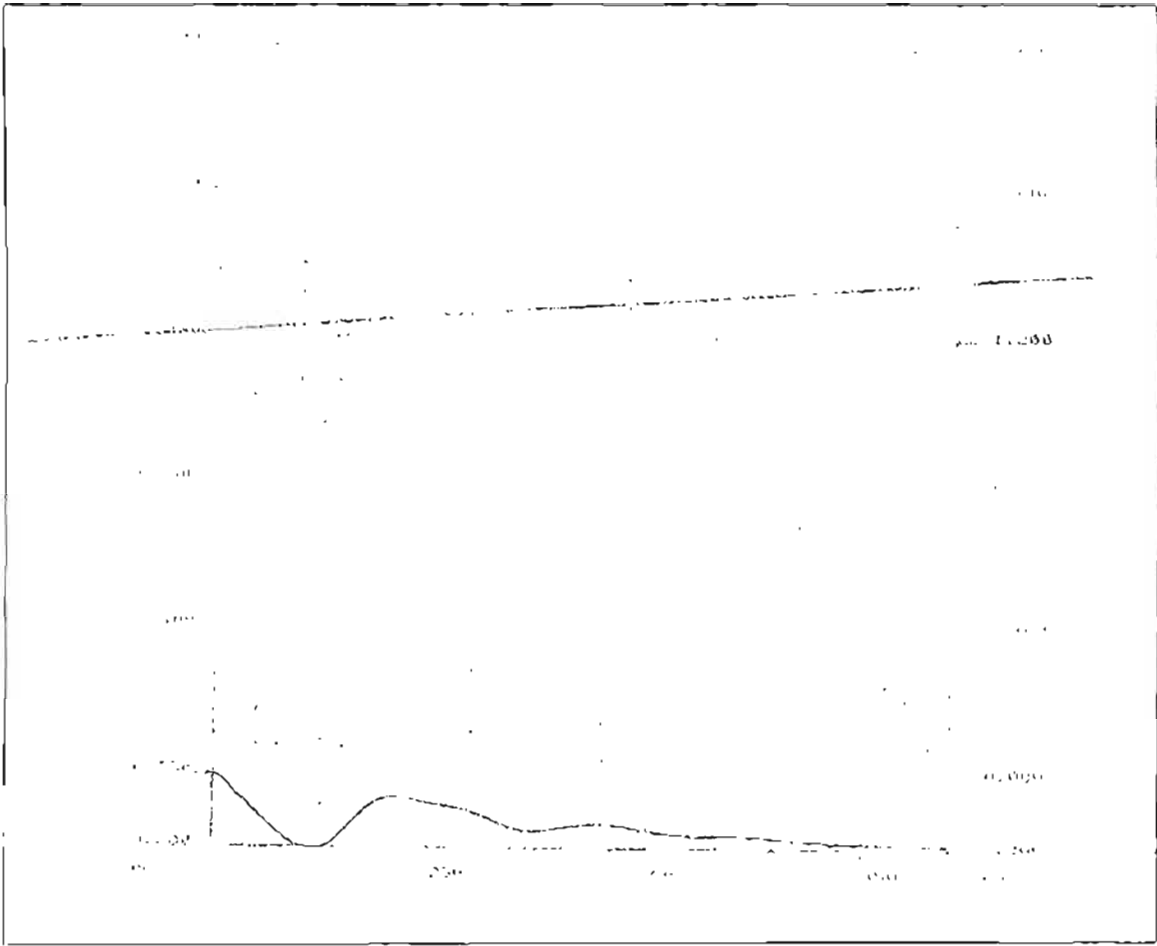


Figure 23 : Spectre UV de $\lambda 2$

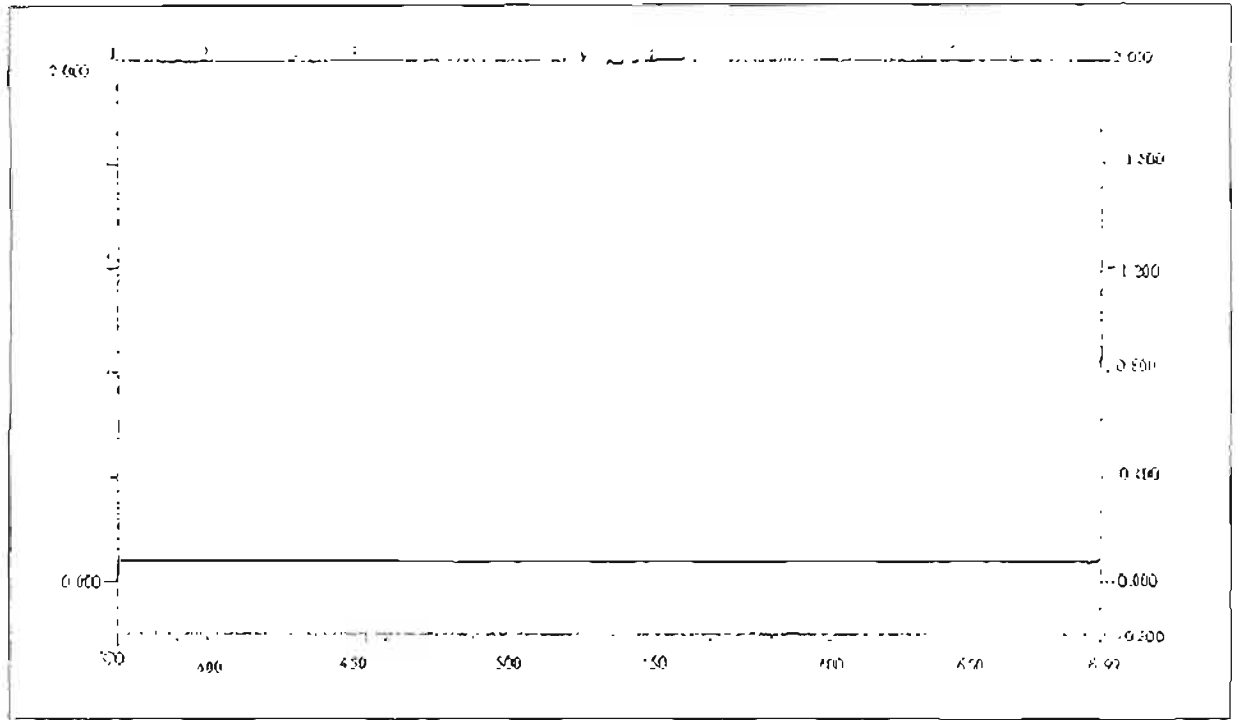


Figure 24: Spectre dans le visible de $\lambda 2$

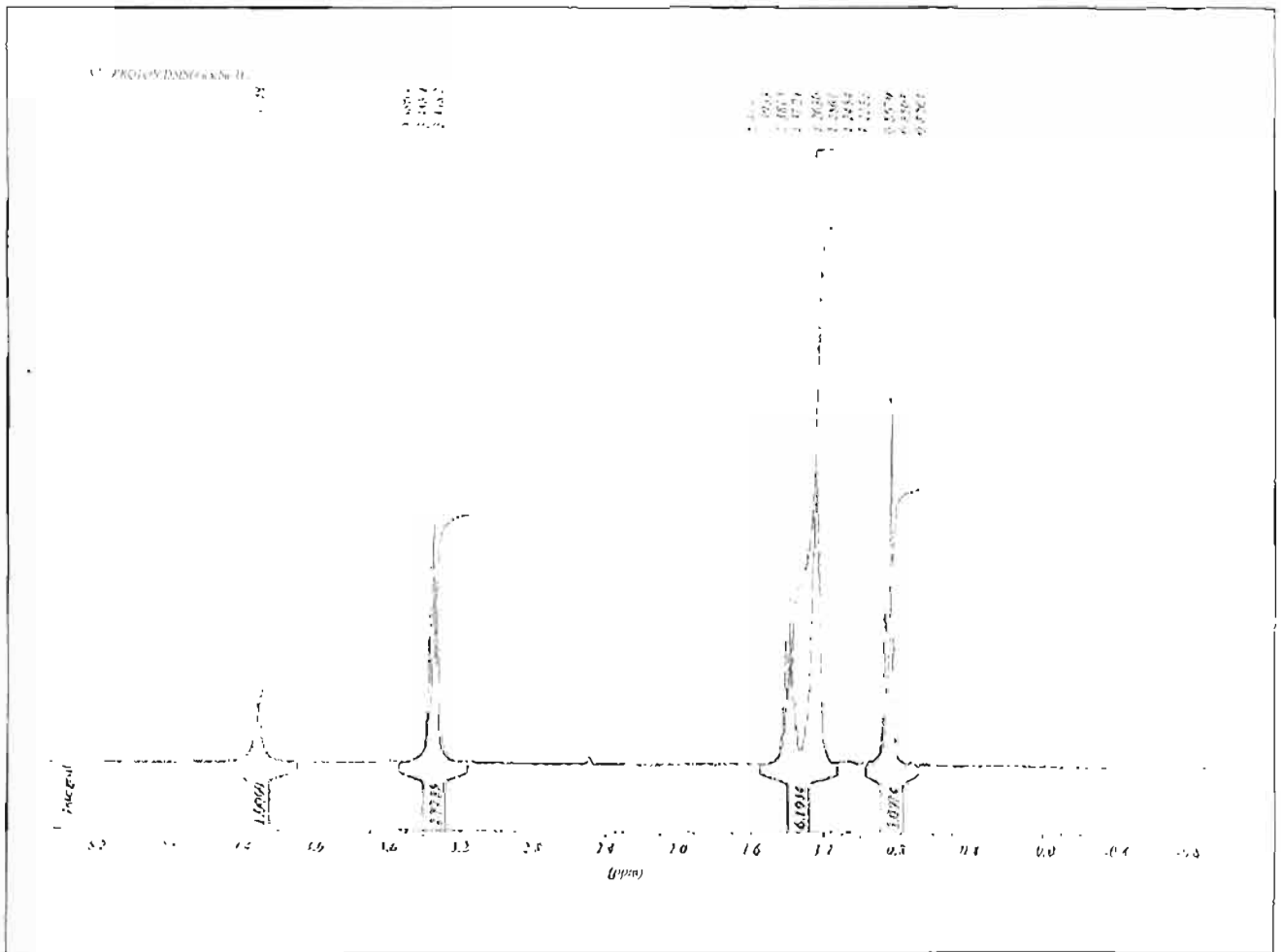


Figure 25: Spectre RMN du proton de x2

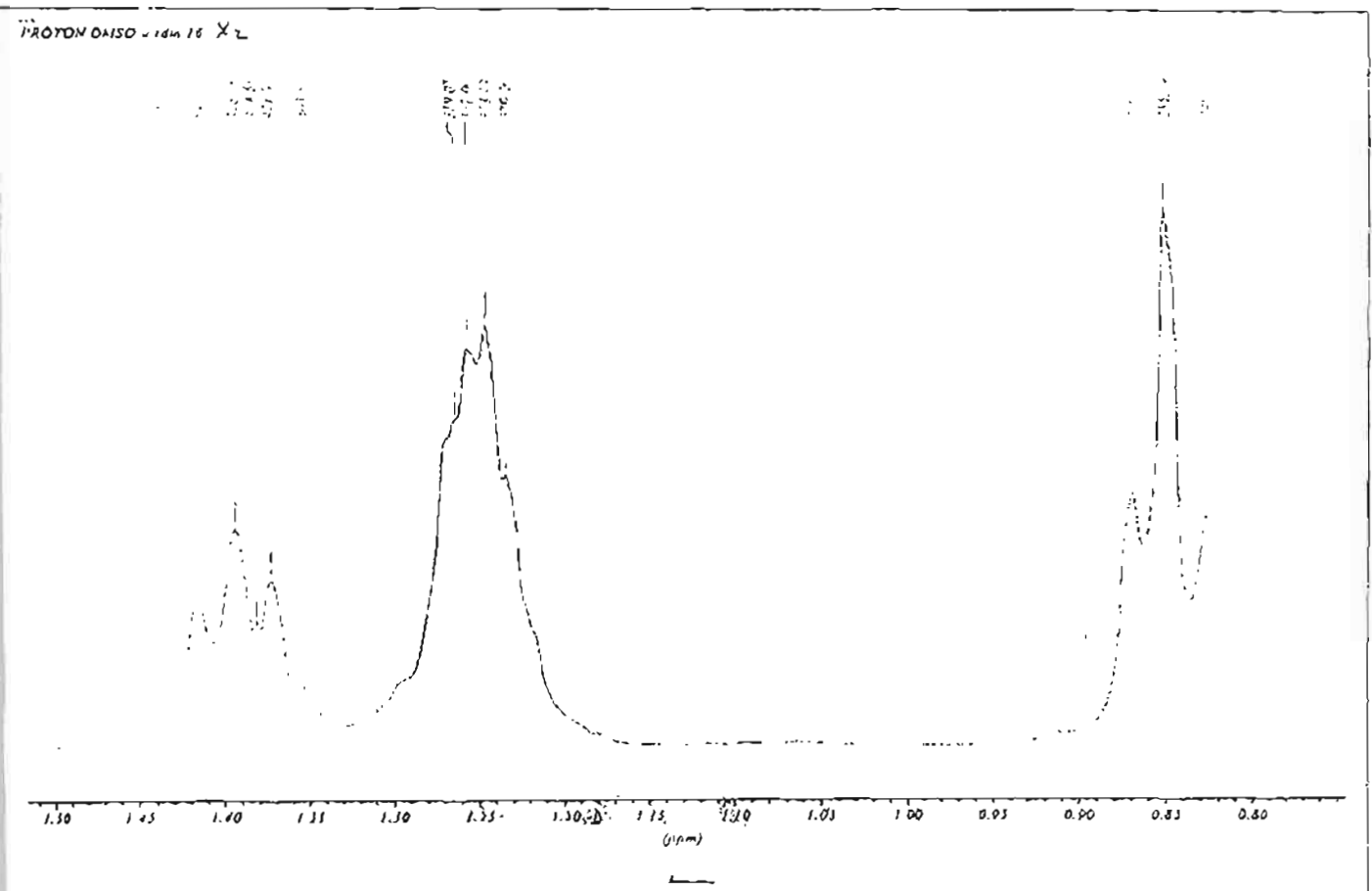


Figure 26 : Spectre RMN du proton de X2 (extension de la zone entre 0,8 et 1,5 ppm)

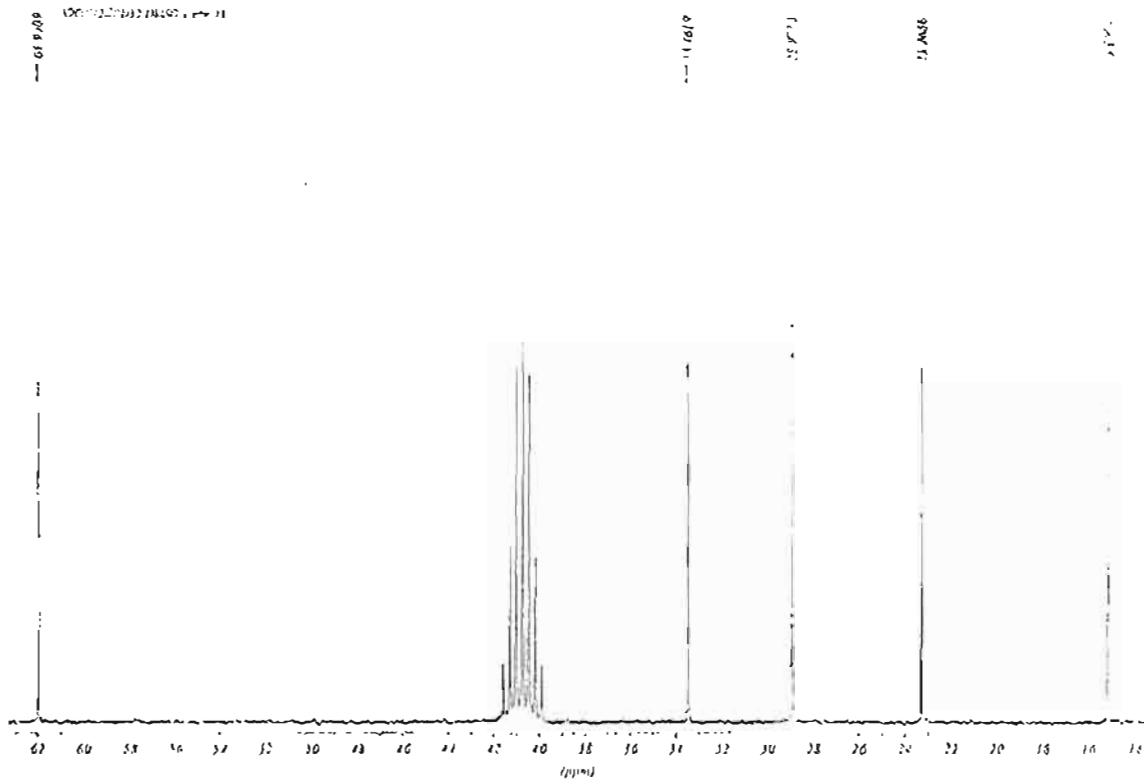


Figure 27 : Spectre RMN de carbone de 2

CHAPITRE V : INTERPRÉTATIONS ET DISCUSSIONS

5.1. INTERPRETATIONS DES SPECTRES

5.1.1. SPECTRES UV ET VISIBLE DE X1 ET DE X2

Les spectres électroniques de X1 et de X2 enregistrés à partir des spots sur plaques CCM ne présentent aucune bande d'absorption entre 200 et 800 nm. Cela indique l'absence d'insaturation dans le squelette de ces composés. Cependant, après action d'acide sulfurique et chauffage à 110°C les spectres électroniques de X1 et de X2 présentent trois (03) bandes d'absorption apparaissant à 290, 432 et 512 nm. Ces bandes semblent indiquer la présence de fonctions oxygénées saturées ou azotées qui réagissent facilement en milieu acide à chaud.

5.1.2. SPECTRE RMN DU PROTON DE X1

Le spectre RMN du proton de X1 est inexploitable. Il est composé d'une multitude de signaux étalés de 0,4 à 5,2 ppm.

5.1.3. SPECTRE RMN DU CARBONE 13 DE X1

Le spectre RMN de ^{13}C de X1 ne révèle la présence d'aucun carbone de 0 à 220ppm. Le composé X1 ne semble donc pas être un composé organique. D'autres investigations sont nécessaires pour identifier X1.

5.1.4. SPECTRE RMN DU PROTON DE X2

Le spectre RMN du proton de X2 est composé de signaux suivants :

- 4,30 ppm : un singulet élargi indiquant la présence d'une fonction alcool. L'intégration de ce signal conduit à une hauteur de 22 mm.
- 3,35 ppm : un triplet dont l'intégration indique 53 mm.

Ces deux premiers signaux sont caractéristiques d'une fonction alcool primaire dont la structure générale est $\text{R-CH}_2\text{-OH}$

- 1,40 ppm : un multiplet dont l'agrandissement permet d'identifier un signal composé de cinq pics. Ce quintuplet présente toutes les caractéristiques d'un groupe méthylène couplé à deux autres méthylènes magnétiquement différents l'un de l'autre. Les constantes de couplage sont en effet de 6,5 et 3,6 Hz. La multiplicité

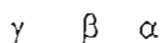
de ce signal semble, à l'agrandissement, respecter les proportions 1- 4 - 6 - 4 - 1 caractéristiques de la structure suivante X-CH₂-CH₂-CH₂-Y

- 1,25 ppm : un multiplet dont l'intégration est de 80 mm.

L'agrandissement de ce signal ne permet pas d'observer sa structure fine. Il est donc impossible d'avoir une certitude sur le nombre exact de pics composant ce signal ainsi que la valeur de toutes les constantes de couplage. On remarque toutefois que certaines constantes de couplage sont de l'ordre de 6,5 Hz tandis que d'autres sont de l'ordre de 3,6 Hz. Ce signal semble donc pouvoir être attribué à un groupe de quatre protons dont l'environnement magnétique est semblable.

- 0,82 ppm : un triplet déformé dont l'intégration est de 60 mm. Ce signal ne présente pas les caractéristiques d'un triplet ordinaire car ces constantes de couplage sont différentes. Tandis que l'une de ces constantes est 5,30 Hz, l'autre exhibe une valeur de 7,18 Hz. Tout semble indiquer la présence de deux doublets mal résolus. Un tel signal pourrait être attribué à un méthyl couplé à un seul proton CH₃-CH<

Le composé X2 semble donc répondre à la structure d'un alcool primaire saturé présentant au moins 5 types de proton. En tenant compte des proportions obtenues dans la courbe d'intégration des différents protons, on pourrait lui attribuer la structure : R-CH₂-CH₂-CH₂-OH. En effet, les constantes de couplages observées dans le spectre RMN du proton du composé X2 sont toutes comprises entre 0 et 8 Hz , ce qui prouve qu'il s'agit de couplage ³J d'un composé saturé comme :



R- CH₂-CH₂-CH₂-OH ainsi,

- Le singulet à 4,3 ppm pourrait être le signal du proton de fonction alcool.
 - Le triplet à 3,35 ppm est ainsi attribuable au méthylène portant la fonction alcool, soit le carbone α .
 - Le quintuplet à 1,40 ppm serait le signal du méthylène en β de la fonction alcool.
 - Le multiplet à 1,25 ppm et celui à 0,85 ppm correspondraient au groupe R et au méthylène en γ de la fonction alcool.
- En conclusion, le spectre RMN du proton de X2 semble indiquer que la structure de ce composé est de type : R-CH₂-CH₂-CH₂-OH

5.1.5. SPECTRE RMN DU CARBONE 13 DE X2

Le spectre RMN du carbone 13 de X2 est très simple, il est composé de cinq (05) signaux entre 62 et 11 ppm, confirmant ainsi l'absence d'insaturation dans X2. En effet, les carbones à l'état d'hybridation Sp^2 ($C=C$; $C=O$; $C=N...$) apparaissent entre 90 et 220 ppm selon la fonction présente. Dans le cas de X2, tous les signaux apparaissent en dessous de 65 ppm. On observe les signaux suivants :

- 61,25 ppm : un signal caractéristique de la fonction alcool – CH_2-OH ; le déplacement chimique de ce signal est une preuve supplémentaire de la présence d'une fonction alcool primaire $R-CH_2-OH$. Les autres signaux sont situés successivement à :
- 33,46 ppm
- 28,97 ppm
- 23,26 ppm
- 15,19 ppm

Tous les cinq signaux sont d'égale hauteur suggérant ainsi une chaîne peu ramifiée pour le composé X2, et la présence de cinq (5) carbones magnétiquement différents. Les informations issues de l'ensemble des spectres semblent indiquer que X2 serait de la forme $(C_5H_{12}O)_n$ ou plus précisément $(C_3H_7-CH_2-CH_2-OH)_n$.

En effet, on n'observe que cinq (5) types de carbone et la présence d'une fonction alcool primaire ; le composé étant saturé, on serait tenté de lui attribuer la structure simple de $C_5H_{12}O$. Cependant, le point de fusion de X2 est si élevé (264 à 267°C) qu'il nous semble plus raisonnable de considérer X2 comme étant un polymère symétrique à qui on attribuerait la formule brute $(C_5H_{12}O)_n$.

En tenant compte des résultats obtenus par l'analyse du spectre du proton et celui du carbone 13, X2 aurait pour formule : $(R-CH_2-CH_2-OH)_n$.

D'autres investigations notamment la microanalyse et les spectres IR et de masse sont nécessaires pour préciser la structure réelle de X2.

5.2. DISCUSSIONS

L'étude réalisée a consisté à isoler des inflorescences mâles de *Borassus aethiopicum*, deux substances antifongiques. En effet, une étude antérieure menée en 2001 par Gnanou [25] a permis de mettre en évidence l'activité antifongique de l'extrait au dichlorométhane - méthanol (1/1) : v/v) de la drogue et d'identifier F3 comme étant la fraction la plus active de cet extrait. C'est cette fraction que nous avons purifiée dans le but d'avoir des substances actives pures.

Ce travail a permis d'obtenir 2 substances blanchâtres X1 et X2 .

Nous pensons que les rendements pourraient être améliorés en utilisant des méthodes de séparation plus performantes. En effet, X1 et X2 étant très proches, leur séparation nécessite plusieurs éluions chromatographiques, ce qui a réduit le rendement.

Trichophyton soudanense s'est montré résistant aux composés X1 et X2. Ces composés ont montré une activité antifongique sur *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, et *Microsporium langeronii* à 12.5mg/ml. Notons qu'à 12,5 mg/ml, X1 et X2 étaient environ 1,1 fois moins actifs que F3 sur *T. rubrum* et environ 1,25 fois moins actifs que F3 sur *Microsporium langeronii*. Sur *Trichophyton interdigitale*, F3 a été moins active que X1 et X2. Nous pensons donc qu'il y a une addition d'effets entre X1 et X2. Etant donné que plus une substance non soluble dans l'eau est pure, plus sa solubilité est difficile, il se pourrait que nos solutions n'aient pas été bien solubilisées et donc que toute la quantité déposée n'ait pas diffusée. Aussi, nous avons utilisé le tween 80 qui est une grosse molécule pour cette solubilisation. Malgré le fait qu'il ne soit pas actif sur les germes testés, il pourrait réduire l'activité des substances X1 et X2. Nous proposons qu'à l'avenir, les solvants soient utilisés : le DMSO par exemple.

Trichophyton rubrum était l'espèce la plus sensible à cette substance. Pourtant, d'après l'étude menée par Gnanou [25], *Microsporium langeronii* serait l'espèce la plus sensible suivie de *Trichophyton rubrum*. Les souches des espèces de champignons testées sont les mêmes que celles utilisées par Gnanou [25] à l'exception des souches de *Microsporium langeronii*. Ceci pourrait expliquer la différence notée. Nous pensons

que la souche de *Microsporum langeronii* que nous avons utilisée est plus résistante que celle utilisée par Gnanou

Les courbes dose effet réalisées uniquement avec X2 montrent une activité dose dépendante de celle ci sur ces dermatophytes. La linéarisation de ces courbes a permis d'avoir des équations mathématiques qui pourraient être utiles à la standardisation d'une forme galénique. Le seuil de signification des diamètres d'inhibition étant 10mm [25], on peut dire que jusqu'à 0,78 mg/ml, l'activité de X2 est intéressante.

Après révélation au diphénylborinate de sodium à 2% dans l'éthanol de F3 éluée par le système de solvant S2, il y a en plus de la tâche jaunâtre caractéristique des flavonoïdes, une tâche qui disparaît rapidement. Cette tâche pourrait être la matérialisation de la présence des substances X1 et X2.

La révélation au $AlCl_3$ de F3, observée à l'U.V 366 nm montre, une fluorescence jaune caractéristique des flavonoïdes et juste en dessous, une fluorescence bleue qui correspondrait sans doute aux substances actives. Révélée au H_2SO_4 à 3% dans l'éthanol elle donne un spot de couleur vert brun

Aux vapeurs d'ammoniac, cette fraction ne donne qu'un spot jaunâtre caractéristique des flavonoïdes à un Rf égale à 0,6.

Les substances actives isolées donnent une réaction négative au diphénylborinate de sodium à 2% dans l'éthanol, à la cyanidine et aux vapeurs d'ammoniac. Révélées au H_2SO_4 à 3% dans l'éthanol elles donnent des spots très proches de couleur vert brun (Rf = 0,41 et 0,52) donnant l'aspect d'un spot unique. Ceci pourrait expliquer le fait que Gnanou [25] ait pensé que la fraction F3 ne donnait qu'un spot, celui correspondant à un flavonoïde. De ce qui précède, nous pouvons déduire que X1 et X2 ne sont pas des flavonoïdes. L'analyse spectrale de ces composés confirme qu'ils ne sont pas des flavonoïdes.

Vu la positivité des réactions de caractérisation des flavonoïdes de la fraction active on pourrait également penser que celle ci contenait en plus de X1 et X2, un composé qui se comporte comme un flavonoïde qui n'a pas pu être isolé. Etant donné que le composé qui se comporte comme un flavonoïde n'a pas pu être isolé ni testé, nous ne pouvons pas affirmer qu'elle est pourvue ou non d'activité antifongique. Il se pourrait qu'il soit également antifongique.

Cependant, nous ne pouvons confirmer l'hypothèse émise par Cinanou [25], hypothèse selon laquelle, l'activité antifongique de F3 serait liée essentiellement aux flavonoïdes.

L'ensemble des études spectrales réalisées sur X1 n'a pas permis de savoir beaucoup de choses sur la structure de ce composé. D'autres investigations sont nécessaires pour identifier X1.

L'ensemble des études spectrales réalisées sur X2 a permis de l'identifier comme étant un alcool primaire de formule probable : $(R-CH_2-CH_2-OH)_n$.

A notre connaissance, c'est la première fois qu'un alcool primaire a été isolé des inflorescences mâles de *Borassus aethiopum* et a montré une activité antifongique. Il faut donc que la structure de X2 soit déterminée de façon irréfutable pour pouvoir s'en servir pour la mise au point d'un nouveau médicament antifongique dont le contrôle de qualité sera aisé. Ce composé X2 pourrait être associé à X1 qui reste à identifier pour potentialiser cette activité antifongique.

CONCLUSION ET SUGGESTIONS

La présente étude nous a permis d'isoler des inflorescences mâles de *Borassus aethiopum*, deux substances X1 et X2 qui ont montré une activité antifongique à 12,5mg/ml sur *T. rubrum*, *T. interdigitale*, *M. langeroni*.

Le composé X2 a montré une activité dose dépendante sur *T. rubrum*, *T. interdigitale*, *M. langeroni*.

T. soudanense par contre, s'est montré résistante aux deux substances à toutes concentrations testées.

La caractérisation de ces substances nous a permis d'affirmer qu'elles ne sont pas de nature flavonoïdique. Il est donc clair que l'activité antimycosique du flavonoïde suspecté par Cinanou [25] reste toujours à vérifier.

Pour en savoir plus sur ces substances, nous avons effectué des études spectrales (UV et RMN) sur X2 qui ont montré que X2 serait un alcool primaire saturé de formule probable : $(R-CH_2-CH_2-OH)_n$.

Nous suggérons :

- que la spectrométrie de masse soit réalisée sur X2 en vue de la détermination de sa structure complète.

- que d'autres études spectrales soient entreprises sur X1 en vue de l'identification de cette substance qui, associée à X2 pourrait potentialiser l'activité antifongique..

- que des études toxicologiques, galéniques, et cliniques soient également menées pour la mise au point d'une forme galénique.

- qu'une synthèse ou une hémisynthèse d'antifongique biologiquement plus actif que X1 et X2 soit envisagé.

Nous suggérons aussi de rechercher dans les inflorescences mâles de *Borassus aethiopum*, d'autres principes qui pourraient être associés à ceux que nous avons isolé en vue de potentialiser l'activité antifongique ou d'y ajouter une activité anti inflammatoire.

Les flavonoïdes étant connus comme possédant les activités anti inflammatoires, antifongiques et vitaminiques P, il serait intéressant d'isoler la substance qui se comporte comme un flavonoïde et vérifier si elle possède ces activités.

BIBLIOGRAPHIE

1. Adjanohoun E.J., Ahyi M.R.A., Ake A.L., Akpagana K., Eladji A., Eyme J., Chibon P., Garba M., Gassita J.N., Gbeassor M., Goudote E., Guinko S., Hodouto K.K., Houngnon P., Keita A., Kéoula Y., Klouga-Ocloo W.P., Taffame K.K.

Médecine traditionnelle et pharmacopée: contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. Paris: ACCT, 1986: 672.

2. Adjanohoun E.J., Ake A.L., Baniakina J., Chibon P., Cusset G., Doulou V., Ezana A., Eyme J., Goudote E., Keita A., Mbeimba C., mollet J., Moustamboté J.M., Mpati J., Sita P.

Médecine traditionnelle et pharmacopée: contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Congo. Paris: ACCT, 1988: 605.

3. Arnaud P.

Cours de chimie organique. Paris : Gauthier villars, 1985: 505.

4. Baba-Moussa F., Akpagana K., Bouchet P.,

Antifungal activities of seven west african Combretaceae used in traditional medicine *journal of ethnopharmacology* 1999; 66: 335-338.

5. Baba-Moussa F., Akpagana K., Bouchet P., Koumaglo k., Ayedoun A., Moudachirou M.

Activité antifongique d'huiles essentielles extraites au Bénin et au Togo. *Cryptogamie, Mycol.* 1997; 18(2) : 165-168.

6. Badillet G., Traoré F.

Dermatophytes et sérologie H.I.V. positive. *Bull. Soc. Fr. Mycol. Med* 1987 ; 16(1). 41-52.

7. *Bep O.B*

Medecinal plants in tropical west africa. 1st ed; London Cambridge university press, 1986: 375.

8. *Berhaut J*

Flore du Sénégal. 2^e ed. Dakar: Gouverneur du Sénégal Clairafrique, 1967: 485.

9. *Berhaut J*

Flore illustrée du Sénégal. Tome IX. Paris: Maisonneuve. 1988: 523.

10. *Bouchet Ph.*

Abrégé de cryptogamie. Paris : masson, 1979 : 207.

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

Abrégé de mycologie générale et médicale. Paris : Masson. 1989 : 279.

12. *Bouré P.*

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

13. *Bouré P.*

Dictionnaire de parasitologie. Paris: Marketing, 1989:121.

14. *Bruneion J*

Pharmacognosie: pytochimie, plantes médicinales. 2^eed. Paris: Techniques et Documentation, Lavoisier, 1993: 915.

15. *Brunel J.F., Hiekpo P., Scholw H.*

Flore analytique du Togo: Phanérogames. Eschborn: G T Z, 1984: 551.

16. *Compaoré L.*

Etude des teignes du cuir chevelu en milieu scolaire dans la ville de Ouagadougou.
Thèse de doctorat en médecine. Université de Ouagadougou, 1993: 66 P.

17. *Crété P.*

Précis de botanique: Systématique des angiospermes. Tome II. Paris: Masson, 1965:
429.

18. *Cronquist A.*

An integrated system of classification of flowering plants, the New York botanical
garden. USA: Columbia university press, 1981:1262.

19. *Domart A., Bourneuf J.*

Nouveau Larousse médical. Paris, 1987:1142.

20. *Dorosz P.*

Guide pratique des médicaments. 18^eed. Paris : Maloine, 1998: 215-244.

21. *Dubernel L.*

Thérapeutique dermatologique. Paris : Flammarion, 1993:142-148.

22. *Esterre P., Boiron P., Agis F*

Bilan des mycoses humaines rencontrées en Guadeloupe années 1963 à 1982. Bull.
Soc. Path. Ex.1983; 76: 761-765.

23. *Fattorusso V., Ritter o.*

Vademecum clinique : du diagnostic au traitement 14^eed. Paris : Masson. 1986: 61-69.

24. *Giroud J.P., Mathe C., Meyniel G.*

Pharmacologie clinique : Base de la thérapeutique. 2^eed. Pais: Maury, 1988: 2352.

25. *Gnanou D.*

Contribution à l'étude de l'activité antifongique de *Borassus aethiopum* Mart (arecaceae). Thèse de pharmacie. Université de Ouagadougou, 2001: 66p.

26. *Guiguemé T.R., Tapsoba G.P., Paré J.L., Sawadogo O*

Données préliminaires sur les mycoses cutané-phanériennes à Ouagadougou. Médecine tropicale. 1992: 52, 151-155.

27. *Guillemonat A., Traynard J.C.F.*

Chimie organique. Paris: Armand Colin, 1969: 307.

28. *Guyot M.*

La systématique des angiospermes: Référence à la flore du Togo. Lomé: Editogo, 1992: 217.

29. *Graf B.A.*

Tropical color cyclopedia of exotic plants and trees for warm. 2nd ed. USA: company, 1981: 1336.

30. *Grigoriu D., Delacrtaz J., Borelli D*

Traité de mycologie médicale. 2^eed. Paris: Payot Lausanne, 1986: 492.

31. *Grisvard P., Chaudin V., Chouard P., Guillomin A.*

Le bon jardinier: encyclopédie horticole. Tome II. 152^eed. Paris: La maison rustique. 1992: 1667.

32. *Hamon M., Pellerin F., Guernet N., Mahuzier G.*

Abrégé de chimie analytique. Tome III. Méthode spectrale et analyse organique. Paris: Masson, 1990: 266.

33. Hamon M., Mahuzier G.

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

34. Iwu M.M.

Handbook of african medicinal plants. London: C.R.C. press, 1993: 401.

35. John D., Marjorie C.

Chimie organique moderne. Paris: interedition, 1985: 877.

36. kaianda K., Bolamba k.

Contribution à la connaissance des plantes médicinales du haut Zaire. Les plantes utilisées contre les maladies de la peau à Kisangani. Med. Pharm. Afr. 1994; 8(2): 179-186.

37. Kaboré W. N. R.

Contribution à l'étude structurale d'un principe antifongique isolé de *Mitracarpus scaber* Zucc. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Ouagadougou, 1999: 52P.

38. Kambou Y.S.

Contribution à l'étude de l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber* zucc (rubiaceae). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Ouagadougou, 1999: 58 P.

39. Kerharo J., Adam J.G.

La pharmacopée sénégalaise traditionnelle: plantes médicinales et toxiques. Paris: Vigot frères, 1974: 1011.

40. Krämer R.P., Hindorf H., Jahh C., Kallage J., Zilliken F.

Antifungal activity of soybean and chickpea isoflavonoïdes and their reduced derivatives. phytochemistry. 1984: 23(10). 2203-2205.

41. *La rivière M., Beauvais B., Deroin F., Traoré F.*

Parasitologie médicale. Paris, 1987: 238.

42. *Laszlo P., Slang P.J.*

Spectroscopie organique. Paris : Hermann, 1972 : 377.

43. *Letouzey R.*

Manuel de botanique forestière Afrique tropicale. Tome II B. Paris, 1983: 461.

44. *Levisalles J., Castro B., Jozefowicz M.*

Chimie organique, médecine-science. 2^e ed . Paris: Flammarion, 1986: 273.

45. *Mestre-Deharo C., Berbis P., Regli P., Goudar M. Privat Y*

Incidence des dermatophytes d'importation à Marseille: bilan de 3ans d'activité d'un laboratoire hospitalier de mycologie. *Ann. Dermatol. Vénérol* 1989; 116: 489-490

46. *Mizobuchi S., Sato y.*

A new flavone with antifungal activity isolated from hops.agricultural and biological chemistry.1984: 48(11), 2771-2775.

47. *Nacoulma O.O.G.*

Plantes médicinales et pratiques traditionnelles au Burkina Faso cas du plateau central. TomeI . Doctorat ès sciences naturelles: Université de Ouagadougou.1996: 320 P.

48. *Nacoulma O.O.G.*

Plantes médicinales et pratiques traditionnelles au Burkina Faso : cas du plateau central. TomeII. Doctorat ès sciences naturelles: Université de Ouagadougou.1996: 285 P.

49. *Ntsame-Obame S., Badiane M., Daffe B. M., Richard Temple A., Diallo S., Lo I*
Plante de la pharmacopée sénégalaise: activité antifongique "in vitro" des folioles de
diverses espèces sénégalaises du genre *Cassia*:
Cassia alata L., *Cassia sieberiana* D.C., *Cassia occidentalis* L., *Cassia tora*.
(caesalpinaceae) med. Pharm. Afr. 1991; 5(1): 49-54.
50. *O'fel A.*
Parasitologie, mycologie: maladies parasitaires et fongiques. Association de
professeurs de parasitologie. 3^e ed. Paris: C et R., 1982: 349.
51. *O'neill T.M., Mansfield J.W.*
Antifungal activity of hydroxy flavans and other flavonoids. Transaction of the British
mycological society. 1982; 79(2): 229-237.
52. *Othman T., Vachet C.*
Les teignes du cuir chevelu en Egypte. *Bull. Soc. Path. Ex* 1938; 76: 126-128
53. *Pequignot H.*
Pathologie médicale. 2^e ed. Paris, New York, Barcelon, Milan, 1979: 1713.
54. *Radji P.A.R.*
Contribution à l' étude de la diversité floristique du Togo: flore horticole de la ville de
Lomé et ses aspects économiques. Mémoire de D.E.A.. Lomé: F.D.S., 1997. 55 P.
55. *Sayag J.*
Trichophyton: Un siècle de progrès. *Ann. Dermatol. Vénérol.* 1989; 116: 947-954 .
56. *Stentoft M.*
Flowering plants in west Africa. London: Cambridge university press, 1988: 344.
57. *Silverstein R. M., Bassier C. G., Terrence C. M.*

Spectrometric identification of organic compounds .4th ed. New York: John & Willey sons. 19: 435.

58. *Testa J., Kaimba C., Delmon J.*

Traitement traditionnel des teignes en R.C.A. *Med. Pharm.Afr.* 1991; 5(2): 51-54

59. *Tourte-Schaefer C., Duponty-Camet J., Vicens I., Viguié C., Ancelle T., Agbo K., Lapierre J.*

Aspect épidémiologique des teignes du cuir chevelu au Togo. *Bull. Soc. Path. Ex.* 1991; 84: 674-673.

60. *Viguié-vallanet C.*

Les teignes *Ann. Dermatol. Venerol.* 1999; 126: 349-56.

61. *Von Maydel H.J.*

Arbres et arbustes du sahel: leur caractérisation et leur utilisation. Office allemande de coopération technique: eschborn: G.T.Z., 1938: 531.

62. *Weber F., Hosking M.A.*

Agroforestry in the sahel. Virginia: Blacksburg, 1983: 18-20.

RESUME

Notre étude a consisté à l'isolement de deux substances X1 et X2 des inflorescences mâles de *Borassus aethiopum*, à la mise en évidence de leur activité antifongique et à leur caractérisation, ceci dans le but de contribuer à la mise au point et au contrôle de qualité d'un éventuel nouveau médicament. *Borassus aethiopum* est une plante utilisée au Burkina Faso comme substance antimycosique.

Aussi, est il de plus en plus utilisé par les tradipraticiens Burkinabè dans les remèdes contre les mycoses du sida.

Une étude réalisée au Burkina en 2001 par Gnanou [25] avait permis de mettre en évidence, une activité antifongique d'une fraction isolée de l'extrait au dichlorométhane-méthanol (1/1 : v/v) des inflorescences mâles de *Borassus aethiopum* sur certains dermatophytes, et de soupçonner les flavonoïdes comme étant responsables de cette activité.

C'est dans le souci d'isoler la substance responsable de cette activité et de l'identifier que nous avons procédé à la purification de la dite fraction.

Nous avons pu isoler deux substances qui se sont montrées actives sur *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale* et *Microsporum langeronii* et inactive sur *Trichophyton soudanense* (notons que les souches utilisées sont les mêmes que celles utilisées par Gnanou [25] à l'exception de *Microsporum langeronii*) à la concentration de 12.5mg/ml. Les courbes dose/effet réalisées avec X2 ont montré une activité dose dépendante de celle ci.

La caractérisation de ces substances a montré qu'aucune d'elle n'étaient de nature flavonoïdique. Cependant il se pourrait que le flavonoïde présent dans la fraction active ait également une activité antifongique comme l'avait pensé Gnanou [25] mais cette hypothèse reste à vérifier.

Les études spectrales réalisée sur X2 ont permis de l'identifier comme étant un alcool primaire de formule générale probable : $(R-CH_2-CH_2-OH)_n$. Ce travail pourrait donc contribuer à la mise au point et au contrôle de qualité d'un nouveau médicament antifongique.

MOTS CLES : Inflorescences mâles de *Borassus aethiopum*, spectrométrie RMN du proton et du carbone13, alcool primaire $(R-CH_2-CH_2-OH)_n$, activité antifongique.

Auteur : KANKARTI A. Cherifa E-MAIL : kcherifa@yahoo.com

SUMMARY

Our study consisted in the isolation of two substances x1 and x2 from male inflorescences of *Borassus aethiopum*, in the highlighting of their antifungal activity and with their characterization, this aim is to contribute in the setting of a new drug and the control of its quality.

Borassus aethiopum is a plant used in Burkina Faso as antimycotic substance. It is also more and more used by Burkinabè traditional healers in the remedies against the mycoses of AIDS.

A study carried out in Burkina in 2001 by Gnanou [25] gave opportunity to highlight an antifungal activity of a portion isolated from the extract with the dichloromethane-methanol (1/1 : v/v) of the male inflorescences of *Borassus aethiopum* on some dermatophytes, and to suspect the flavonoids as being responsible for this activity.

The aim of isolating the substance responsible for the antifungal activity and identifying it made us purify this one . We have been able to isolate two substances which were active on *Trichyton rubrum*, *Trichyton interdigital* and *Microsporum langeronii* and inactive on *Trichyton soudanense* (let's note that the stocks used are the same as those used by Gnanou [25] except *Microsporum langeronii*) with the concentration of 12.5mg/ml. The dose/effect curves carried out with x2 showed an activity proportions dependent on this one.

The characterisation of these substances showed that none of them was flavonoid. However the flavonoid existing in the active fraction may also have an antifungal activity as Gnanou [25] was thinking but this assumption which seems not very probable according to us is to be checked.

The spectral studies performed on x2 made it possible to identify it as primary alcohol of probable formula : $(R-CH_2-CH_2-CH_2-OH)_n$.

Therefore, this work could contribute in setting of a new drug and the control of its quality.

Keywords : Male inflorescences of *Borassus aethiopum*, RMN spectre of proton and ^{13}C , primary alcohol, antifungal activity.

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 instruite 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 couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.


Vu et permis d'imprimer

Le Directeur de thèse



0050636

Le Président du Jury



Le Sita Quinto S

Vu
Le Directeur

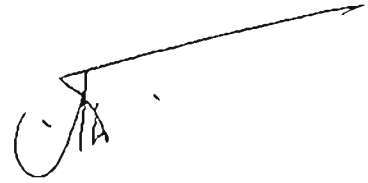
Vu et permis d'imprimer

Le Directeur de thèse



J. KOUSSOGBO

Le Président du Jury



Le Jita Quinto

Vu
Le Directeur