

BURKINA FASO

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

=o=o=o=o=o=o=
Faculté des Sciences
F.S.S.
de la Santé

Année universitaire 1998-1999

Thèse N°17

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ACTIVITE
ANTIFONGIQUE DE *Mitracarpus scaber* Zucc
(Rubiaceae)**

THESE :

Présentée et soutenue publiquement le 19 février 1999
Pour l'obtention du grade de **Docteur en PHARMACIE**
(DIPLÔME D'ETAT)

Par

KAMBOU Yéri Sonia Edwige
Née le 05 novembre 1973 à Fada N'gourma (Burkina Faso)

JURY :

Directeur de thèse :
Pr. Blaise KOUDOGBO
Co-Directeur :
Dr. Lady K. Marcelle TRAORE

Président : **Pr. Mamadou BADIANE**
Membres : **Pr. Blaise KOUDOGBO**
Dr. Adama TRAORE
Dr. Jean-Baptiste NIKIEMA



AIMES ET FAIS CE QUE TU VEUX.

SAINTE AUGUSTIN

LISTE DU PERSONNEL

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

Faculté des Sciences de la Santé
(F.S.S.)

LISTE DU PERSONNEL ADMINISTRATIF

Doyen	Pr. Robert B. SOUDRE
Vice-Doyen Chargé des Affaires Académiques et Directeur de la Section Pharmacie (VDA)	Pr . I. Pierre GUISSOU
Vice-Doyen à la Recherche et à la vulgarisation (VDR)	Pr . Ag. Jean KABORE
Directeur des Stages de la Section Médecine	Pr. Ag. Y. Joseph DRABO
Directeur des Stages de la Section de Pharmacie	Dr OUEDRAOGO / Rasmata TRAORE
Coordonnateur C.E.S. de Chirurgie	Pr. Amadou SANOU
Secrétaire Principal	Mr TRAORE Fakouo
Chef de Service Administratif et Financier (CSAF)	Mr Mohamed Ousman ZONGO
Conservateur de la Bibliothèque	Mr Salif YADA
Chef de la Scolarité	Mme Kadi ZERBO
Secrétaire du Doyen	Mme Mariam DICKO
Secrétaire du VDA	Mme KABRE Hakiéta
Secrétaire du VDR	Mme BONKIAN Edwige

Audiovisuel	Mr Alain Pascal PITROIPA
Reprographie	Mr Philippe BOUDA
Service Courrier	Mr Ousmane SAWADOGO

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA

F.S.S.

ENSEIGNANTS PERMANENTS

Professeurs titulaires

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

Professeurs associés

Ahmed BOU-SALAH	Neuro-chirurgie
Blaise KOUDOGBO	Toxicologie

Maîtres de Conférences

Julien YILBOUDO	Orthopédie -Traumatologie
-----------------	---------------------------

Kongoré Raphaël OUEDRAOGO	Chirurgie -Traumatologie
François René TALL	Pédiatrie
Jean KABORE	Neurologie
Joseph Y. DRABO	Médecine Interne/Endocrinologie
Blaise SONDO	Santé Publique
Jean LANKOANDE	Gynécologie-Obstétrique
Issa SANOU	Pédiatrie
Ludovic KAM	Pédiatrie
Adama LENGANI	Néphrologie
Omar TRAORE N°1	Chirurgie
Kampadilemba OUOBA	Oto Rhino Laryngologie
Piga Daniel ILBOUDO	Gastro-entérologie
Albert WANDAOGO	Chirurgie Générale
<u>Maîtres-Assistants associés</u>	
Rachid BOUAKAZ	Maladies infectieuses
<u>Assistants associés</u>	
Caroline BRIQUET	Chimie -Analytique, Pharmacologie et Toxicologie
Valérie MURAILLE	Galénique et Chimie-Analytique
<u>Maîtres-Assistants</u>	
Lady Kadidiatou TRAORE	Parasitologie
Mamadou SAWADOGO	Biochimie
Si Simon TRAORE	Chirurgie
Adama TRAORE	Dermatologie Vénérologie
Abdoulaye TRAORE	Santé Publique

Daman SANO	Chirurgie Générale
Arouna OUEDRAOGO	Psychiatrie
Joachim SANOU	Anesthésie-Réanimation
Patrice ZABSONRE	Cardiologie
Jean Gabriel OUANGO	Psychiatrie
Georges KI-ZERBO	Maladies Infectieuses
Théophile TAPSOBA	Biophysique
Rabiou CISSE	Radiologie
Blami DAO	Gynécologie Obstétrique
Alain BOUGOUMA	Gastro-Entérologie
Boubacar TOURE	Gynéco-Obstétrique
Michel AKOTIONGA	Gynécologie-Obstétrique
Rasmata OUEDRAOGO/TRAORE	Bactério-Virologie

Assistants Chefs de cliniques

Tanguet OUATTARA	Chirurgie
Sophar HIEN	Chirurgie - Urologie
Timothée KAMBOU	Chirurgie
Philippe ZOURE	Gynécologie-Obstétrique
T.Christian SANOU (in memoriam)	Oto Rhino Laryngologie
Madi KABRE	Oto Rhino Laryngologie
Doro SERME (in memoriam)	Cardiologie
Hamadé OUEDRAOGO	Anesthésie-Réanimation physiologie
Alexis ROUAMBA	Anesthésie-Réanimation physiologie
M. Théophile COMPAORE	Chirurgie

Y. Abel BAMOUNI	Radiologie
DAO / Maïmouna OUATTARA	ORL
Alain ZOUBGA	Pneumologie
André K. SAMANDOULOGOU	Cardiologie
KYELEM / Nicole Marie ZABRE	Maladies Infectieuses
Rigobert THIOMBIANO	Maladies Infectieuses
Raphaël DAKOURE	Anatomie-Chirurgie

Assistants

Robert O. ZOUNGRANA	Physiologie
Seydou KONE	Neurologie
Bobliwendé SAKANDE	Anatomie-Pathologique
Raphaël SANOU (in memoriam)	Pneumo-phtisiologie
Oumar TRAORE N°2 (in memoriam)	Radiologie
Pingwendé BONKOUNGOU	Pédiatrie
Arsène M. D. DABOUE	Ophtalmologie
Nonfounikoun Dieudonné MEDA	Ophtalmologie
Athanase MILLOGO	Neurologie
Boubacar NACRO	Pédiatrie
Vincent OUEDRAOGO	Médecine du Travail
TRAORE / BELEM Antoinette	Pédiatrie
DA S. Christophe	Chirurgie
KARFO Kapouné	Psychiatrie
NIANKARA Ali	Cardiologie
OUEDRAOGO Nazinigouba	Réanimation
SANON Aurélien Jean	Chirurgie
SORGHO / LOUGUE Claudine	Radiologie
YE / OUATTARA Diarra	Pédiatrie
ZANGO Bernabé	Chirurgie
NIKIEMA Jean Baptiste	Pharmacognosie

Assistants Biologistes des Hôpitaux

Lassina SANGARE	Bactério-Virologie
-----------------	--------------------

Idrissa	SANOUC	Bactério-Virologie
Harouna	SANON	Hématologie/Immunologie

ENSEIGNANTS NON PERMANENTS

Faculté des Sciences et Techniques (FAST)

Professeurs Titulaires

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

Maîtres de Conférences

Boukary	LEGMA	Chimie-Physique Générale
François	ZOUGMORE	Physique
Patoin Albert	OUEDRAOGO	Zoologie
Adama	SABA	Chimie Organique
Philippe	SANKARA	Cryptogamie

Maîtres-Assistants

W. GUENDA	Zoologie
Léonide TRAORE	Biologie Cellulaire
Marcel BONKIAN	Mathématiques et Statistiques
Longin SOME	Mathématiques et Statistiques
Aboubakary SEYNOU	Statistiques

Makido B. OUEDRAOGO	Génétique
Jean KOULIDIATY	Physique

Assistants

Apolinaire BAYALA (in memoriam)	Physiologie
Jeanne MILLOGO	T.P. Biologie-Cellulaire
Raymond BELEMTOUGOURI	T.P. Biologie Cellulaire
Gustave KABRE	Biologie
Drissa SANOU	Biologie Cellulaire

Institut du Développement Rural (IDR)

Maîtres de Conférences

Didier ZONGO	Génétique
Georges Annicet OUEDRAOGO	Biochimie

Faculté des Sciences Economiques et de Gestion (FASEG)

Maître-Assistant

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

Assistants

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

Faculté de Droit et Sciences Politiques (FDSP)

Assistants

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

ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mme Henriette BARY	Psychologie
Boukari Joseph OUANDAOGO	Cardiologie

Aimé OUEDRAOGO	Ophtalmologie
R. Joseph KABORE	Gynécologie-Obstétrique
Saïdou Bernard OUEDRAOGO	Radiologie
Dr Bruno ELOLA	Anesthésie-Réanimation
Dr Michel SOMBIE	Planification
Dr Nicole PARQUET	Dermatologie
M. GUILLRET	Hydrologie
M. DAHOU (in mémoriam)	Hydrologie
Dr Bréhima DIAWARA	Bromatologie
Dr Annette OUEDRAOGO	Stomatologie
Dr Adama THIOMBIANO	Législation Pharmaceutique
Dr Sidiki TRAORE	Galénique
Mr Mamadou DIALLO	Anglais
Mr KPODA	Anglais
Dr Badioré OUATTARA	Galénique
Dr Tométo KALOULE	Médecine du Travail
Dr Alassane SICKO	Anatomie
Dr Aline TIENDREBEOGO	Chimie Analytique et contrôle médic.
Dr Séni KOUANDA	Santé Publique
Dr Noël ZAGRE	Nutrition
Dr TRAORE / COULIBALY	Biochimie
Maminata	
Dr Seydou SOURABIE	Pharmacognosie

ENSEIGNANTS MISSIONNAIRES

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

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

O.M.S.

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

Mission Française de Coopération

Pr. Etienne FROGE	Médecine Légale
Pr AYRAUD	Histologie-Embryologie
Pr. Henri MOURAY	Biochimie (Tours)

Pr. Denis WOUESSI DJEWE

Pharmacie Galénique (Grenoble /
France)

Pr. M. BOIRON

Physiologie

Mission de l'Université Libre de Bruxelles
(ULB)

Pr. Marc VAN DAMME

Chimie Analytique-Biophysique

Pr. Viviane MOES

Galénique

A NOS MAÎTRES ET JUGES

A notre Maître et Président de jury

Professeur Mamadou BADIANE
Enseignant de Chimie thérapeutique

Nous avons toujours eu de l'admiration pour vos qualités humaines et scientifiques. Avec gentillesse, vous avez accepté de juger ce travail.

Nous vous en remercions et vous exprimons notre profonde gratitude et notre attachement respectueux.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Blaise KOUDOGBO
Enseignant de Toxicologie

Nous avons hautement apprécié votre simplicité, vos qualités humaines et votre amour pour la travail bien fait. Nous espérons que ce travail répondra à vos attentes.

Nous vous assurons de notre déférence et de notre profonde gratitude.

A notre Maître et Co-directrice

Docteur Lady Kadiatou Marcelle TRAORE
Enseignante de parasitologie et de mycologie

Vous avez accepté avec gentillesse la co-direction de ce travail et cela malgré vos multiples occupations.

Permettez-nous de vous adresser notre sincère reconnaissance et nos vifs remerciements.

A notre Maître et Juge

Docteur Adama TRAORE
Enseignant de dermatologie

Nous vous savons gré de l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger parmi ce Jury. Nous avons suivi avec un très grand intérêt vos cours de dermocosmétologie.

Nous vous prions d'accepter nos sincères remerciements.

A notre Maître et Juge

Docteur Jean-Baptiste NIKIEMA
Enseignant de Pharmacognosie

Vos qualités humaines, votre simplicité, votre disponibilité font de vous un homme toujours prêt à aider.

Veillez trouver ici, le témoignage de notre profonde reconnaissance.

DEDICACES

A mon Papa bien aimé

En reconnaissance des nombreux sacrifices que tu as consentis pour moi.
Tu as su me guider tout au long de mon parcours.

Trouve ici, l'expression de mon amour indéfectible.

A mon adorable Maman

Puisse cette thèse être la juste récompense de tous ces efforts dont je te serais éternellement reconnaissante.

Trouve ici, tout l'amour que j'ai pour toi.

A Serge et Sylvie

Restons toujours unis. J'espère avoir été un bon exemple pour vous, et compte sur vous pour faire plus que moi. Affections.

A mes grands-parents

Toute mon affection et merci pour tout.

A mes oncles et tantes

Vous m'avez fait confiance à tout moment. J'espère avoir répondu à vos attentes.

Aux grandes familles KAMBOU et DIARRA

Avec toute mon affection.

A GALADIMA Daniël

Merci pour ton indéfectible soutien.

A mes Amis

Amy, Armand, Axelle, Christian, Christelle, Claudette, Clément, Cyr, Cyrille, Djénébou, Edwige, Eric, Francis, Germain, Jean-Marc, Jo, Jocelyne, Joëlle, Judith, Henriette, Safi, Simone, Seydou, Solange, Soul, Sonia, Nicole, Tamboura, Valérie, Yasmina, Yolande.

Merci pour votre soutien.

A mes promotionnaires

Pour le chemin laborieux parcouru ensemble.

REMERCIEMENTS

A NARE Valérie

Ce travail aurait été difficile sans toi. Merci

A AOUBA Cyr et BANDRE Francis

Vous m'avez été d'un grand secours pour l'impression et les photocopies de cette thèse. Merci.

Au Professeur BASSENE Emmanuel

Merci de m'avoir guider pour la finalisation de ce travail. Nous vous en serons reconnaissant.

Au Professeur WOUESSI Denis

Vos qualités humaines et scientifiques font de vous un homme remarquable. Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi dans le but de faciliter mon inscription en Dermocosmetologie.

A KONE Moussa et son personnel

Vous m'avez permis de saisir ma thèse chez vous, merci.

A Tonton Moussa et Tanti Maman

Merci pour votre aide précieuse.

A Tonton Jean La Croix

Merci.

A Tout le personnel de l'IRSS

Vous m'avez si souvent dépanné pour les solvants. Merci Yaro.

A l'Université Libre de Bruxelles

Le matériel reçu nous a permis d'effectuer ce travail.

Au personnel du Laboratoire du CHN - YO

Et en particulier le personnel du laboratoire de bactériologie (M^{me} Ouedraogo, Sanou, M^{me} Ibouido, Diabate, Lompo). Merci pour votre soutien.

A Chantal

Merci pour ton aide.

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

ABREVIATIONS

CHN-YO : *Centre hospitalier National Yalgado Ouédraogo*

CH₂CL₂ : *Dichlorométane*

CH₃OH : *Méthanol*

FSS : *Faculté des Sciences de la Santé*

M : *Microsporum*

RF : *Référence Frontale*

SBCL₃ : *Trichlorure d'antimoine*

T : *Trichophyton*

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....1

GENERALITES 2

PREMIERE PARTIE :GENERALITES SUR LES DERMATOPYTES

1-DEFINITIONS-----2

2-CLASSIFICATION DES DERMATOPHYTES -----2

3- EPIDEMIOLOGIE -----3

3-1 Sources de contaminations----- 3

3-2 Répartition géographique et fréquence----- 3

4-LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE-----4

4-1 LE PRÉLÈVEMENT -----4

4-2 L'examen direct.....5

4-3 La culture----- 5

4-4 Identification ----- 6



5-LE TRAITEMENT ANTIFONGIQUE..... 6

5-1-Définition des antifongiques----- 6

5-2-Les moyens ----- 6

DEUXIEME PARTIE : GENERALITES SUR *Mitracarpus scaber* (zucc)

1-SYNONYME -----6

2-NOMS VERNACULAIRES-----6

**3-SITUATION DE *Mitracarpus scaber* (zucc) DANS LE
REGNE VEGETAL.....6**

4-DESCRIPTION BOTANIQUE -----6

4-1 Port ----- 6

4-2 Feuilles----- 6

4-3 Fleurs----- 6

4-4 Graines----- 6

5-DISTRIBUTION -----6

6-USAGES TRADITIONNELS-----6

**7-RAPPELS SUR LA CHIMIE DE *Mitracarpus scaber* (zucc)
-----6**

**8- RAPPELS SUR LA PHARMACOLOGIE DE *Mitracarpus scaber*
(zucc)13**

OBJECTIFS.....	15
-OBJECTIF GENERAL -----	6
2-OBJECTIFS SPECIFIQUES -----	6
METHODOLOGIE.....	17
1-CADRE D'ETUDE -----	6
2-MATERIEL -----	6
2-1 Matériel végétal -----	6
2-2 Les champignons -----	6
3-METHODES -----	6
3-1 préparation des extraits végétaux de <i>Mitracarpus scaber</i> -----	6
3-1-1 Extraction par le n-hexane -----	6
3-1-2 Extraction par l'acétate d'éthyle-----	6
3-1-3 Extraction par le 2-butanol -----	6
3-1-4 Extraction par l'éthanol -----	6
3-1-5 Extraction par l'eau distillée-----	6
3-2 Fractionnement de l'extrait à l'acétate d'éthyle -----	6
3-3 Screening phytochimique -----	6
3-3-1 Recherche des flavonoïdes -----	6
3-3-2 Recherche des tanins -----	6
3-3-3 Recherche des triterpènes et des phytostérols -----	6

3-4 Antibiogramme-fongique-----	6
3-4-1 Milieu de culture-----	6
3-4-2 Inoculum-----	6
3-4-3 Ensemencement-----	6
3-4-4 Solubilisation des produits-----	6
3-4-5 Dépôt des extraits-----	6
3-4-6 Incubation-----	6
3-4-7 Lecture des résultats-----	6
3-6 Traitement des données-----	6

RESULTATS.....28

1-RESULTATS DE L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE----- 28

1-1 Résultat de l'extraction-----	28
1-2 Résultat de la CCM-----	28
1-3 Résultat du fractionnement-----	34

2- EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE.....35

2-1 Résultat du screening de l'activité antifongique de <i>Mitracarpus scaber</i> -----	35
2-2 Evaluation de l'activité antifongique des extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle de <i>Mitracarpus scaber</i>	36
2-3 Relation concentration – activité antifongique des extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle de <i>Mitracarpus scaber</i>	37
2-4 Résultat de l'activité antifongique des fractions de l'extrait à l'acétate d'éthyle-----	44

COMMENTAIRES - DISCUSSIONS	45
CONCLUSION GENERALE	49
RESUME.....	50
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	51



INTRODUCTION

Les mycoses superficielles sont causées par des champignons microscopiques. Elles touchent généralement la peau, les cheveux, les ongles et les muqueuses orales et génitales. Il s'agit des infections fréquentes, en particulier dans de nombreux pays Africains [20]. Au service de dermatologie du CHN-YO, les mycoses cutané-phanériennes constituent 12,4 % des consultations [50].

A l'heure actuelle, la thérapeutique des mycoses superficielles dispose d'une gamme de substances chimiques actives sur les champignons pathogènes. Cependant, le prix des spécialités à base d'antifongiques de synthèse reste relativement élevé. De telle sorte que malgré l'arsenal thérapeutique disponible, la majeure partie de la population a recours à la médecine et pharmacopée traditionnelles.

Notre étude a porté sur une plante utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de ces affections : *Mitracarpus scaber*.

Mitracarpus scaber est une herbe tropicale utilisée au Burkina Faso comme antimycosique dans le traitement des dartres et des teignes [26 ;27]. Des études antérieures portant sur les extraits alcooliques et lipidiques ont montré une activité antifongique [16 ; 38 ; .43 ; 46].

En reprenant les travaux sur *Mitracarpus scaber*, nous nous proposons de tester son action sur d'autres espèces de champignons pathogènes. Nous tenterons également de préciser la nature des principes antifongiques.

Notre travail est subdivisé en deux parties:

Une première partie est consacrée à des généralités sur les dermatophytes responsables de mycoses superficielles et sur *Mitracarpus scaber*.

La deuxième partie est relative à l'étude de l'activité antifongique et à l'isolement de la fraction active de *Mitracarpus scaber*. Cette partie comprend également un commentaire et une discussion avant la conclusion générale.



GENERALITES

GENERALITES SUR LES DERMATOPHYTES

1-DEFINITIONS

Les dermatophytes sont des champignons filamenteux à mycelium cloisonné :

qui attaquent avec prédilection la kératine de la couche cornée de la peau, des poils, des cheveux et des ongles;

qui poussent facilement sur milieux peptonnés et sucrés comme celui de Sabouraud ;

qui sécrètent des produits antigéniques groupés sous le nom de trichophytine ou épidermophytine,

qui sont sensibles à l'action fongistatique de la griséofulvine.

2-CLASSIFICATION DES DERMATOPHYTES

La classification d'Emmons (1934) [10] est actuellement adoptée; elle repose sur des caractères botaniques. Cette classification reconnaît 3 genres :

- Genre *Epidermophyton* (Sabouraud 1910).

Le champignon de ce genre n'attaque pas le poil. Il est caractérisé par des macroconidies nombreuses à logettes multiples à parois minces et lisses. Les microconidies sont absentes et parfois la présence de vrilles sur les milieux pauvres.

- Genre *Microsporum* (Gruby 1843)

Le champignon de ce genre est caractérisé par des macroconidies de grandes tailles, multiseptées, à parois plus ou moins épaisses et verruqueuses. Les microconidies sont piriformes. Ce genre peut envahir la peau et les poils.

- Genre *Trichophyton* (Malmsten 1845)

Dans ce genre, les macroconidies sont en massue, à parois toujours minces et à cloisons peu nombreuses. Les microconidies sont rondes ou en massues. Ce genre peut envahir la peau, les ongles et les cheveux.

3- EPIDEMIOLOGIE

3-1 Sources de contaminations

Les sources d'infection peuvent être l'homme (dermatophytes antropophiles), les animaux (dermatophytes zoophiles), ou le sol (dermatophytes géophiles).

3-2 Répartition géographique et fréquence

Les affections cutanées à dermatophytes sont universelles, il y a cependant des différences géographiques dans la répartition des espèces impliquées. Ces différences tendent à s'atténuer aujourd'hui du fait des voyages et des brassages de la population.

Badillet G. dans «dermatophytes et immigration » [9] montre que les immigrants venant d'Afrique noire sont massivement parasités par les agents des teignes : *Trichophyton soudanense* et *Microsporum langeronii* et sont cependant

peu atteints par les agents d'epidermophyties : *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale* et *Epidermophyton floccosum*.

Au Burkina Faso, les études sur les teignes du cuir chevelu à Ouagadougou et Bobo Dioulasso en 1956 par Biguet et coll.[15], ont montré une présence plus importante de Trichophyties (86,52%) que de Microspories (12,22%).

En 1992 Guiguemdé et coll.[35] lors d'une étude sur les mycoses cutanéophanéennes à Ouagadougou, ont trouvé que *Trichophyton rubrum* est le dermatophyte le plus isolé.

En 1993, à l'issu d'une étude sur les teignes du cuir chevelu en milieu scolaire dans la ville de Ouagadougou Compaoré L[25]. a montré une prédominance de *Microsporum langeronii* (76,6%) suivi de loin par *Trichophyton soudanense* (14%) ensuite *Trichopyton violaceum* (6%) et *Microsporum rivalieri* (24%).

Guigma [34] en 1996, a montré par une étude sur les agents des mycoses cutanéophanéennes à Bobo Dioulasso une prédominance de *Trichophyton rubrum* dans les teignes de la peau glabre et celle de *Microsporum langeronii* dans les teignes du cuir chevelu.

En conclusion : Les dermatophytes varient d'une region à une autre et d'une année à une autre. Cependant *Trichophyton rubrum* et *Microsporum langeronii* sont les dermatophytes qui reviennent le plus souvent.

4-LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

4-1 Le prélèvement

Le prélèvement utilise un matériel simple. Il se fait à l'endroit où des filaments vivants peuvent exister. Le matériel prélevé peut être les squames, les fragments d'ongle, les cheveux ou les poils.

4-2 L'examen direct

Les squames, les fragments d'ongle, les cheveux ou les poils ne peuvent être examinés qu'après action d'un liquide ramollissant et éclaircissant. On utilise :

La potasse diluée à 10, 20 et 30 % dans l'eau. Cette solution à une action énergétique mais détruit tout le prélèvement en quelques heures.

Le chlorallactophénol a une action moins rapide, mais permet de garder définitivement les préparations. Il est conseillé de l'utiliser sur les poils et les cheveux.

L'examen direct des squames met en évidence les filaments mycéliens quel que soit le dermatophyte en cause.

L'examen direct des poils et des cheveux montre les cinq types pilaires de Sabouraud.

4-3 La culture

L'ensemencement

Le matériel pathologique est ensemencé sur un milieu de Sabouraud modifié contenant moins de glucose 20 g au lieu de 40 g. Ce milieu est additionné d'antibiotiques antibactériens (chloramphenicol) et d'Actidione (Cycloheximide) qui inhibe les moisissures.

L'ensemencement est fait à l'öse. Le matériel très fragmenté est déposé en quinconce en 4 ou 5 points par tube, sur les bords, au contact du verre.

Les tubes sont mis à l'étuve à 27 °c ou tout simplement gardés à la température du laboratoire sur la paillasse.

4-4 Identification

L'identification est basée principalement sur l'étude des caractères macroscopique et microscopique des cultures à l'isolement.

- Etude macroscopique

On note le début de pousse, la vitesse de pousse, l'aspect de surface, la teinte du revers.

- Etude 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 lames. On note :

- l'aspect du mycelium
- Les organes de reproduction (macroconidies, microconidies chlamydoportes)
- Les organes d'ornementation (vrilles, chandeliers faviques, organes pectinés)

5-LE TRAITEMENT ANTIFONGIQUE

5-1-Définition des antifongiques

Les antifongiques sont des drogues capables de détruire spécifiquement les différents champignons isolés en mycologie médicale et responsables de lésions plus ou moins graves.

5-2-Les moyens

Les médicaments antifongiques s'administrent soit par voie générale, soit localement. Certains d'entre eux agissent spécifiquement sur un groupe de champignons, alors que d'autres ont un spectre d'activité beaucoup plus large.

La griséofulvine (grisèfuline^R -fulcine^R)

La griséofulvine agit sur les mécanismes de perméabilité de la membrane cellulaire. Son action est limitée aux dermatophytes.

Les dérivés imidazoles

Ils inhibent la biosynthèse de l'ergostérol présent dans la membrane des levures.

Ils sont actifs sur les dermatophytes et les candida. Les principaux sont :

Ketoconazol: nizoral^R

Itraconazole: sporanox^R

Econazole: Pevaryl^R

Miconazole: Daktarin^R

Les allylamines

Terbinafine en crème à 1% (lamisil^R) est active sur les dermatophytes, moins efficace sur les candidoses.

***Mitracarpus scaber* (zucc)**

(RUBIACEAE)

1-SYNONYME

Mitracarpus verticillatus vatke

Mitracarpus villosis (Bw) DC

2-NOMS VERNACULAIRES

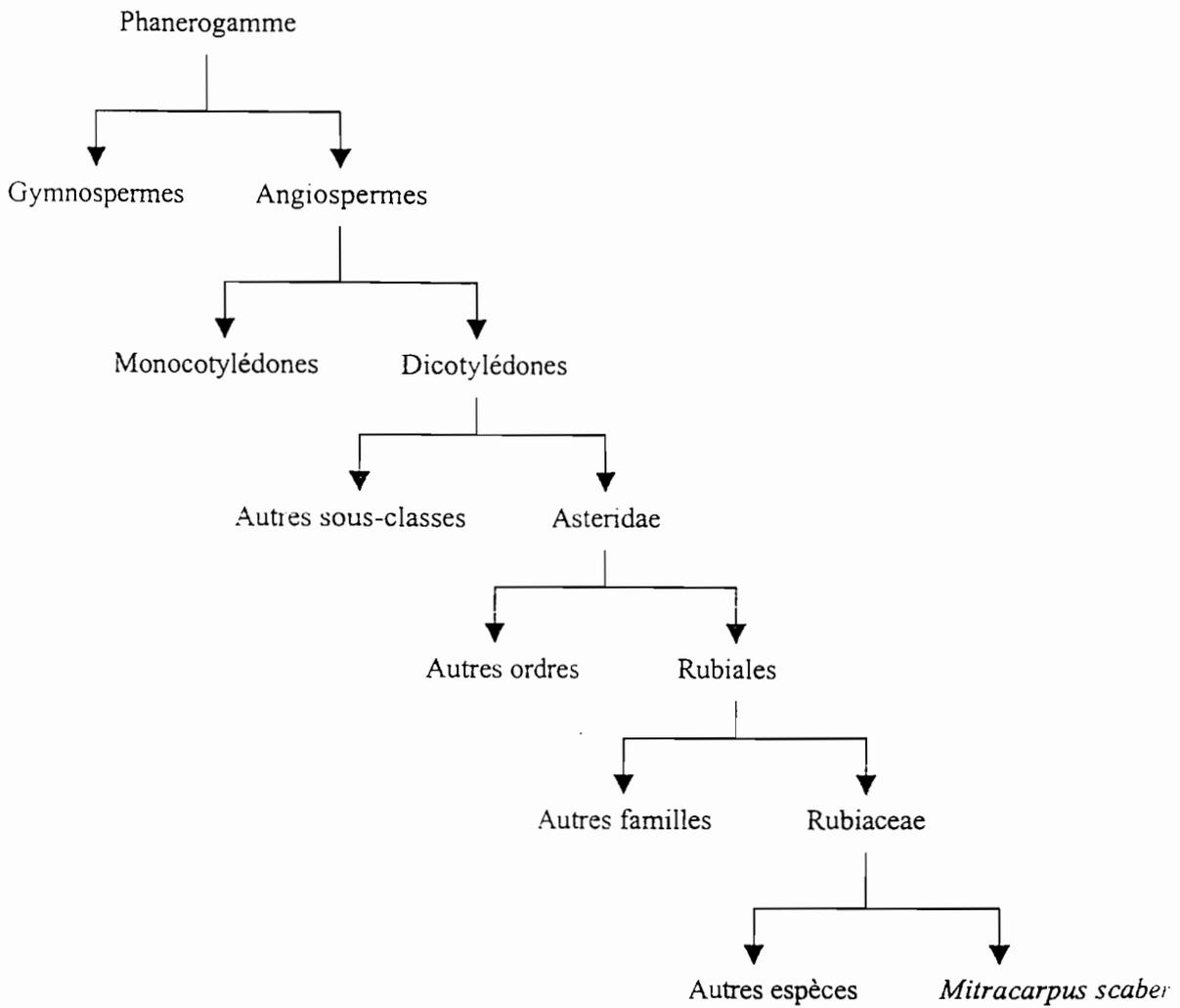
Hausa : Oroki

Tamacheck : Tabalkadet

Moore : Yoadga

Dioula : Kuguruba

3- SITUATION DE *Mitracarpus scaber* DANS LE REGNE VEGETAL



4-DESCRIPTION BOTANIQUE

4-1 Port

Mitracarpus scaber est une herbe annuelle à tige pubérulente. C'est une plante des sables; étalée diffuse, haute de 10 à 30 cm.

4-2 Feuilles

Les feuilles sont lancéolées, subacutes, de 3 à 6 cm de long et de 1 cm de large. Elles sont glabres ou glabrescentes.

4-3 Fleurs

Les fleurs sont blanches; très petites 2 à 3 mm, en glomérules à l'aisselle des feuilles. La partie supérieure de la fleur tombe en découvrant la graine dans la demi loge restante.

4-4 Graines

Elles sont chagrinées dorsalement; la face inférieure ayant comme l'empreinte d'une patte de chien.

5-DISTRIBUTION

Mitracarpus scaber est une espèce commune à toute l'Afrique intertropicale

6-USAGES TRADITIONNELS

Au Congo la plante est réputée comme fongicide et parasiticide cutané.

Les haussa et yoruba l'utilisent contre les démangeaisons, les teignes tonsurantes, les filarioses et contre de nombreuses maladies en association avec d'autres plantes.

Au Burkina Faso, la plante est utilisée dans le traitement des dartres, des teignes et la gale. Pour le traitement antifongique la plante peut être utilisée à l'état frais ou après séchage [26 ; 27].

La pulpe des tiges feuillées est appliquée en cataplasme seule ou additionnée de carbonate de potassium sur les lésions.

On peut également appliquer un mélange de poudre de feuille sèche et d'huile de karité sur les lésions, après un bain avec le décocté de la tige feuillée.

7 RAPPELS SUR LA CHIMIE DE *Mitracarpus scaber*

Mitracarpus scaber a fait l'objet de peu d'étude sur le plan chimique. Kerharo et Adam [40] ont rapporté des travaux faisant état de la présence des principes chimiques suivants : alcaloïdes, saponosides, triterpènes et stérols. Baoua et coll.[11] ont quant à eux mis en évidence des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins, des triterpènes et des stérols.

Ekpendu et coll.[29] ont mis en évidence la composition de l'extrait lipidique de la partie aérienne de *Mitracarpus scaber* par chromatographie en phase gazeuse couplée à la masse. Ils ont identifié au total 26 composés dont 11 sont des acides gras libres. Le composé le plus abondant est l'acide hexadecanoïque (51,2%).

8- RAPPELS SUR LA PHARMACOLOGIE DE *Mitracarpus scaber*

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

Au Nigeria

Irobi et coll.[38] ont mis en évidence *in vitro*, une activité de l'extrait éthanolique sur *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* et *Fusarium solani*. Ils ont mis en évidence lors d'un screening phytochimique de la plante, la présence de substances phénoliques, d'hémolysines et de sesquiterpènes.

Ekpendu et coll.[30] ont mis en évidence l'activité anti-inflammatoire et antimicrobienne de l'extrait à l'éther de pétrole de *Mitracarpus scaber*. L'activité antimicrobienne concerne les germes suivants : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *staphylococcus aureus*. Ils n'ont cependant pas identifié les substances actives.

Au Mali

Sanogo et coll.[47], ont testé *in vitro* l'activité antimicrobienne de *Mitracarpus scaber*. Il est sorti de l'étude que l'extrait à l'éther de pétrole obtenu à partir de l'extrait hydro-alcoolique exerce une activité antimicrobienne sur plusieurs souches de staphylocoques et de *Candida*. Le screening phytochimique effectué a mis en évidence dans la plante la présence de flavonoïdes, de tanins et de triterpènes.

En Cote d'Ivoire

Mobié et coll.[43] ont montré que l'huile de *Mitracarpus verticillatus* obtenu à partir de l'extrait éthanolique traitée au soxhlet dans de l'hexane est active sur *Trichophyton rubrum*.

Bonga et coll.[16] ont montré l'activité de la fraction éthanolique de *Mitracarpus verticillatus* sur *Cryptococcus neoformans*. Cette fraction a été obtenue après chromatographie de filtration sur colonne SEPHADEX G₅₀. Des réactions colorées ont mis en évidence la présence de phytostérols dans cette fraction.

En conclusion : Une activité antifongique de *Mitracarpus scaber* a été retrouvée avec les extraits éthanoliques et lipidiques (éther de pétrole, hexane). Des tentatives d'explication de cette activité ont été faites en référence à la composition chimique établie par screening des extraits. Notre travail consistera donc à faire un fractionnement plus poussé des extraits afin de mieux préciser la nature des substances actives.



TRAVAUX PERSONNELS

OBJECTIFS

1-OBJECTIF GENERAL

Contribuer à la mise au point d'un médicament antifongique d'origine naturelle en étudiant l'activité antifongique *in vitro* d'une plante médicinale : *Mitracarpus scaber* (Zucc)

2-OBJECTIFS SPECIFIQUES

2-1 Extraire la poudre des feuilles de *Mitracarpus scaber* (Zucc) à l'aide de solvants de polarité croissante

2-2 Rechercher l'activité antifongique des extraits de *Mitracarpus scaber* sur quatre champignons.

2-3 Etablir pour les extraits actifs la relation concentration-activité antifongique.

2-4 Fractionner par chromatographie sur colonne l'extrait ayant montré l'activité la plus marquée.

2-5 Rechercher l'activité antifongique des fractions isolées.

2-6 Caractériser par chromatographie sur couche mince un principe actif antifongique majoritaire.

METHODOLOGIE

1-CADRE D'ETUDE

Notre étude a été réalisée au laboratoire de Phamacognosie et de Valorisation des plantes médicinales; ainsi que dans le laboratoire de parasitologie et de mycologie de la FSS

2-MATERIEL

2-1 Matériel végétal

Les tiges feuillées de *Mitracarpus scaber* (zucc), ont été récoltées en avril 1998 dans la ville de Ouagadougou. La drogue végétale est séchée à la température ambiante, à l'abri de la lumière, avant d'être finement broyée. La poudre ainsi obtenue est conservée dans des flacons avant l'extraction.

2-2 Les champignons

Les dermatophytes utilisés pour les tests antifongiques sont celles fréquemment isolées au Burkina Faso. Il s'agit de : *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, et *Microsporum langeronii*. Les souches sont isolées des produits pathologiques des patients consultés en dermatologie. Elles sont identifiées par les méthodes usuelles et maintenues en culture sur milieu solide. Les souches proviennent également du laboratoire de parasitologie et de mycologie de la FSS.

Les souches sont conservées à -4°C jusqu'à la mise en route des tests antifongiques.

Tableau : Origine des souches de champignons utilisées pour les tests antifongiques.

Champignons	Origines
<i>Trichophyton rubrum</i>	Laboratoire de mycologie et de parasitologie de la FSS
<i>Trichophyton soudanense</i>	Laboratoire de mycologie et de parasitologie de la FSS
<i>Trichophyton interdigitale</i>	Laboratoire de mycologie et de parasitologie de la FSS
<i>Microsporum langeronii</i>	Prélèvement de nuque n°6739. Souche isolée au Laboratoire d'analyses médicales Sainte Elisabeth.

LES DERMATOPHYTES ETUDIÉS

Trichophyton interdigitale

Trichophyton interdigitale est transmis exclusivement d'homme à homme. Il provoque des lésions des pieds, des lésions bulbeuses ou squameuses des espaces interdigito-plantaires et des plantes. Egalement des lésions d'onyxis des orteils.

Trichophyton rubrum

Il s'agit d'un parasite exclusivement humain. Il provoque des sycosis et kerions de barbe et moustache, des teignes du cuir chevelu chez l'enfant et diverses folliculites.

Trichophyton soudanense

Il s'agit exclusivement d'un parasite humain. Il est à l'origine des teignes tondantes à petites plaques du cuir chevelu de l'enfant, des herpès circinés et des onyxis des mains.

Microsporum langeronii

Il provoque des lésions de la peau glabre, des herpès circinés et des lésions de teignes tondantes à grandes plaques.

3-METHODES

3-1 Préparation des extraits végétaux de *Mitracarpus scaber*

La méthode d'extraction utilisée est une percolation. La matière végétale, introduite dans le percolateur est soumise à un épuisement successif avec des solvants de polarité croissante : n-hexane, de l'acétate d'éthyle, du 2-butanol, de l'éthanol et de l'eau.

3-1-1 Extraction par le n-hexane

La matière végétale (150 g) est introduite dans le percolateur. Le n-hexane (0,5 L) est ajouté et le mélange est laissé en macération pendant 24 h. A la fin de la macération une percolation est effectuée à l'aide d'un litre de n-hexane. La solution n-hexanique est recueillie à raison de 1 ml/mn; évaporée sous pression réduite. Le résidu est conservé -4°C et à l'abri de la lumière, jusqu'à la mise en

route des tests pharmacologiques. Le marc est séché et gardé pour les extractions suivantes.

3-1-2 Extraction par l'acétate d'éthyle

Le marc issu de l'extraction n-hexanique est humecté avec 0,5 L d'acétate d'éthyle. Le mélange est laissé en macération pendant 24 h. La percolation est ensuite réalisée à l'aide d'un litre de solvant. A la fin de la macération, la solution d'acétate d'éthyle obtenue est évaporée sous pression réduite. Ce résidu est conservé à -4°C et à l'abri de la lumière. Le marc est séché, pour les extractions suivantes.

3-1-3 Extraction par le 2-butanol

Le marc issu de l'extraction à l'acétate d'éthyle est introduit dans le percolateur; mis à macérer pendant 24 h avec du 2-butanol (0,5 L). Une percolation est ensuite réalisée avec un litre de solvant. La solution 2-butanolique recueillie, est évaporée sous pression réduite. Le résidu est conservé à - 4°C à l'abri de la lumière jusqu'à la mise en route des tests pharmacologiques. Le marc est séché et gardé pour les extractions suivantes.

3-1-4 Extraction par l'éthanol

Le marc issu de l'extraction par le 2-butanol est également soumis à une macération avec 0,5 L d'éthanol dénaturé pendant 24 h. A la fin de la macération, une percolation est effectuée à l'aide d'un litre d'éthanol dénaturé. La solution éthanolique est recueillie et évaporée sous pression réduite. Le marc est séché pour l'extraction à l'eau distillée.

3-1-5 Extraction par l'eau distillée

Dans un ballon jaugé de un litre contenant le marc; l'eau distillée (0,5 litre) est ajoutée. Le mélange est laissé en macération pendant 24 h. La percolation est réalisée avec un litre d'eau distillée. La solution aqueuse obtenue est évaporée sous pression réduite après addition de 200 ml d'éthanol.

Les extraits obtenus ont servi à la réalisation des tests antifongiques et à la recherche des groupes chimiques.

3-2 Fractionnement de l'extrait à l'acétate d'éthyle

L'extrait à l'acétate d'éthyle a été fractionné par chromatographie sur colonne. La colonne (1 m de long sur 3 cm de diamètre) est remplie au 2/3 à l'aide d'une suspension de silice pour colonne dans le dichlorométhane. L'extrait à fractionner est dissout dans le dichlorométhane, et déposé au sommet de la colonne de silice. La phase mobile est ensuite introduite. Cette phase mobile est constituée de dichlorométhane contenant des proportions croissantes de méthanol (0 ; 5 ; 10; 15 %). Chaque palier du gradient correspond à 300 ml de phase mobile.

Des fractions de 25 ml sont récoltées et analysées par CCM en utilisant le mélange, dichlorométhane, toluène, méthanol (6 ; 6 ; 1 v/v), comme phase mobile. La révélation est faite par chauffage à 110° c, après pulvérisation d'une solution d'acide sulfurique à 3 % dans de l'éthanol.

Les fractions qui présentent un chromatogramme similaire, sont regroupées et évaporées sous pression réduite. Ces différentes fractions ont été testées pour évaluer leur activité antifongique.

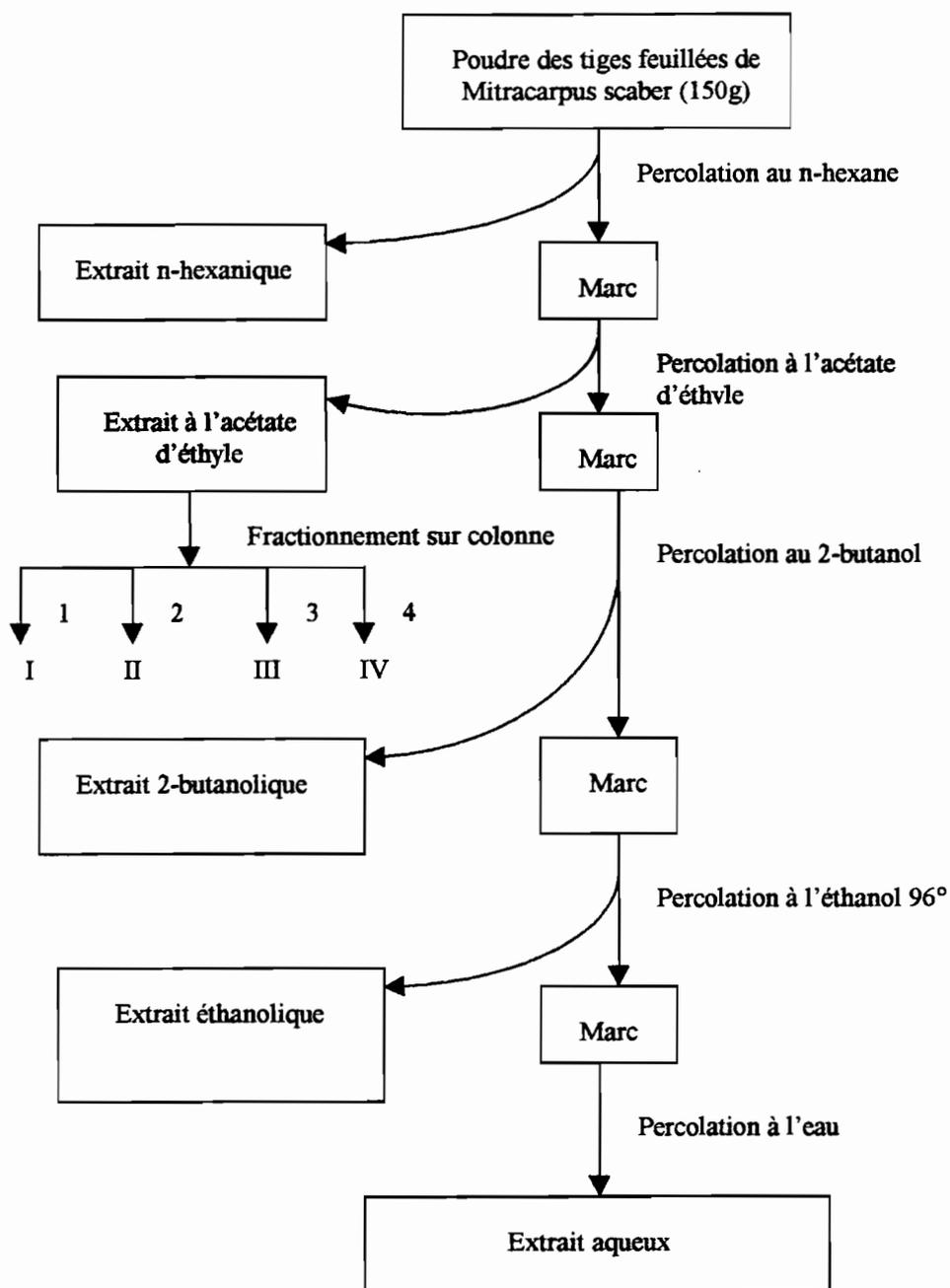


Figure : schéma d'extraction et de fractionnement des extraits de *Mitracarpus scaber*.

Légende

- 1 : Dichlorométhane
- 2 : Dichlorométhane-méthanol (95 ; 5 v/v)
- 3 : Dichlorométhane-méthanol (90 ; 10 v/v)
- 4 : Dichlorométhane-méthanol (85 ; 15 v/v)

3-3 Screening phytochimique

Le but du screening phytochimique est de réaliser une étude, de la relation constituants chimiques / activité pharmacologique.

Ce screening doit permettre dans les études ultérieures d'identifier les molécules responsables de l'activité pharmacologique. A ce titre, seuls les extraits ayant montré une certaine activité, sont soumis au screening phytochimique. Ce screening peut être réalisé par des réactions de caractérisation en milieu liquide ou par Chromatographie sur Couche Mince (CCM). Dans le cadre de ce travail, nous avons choisi de faire le screening chimique par CCM. Cette méthode a été choisie à cause de sa sélectivité plus grande et des perspectives qu'elle apporte déjà en matière de purification.

Les chromatoplaques sont soit pulvérisées à l'aide d'un réactif général de révélation (acide sulfurique à 3 % dans l'éthanol) soit pulvérisées à l'aide d'un réactif plus spécifique à certains groupes chimiques (phytostérols, triterpènes, saponosides, substances phénoliques, alcaloïdes).

3-3-1 Recherche des flavonoïdes

Support : Gel de silice G₆₀ F₂₅₄

Phase mobile : acétate d'éthyle, 2-butanol, acide acétique (7; 5; 2; v/v)

Solutions de dépôt :

Elles sont constituées par des témoins : le rutoside qui est un hétéroside flavonoïque et la quercetine qui est une génine. Ces témoins nous ont été offerts par le Laboratoire de Pharmacognosie et de Bromatologie de l'Université Libre de Bruxelles.

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

Révélation

Les chromatoplaques sont exposées à des vapeurs d'ammoniaque. L'effet bathochrome des flavonoïdes en milieu basique entraîne une intensification de leurs colorations (jaune, jaune orangé).

Les chromatoplaques sont observées sous UV après pulvérisation d'une solution de diphénylborinate de sodium.

3-3-2 Recherche des tanins

Support : Gel de silice G₆₀ F₂₅₄

Phase mobile : eau, méthanol, n-butanol, acide acétique (3,5; 1,25; 10; 1,25; v/v)

Solutions de dépôt

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

L'acide tannique provient de Prolabo.

Révélation

Elle est faite avec du chlorure ferrique à 2% dans un mélange eau-méthanol (50 ; 50 v/v). La présence de couleur bleue révèle les tanins.

3-3-3 Recherche des triterpènes et des phytostérols

Support : Gel de silice G₆₀ F₂₅₄

Phase mobile : n-hexane, acétate d'éthyle, toluène (6, 1; 2; v/v)

Témoins

Témoins des triterpènes

Triterpènes libres

Il s'agit d'un mélange de α, β, γ Amyrine, de taraxasterols, de pseudotaraxasterols et de lupéol. Ces molécules ont été isolées de *Leptadenia hastata* au Laboratoire de Pharmacognosie et de Bromatologie de l'Université Libre de Bruxelles (U. L. B.). Leur structure a été déterminée par des relevés spectroscopiques de Résonance Magnétique Nucléaire (R. M. N.) et de Masse.

Triterpènes acétates

Il s'agit des formes acétates des triterpènes libres cités précédemment

Betuline

Elle nous a été offerte par le Laboratoire de Pharmacognosie et de Bromatologie de l'Université Libre de Bruxelles (U. L. B.).

Témoins des phytostérols

β sitostérol

Ce témoin provient de RUTH (Allemagne) et nous a été offert par le Laboratoire de Pharmacognosie et de Bromatologie de l'Université Libre de Bruxelles (U. L. B.).

Préparation des solutions de dépôt

Une solution est réalisée en dissolvant 10 mg de témoin ou d'échantillon dans 1 ml de chloroforme.

Révélation

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

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

3-4 Antibiogramme-fongique

3-4-1 Milieu de culture

Le milieu de sabouraud additionné de chloramphenicol et d'actidione est utilisé. Le milieu est coulé en boîte de Pétri ronde de 90 mm de diamètre de façon à avoir 4 mm de gélose. Les boîtes sont séchées à l'étuve à 37°C avant l'emploi.

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

3-4-2 Inoculum

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

3-4-3 Ensemencement

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

Les boîtes sont séchées 15 mn à 37 °c.

3-4-4 Solubilisation des produits

Les extraits aqueux, 2-butanolique et éthanolique ont été dissous dans de l'eau distillée stérile.

Les extraits n-hexaniques et à l'acétate d'éthyle et les différentes fractions sont insolubles dans l'eau et ont du être dissous dans le Dimethyl-sulfoxyde (Merck).

Une solution contrôle contenant uniquement du DMSO est également testée.

Le standard utilisé est le kétoconazole sous forme de disque à une concentration de 100 µg/ml. La concentration de départ des extraits pour les tests

antifongiques est de 20 mg/ml. Nous avons procédé ensuite à des dilutions pour avoir des concentrations de 10; 1; 0,1; 0,01 mg/ml.

Après avoir repéré les extraits actifs nous avons étudié la relation concentration activité antifongique, en choisissant une gamme de concentration 20 ; 40 ; 80 ; 160 ; 320.

3-4-5 Dépôt des extraits

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

3-4-6 Incubation

Elles sont incubées à la température ambiante et sont observées tous les jours.

3-4-7 Lecture des résultats

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

3-6 Traitement des données

Les graphiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Excel sur Windows 95.

RESULTATS

1 RESULTATS DE L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE

1-1 Résultat de l'extraction

Le tableau 1 résume les résultats de l'extraction. Les rendements sont exprimés par rapport à la prise d'essai de départ (150 g de poudre).

Tableau I : Quantité et rendements des extraits de *Mitracarpus scaber*

	n-hexane	Acétate d'éthyle	2-butanol	Ethanol	Eau
Résidu (g)	5,7	2,8	2,8	6	7,9
Rendement (%)	3,8	1,7	1,3	4	5,3

1-2 Résultat de la CCM

Les extraits ayant montré une activité antifongique sont les extraits à l'acétate d'éthyle et au n-hexane. La CCM effectuée sur ces extraits a permis de mettre en évidence un triterpénoïde ou un stéroïde commun à ces 2 extraits de Rf 0,2 avec le système de solvant S₁ et 0,1 avec le système de solvant S₂ comme le montre le tableau II.

En plus du triterpénoïde ou du stéroïde, d'autres triterpènes et stéroïdes ont été retrouvés dans l'extrait au n-hexane ; ainsi que des flavonoïdes. Dans l'extrait à l'acétate d'éthyle la CCM a mis en évidence des tanins et des flavonoïdes.

Tableau II : Analyse des témoins et des extraits actifs par CCM dans les solvants S_1 et S_2

Groupes chimiques	Spots (Rf)		Colorations		
	S_1	S_2	Liebermann	$SbCl_3$	UV
β sitostérol	0,3		bleu	bleu	
Triterpènes libres	0,5		violet	violet	
Triterpènes acétates	0,80		violet	violet	
Extrait n-hexane	A :0,9		violet	violet	
	B :0,5		violet	violet	
	C :0,3		bleu	bleu	
	D :0,1	D ₁ 0,2	Violet*	bleu	
Extrait acétate d'éthyle	E :0,1	E ₁ : 0,2	Violet*	bleu	

Légende :

S_1 : n-hexane-acétate d'éthyle-toluène (6 ; 1 ; 2 v/v)

S_2 : Chloroforme-toluène-méthanol (6 ; 6 ; 1 v/v)

Violet* : violet virant au bleu



Figure 1 : Chromatogramme de l'extrait au n-hexane de *Mitracarpus scaber* des triterpènes acétates

Phase mobile : n-hexane, acétate d'éthyle, Toluène (6; 1; 2; v/v).

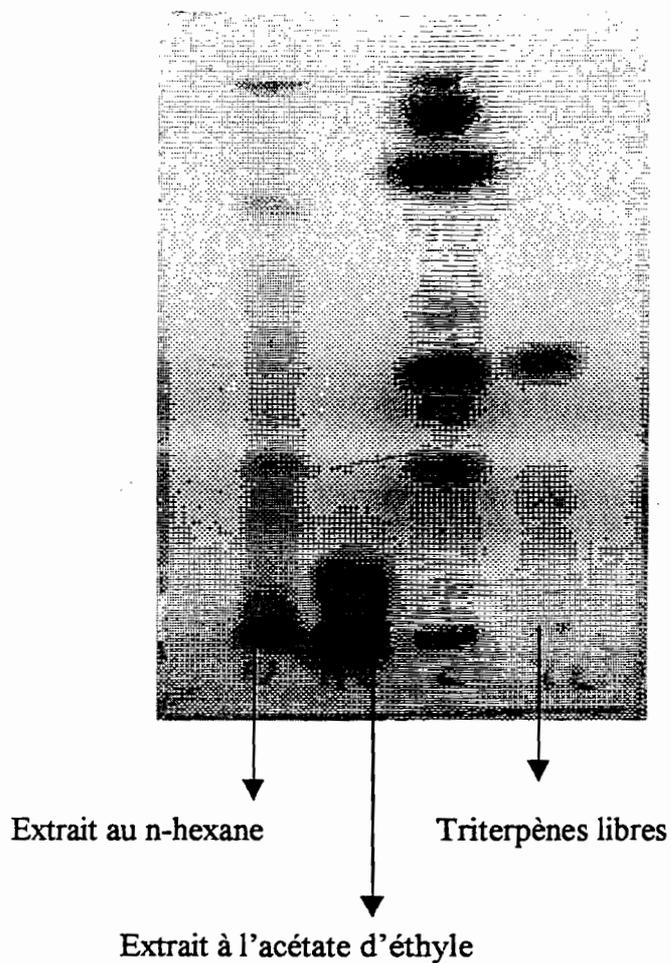


Figure 2 : Chromatogramme des extraits au n-hexane, à l'acétate d'éthyle de *Mitracarpus scaber* et des triterpènes libres

Phase mobile : n-hexane, acétate d'éthyle, Toluène (6; 1; 2; v/v).

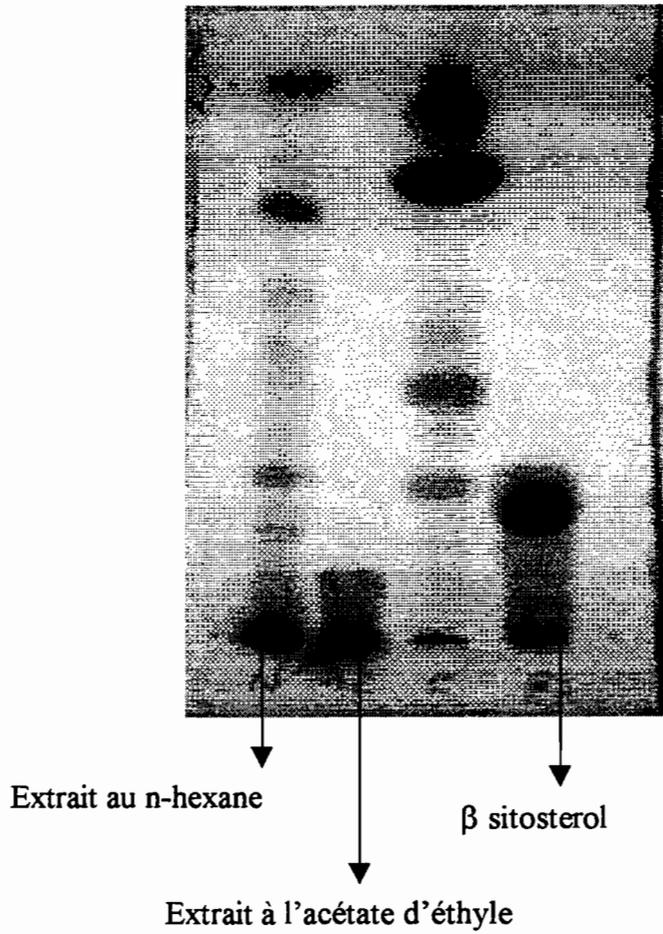


Figure 3 : Chromatogramme des extraits au n-hexane, à l'acétate d'éthyle de *Mitracarpus scaber*. et du β sitosterol

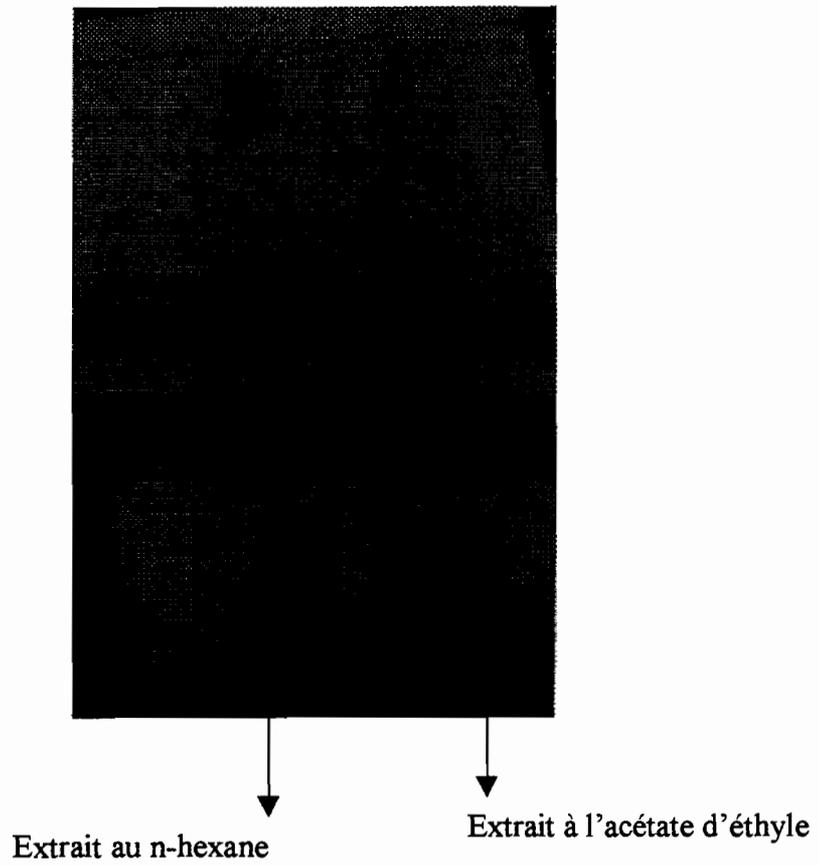


Figure 4 : Chromatogramme des extraits au n-hexane, à l'acétate d'éthyle de *Mitracarpus scaber*

Phase mobile : chloroforme, Toluène, Méthanol (6 ;6 ;1v/v)

1-3 Résultat du fractionnement

L'extrait à l'acétate d'éthyle, l'extrait le plus actif a donné par fractionnement quatre fractions.

Tableau V : Fractionnement de l'extrait à l'acétate d'éthyle

Fractions	Solvants éluants (ml)	Quantité (g)	Rendement (%)	Rf
<i>I</i>	CH ₂ Cl ₂ (300)	1	25	0,8
<i>II</i>	CH ₂ Cl ₂ - CH ₃ OH(95, 5 v/v)	1,5	37,5	0,5 0,2
<i>III</i>	CH ₂ Cl ₂ - CH ₃ OH (90, 10 v/v)	0,2	5	0,2
<i>IV</i>	CH ₂ Cl ₂ - CH ₃ OH (90, 15 v/v)	1,2	30	

La fraction la plus active est la fraction III. Elle a été caractérisée par CCM . La réaction est positive avec le réactif de liebermann en donnant une coloration violette. Elle est également positive avec SbCL3 en donnant une coloration bleue.

2-EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE

2-1 Résultats du screening de l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber*

Les extraits au n-hexane et l'acétate d'éthyle de *Mitracarpus scaber*. ont présenté une activité antifongique sur *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum langeronii* (tableaux I et II).

Les extraits au 2-butanol, à l'éthanol et à l'eau de *Mitracarpus scaber* n'ont pas présenté d'activité antifongique à la concentration de 20 mg/ml

Tableau IV : Résultats du screening de l'activité antifongique de l'extrait au n-hexane de *Mitracarpus scaber*

FUNGI	CONCENTRATION EN mg/ml				
	20	10	1	0,1	0,01
<i>Trichophyton rubrum</i>	++	+	-	-	-
<i>Trichophyton soudanense</i>	++	+	-	-	-
<i>Trichophyton interdigitale</i>	++	+	-	-	-
<i>Microsporum langeronii</i>	++	+	-	-	-

Légende :

- (+) : présence d'activité antifongique
- (++) : présence d'activité antifongique marquée
- (+++): présence d'activité antifongique très marquée
- (-) : absence d'activité antifongique

Tableau V : Résultats du screening de l'activité antifongique de l'extrait à l'acétate d'éthyle de *Mitracarpus scaber*

FUNGI	CONCENTRATION EN mg/ml				
	20	10	1	0,1	0,01
<i>Trichophyton rubrum</i>	+++	++	+	-	-
<i>Trichophyton soudanense</i>	+++	++	+	-	-
<i>Trichophyton interdigitale</i>	++	+	-	-	-
<i>Microsporium langeronii</i>	+++	++	+	-	-

Légende :

- (+) : présence d'activité antifongique
- (++) : présence d'activité antifongique marquée
- (+++): présence d'activité antifongique très marquée
- (-) : absence d'activité antifongique

2-2 Evaluation de l'activité antifongique des extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle de *Mitracarpus scaber*.

Le diamètre d'inhibition des extrait au n-hexane et à l'acétate d'éthyle testé à 20mg/ml sont résumés dans le tableau VI.

Tableau VI : Diamètre d'inhibition (mm) des extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle de *Mitracarpus scaber* testés à la concentration de 20 mg/ml.

FUNGI	n-hexane	Acétate d'éthyle	Kétoconazole (100 µg)
<i>Trichophyton rubrum</i>	14 ± 1	18 ± 2	39 ± 1
<i>Trichophyton soudanense</i>	13 ± 1	16 ± 2	39 ± 1
<i>Trichophyton interdigitale</i>	12 ± 2	14 ± 2	38 ± 1
<i>Microsporum langeronii</i>	14 ± 3	19 ± 2	40 ± 1

2-3 Relation concentration – activité antifongique des extraits au n-hexane à l'acétate d'éthyle de *Mitracarpus scaber*

Une gamme de concentration de 20 ; 40 ; 80 ; 160 et 320 mg/ml a été choisit. Elle a permis d'établir des courbes dose-effet. Ces courbes ont été linéarisées par transformation logarithmique de la concentration.

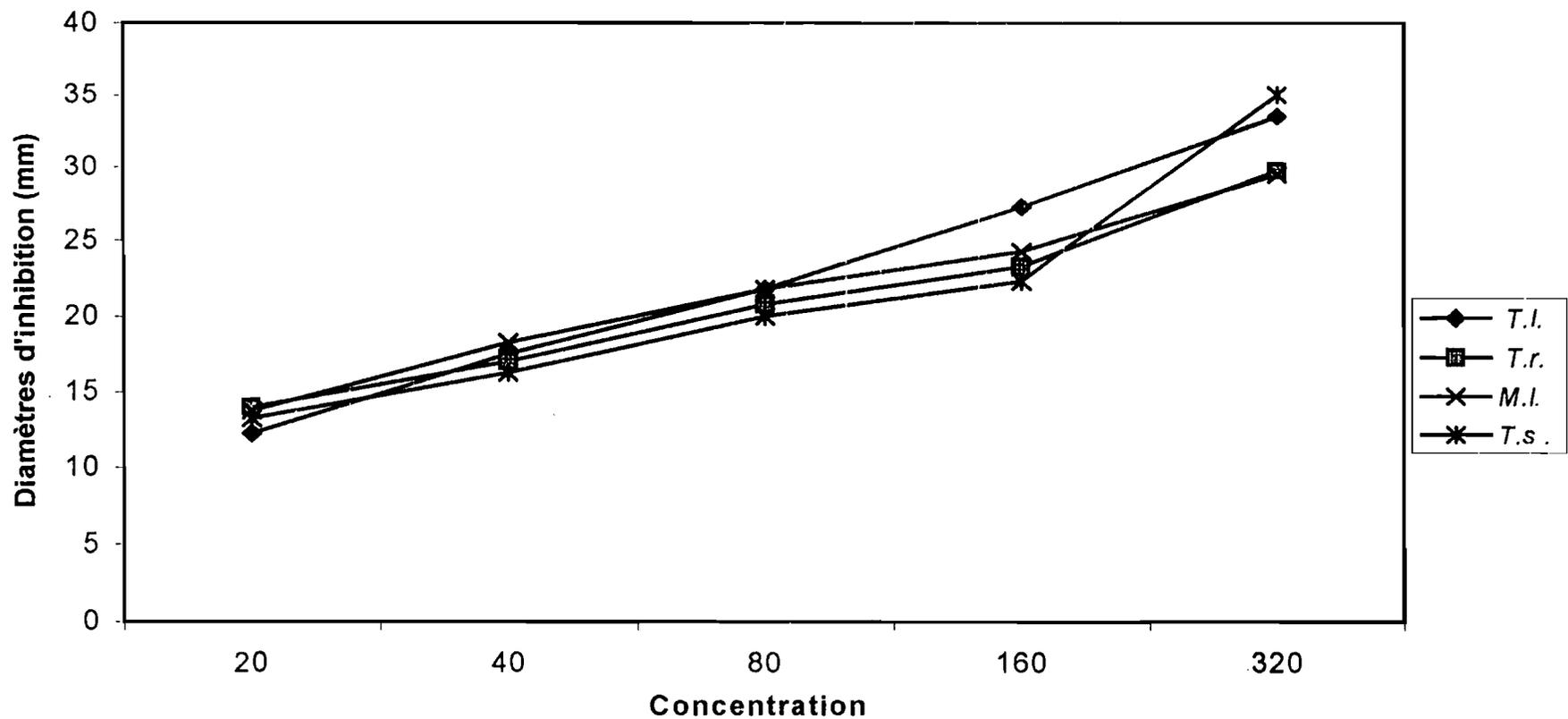


Figure 5 : Effet dose-dépendante de l'extrait au n-H. * isolé des tiges feuillées de *M. s.* * sur les champignons

n-H. : Extrait au n-hexane
 A. E. : Extrait à l'acétate d'éthyle
M. s. : *Mitracarpus scaber*

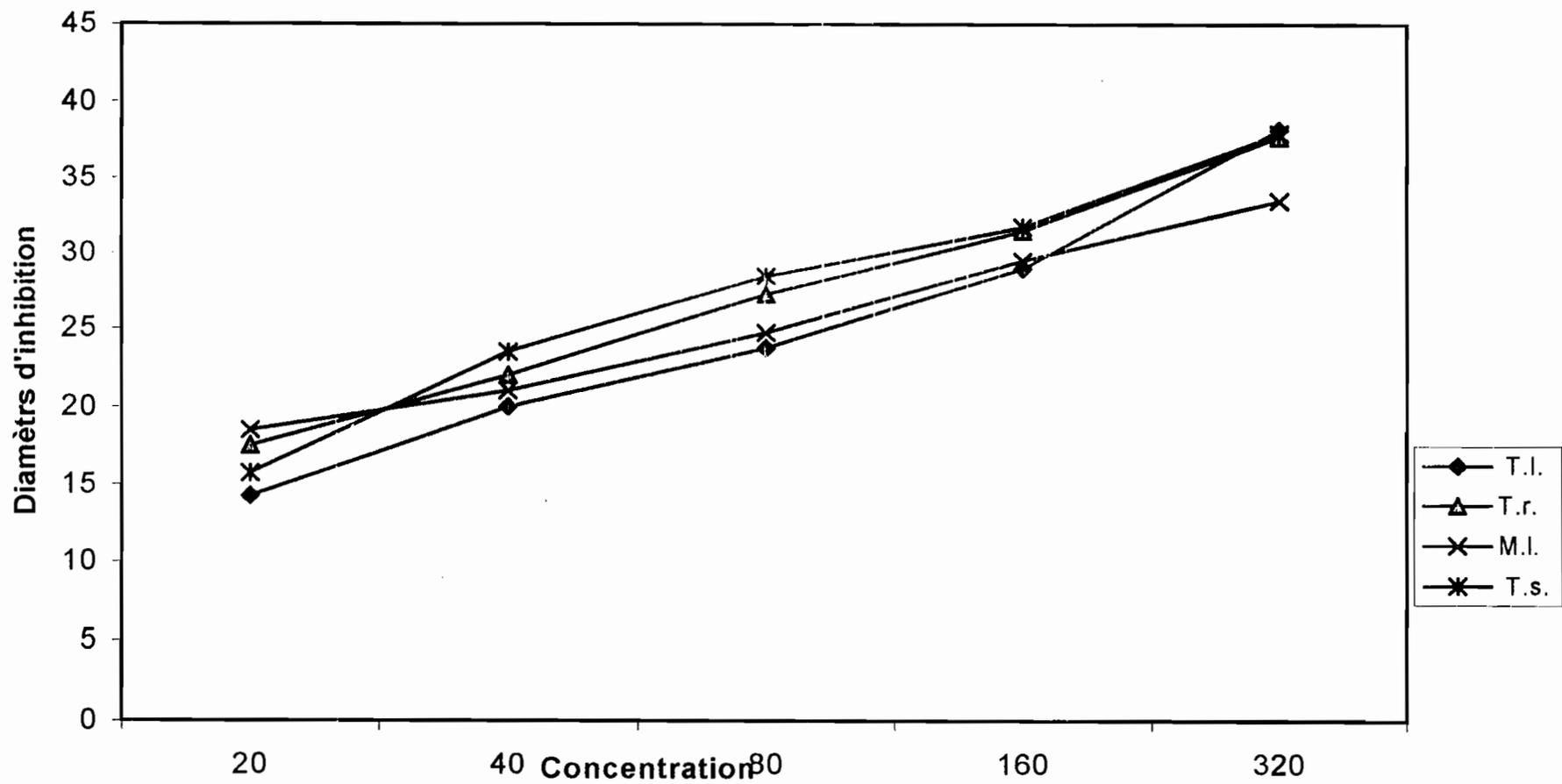


Figure 6 : Effet dose-dépendante de l'extrait à l'A. E. * isolé des tiges feuillées de *M. s.* *, sur les champignons

A. E. : Extrait à l'acétate d'ethyle

M. s. : *Mitracarpus scaber*

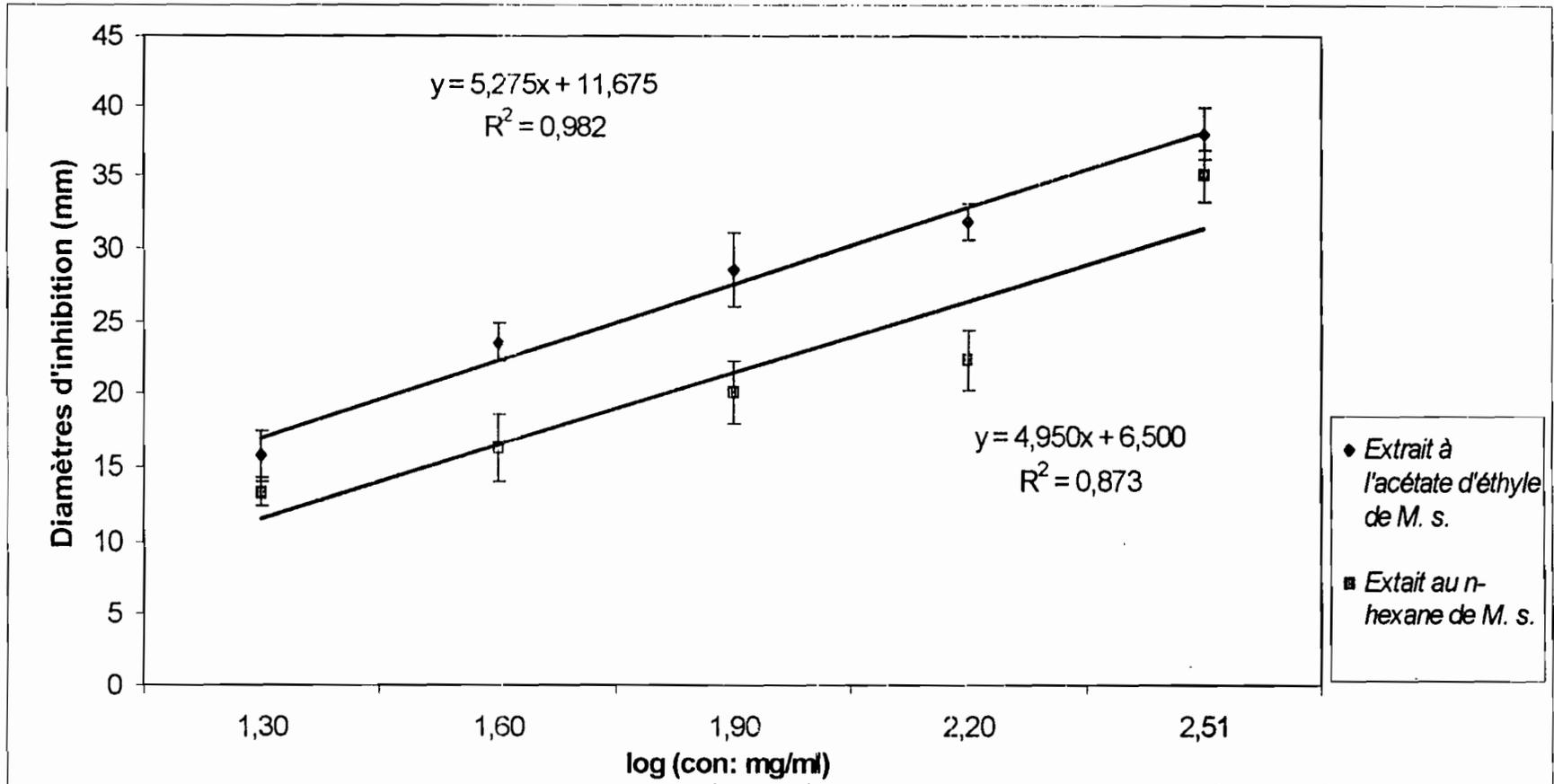


Figure: Effet dose-dépendante des extraits au n-H. et A. E. isolés des tiges feuillées de *M. s.* sur *T. s.*

n-H. : Extrait au n-hexane
 A. E. : Extrait à l'acétate d'éthyle
M. s. : *Mitacarpus scaber*
T. s. : *Trichophyton soudanense*

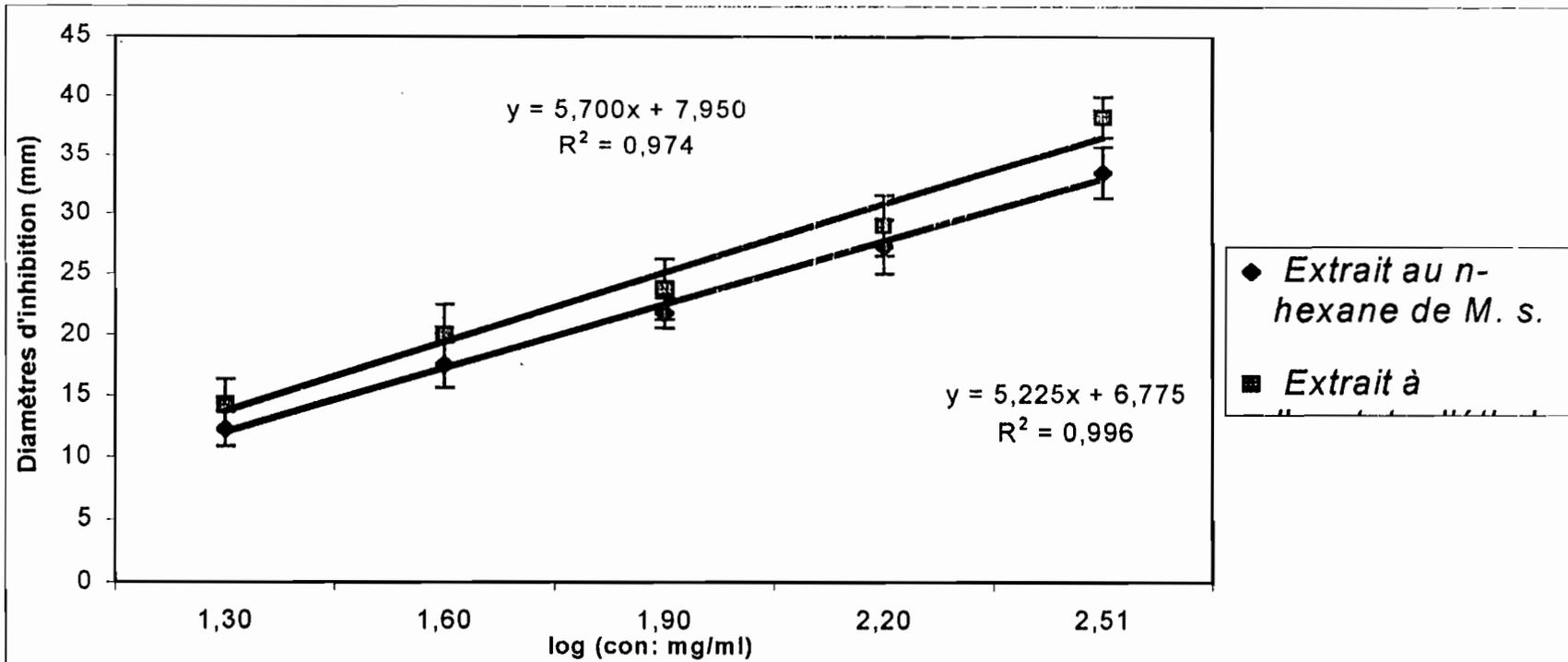


Figure 7 : Effet dose-dépendante des extraits au n-H. et à l'A. E. isolés des tiges feuillées de *M. s.* sur *T. i.*

n-H. : Extrait au n-hexane

A. E. : extrait à l'acétate d'éthyle

M. s. : *Mitracarpus scaber*

T. i. : *Trichophyton interdigitale*

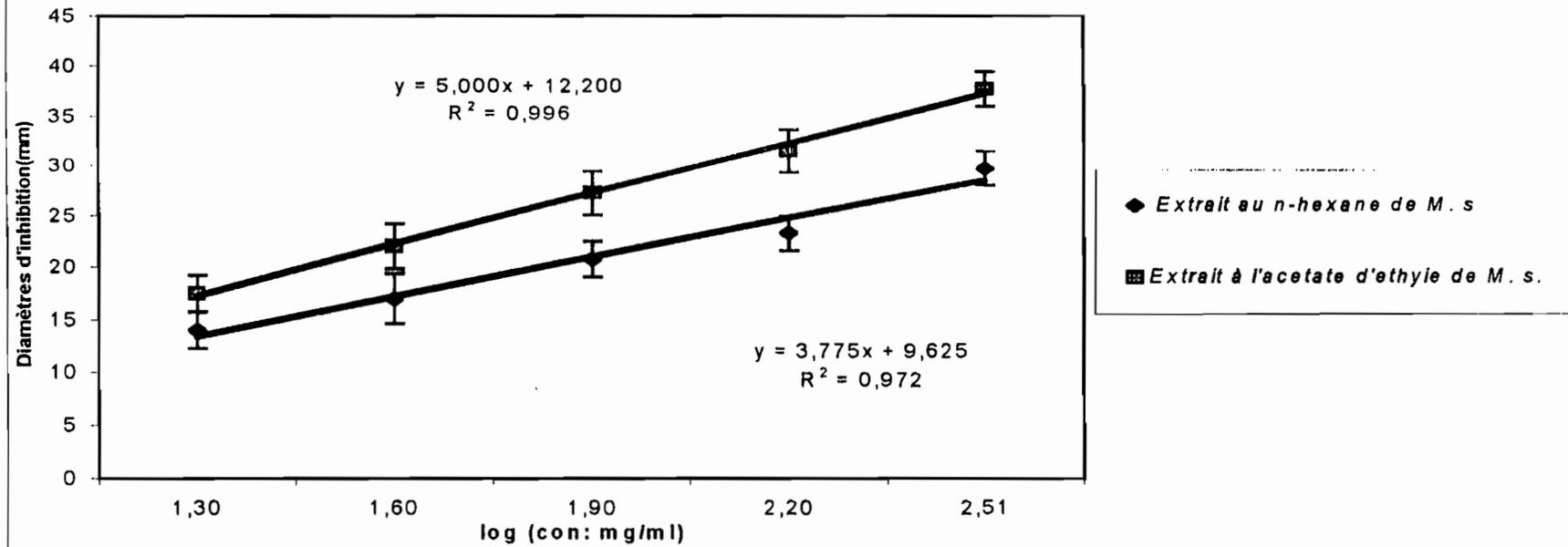
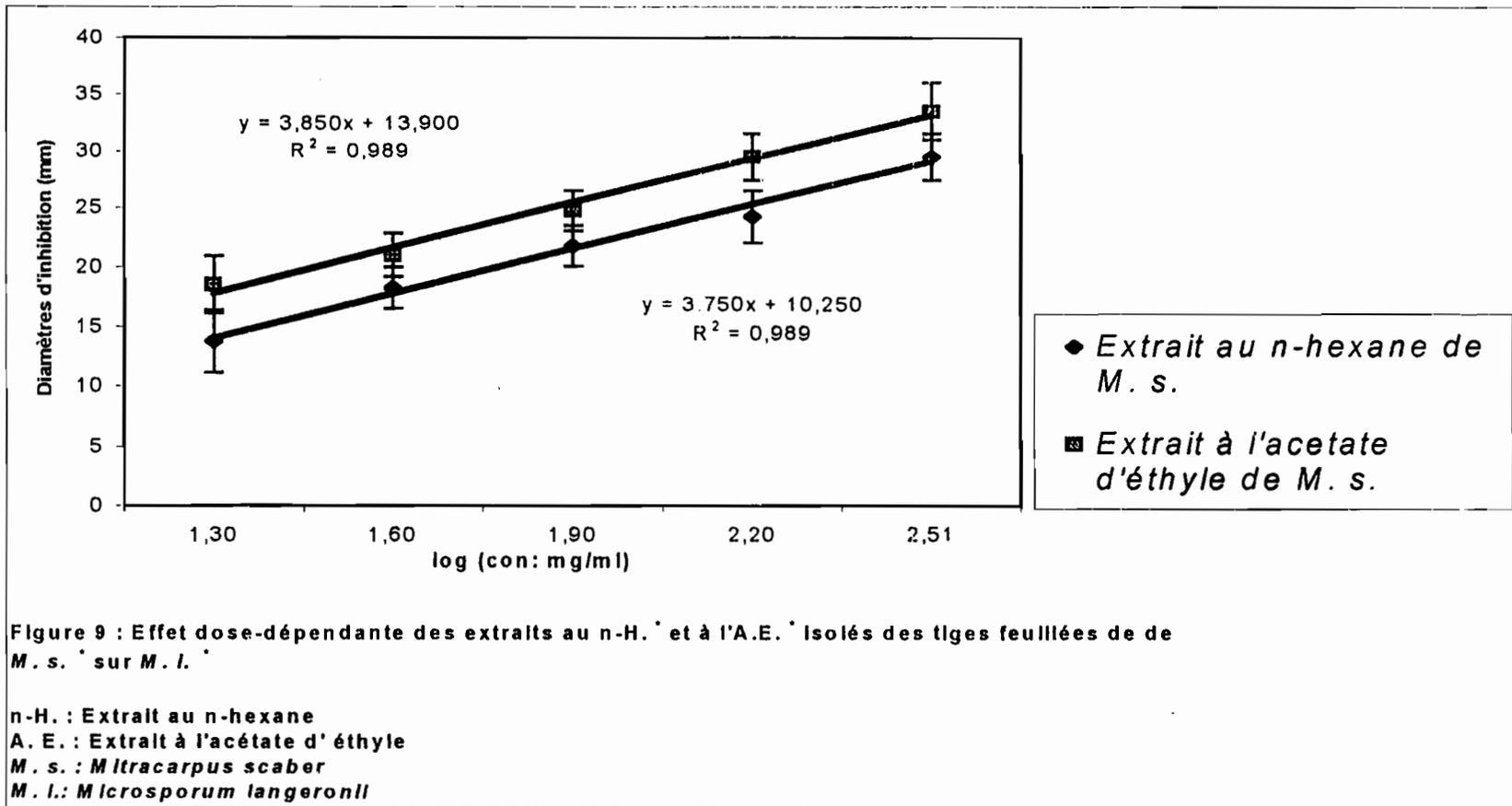


Figure 8 : Effet dose-dépendante des extraits au n-H. * et à l'A. E. * Isolés des tiges feuillées de M. s. * sur T. r *

n-H. : Extrait au n - hexane
 A. E. : Extrait à l'acétate d'éthyle
 M. s. : *Mitacarpus scaber*
 T. r. : *Trichophyton rubrum*



2-4 Résultat de l'activité antifongique des fractions de l'extrait à l'acétate d'éthyle.

L'activité la plus marquée a été observée avec la fraction III.

Tableau VII : Diamètre d'inhibition des fractions testées à la concentration de 20mg/ml

FUNGI	Fraction I	Fraction II	Fraction III	Fraction IV
<i>Trichophyton rubrum</i>	0	14 ± 2	24±2	0
<i>Trichophyton soudanense</i>	0	11± 2	22 ± 2	0
<i>Trichophyton interdigitale</i>	0	10 ± 1	19± 2	0
<i>Microsporium langeronii</i>	0	16± 2	26 ± 2	0

**COMMENTAIRES -
DISCUSSIONS**

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) a été effectuée sur les extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle, les deux extraits actifs. Le but de cette CCM est d'effectuer une étude de la relation constituants chimiques/activité antifongique. C'est ainsi que l'analyse des chromatogrammes des extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle laisse entrevoir dans l'extrait au n-hexane la présence de triterpènes dont les Rf sont proches de ceux des triterpènes libres (mélange de α , β et γ amyrine; de lupéol; de taraxastérol; de pseudotaraxastérol) et des triterpènes acétates. Ce chromatogramme laisse entrevoir aussi la présence des phytostérols se situant à une valeur Rf proche de celui du β -sitostérol. Des flavonoïdes ont été également trouvés dans cet extrait. Dans l'extrait à l'acétate d'éthyle a été trouvé des tanins et des flavonoïdes. Des études antérieures réalisées sur la plante ont permis de mettre en évidence ces composés. Ces études ont été réalisées par Baoua et coll.[11], Kerharo et Adam [40]. Cependant ces études n'ont pas permis d'isoler et de caractériser ces composés.

La comparaison des chromatogrammes obtenus avec le même système de solvant laisse entrevoir une substance D dans l'extrait au n-hexane qui semble identique à la substance E dans l'extrait à l'acétate d'éthyle. Le comportement chromatographique de cette substance se rapproche de celui des triterpènes ou des stéroïdes. Cette substance donne une coloration violette virant au bleu avec le réactif de Liebermann et une coloration bleue avec le réactif au SbCl_3 . Les Rf sont de 0,1 avec le système de solvant S_1 et de 0,2 avec le système de solvant S_2 . Ceci laisse penser donc à la présence d'un triterpène tétracyclique ou d'un stéroïde ayant un caractère plus apolaire que les triterpènes et le β -sitostérol précédemment cités. En effet, la coloration violette virant au bleu avec le réactif de Liebermann est en faveur d'un triterpène tétracyclique ou d'un stéroïde [21]. Cette substance est cependant plus importante dans l'extrait à l'acétate d'éthyle que dans l'extrait au n-hexane. Elle est retrouvée en grande quantité dans la fraction III, fraction issue du fractionnement sur colonne de l'extrait à l'acétate d'éthyle. La substance contenue dans la fraction III semble pure, puisque le

chromatogramme ne révèle guère la présence d'autres substances ; et cela avec plusieurs systèmes de solvants.

Sur le plan de la pharmacologie, les extraits à l'acétate d'éthyle et au n-hexane sont actifs contre les quatre souches de dermatophytes utilisées. Ces extraits ont été testés à plusieurs concentrations. L'extrait au n-hexane est actif à partir de la concentration de 10 mg/ml. L'activité de l'extrait à l'acétate d'éthyle se manifeste à partir de la concentration de 1 mg/ml (tableaux V et VI).

La mesure du diamètre d'inhibition (mm) met en évidence une activité plus importante de l'extrait à l'acétate d'éthyle. Les diamètres d'inhibition ont été mesurés à la concentration de 20 mg/ml. En ce qui concerne le germe le plus sensible à savoir *Microsporum langeronii* ; nous avons observé un rapport de diamètres d'inhibition de 1,3 en faveur de l'extrait à l'acétate d'éthyle.

Ces résultats montrent bien que l'activité antifongique est retrouvée au niveau des extraits apolaires. Ils rejoignent ceux de Mobié et coll.[43] ; Sanogo et coll.[47] Bonga et coll.[16] qui ont montré une activité antifongique des extraits lipidiques de *Mitracarpus scaber*. Nous avons procédé à un épuisement successif avec des solvants de polarité croissante. La substance active très soluble dans les solvants apolaires a été totalement extraite par eux avant le passage du 2-butanol de l'éthanol et de l'eau. C'est la raison pour laquelle les extraits butanolique, éthanolique et aqueux sont inactifs.

Les courbes exprimant la relation entre la dose testée et l'effet antifongique montrent une activité dose-dépendante. La linéarisation de ses courbes permet d'obtenir une loi mathématique de l'utilisation de cette substance. Cela pourrait servir à la standardisation d'une forme galénique.

La comparaison du diamètre d'inhibition de la fraction III et de l'extrait à l'acétate d'éthyle, testé à la concentration de 20 mg/ml montre un rapport d'activité de 1,3 en faveur de la fraction III testée à la même concentration. Le

rendement de cette fraction étant de 5% de l'extrait à l'acétate d'éthyle, on peut supposer que la substance de Rf 0,2 n'est pas la seule responsable de l'activité antifongique. En outre les deux extraits testés à la même concentration ne donnent pas des effets très différents. Nous pensons que les flavonoïdes présents dans les extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle pourraient également contribuer à l'activité antifongique. En effet, certains flavonoïdes ont été reconnus comme possédant une activité antifongique. Il s'agit notamment des flavonoïdes trouvés dans *Alpinia speciosa* [13]. qui seraient actifs sur *Trichophyton rubrum*, *Trychophyton mentagrophytes* et *Epidermophyton floccosum*.

Cette étude nous a permis de mettre en évidence une des substances responsables de l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber*. Il s'agit d'un triterpène tétracyclique ou d'un stéroïde retrouvé dans la fraction III.

Ce résultat n'est cependant pas étonnant puisque des triterpénoïdes et des stéroïdes manifestent une activité antifongique dans les études ultérieures. Bonga et coll.[16] ont aussi isolé un phytosterol responsable d'une activité antifongique sur *Cryptococcus neoformans*. En outre, les triterpènes isolés de *Hygrophyla auriculata* [13] seraient responsables d'une activité antifongique sur *Trichophyton rubrum*, *Trychophyton mentagrophytes* et *Candida albicans*. Les saponines isolés de la luzerne seraient également responsables d'une activité antifongique à l'encontre des candida et diverses dermatophytes[21].

Par ailleurs, parmi les nombreuses propriétés des triterpènes et des stéroïdes figurent les propriétés anti-inflammatoires [45]. Cette observation est particulièrement intéressante dans la mesure où les teignes sont très souvent accompagnées des réactions inflammatoires. Le triterpène tétracyclique ou le stéroïde isolé pourrait non seulement avoir une activité antifongique mais également anti-inflammatoire. Cette hypothèse est à vérifier dans les études ultérieures.

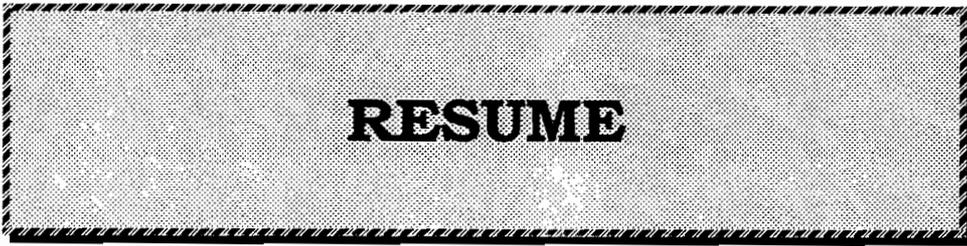
Notre étude nous a permis de mettre en évidence l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber* sur les dermatophytes fréquemment isolés au Burkina Faso. Il s'agit de *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale* et *Microsporum langeronii*. Nous avons par un fractionnement de l'extrait le plus actif isolé la fraction la plus active. D'autres perspectives peuvent être développées à partir de nos résultats à savoir l'identification de la structure du triterpène tétracyclique ou du stéroïde et cela à l'aide de relevés spectroscopiques de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et de masse. Une fois la structure identifiée; elle pourrait servir de modèle à l'hémisynthèse ou même à la synthèse de molécules antifongiques.

CONCLUSION

Nous avons effectué une étude sur *Mitracarpus scaber*. Cette étude a concerné d'une part la recherche de l'activité antifongique sur les dermatophytes fréquemment isolés au Burkina Faso ; et d'autre part l'isolement de la fraction active de *Mitracarpus scaber*.

Mitracarpus scaber est une herbe de 10 à 30 cm de haut. Il s'agit d'une espèce commune à toute l'Afrique intertropicale. Il est utilisé comme antimycosique au Burkina Faso. Des études effectuées dans les pays de la sous région ont mis en évidence son activité antifongique. Aucune étude n'a été faite au Burkina Faso concernant l'activité de cette plante ; et peu d'indications sont données concernant les substances responsables de cette activité. C'est la raison pour laquelle nous avons réalisé une extraction de la poudre des tiges feuillées de *Mitracarpus scaber* avec des solvants de polarité croissante. Les extraits obtenus (n-hexane, acétate d'éthyle, 2-butanol, éthanol et eau) ont été testés sur *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale* et *Microsporum langeronii*. Les extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle se sont révélés actifs sur ces dermatophytes. Les diamètres d'inhibition(mm) varient selon les dermatophytes de 12 mm \pm 2 à 14 mm \pm 3 pour l'extrait au n-hexane. Les diamètres sont de 14 mm \pm 2 à 19 mm \pm 2 pour l'extrait à l'acétate d'éthyle. L'extrait à l'acétate d'éthyle est l'extrait le plus actif isolé de *Mitracarpus scaber*. Une fraction active a été isolée à partir de cet extrait.

Au terme de notre étude, nous avons isolé une des substances actives de *Mitracarpus scaber*. Un travail ultérieur permettra de donner sa structure. L'utilisation traditionnelle a été confirmée et on peut déjà s'orienter vers la préparation des médicaments à partir des fractions telles que celle à l'acétate d'éthyle.



RESUME

Des études réalisées dans les pays de la sous région ont montré l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber* sur *Trichophyton rubrum* et *Candida albicans*. Cependant son activité antifongique sur les dermatophytes fréquemment isolés au Burkina-Faso et les substances responsables de l'activité ne sont pas connues. Notre étude a pour but de contribuer à la mise au point d'un médicament antifongique.

C'est la raison pour laquelle nous avons effectué une extraction avec des solvants de polarité croissante. Les extraits obtenus (n-hexane, acétate d'éthyle, 2-butanol, éthanol et eau) ont été testés sur les dermatophytes selon un protocole mis au point. Une CCM est effectuée sur les extraits actifs dans le but d'établir une relation constituants chimiques - activité antifongique. L'extrait le plus actif a été fractionné par Chromatographie sur colonne. Les différentes fractions obtenues ont été testées suivant le même protocole en vue d'isoler la fraction la plus active.

Les extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle se sont révélés actifs contre *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale* et *Micosporum langeronii*. L'analyse des chromatogrammes des deux extraits a permis de mettre en évidence la présence d'un triterpène tetracyclique ou d'un stéroïde. Ce composé est présent en grande quantité dans la fraction III. Cette fraction III a montré l'activité antifongique la plus marquée.

Nous avons par notre étude isolé un triterpène tetracyclique ou un stéroïde une des substances responsables de l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber*.

Mots clés. Triterpène tetracyclique, stéroïde, activité antifongique *Mitracarpus scaber*.

SUMMARY

**CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE
ANTIFUNGAL ACTIVITY OF *Mitracarpus
scaber* zucc (RUBIACEAE)**

Mitracarpus scaber is widely spread in west Africa where it used as antifungal agent. Many phytochemical and pharmacological studies has been realised in west African regions. These studies has shown the antifungal activity of *Mitracarpus scaber* on *Trichophyton rubrum* and *Candida albicans*. However, its antifungal activity on the dermatophytes frequently isolated in Burkina-Faso and the substance responsible of activity are not established. The aims of study is to isolate and identify the antifungal principles.

For this purpose, the aerial parts of *Mitracarpus scaber* were powdered and successively extracted with n-hexane, ethyl acetate, 2-butanol, ethanol and water.

All of these extracts have been tested on *trichophyton rubrum*, *trichophyton soudanense*, *trichophyton interdigitale* and *microsporum langeronii* according to an established protocol. The TLC of the extracted assets is made in order to establish a relation ship between contiting chemical and antifungal activity. The most : active extract has been fractionnated by column chromatography. The different fractions have been teted following the same protocol in order to isolate the most active fraction.

The n-hexane and ethyl acetate extracts appeared active against *trichophyton rubrum*, *trichophyton soudanense*, *trichophyton interdigitale* and *microsporum langeronii*. The analysis of the chromatograms of the two extracted assets made obvious the presence of a tetracyclique triterpene or steroid. This component is present in large quantity in the fraction III was the most active.

Throughout our study, we have isolate a tetracyclique triterpen or a steroid one of the substances responsible of the antifungal activity of *Mitracarpus scaber*

Key words : Tetracyclique triterpen, steroid, antifungal activity *Mitracarpus scaber*

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1-Abraham C., Amoros M., Girre L.

Etude de l'activité antifongique de plantes supérieures: action de 39 plantes indigènes sur 4 champignons phytopathogènes. Ann. pharmaceutiques françaises 1983 ; 41 n°3: 251-260

2-Adjanohoun E.J., Ahyi M.R.A., Aké A.L., Akpagana K., Chibon P., El-Hadji A., Gbeassor M., Goudote E., Ginko S., Hodouto K., Lo I., Siameivi K.M., Houngnou P., Keita A., Keoula Y., Kluga-ocloo W.P., Taffame K.K.

Médecine traditionnelle et pharmacopée: contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. Paris: ACCT, 1986: 317

3-Adjanohoun E.J., Adjakidje V., Ahyi M.R.A., Aké A.L., Akoegninou A., Dalmeida J.

Médecine traditionnelle et pharmacopée: contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Bénin. Paris: ACCT, 1986: 317

4-Adjanohoun E.J., Ahyi M.R.A., Aké Assi L., Dan Dicko L., Daouda H., Delmas M., De Souza S., Garba M., Guinko S., Kayonga A., N'golo D., Raynal J-L., Saadou M.

Médecine traditionnelle et pharmacopée: contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger. 2ème édition. Paris: ACCT, 1985 :142

5-Adjanohoun E.J., Floret J.J., Ginko S., Koumaré M., Ahyi M.R.A., Raynal J-L Aké A.I.

Médecine traditionnelle et pharmacopée: contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali. 4ème édition. Paris: ACCT, 1986: 20-64

6- Almagboul A.Z., Bashir A.K., Karim A., Shalih M.

Antimicrobial activity of certain sudanese plants used in folkloric medicine. Screening for antifungal activity. *Fitoterapia* 1988; 5: 393-396

7 Agnery J., Bourlioux P., Doutremepuich C., Farinotti R., Pays M., Vanbourdolle M.

Le moniteur internat : Infectiologie tome 5. Paris: groupe liaison SA: 335-368

8-Badillet G.

Dermatophyties et dermatophytes Atlas clinique et biologique. Paris: Varias. 1982

9-Badillet G.

Dermatophytes et immigration. *Ann. Biol. Clin.* 1988 ; 46: 37-43

10-Badillet G.

Dermatophyties et dermatophytes. Cours de mycologie médicale. Institut Pasteur. 1990 : 53

11-Baoua M., Joël F., Bessière J.M.

Essais phytochimiques préliminaires sur quelques plantes médicinales du Niger. *Plantes médicinales et phytothérapie* 1976 ; 4 : 251-266

12-Basex J., Loche F.

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

13-Bep O.B.

Medicinal plants in tropical west Africa. 1st édition. London Cambridge university press, 1986 : 375

14-Berhaut J.

Flore du Sénégal. 2ème édition. Dakar: Clairafrique, 1967: 177

15-Biguet J., Deblocks S., Cochet G., Ouedraogo P.

Premières contributions à l'étude des teignes en Haute-Volta..
Revue des dermatophyties et des dermatophytes en Afrique noire.
Ann. Parasit. Hum. et Comp. 1959 ; 34: 694-715

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

Mise en évidence de phytostéroïdes antifongiques contre *Cryptococcus neoformans*. Revue Méd. Pharm. Afr. 1995 ; 1 : 42-48

17-Bouchet Ph., Guignard J.L., Madulo-Leblond G., Régli P.

Abrégés de Mycologie générale. Paris: Masson, 1989: 91-159

18-Bouquet A., Debray M.

Plantes médicinales de la Côte d'Ivoire. Paris: ORSTOM, 1974: 49-148

19-Bourée P.

Maladies tropicales. Paris: Masson, 1987: 135-147

20-Brindamour A.

Les mycoses superficielles. Québec Pharmacie 1995 ; 7: 593-609

21-Bruneton J.

Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 2e édition,
Paris: Technique et documentation, lavoisier, 1987: 385-613

22-Càceres A., Lopez B., Juàrez X., Del Aguila J., Garcia S.

Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophic
infections. 2. Evaluation of antifungal activity of seven american
plants. Journal of ethnopharmacology. 1993; 40: 207-213

23-Centre belge d'information pharmacotherapeutique.

Repertoire commenté des médicaments. 11 éme édition . Bruxelles,
1997: 217-219

24-Chouvalova E.

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

25-Compaoré L.

Etude des teignes du cuir chevelu en milieu scolaire dans la ville de
Ouagadougou (BF).

Thèse Méd., Université Ouagadougou, 1993, n°280: 66

26-De la Pradilla C-F.

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

27-De la Pradilla C-F.

Des plantes qui nous ont guéris. Ouagadougou : petit séminaire de
Pabré, 1982: 208

28-Drouhet E. , Dupont B.

Antibiogramme des champignons aux antifongiques. Bulletin de la
société de mycologie médicale 1970; 2: 165-170

**29-Ekpendu T.O.E., Adesomoju A.A., Ekundayo O., Okogun
J.I.**

Constituents of the volatile oil of *Mitracarpus scaber* zucc. Flavour
and Fragrance Journal 1993;8 :269-271

30-Ekpendu T.O.E., Adesomoju A.A., Akah B.A., Okogun J.I.

Antiinflammatory and antimicrobial activities of *Mitracarpus
scaber* extracts. International journal of pharmacognosy. 1994 ; 32, :
191-196

31-Fuzellier M.C., Mortier F., Lectard P.

Activité antifongique de *Cassia alata* L. Ann.pharmaceutiques
françaises 1982; 40, : 357-363

32-Gassita J.N.

La nouvelle pharmacopée pragmatique Africaine justification scientifique et applications industrielles. 7^{ème} colloque du CAMES. Lomé: Les presses U. B, 1995: 95-101

33-Gentillini M., Duflo B.

Médecine tropicale. 4e édition. Paris: Flammarion,1986: 247-250

34-Guigma Y.I.

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

35-Guigmendé T.R., Tapsoba G.P., Paré J.L., Sawadogo O.

Données préliminaires sur les mycoses cutané-phanériennes à Ouagadougou (B.F). Méd. Tropicale 1992 ; 52: 151-155

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

Traité de mycologie médicale. 2e édition. Paris: Doin, 1986: 473

37-Hutchinson J., Dalziel J.M.

Flora of west tropical Africa. vol (II) sd edition. London: F. N. Hepper, B. Sc, F. L. S, 1963: 91-110

38-Irobi O.N., Daramola S.O.

Antifungal activities of crude extracs of *Mitracarpus villosus* (Rubiaceae)

Journal of ethnopharmacology. 1993; 40: 137-140

39-Jacquemin P., Jacquemin JL.

Parasitologie clinique .3^{ème} édition. Paris: Masson, 1987: 221-250

40- KerharoJ., Adam JC.

La pharmacopée sénégalaise traditionnelle : plantes médicinales et toxiques. Paris : Vigot et frère 1974 : 1019

41-Mahuzier G., Hamon M.

Abrégé de chimie analytique. Tome II. Méthodes de séparation. 2e édition. Paris: Masson, 1986: 111-235

42-Maury M.

Milieux et réactif de laboratoire Pasteur. Microbiologie-immunologie. 3^{ème} édition. Paris; onaphi, 1987: 401-414

43-Mobié M., Bonga G.M. , Vangah-Manda M., De souza C.

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

44-Nacoulma G.O.

Plantes médicinales et pratiques médicinales traditionnelles au B. F.
Cas du plateau central tome 2. Doctorat es sciences. Université de Ouagadougou 1996 : 72-187

45- Nikiéma J-B.

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

46-O'fel A.

Parasitologie mycologie: Maladies parasitaires et fongiques. Association des professeurs de parasitologie. 3e édition. Paris: E. Crouan et Roques, 1987.

47-Sanogo R., Germao M.P., De pasquale R., Keïta A., Bisignano G.

Selective antimicrobial activities of *Mitracarpus scaber* Zucc. against *Candida* and *Staphylococcus* sp. Phytomedicine. 1996; 2 (3): 265-268

48-Sigal M., Belaïch S.

Conduite diagnostique devant une mycose superficielle. Revue du praticien. 1984; 34: 273-276

49-Sirot J., Guignard J.L., Madulo-Leblond G.

Evaluation de l'activité antibactérienne des ATB in vitro. Dans: Le Minor L, Véron M,. Bactériologie médicale. Paris: Flammarion, 1989: 297-314

50-Tapsoba G.M.L

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

51-Vanbreuseghem R., De Vroey Ch., Takashid M.

Guide pratique de mycologie médicale et vétérinaire. Paris : Masson, 1978 : 1-165

**FACULTE DES SCIENCES
ET DE
LA SANTE**

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

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

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

VU

LE PRESIDENT DU JURY

VU

LE DOYEN

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE
L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DE
Mitracarpus scaber Zucc
(Rubiaceae)**

Des études réalisées dans les pays de la sous région ont montré l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber* sur *Trichophyton rubrum* et *Candida albicans*. Cependant son activité antifongique sur les dermatophytes fréquemment isolés au Burkina-Faso et les substances responsables de l'activité ne sont pas connues. Notre étude a pour but de contribuer à la mise au point d'un médicament antifongique.

C'est la raison pour laquelle nous avons effectué une extraction avec des solvants de polarité croissante. Les extraits obtenus (n-hexane, acétate d'éthyle, 2-butanol, éthanol et eau) ont été testés sur les dermatophytes selon un protocole mis au point. Une CCM est effectuée sur les extraits actifs dans le but d'établir une relation constituants chimiques - activité antifongique. L'extrait le plus actif a été fractionné par Chromatographie sur colonne. Les différentes fractions obtenues ont été testées suivant le même protocole en vue d'isoler la fraction la plus active.

Les extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle se sont révélés actifs contre *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton interdigitale* et *Micosporum langeronii*. L'analyse des chromatogrammes des deux extraits a permis de mettre en évidence la présence d'un triterpène tetracyclique ou d'un stéroïde. Ce composé est présent en grande quantité dans la fraction III. Cette fraction III a montré l'activité antifongique la plus marquée.

Nous avons par notre étude isolé un triterpène tetracyclique ou un stéroïde une des substances responsables de l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber*.

Mots clés. Triterpène tetracyclique, stéroïde, activité antifongique *Mitracarpus scaber*.
