

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

N° d'ordre :

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES



THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE TROISIEME CYCLE

Spécialité : Sciences Biologiques Appliquées

Option : Physiologie Animale

Par

LOMPO Marius

Docteur en Pharmacie , Diplôme d'Etat.

TITRE :

ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DES EXTRAITS D'ECORCES

DE TRONC DE

KHAYA SENEGALENSIS A. JUSS (MELIACEAE).

MISE AU POINT D'UNE FORME GALENIQUE TOPIQUE (PHASE I)

Soutenue le 04 Juin 1999

Devant le Jury :

Président : Professeur Laya SAWADOGO, Faculté des Sciences et
Techniques/Ouagadougou

Membres : Professeur I. Pierre GUISSOU, Faculté des Sciences de la
Santé/Université de Ouagadougou

Professeur Arouna KEITA, Faculté Mixte de Médecine et
Pharmacie/Université de Bamako

Professeur Z. Issiaka KABORE, Directeur de Recherche, Institut
de Recherche en Sciences de la Santé/Ouagadougou

SOMMAIRE

	PAGES
INTRODUCTION	2
ENONCE DU PROBLEME	5
OBJECTIFS DE L'ETUDE	6
PREMIERE PARTIE : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	8
A- RAPPELS SUR LA PATHOLOGIE INFLAMMATOIRE ET SON TRAITEMENT	9
B- RAPPELS SUR <i>KHAYA SENEGALENSIS</i> A. JUSS (MELIACEAE)	16
I- BOTANIQUE	16
I-1- La famille des MELIACEAE	16
I-2- Le genre <i>Khaya</i>	17
I-3- L'espèce <i>Khaya senegalensis</i> A. Juss	17
II- CHIMIE (historique)	22
III- PHARMACOLOGIE – TOXICOLOGIE	26
IV- EMPLOIS EN MEDECINE TRADITIONNELLE	29
IV-1- Données bibliographiques	29
IV-2- Données recueillies auprès des tradithérapeutes Burkinabé	31
C- RAPPELS SUR LES FORMULATIONS GALENIQUES A USAGE TOPIQUE	
I- LES VEHICULES ET EXCIPIENTS	33
I-1- Propriétés des véhicules	33
I-2- Critères de qualité des excipients	35
I-3- Classification des excipients	36
I-4- Choix des formes à réaliser	46
I-5- Choix des véhicules	48
II- FORMULATION GALENIQUE PROPREMENT DITE	50
II-1- Formulation des émulsions	50
II-2- Formulation des gels	52
II-3- Contrôles pharmaceutiques	53
DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX EXPERIMENTAUX	54
CHAPITRE I: MATERIELS ET METHODES D'ETUDE	55
A - MATERIELS D'ETUDE	56
I- Matériel pour les études phytochimiques	56
I-1- Matériel végétal	56
I-2- Solvants, réactifs et Matériels divers	56

II- Matériel pour les études galéniques	56
II-1- Matériel végétal	56
II-2- Matériel de formulation	56
II-3- Matériel de contrôle des formes réalisées	58
III- Matériel pour les études pharmacologiques	58
III-1- Test anti-inflammatoire	58
III-2- Test sur la température corporelle	60
IV- Matériel de l'étude de la toxicité	61
IV-1-Toxicité générale aiguë	61
IV-2-Toxicité cutanée	62
B - METHODES D'ETUDE	63
I- METHODES D'ETUDES PHYTOCHIMIQUES	63
I-1- Extractions	63
I-2- Screening phytochimique	64
I-3- Chromatographie sur couche mince	64
I-4-Fractionnement de l'extrait à la pétroléine	65
I-5-Procédés des mesures spectrométriques destinés à l'élucidation de la structure des phytostérols	66
II- METHODES D'ETUDE GALENIQUE	67
II-1- Choix des formes à réaliser	67
II-2- Modes de préparation	68
III - METHODE D'ETUDE PHARMACOLOGIQUE	76
III-1- Test anti-inflammatoire	76
III-2- Test sur la température corporelle avec l'extrait aqueux	79
IV-METHODE D'ETUDE TOXICOLOGIQUE	79
Toxicité générale aiguë	79
DL50	80
Toxidrome	80
V-METHODE D'ETUDE DES TOPIQUES	81
V-1- Effet anti-inflammatoire comparé	81
V-2-Contrôle pharmaceutique	81
V-3-Tolérance cutanée	84
VI-METHODES D'ANALYSE DES RESULTATS	87
VI-1- Phytochimie	87
VI-2- Galénique	87
VI-3- Pharmacologie	87
VI-4- Toxicologie	88
CHAPITRE II : RESULTATS EXPERIMENTAUX	89
A - RESULTATS PHYTOCHIMIQUES	90
I - Principes chimiques	90
II-Chromatographie sur couche mince	90
III-Fractionnement de l'extrait à la pétroléine	92
IV-Spectrométrie	96
IV-1- Identification des phytostérols	96

IV-2- Caractérisation des esters triterpéniques	105
B - RESULTATS GALENIQUES	105
I - FORMES GALENIQUES	105
I-1- Les crèmes	105
I-2- Les gels	106
II - CONTROLE DES FORMES GALENIQUES	108
II-1- Tests d'évaluation des crèmes	108
II-2- Tests d'évaluation des gels	112
C - RESULTATS PHARMACOLOGIQUES	114
I - ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE	114
I-1- Activité anti-inflammatoire des extraits versus Indométacine	114
I-2- Activité anti-inflammatoire des topiques versus Indométacine	129
II - ACTIVITE DE L'EXTRAIT AQUEUX SUR LA TEMPERATURE CORPORELLE	138
D - RESULTATS TOXICOLOGIQUES	140
I - LETHALITE (DL50)	140
I-1- Extrait aqueux lyophilisé	140
I-2- Extrait chloroformique	141
II - TOXIDROME (Manifestations aiguës)	142
II-1- Hypothermie	142
II-2- Autres manifestations de la toxicité générale aiguë	145
III - TOLERANCE CUTANEE	145
III-1- Tolérance de la peau vis-à-vis des crèmes	145
III-2- Tolérance de la peau vis-à-vis des gels	147
CHAPITRE III : DISCUSSION DE L'ETUDE.	148
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	148
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	164
ANNEXES	172

Je dédie cette thèse...

A mon père H.René (in memoriam)

A mon épouse Rasmata

A mon fils Eddy Jean Arold

A ma filleule Christelle

A mes parents, frères et sœurs

A mes Camarades, amis et collègues

REMERCIEMENTS

Au Professeur I.Pierre GUISSOU

Vous nous faites l'honneur d'accepter de diriger ce travail malgré vos multiples occupations académiques et professionnelles. Votre rigueur scientifique et votre amour du travail bien fait font de vous assurément un enseignant modèle. Soyez assuré de notre profonde admiration et sincère gratitude.

Au Professeur Laya SAWADOGO

Vous avez accepté spontanément et avec plaisir de co-diriger ce travail malgré vos différentes charges académiques. Votre rigueur scientifique, votre amour du travail bien accompli forcent l'admiration. Puisse ce travail refléter vos conseils précieux prodigués en homme de science averti.

Au Professeur Arouna KEITA

Vous nous faites l'honneur de siéger dans notre jury de Thèse et de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Bamako, c'est loin, mais c'est également si proche ; tant vous avez voulu par votre présence marquer cette nécessaire collaboration inter-universitaire témoignant ainsi de l'universalité de la Science. Votre riche expérience, votre facilité d'approche, vos qualités humaines, votre rigueur scientifique au travail bien fait forcent l'admiration. Nous garderons de vous l'image d'un enseignant exemplaire. Soyez assuré de notre profonde gratitude.

Au Professeur Z. Issiaka KABORE que nous appelons affectueusement le DOYEN.

Vous avez accepté spontanément, avec plaisir et amabilité de siéger dans notre jury de Thèse et de juger ce travail. Vous avez été pour nous une source inépuisable de conseils et de savoir-faire. Soyez assuré de notre profonde gratitude et reconnaissance.

ABREVIATIONS ET SYMBOLES

A.I.	: Anti-inflammatoire
A.I.S	: Anti-inflammatoire stéroïdien
A.I.N.S	: Anti-inflammatoire non stéroïdien
DL50	: Dose létale 50 %
I.C.	: Intervalle de confiance
C.C.M.	: Chromatographie sur Couche Mince
C.C.M.P.	: Chromatographie sur Couche Mince Préparative
i.p.	: intrapéritonéale
per os	: voie orale
D.M.S.O.	: Diméthylsulfoxyde
Q.S.P.	: Quantité Suffisante Pour
R.M.N.	: Résonance Magnétique Nucléaire
O.D.	: Oreille Droite
O.G.	: Oreille Gauche
H.P.M.C.	: Hydroxypropylméthylcellulose
P.E.G.	: Polyéthylèneglycol
C.P.G.	: Chromatographie en Phase Gazeuse
RMN ¹H	: Résonance Magnétique Nucléaire du Proton
RMN ¹³C	: Résonance Magnétique Nucléaire du Carbone
CDCl₃	: Chloroforme Deutérié
I.P.	: Indice d'irritation cutanée Primaire
U.L.B.	: Université Libre de Bruxelles
E.D.T.A.	: EthylèneDiamine Tétracétique
F.N.	: Formulaire Nationale
H.L.B.	: balance entre l'hydrophilie et la lipophilie
H/E	: huile dans eau
E/H	: Eau dans huile
D.E 50	: Dose-effet 50 %

INTRODUCTION

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques remonte depuis l'apparition de l'homme face aux différentes adversités de la nature. Il dût dégager par intuition et en intime contact avec elle et par une lutte incessante et subtile pour sa survie un savoir qui lui permet de distinguer ce qui est utile et ce qui est nuisible ; ce qui nourrit, ce qui guérit et ce qui tue. Ainsi naîtra l'art de guérir par l'utilisation de divers procédés dont l'usage des vertus des plantes.

Au cours des millénaires, les connaissances de l'homme sur les plantes médicinales se sont constamment étendues et approfondies d'une civilisation à l'autre. Jusqu'au 19^e siècle la phytothérapie, c'est-à-dire le traitement des maladies par des préparations pharmaceutiques à base de drogues végétales, a constitué l'essentiel de l'arsenal thérapeutique (ATTISSO, 1979). Elle cédera peu à peu le pas aux formes médicamenteuses obtenues à partir des principes actifs isolés des plantes médicinales. Au point que celles-ci sont en partie tombées dans l'oubli au profit de la chimiothérapie de synthèse totale ou partielle. Très rapidement et de nos jours les plantes médicinales suscitent, dans le monde entier un vif regain d'intérêt (PELT, 1979).

Selon le même auteur, inquiet des excès des civilisations industrielles et des menaces qu'elles font peser sur la santé physique et morale, toujours plus nombreux sont les hommes qui font appel, dans un mouvement de réconciliation avec la nature à divers types de médecines naturelles, notamment aux plantes médicinales.

Les plantes médicinales constituent le plus souvent une «thérapeutique douce » et censées présenter moins d'inconvénients que les substances pures, que celles-ci soient extraites du règne végétal ou fabriquées par synthèse (Pharmacie Mondiale, 1978).

En Afrique et au Burkina Faso en particulier, l'utilisation des plantes médicinales est une des principales composantes de la médecine traditionnelle.

Cette médecine et pharmacopée traditionnelles, élément fondamental de l'organisation sociale de nos sociétés traditionnelles a connu une évolution en trois phases :

Pendant l'époque précoloniale, l'organisation de notre société intégrait la médecine et la pharmacopée traditionnelles comme fonction sociale destinée à résoudre les problèmes de santé des populations. Sa pratique et sa structuration correspondaient à une codification adoptée autorisant son développement harmonieux avec ses limites et performances en rapport avec chaque type de société. Cette médecine était essentiellement spiritualiste mais avec une participation non négligeable de recette phytothérapeutique. Ainsi disait KERHARO (1974) : « S'il est un domaine dans lequel les hommes de tous les temps et de toutes les races ont, dans tous les pays à l'origine de leur histoire, fait intervenir le sacré, le mystique, le religieux, c'est bien celui de l'art médical né de l'inquiétude humaine en présence de la maladie et de la mort. »

Pendant la période coloniale la pratique traditionnelle en matière de santé n'a pas échappé au rejet du colonisateur de tout ce qui était autochtone car considéré comme signe d'arriération et de refus de « l'œuvre de civilisation ». Sa pratique va entrer dans la clandestinité et elle connaîtra une certaine stagnation.

La dépréciation de la médecine et pharmacopée traditionnelles a continué après les indépendances. La raison réside dans les séquelles de la répression coloniale ainsi que l'aliénation culturelle qu'elle a engendrée. Ainsi, l'article 49 du code de la santé publique de notre pays (version 1970) indique que la médecine traditionnelle est provisoirement tolérée, dénotant la volonté de ne pas mettre à profit ce patrimoine pour le développement de notre système de santé (O.M.S. Représentation de Ouagadougou ; 1994).

Toutefois, les populations paysannes en particulier vont continuer à faire confiance à cette pratique face aux exigences de la pratique moderne.

De nos jours, l'utilisation de plus en plus grandissante des produits de la médecine et de la pharmacopée traditionnelles est liée au contexte socioculturel et économique du pays.

Avec un fort taux d'analphabétisme (71 % d'hommes et 82% de femmes n'ont jamais été à l'école), la population Burkinabé réside en majorité en milieu rural (82%) (KONATE et Coll. 1994).

Elle a pour l'essentiel recours aux méthodes traditionnelles parfois empiriques de traitement du fait que d'une part, nos plantes ont montré une certaine efficacité thérapeutique dans le traitement de nombreuses pathologies tropicales contre lesquelles la médecine moderne est restée impuissante ; d'autre part, la conjoncture économique difficile du pays à travers le faible développement des infrastructures et du personnel sanitaire. Le faible pouvoir d'achat des populations ainsi que les prix prohibitifs des produits européens importés en sont également une cause de ce recours à la pharmacopée traditionnelle qui reste encore moins onéreuse et diversifiée.

Dès lors, on notera un accroissement des points de ventes de plantes et drogues végétales de même que des locaux d'exercice de la médecine traditionnelle même en zone urbaine.

Si l'engouement pour l'exercice et l'utilisation des produits de la médecine et de la pharmacopée traditionnelle est sans nul conteste, il demeure que cet art fait l'objet de critiques parmi lesquelles :

- son manque de codification,
- le manque d'hygiène,
- les usages incontrôlés,
- la non maîtrise des posologies,
- son empirisme,
- le manque de standardisation dans les méthodes de préparation et de conservation des recettes.

Ainsi, conscients de la richesse que constitue ce patrimoine, de nombreux chercheurs vont contribuer par leurs travaux à rendre cet art plus rationnel entraînant dans leur élan l'autorité politique qui réalise désormais l'intérêt que peuvent constituer la médecine et pharmacopée traditionnelles pour le développement du système de santé.

Notre travail qui se situe parfaitement dans ce cadre s'intéresse à *Khaya senegalensis* A. Juss. (Meliaceae) plante très largement utilisée en tradithérapeutique au Burkina Faso dans les pathologies à composante inflammatoire.

Cette étude qui est une contribution à l'utilisation thérapeutique plus rationnelle des écorces de tronc de cette plante comportera :

- une première partie : rappels bibliographiques ; qui fait le point des travaux antérieurs du point de vue botanique, chimique, emplois en Médecine traditionnelle, pharmacologique et toxicologique ;
- une seconde partie, qui est notre contribution ,comportera une étude phytochimique orientée dans le sens de l'isolement de fractions actives ; une étude pharmacologique qui permet de cibler les extraits et fractions plus actives ; une étude de toxicité générale aiguë qui permettra de compléter les prérequis nécessaires à l'utilisation de cette plante et enfin des formulations galéniques à usage topique répondant à des critères de bonnes pratiques de fabrication et permettant d'aborder plus tard des études cliniques sur animaux et en milieu hospitalier.

ENONCE DU PROBLEME

La pathologie inflammatoire est une pathologie dont les causes sont très diverses (traumatisme, brûlure, irradiation ou pénétration d'agents pathogènes extérieurs : virus, bactéries, parasites, antigènes etc...) c'est à dire que le phénomène inflammatoire est très répandu surtout avec l'apparition du SIDA dont il est un corollaire.

Le traitement de l'inflammation se fait par l'utilisation le plus souvent de produits qui ne sont pas toujours dénués d'inconvénients. Ainsi, les dérivés du pyrazolone (AINS) comme la Phénylbutazone, très active dans les affections rhumatismales sur les symptômes articulaires, l'œdème, l'hyperthermie, en particulier dans la spondylarthrite ankylosante, peut entraîner des accidents gastriques (réveil d'ulcères et des accidents sanguins : agranulocytose et anémie aplastique. En pommade à 5%, elle peut provoquer des réactions d'intolérance cutanée.

Les dérivés salicylés comme l'aspirine utilisée à dose prolongée peut provoquer des saignements gastriques , de l'acidocétose et chez le diabétique diminuer la glycosurie et l'hyperglycémie. L'indométacine qui est utilisée dans les affections rhumatismales, polyarthrite rhumatoïde, spondylarthrite ankylosante, les inflammations des articulations, la goutte, est cependant contre-indiqué chez les ulcéreux, les colitiques, les allergiques, les femmes enceintes et les enfants.

Les anti-inflammatoires stéroïdiens en particulier les glucocorticoïdes présentent beaucoup d'effets secondaires parmi lesquels :

- des effets métaboliques à la suite de traitements prolongés : modification du métabolisme calcique avec tendance à l'ostéoporose ; phénomènes d'hypercortisme ; bouffissure du visage et dépôts graisseux ; œdème, hypertension ; troubles hypokaliémiques de l'électrocardiogramme ;
- des accidents gastro-intestinaux ;
- une aplasie de la corticosurrénale ;
- une sensibilité aux infections : l'action dépressive sur le système lymphoïde entraîne une diminution des réactions de défense immunitaire et favorise le développement des infections bactériennes, virales et fongiques.

A ces principaux inconvénients, s'ajoute la tendance effrénée à l'automédication, toute chose tendant à rendre délicate l'utilisation des anti-inflammatoires ci-dessus cités.

Il existe cependant des produits de plantes médicinales utilisés en thérapie traditionnelle par les populations sans causer de risques et qui font la preuve de leur efficacité.

De plus en plus, l'Etat développe une politique de valorisation de la Pharmacopée traditionnelle, et le rôle du chercheur est de se situer à l'interface entre les pratiques traditionnelles et l'utilisation médico-pharmaceutique.

OBJECTIFS DE L'ETUDE

Les objectifs visés à travers cette étude sont :

A. Objectifs Généraux

- Etudier l'activité anti-inflammatoire des extraits d'écorce de *Khaya senegalensis* A. Juss.
- Mettre au point une forme galénique.

B. Objectifs spécifiques

- Mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire chez la souris des extraits versus l'indométacine.
- Comparer l'activité anti-inflammatoire de ces différents extraits versus l'indométacine, AINS de référence.
- Evaluer la toxicité des extraits chez la souris.
- Réaliser des formes galéniques externes à partir des extraits.

PREMIERE PARTIE
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

A. RAPPELS SUR LA PATHOLOGIE INFLAMMATOIRE ET SON TRAITEMENT

I. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'INFLAMMATION

L'inflammation est une réaction de défense des êtres vivants à une lésion ou une stimulation cellulaire excessive ou anormale. Cela peut résulter d'un traumatisme, d'une brûlure, d'une irradiation ou de la pénétration d'agents pathogènes extérieurs (virus, bactéries, parasites, antigènes) ou d'auto-antigènes (molécules induisant la formation d'auto-anticorps). Dans ce dernier cas l'organisme est attaqué par son propre système immunitaire. Depuis près de vingt siècles, l'inflammation est diagnostiquée grâce aux signes cardinaux (pour les peaux claires) « *rubor et tumor cum calore, dolore et functio laesa* » énoncés par Aulus Cornelius Celsius c'est-à-dire la rougeur, gonflement, chaleur et douleur (DOMART et Coll. , 1981). A la suite de différents types d'inflammations aiguës l'ensemble du tissu conjonctif réagit pour constituer le processus inflammatoire chronique. Une activation inappropriée des cellules circulantes du sang périphérique ou des cellules résidentes dans des organes spécifiques entraîne une destruction cellulaire, suivie souvent de fibrose et qui persiste au-delà d'un stimulus initial. Ce stimulus est souvent encore non identifié dans de nombreuses maladies.

I.1. Médiateurs chimiques et enzymes de l'inflammation

La réponse immune inflammatoire implique des cellules participant en partie à la réponse immune (lymphocytes T réactifs, helper, T₄ et suppressor, T₈ mais aussi la production de médiateurs cellulaires (cytokines) qui ne peuvent pas être éliminés ou inhibés assez rapidement. Ces cytokines, suivant les étapes de l'inflammation aiguë ou chronique, peuvent conduire à la synthèse d'inhibiteurs ou d'activateurs qui peuvent avoir un effet de retrocontrôle (feed back) sur le processus inflammatoire.

Deux principaux médiateurs : l'acide dihomolinolénique et l'acide arachidonique sont hydrolysés à partir des phospholipides de toutes les membranes cellulaires. La libération de ces 2 médiateurs à partir de la membrane cellulaire est la source des précurseurs des prostaglandines de la série 1 et 2, respectivement.

Lors d'une haute teneur dans la nourriture d'acide linoléique (à base de poissons), un troisième précurseur, l'acide eicosapentaénoïque (E.P.A) est formé et donne naissance à la série 3 des prostaglandines.

Le précurseur principal eicosanoïde (le terme eicosanoïde ; eicosa = 20 ; est un terme général utilisé pour définir la famille des médiateurs lipidiques dont la structure de base est un acide gras saturé comptant 20 carbones et comportant un noyau cyclopentane, appelé acide prostanoïque) l'acide arachidonique, hydrolysé par des phospholipases (de type A_2), est métabolisé par différentes enzymes, à savoir la cyclo-oxygénase, les lipoxygénases ou les époxygénases, dernier groupe d'enzymes récemment caractérisés.

La cyclo-oxygénase, bloquée par la plupart des Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) classiques, génère les prostaglandines D_2 , E_2 , F_2 , ainsi que la prostacycline (PGI_2) et le thromboxane (TXA_2).

Les 5-, 12-, et 15 lipoxygénases produisent respectivement les leucotriènes, les hepoxylines et les lipoxines. Certains AINS, quelques antagonistes compétitifs dérivés de l'acide arachidonique, ainsi que divers agents chimiques (Nafazatrom, acide cafféique, antioxydants) sont capables d'inactiver l'une ou l'autre des lipoxygénases.

Durant ces dernières années, le mode d'action des corticoïdes sur la production des prostaglandines a été partiellement élucidé. Ils induisent la formation d'une protéine spécifique, la lipocortine qui inhibe stoechiométriquement l'activité de la phospholipase A_2 enzyme nécessaire à la génération d'acide arachidonique à partir de phospholipides membranaires spécifiques. A l'inverse, on a isolé de différents tissus une protéine appelée PLAP (Phospholipase activating protein), qui active spécifiquement la phospholipase A_2 .

I.2. Différentes phases du processus inflammatoire

Sous l'influence d'un agent pathogène, la réaction inflammatoire classique se développe en quatre phases plus ou moins distinctes et d'importance variable (COHEN, 1986).

La première est une vaso-dilatation artériolaire qui entraîne un érythème, un dégagement de chaleur locale, une hyperesthésie. La peau de la zone enflammée (cas des peaux claires) est rouge, la douleur apparaît à la pression (rubor, calor, dolor).

En même temps l'observation démontre une stase du sang dans les vaisseaux capillaires, une augmentation de la perméabilité capillaire, un afflux des leucocytes par diapédèse.

La seconde phase est caractérisée par la formation d'un œdème. Le liquide plasmatique passe dans le compartiment interstitiel du derme. Les cavités séreuses (plèvres, péritoine, synovie) se remplissent de liquide.

La troisième phase consiste en la formation d'un tissu de granulation. Les leucocytes affluent, des macrophages et des fibroblastes apparaissent. Le tissu de granulation est un tissu conjonctif jeune riche en fibroblastes et en capillaires, pauvre en fibres conjonctives. Ce tissu nouvellement formé peut s'individualiser en granulome.

La quatrième phase est une phase de sclérose du tissu nouvellement formé, qui, envahi par des fibres conjonctives, perd son élasticité et se sclérose.

I.3. Mécanismes de l'inflammation

Classiquement, les mécanismes de l'inflammation peuvent être groupés selon la séquence et les manifestations cellulaires et tissulaires successives suivantes : (SHORDERET et Coll. , 1994)

- vasodilatation, modification du débit sanguin et de la paroi interne des vaisseaux avec adhésivité plaquettaire et leucocytaire ;
- augmentation de la perméabilité vasculaire avec exsudation plasmatique et diapédèse leucocytaire ;
- recrutement, différenciation et prolifération cellulaires.
- activation de cellules spécifiques d'organe par des cytokines et libération d'enzymes protéolytiques avec destruction de la matière intercellulaire ;
- tentative de régénération et de fibrose.

II. TRAITEMENT DE L'INFLAMMATION

Le traitement de l'inflammation se fait par différentes substances appelées anti-inflammatoires.

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui antagonisent les processus inflammatoires. A côté des analgésiques antipyrétiques tels que l'acide acétylsalicylique (Aspirine) doués, à forte dose ou à doses continues, de propriétés anti-inflammatoires, on

distingue des médicaments à activité anti-inflammatoire plus spécifiques, substances de synthèse (AINS) et hormones glucocorticoïdes (AIS) et substances antirhumatismales.

II.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens comprennent les dérivés pyrazolés et salicylés qui vont avoir une action sur la phase initiale de l'inflammation, l'indométacine et ses dérivés qui ont un effet sur la phase initiale et les phases tardives de l'inflammation ; ils inhibent la cycloxygénase et la synthèse des prostaglandines (COHEN, 1986 ; SCHORDERET, 1994) (cf. fig. 1). Ils empêchent la biosynthèse des acides eicosaénoïques et des leucotriènes par inhibition des lipoxygénases. Ils exercent une inhibition de la biosynthèse du Thromboxane (TXA₂), une inhibition des réactions cellulaires de nature défensive ou immunologique, une inhibition de la migration des leucocytes et des macrophages, une stabilisation des membranes lysosomiales et inhibition de la libération d'enzymes hydrolytiques (Phosphatases acides et β -glucuronidase).

II.2. Les corticostéroïdes

Les anti-inflammatoires stéroïdiens sont des dérivés des hormones stéroïdes de la corticosurrénale. En effet, les glucocorticoïdes antagonisent les processus inflammatoires, inhibent la réaction aux agressions du tissu mésenchymateux, empêchent l'activation de la phospholipase A₂ qui libère l'acide arachidonique des phospholipides de la membrane cellulaire (cf. Fig. 1) ; (DELESPESSÉ, 1985 ; COHEN, 1986 ; SCHORDERET, 1994).

II.3. Les amino-4-quinoléines : antipaludiques (Chloroquine, hydroxychloroquine)

Les antipaludiques sont également considérés comme des médicaments anti-inflammatoires (traitement de fond). Les lysosomes sont en général considérés comme les sites primaires de l'action anti-inflammatoire des amino-quinoléines. La chloroquine agit aussi au niveau de la biosynthèse des prostaglandines (inhibition de la phospholipase A₂) et par la neutralisation de leurs effets périphériques (SCHORDERET, 1994).

II. 4. Les cytostatiques

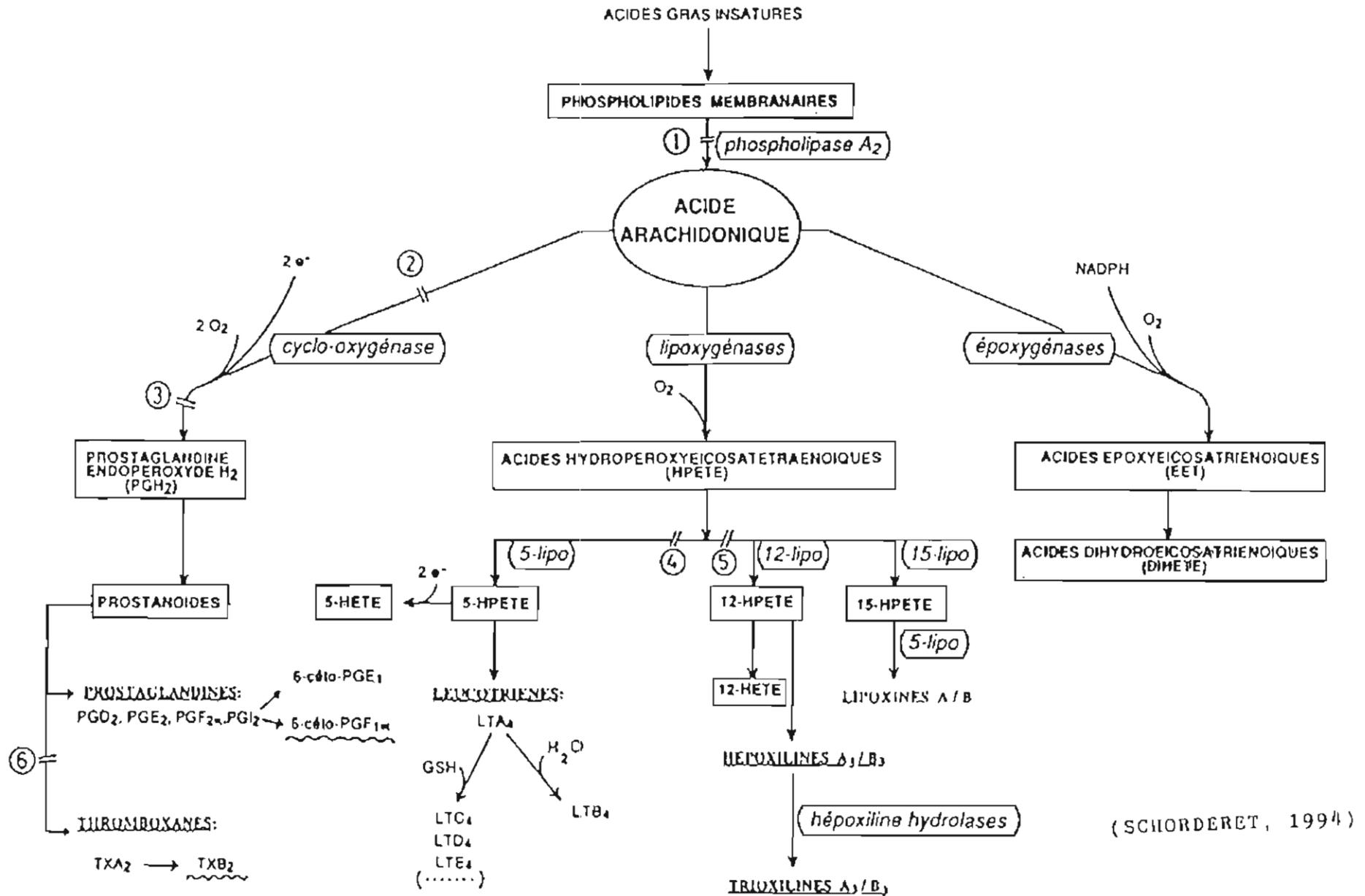
Par définition, les agents cytostatiques exercent leurs effets en stoppant la multiplication cellulaire, et cela d'autant plus efficacement que la population visée se renouvelle rapidement. C'est le cas des lymphocytes du système immunitaire qui sont donc particulièrement vulnérables à l'action de ces agents (SCHORDERET, 1994).

La colchicine est un A.I. non spécifique par diminution de l'afflux leucocytaire et inhibition de la phagocytose, donc diminution de la réponse inflammatoire.

II.5. Les enzymes

L'alpha-chymotrypsine est une enzyme protéolytique, antiphlogistique, anti-oedémateuse, anti-inflammatoire.

Figure 1: Prostanoides et substances apparentées formées à partir de l'acide arachidonique par la cyclo-oxygénase, les lipoxygénases et les époxygénases. Sites d'action des agents pharmacologiques et/ou thérapeutiques.



Légende de la figure 1.

- (1) Inhibition par les corticoïdes médiée par la lipocortine
- (2) Inhibition par les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)
- (3) Inhibition par l'orgotéine (superoxyde dismutase, SOD), la catalase, la peroxydase et les capteurs de radicaux libres
- (4) Inhibition par divers agents pharmacologiques (analogues de l'acide arachidonique, nafazatrom, acide caféique, etc.), quelques AINS (bénoxaprofène, diflunisal) et anti-asthmatiques potentiels (A-64077)
- (5) Inhibition par des analogues de l'acide arachidonique et quelques AINS (salicylates, indométacine)
- (6) Inhibition par le dazoxibène

N.B.: Les métabolites inactifs sont indiqués par un soulignage ondulé. La parenthèse contenant des points signale que la liste des leucotriènes formés n'est pas exhaustive. On a développé récemment un antagoniste pharmacologique du LTD₄, le MK-571.

B. RAPPELS SUR *KHAYA SENEGALENSIS* A. JUSS. (MELIACEAE)

I. BOTANIQUE

I.1. La famille des Meliaceae

La famille des Meliaceae qui comprend 50 genres et 1400 espèces, forme une importante famille botanique de distribution pantropicale (BANERJI, 1984 ; GUINKO et Coll. 1995). Parmi les genres les plus importants on peut citer les genres *Aglaia*, *Aphanamixis*, *Azadirachta*, *Carapa*, *Cedrela*, *Chukrasia*, *Dysoxylum*, *Entandrophragma*, *Guarea*, *Khaya*, *Melia*, *Soymida*, *Swietenia*, *Trichilia*, etc. (BANERJI, 1984).

La flore africaine en compte 18 genres et 47 espèces dont : *Khaya senegalensis*, *Pseudocedrela Kotschyi*, *Trichilia emetica*, *Azadirachta indica* (le neem) qui est une espèce introduite. Cette dernière espèce est originaire de l'Inde mais devenue subspontanée au Burkina Faso. Toutes ces quatre espèces sont utilisées dans la pharmacopée traditionnelle. *Khaya senegalensis* et *Azadirachta indica* sont de grands arbres qui, par leurs feuilles sempervirentes, constituent des plantes d'ombrage et d'arbres d'avenues (GUINKO et Coll., 1995).

Les Meliaceae sont de grands arbres, des arbustes ou rarement sarmenteux, à écorce souvent odorante, parfois à faible latex. Les feuilles, alternes, sont généralement composées-pennées, parfois trifoliées, unifoliées ou des feuilles simples, sans stipules.

Les inflorescences sont en panicules, en racèmes, en cymes ou rarement des fleurs solitaires. Les fleurs, actinomorphes, hermaphrodites ou polygames, sont tétra ou pentamères. Le calice est cupuliforme ou à sépales libres et imbriqués ou rarement valvaires. Les pétales, libres ou partiellement soudés, sont à préfloraison imbriquée, tordue ou valvaire.

Les étamines, au nombre de 8 à 10, sont libres ou à filets soudés en tube. Les anthères, souvent sessiles, biloculaires, à déhiscence longitudinale, sont insérées au sommet du tube staminal. Un disque glanduleux est souvent présent.

L'ovaire, supère, comprend de 2 à 20 loges. Les ovules, axiles, sont au nombre de 2 à 20, à raison de 2 par loge en général. Le style terminal, est long ou court, à stigmate discoïde, capité ou claviforme.

Les fruits, de divers types, sont des baies, des drupes, mais le plus souvent des capsules.

Les graines, parfois ailées ou non et alors arillée sont ou non albuminées.

I.2. Le genre *Khaya*.

Le genre *khaya* comporte six espèces originaires d'Afrique (BANERJI, 1984). *Khaya ivorensis* A. Chev., *K. anthotheca* C. DC. , *K. grandifoliola* C. DC. , *K. senegalensis* A. Juss. , *K. nyasica* Staff ex Bakf. , *K. madagascariensis* Jum et Perr.

I.3. L'espèce *Khaya senegalensis* A. Juss

I.3.1 Noms vulgaires

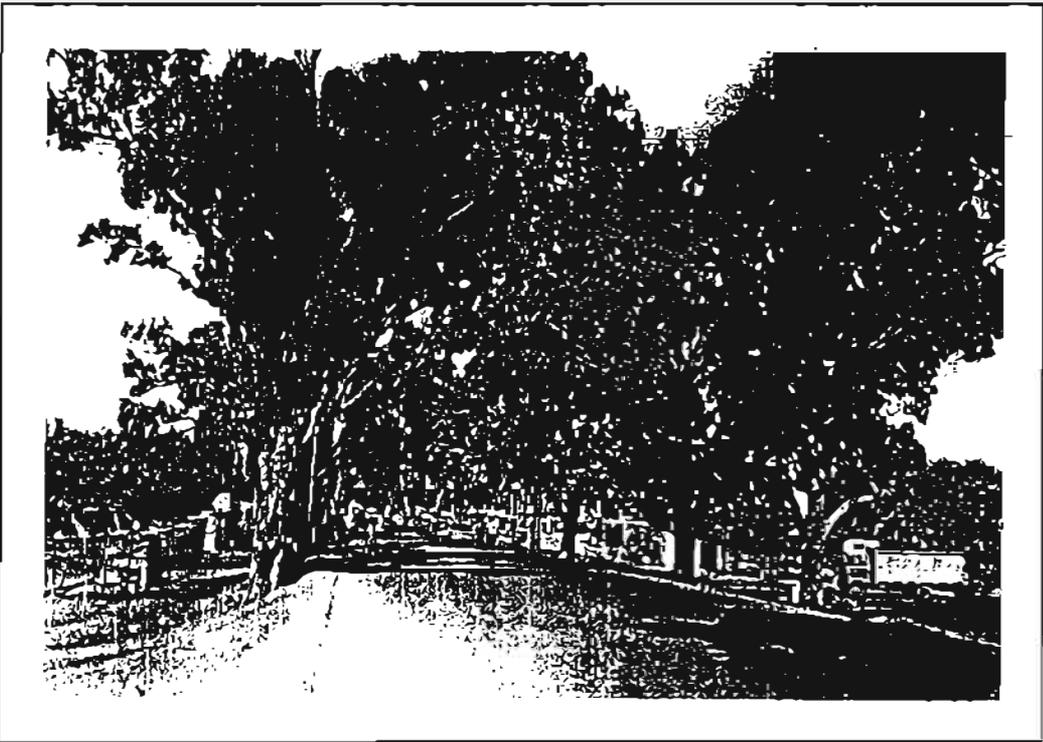
Caïlcedrat, acajou du Sénégal, Quinquina du Sénégal (KERHARO, 1974)

I.3.2 Synonymies

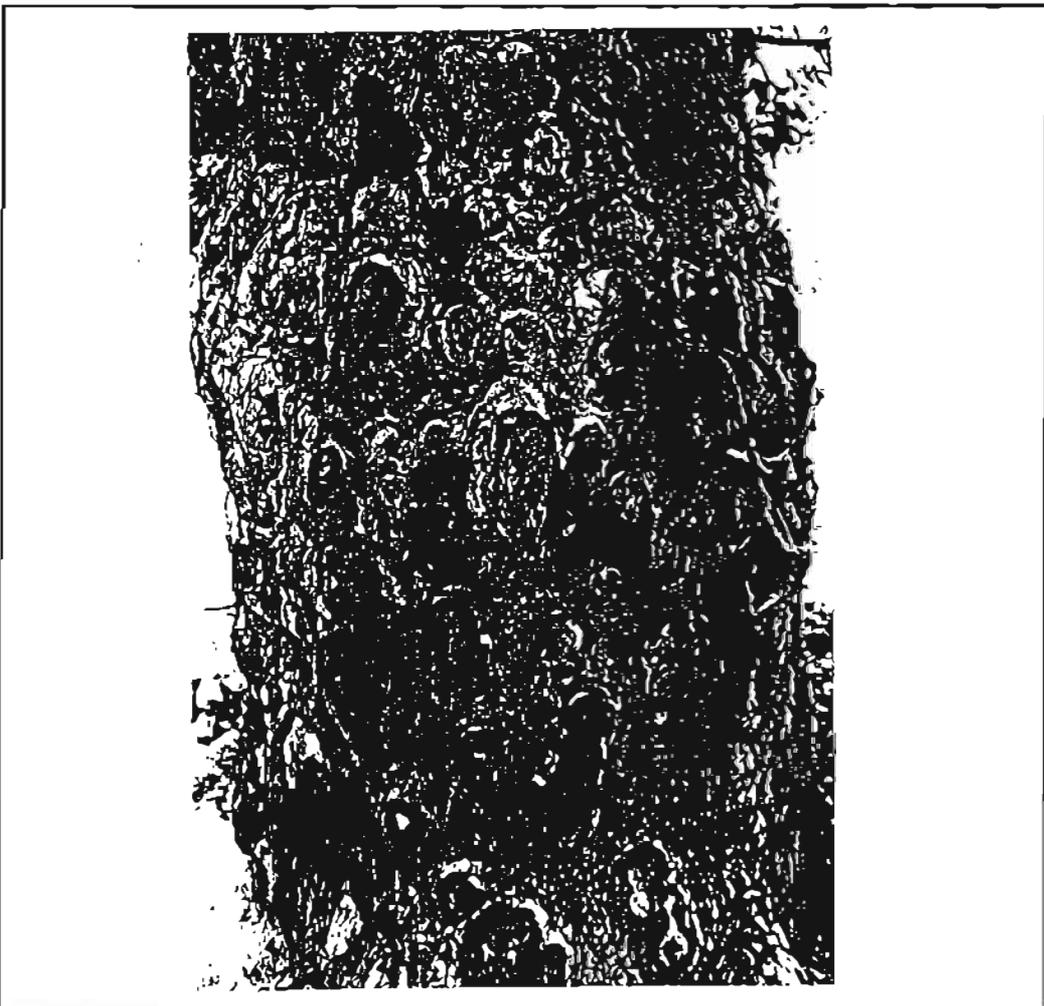
Swietenia senegalensis (KERHARO, 1974)



Plant de *Khaya senegalensis* A. Juss. (MELIACEAE)



Khaya senegalensis A. Juss. bordant les avenues de ville (Ouagadougou)



Tronc mutilé de *Khaya senegalensis* A. Juss. (MELIACEAE)

I.3.3 Appellations locales au BURKINA FASO

- Moore	:	Kuka (VON MAYDELLE, 1983)
- Bambara	:	Dala, Dara (VON MAYDELLE, 1983)
- Peul	:	Kay, Kayl (VON MAYDELLE, 1983)
- Gulmacema	:	Bu kogbu (VON MAYDELLE, 1983)
- Bissa	:	Mon (IRBET, 1983)
- Karaboro	:	Wai
- Lobi	:	Luo
- Samo	:	Moa, Moein
- Senoufo	:	Wèèrtchikè
- Bwamu (bobo oulé)	:	Péému, Pénu
- Dagara	:	Ko

I.3.4 Description (BERHAUT, 1967 ; FORTIN et Coll., 1990; MARCHE-MARCHAD, 1965; KERHARO, 1974)

I.3.4.1 Le port

Khaya senegalensis est un arbre pouvant atteindre jusqu'à 35m de haut et 60 à 100 cm de diamètre.

I.3.4.2. Les feuilles

Les feuilles sont paripennées et alternes. Le rachis est long de 12 à 20 cm et peut porter 4 à 6 paires de folioles oblongues, généralement 2 à 3 fois plus longues que larges, longues de 7 à 10 cm, larges de 20 à 40 mm, parfois en ovale très large. Leur base est cunéiforme, un peu dissymétrique et leur sommet se termine en courte pointe brusque arrondie. Elles possèdent 8 à 10 nervures latérales peu saillantes. Les feuilles sont glabres. Le pétiole courtement épaissi à la base est long de 3 à 6 cm, ou davantage, avant la première paire de folioles. Les pétiolules sont longs de 4 à 6 mm et légèrement épaissis.

I.3.4.3 Les fleurs

Les fleurs blanches sont groupées en une grande inflorescence axillaire complexe, appelée panicule, dont une observation approfondie fait reconnaître une grappe composée

de cymes. L'inflorescence, en panicule est longue de 15 à 20 cm, peu ramifiée, venant au sommet des rameaux avec les jeunes feuilles.

Les fleurs sont tétramères, c'est-à-dire formées de verticilles successifs de quatre pièces florales. Le calice a quatre sépales imbriqués, la corolle qui est blanche est large de 7 à 8 cm et comporte 4 pétales entourant la couronne staminale étroite, dressée au centre. Les pédicelles mesurant 2 à 4 mm.

L'androcée est formé de huit étamines soudées en un tube lobé au sommet et portant à son intérieur les anthères biloculaires et sessiles.

Le pistil comprend un ovaire entouré à sa base, d'un disque nectarifère, rouge et creusé de quatre loges contenant des ovules superposés. Cet ovaire s'amincit en un style étroit, court et surmonté d'un stigmate épais et discoïde.

I.3.4.4 Les fruits

Le fruit est une capsule dressée, globuleuse, à tégument épais et ligneux. Cette capsule large de 4 à 5 cm est déhiscente et s'ouvre par 4 valves en commençant par le sommet et laisse voir les graines, plates, étroitement appliqués les unes contre les autres. Les graines sont entourées d'une aile membraneuse et contiennent un albumen réduit, qui forme une couche granuleuse et rousse à la surface de l'embryon. Celui-ci est oblique ; on y observe nettement la radicule, les deux cotylédons, larges mais minces, étroitement accolés l'un à l'autre, et entre lesquels se trouve la gemmule, minuscule.

I.3.4.5 Aires de répartition

C'est un arbre commun de toute la savane boisée du Sénégal (BERHAUT, 1979). C'est un des plus grands arbres des savanes soudano-guinéenne. On le rencontre le plus souvent en individu isolé. Il est planté comme arbre d'avenue (MARCHE-MARCHAD, 1965). On le rencontre au Burkina Faso (I.R.B.E.T. , 1982), au Mali, en Guinée, en Côte d'Ivoire, au Bénin, au Niger, au Tchad, au Cameroun, en Centrafique (BERHAUT, 1979).

I.3.4.6 Stations (VON MAYDELL, 1983)

Khaya senegalensis préfère les sols humides, profonds, les alluvions, le bord des cours d'eau et les bas-fonds non inondés. Il pousse aussi sur les stations très sèches ou superficielles ou latéritiques quand les précipitations suffisent (pluies réparties entre 650 à 1300 mm sur 4 à 7 mois).

II. CHIMIE

La première étude concernant le caïlcédrat date de 1849 (KERHARO, 1974). Elle est due à CAVENTOU qui n'y trouve pas d'alcaloïdes mais isole, à partir de l'écorce 0.08 p. 100 d'une micro-résine non azotée qu'il dénomme caïlcédrin. Il décèle une matière colorante jaune verte, une matière colorante rouge, une matière colorante jaunes, du sulfate de chaux, du chlorure de chaux, du phosphate de chaux, une gomme, de l'amidon, de la cire et une très petite quantité d'essence obtenue par distillation d'un macéré aqueux d'écorce (CAVENTOU, 1849). Quelques éléments d'information, selon KERHARO (1974) sont donnés par la suite dans la thèse de DUVEAU (1856), une note de DELACROIX (1903) à l'académie des sciences indique la constitution de la gomme de tronc formée d'arabanes et de galactanes.

Une note du bulletin of Imperial Institute signalant, de nouveau, dans les écorces, l'absence d'alcaloïdes et "l'impossibilité d'y caractériser un glucoside ou une substance neutre résineuse ou cristalline" et ajoutant qu'elle renferme 10.3 p. 100 de tanins et une quantité de substances du genre des tanins, rouge-brun, instantanément soluble dans l'eau et ayant le goût amer de l'écorce (MOYSE-MIGNON, 1942).

En fait, il faut attendre 1939-1942 avec les recherches de PARIS (1939) et Mme MOYSE-MIGNON (1942) pour trouver une poursuite des travaux de CAVENTOU. Ces travaux concernent précisément l'espèce sénégalaise. Dans les feuilles sèches Mme MOYSE-MIGNON trouve 2 p.100 de saccharose, un principe amer, mais pas d'amidon en quantité appréciable. Les écorces à 10.25 p.100 d'eau donnent à l'analyse 22.36 p.100 de matières solides totales, 18.05 p.100 de matière soluble, 8.38 p.100 de non-tanins et 9.22 p.100 de tanins (catéchiques).

L'auteur a également déterminé un taux de cendres de 10.4 p.100 riches en oxalate de calcium (avec ions chlore, carbonique, sulfurique, phosphorique, magnésium, calcium, potassium, sodium et, à l'état de traces, fer, aluminium). Il trouve 0.5 p.100 de substances lipidiques avec des stérols dans l'insaponifiable.

La présence d'une saponine acide est signalée et le principe amer caïlcédrin est obtenu avec des rendements variables 0.90 p.100 dans les écorces de tronc de l'espèce provenant de Dakar et de Bignona ; 0.40 p.100 dans celles provenant de Bambey. Les écorces de branches en contiennent également mais à des taux inférieurs : 0.30 p.100 dans les échantillons de Bignona.

Pour MOYSE-MIGON, (1942) le caïlcédrin est un mélange de deux composés non saturés renfermant dans leur molécule un oxydryle phénolique, un groupement méthoxylé et une fonction lactone. Puis de nouveau, le caïlcédrat tombe dans l'oubli, faute de pouvoir mieux élucider la nature des principes amers. Toutefois, en 1958 FEREOLE isole le nimbostérol (ou β -sitosterol) et son glucoside, la nimbostérine (BROCHERE-FEREOLE et Coll. 1958) tandis qu'en 1959 POLONSKY et LEDERER obtiennent à partir de l'écorce 0.04 p.100 d'un pigment jaune identique à la diméthoxy-2,6 benzoquinone.

Mais c'est seulement à partir de 1963 que la lumière a pu être faite sur la nature des principes amers grâce aux travaux des chercheurs BEVAN et Coll. (1963 ; 1965) ; ADESOGAN et Coll. (1967 ; 1968).

A partir d'échantillons d'origine nigérienne, ces auteurs isolent les principes amers et en déterminent les structures. L'aboutissement de leurs travaux les a conduit à l'obtention de toute une série de corps nouveaux apparentés, bien définis, appartenant au groupe de la limonine : ce sont des triterpénoïdes à fonction lactone ou époxyde et cycle furanique, susceptibles d'exister sous différentes formes dans les organes de la plante. Ces corps sont repartis comme suit (ADESOGAN et Coll. 1967 ; 1968) :

Ecorce de tige :

7-déacétyl-7-oxogédunine ; Angolensate de méthyle ; méthyl-6-hydroxyangolensate ; 3-destigloyl-déoxy-3 β , 12 β -diacétoxyswietenine.

Cœur du bois :

Mexicanolide ; Khayasine ; 3-déisobutyryl-3 β tigloyl-oxy- Khayasine ; 3-déisobutyryl-3 β benzoylo-oxykhayasine ; Angolensate de Méthyle ; 7-déacétyl-7-oxogédunine 3-destigloyl-6-déoxy-3 β ; 2 β – diacétoxyswietenine et senegalensate de méthyle.

Graine :

Khivorine ; 3-déacétylkhivorine ; 7-déacétyl-7-oxokhivorine 3, 7-didéacetyl-7-Oxokhivorine ; 3-destigloyl-6-déoxy-swietenine ; 3- β -acetoxy-swietenine.

Racine :

Khayasine

Ecorce de racine

Méthyl-6 hydroxyangolensate

Les résultats de ces travaux confirment en outre la non-existence d'alcaloïdes, mais la présence de nimbostérol dans les écorces et d'une huile dans les feuilles.

Dans le même temps la gomme a été particulièrement étudiée par ASPINALL et Coll. (1960 ; 1965 ; 1970). Elle est formée de deux composants polysaccharides. Le composant principal donne à l'hydrolyse un mélange d'acides aldobiouroniques, les acides uroniques rhamnose-galactose pyranoside et galactose-méthylglucopyranoside. Le composant mineur est formé de 3 acides aldobiouroniques, glucopyranosyl uronique galactose. Dans les feuilles, PLOUVIER (1965) a mis en évidence le D-pinitol.

ADESINA (1983) fait état de la présence de scoparone (à l'état de traces) de scopoletin (coumarine majeure), d'aesculine et de trois stérols (le β -sitostérol, le stigmastérol et le campestérol) dans *Khaya senegalensis* et de son espèce voisine *Khaya ivorensis*.

BANERJI et NIGAM (1984) font une revue de la composition chimique du bois de *Khaya senegalensis*. Ils citent ainsi la présence des composés suivants :

- Khivorin
 - Deacetoxy-7-oxokhivorin
 - Méthyle Angolensate
 - 6 hydroxyméthyl Angolensate
 - 6 acetoxy méthyl Angolensate
 - Methyl-3-acetoxy-6 hydroxy – 1 – oxo – meliac – 14 (15) – enate
- Mexicanolide (substance B)

- 2 hydroxy fassinolide
- Khayasin
- Khayasin B
- Khayasin T
- 3 β , 12 β – diacetoxy 1 – oxo – meliac – 8 (30) – enate
- Méthyle senegalensate
- β -sitostérol
- 7 deacetoxy – 7 – oxo - gedunin

OLMO et Coll. (1996) isolent trois nouveaux limonoïdes des écorces qui sont :

le méthyle 1 α , 6, 8 α , 14 β , 30 β – pentahydroxy – 3 – oxo – [3.3.1¹⁰⁻². 1^{1.4}] – tricyclomeliac – 7 – oate.

Le méthyle 1 α , 2 β , 3 α , 6, 8 α , 14 β – hexahydroxy – [4.2.1¹⁰⁻³⁰. 1^{1.4}] – tricyclomeliac – 7 – oate.

Le méthyle 1 α – acetoxy – 2 β , 3 α , 6, 8 α , 14 β , - pentahydroxy – [4.2.1¹⁰⁻³⁰. 1^{1.4}] – tricyclomeliac – 7 – oate.

Ils isolent également, outre les coumarines et les stérols cités plus haut par ADESINA (1983), le 3 β – O – β – D – glucopyranosylsitosterol.

OLMO et Coll. (1997) isolent deux nouveaux limonoïdes des feuilles

le méthyl 1 α – acetoxy – 3 β , 6, 8 α , - trihydroxy – 2 α – methoxy – 2 β , 14 β – epoxy [4.2.1¹⁰⁻³⁰. 1^{1.4}] – tricyclomeliac – 7 – oate.

Le méthyle 1 α – acetoxy – 6, 8 α , 14 β , 30 β – tetrahydroxy – 3 – oxo [3.3.1¹⁰⁻². 1^{1.4}] – Tricyclomeliac – 7 – oate.

Ils isolent en outre, la scopoletin, le β -quercitrin et la rutin.

En 1993, le screening phytochimique des écorces de tronc nous a permis de mettre en évidence les principaux groupes chimiques suivants (LOMPO, 1993) : Acides gras, Caroténoïdes, Coumarines, Emodols, Tanins, Composés réducteurs, Anthracenosides, Glycosides stéroïdiques, Flavonosides, Glucides, Saponosides, Stérols et Triterpènes, Anthocyanosides.

III. PHARMACOLOGIE – TOXICOLOGIE

Divers essais d'applications thérapeutiques ont été tentés au cours de la deuxième moitié du siècle dernier. DUVEAU, cité par KERHARO (1974) dans sa thèse soutenue en 1856 signale que la poudre d'écorce a été utilisée dans le pansement des ulcères atoniques.

RULLAND cité par KERHARO (1974), médecin de marine, fait des essais à l'hôpital de Gorée sur l'extrait mou de caïlcédrat employé, à la dose de 1 à 3g par jour, contre les fièvres intermittentes. Il obtient de bons résultats et l'administre également contre les diarrhées, la dysenterie chronique ; il préconise le vin de quinquina, la poudre de caïlcédrat contre les stomatites et les ulcères. A Paris, à l'Hôtel-Dieu, MOUTARD-MARTIN, cité par KERHARO (1974), essaie sur trois fébriles l'extrait mou de caïlcédrat à la dose de 1.25g par jour et obtient de bons résultats.

Les résultats obtenus paraissent pourtant avoir été contradictoires, et quelques années plus tard, en 1868, SOUBEIRAN, cité par KERHARO (1974), écrit « Aujourd'hui, ni à Brest, ni à Cherbourg, non plus sur la Côte Occidentale d'Afrique on ne fait aucun emploi de cette substance.

Les successeurs de M. RULLAND n'ont pu obtenir de résultats aussi satisfaisants que ceux qu'il avait annoncés. L'extrait de caïlcédrat est entre leur main un médicament infidèle.

Le caïlcédrat est un tonique amer ayant à un haut degré les propriétés des végétaux de cette classe. Jusqu'alors, on n'avait pas pu reconnaître à cette espèce aucune propriété réellement fébrifuge». Les travaux de MOYSE-MIGNON cités par KERHARO (1974) ont montré que le macéré aqueux d'écorces au 1/10ème (P/V) n'a aucune action sur le poisson rouge et que la teinture au 1/10ème (P/V) dans l'alcool à 70°, injecté par voie intraveineuse au chien même à raison de 500 mg/kg (5 ml/kg) ne provoque aucun phénomène d'intoxication. D'autre part les différentes préparations ne sont pas hémolytiques.

MALCOM et Coll. (1969) Cités par KERHARO (1974) ont détecté une certaine action antibiotique des extraits aqueux de tige vis-à-vis de *Sarcina* et *Staphylococcus aureus*.

PARES et Coll. (1979) pratiquent des antibiogrammes positifs avec des extraits alcooliques d'écorces de tronc sur la Mycobactérie nouvelle dont les caractères et le comportement donnent à penser qu'il s'agit du *Mycobacterium leprae*.

Selon KERHARO (1974), les essais du caïlcédrin brut (principe amer) ont montré que les solutions étaient assez toxiques pour les paramécies qui sont tuées en 20 mn à la dose de 1/10000.

Injecté par voie intraveineuse, le caïlcédrin n'est pas toxique pour le chien (chez lequel, il ne produit qu'une légère hypotension), ni pour le cobaye. Injecté chez le cobaye par voie sous cutanée ou intrapéritonéale à la dose de 50 mg/kg, il a une action hypothermisante particulièrement nette chez l'animal mis en état d'hyperthermie expérimentale ; l'abaissement de la température pouvant atteindre 2 à 3° par rapport au témoin.

Il serait alors étonnant selon KERHARO (1974) que la réputation extraordinaire de cette drogue en médecine traditionnelle sénégalaise ne soit pas fondée.

La mise en évidence de son action hypothermisante justifie déjà dans une certaine mesure son emploi comme fébrifuge.

ADESINA (1983) révèle que l'extrait hydro-alcoolique des écorces de tronc à raison de 2g/kg provoque une dépression, une sédation et réduit l'activité locomotrice chez la souris. Il protège chez 70% des souris contre les convulsions induites par le leptazol.

NJOKU et Coll (1988), cités par OLWA (1990) indiquent que les extraits de graines, d'écorces et de racines étaient toxiques pour les trypanosomes (*Trypanosoma gambiense*), les *Plasmodium* et encore plus toxiques pour la filaire de l'onchocercose. OLAYINKA et Coll. (1992) montrent que l'extrait méthanolique à 1 mg/kg chez le rat anesthésié à l'urethane provoque une élévation de pression artérielle qui passe de 122 ± 3 mm Hg chez le lot contrôle à $145 \pm$ mm Hg chez le lot testé. Les auteurs indiquent que cette action hypertensive est en partie due à la stimulation des β - récepteurs et des alpha-adrénorécepteurs.

CHAMPAGNE et Coll. (1992) font état de l'activité contre les insectes herbivores des limonoïdes (plus de 200 insectes et de mites).

En 1993 nos travaux (LOMPO, 1993) mettent en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux sur l'œdème à la carragenine de la patte de rat, tandis que TIDJANI (1993) met en évidence le même effet avec un extrait hydro-alcoolique et une inhibition de l'œdème de l'oreille de souris induit par l'huile de croton ;

OLAYINKA et Coll. (1994) mettent en évidence la double action (contracturante et relaxante) de l'extrait méthanolique sur le muscle lisse de la vessie du rat en fonction des doses administrées : (relaxation dose dépendante aux doses faibles ; contraction dose dépendante aux fortes doses). La relaxation serait due à la fois à la stimulation des récepteurs adrénergiques et à une action directe dépressive sur la vessie. La contraction serait levée par la quinacrine et due à la stimulation des récepteurs purinergiques.

En 1995, nos travaux (LOMPO, 1995 a) démontrent une activité antispasmodique et spasmolytique des extraits aqueux de poudre d'écorces sur des contractions intestinales de rat provoquées par l'acétylcholine et le chlorure de baryum. Ils confirment par ailleurs

l'effet hypothermisant annoncé par KERHARO (1974) qui pourrait être un corollaire des manifestations de la toxicité aiguë de la plante (LOMPO, 1995 b)

IV. EMPLOIS EN MEDECINE TRADITIONNELLE

IV.1. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

Les principales indications retenues sont les suivantes :

Fébrifuge et tonique

Selon BERHAUT (1979) d'une manière générale, la plante est décrite comme fébrifuge et tonique (MASCRES, 1965 ; RAGEAU, 1973 ; KERHARO, 1974). Dans ce cas l'écorce sous diverses formes (macération, décoction) est utilisée seule ou en association avec celle du *Mitragyna inermis*. KERHARO (1974) rapporte que *Khaya senegalensis* jouit d'une réputation inégalée de fébrifuge et de tonique capable de donner un coup de fouet aux individus fatigués. Il est couramment utilisé comme antipaludique d'où le nom de quinquina du Sénégal qu'on lui a donné quelque fois.

VON MAYDELL (1993) signale que les graines et les feuilles sont utilisées contre la fièvre. KERHARO (1974) mentionne que la graine, très amère, aurait plus de principe fébrifuge que l'écorce.

Troubles gastro-intestinaux

Les fleurs sont utilisées dans les désordres de l'estomac ; de même, le décocté d'écorce en boisson est utilisé contre les maux de ventre (BERHAUT, 1979). Dans les gastralgies, la poudre d'écorce est associée aux aliments du malade. On peut lui faire sucer un fragment de tige également.

Khaya senegalensis est utilisé comme laxatif (VON MAYDELL, 1983). Les écorces seraient douées de propriétés purgatives (KERHARO, 1974)

Entéralgies

Les écorces séchées et pulvérisées en décoction et en boisson le matin à jeun, sont utilisées seules (BERHAUT, 1979) ou en association avec *Afzelia africana* comme anti-entéralgiques.

Inflammations

Les extraits de racines sont utilisés contre les inflammations des gencives (VON MAYDELL, 1983). La même indication est signalée dans la région bissa au Burkina Faso par GUINKO (1977) en ce qui concerne la décoction d'écorce de tige en gargarisme ou la poudre d'écorce de tige en frottement sur les gencives.

Parasitoses intestinales

Selon MASCRE (1965) et RAGEAU (1973) l'écorce est employée comme antidysentérique. BERHAUT, (1979) indique quant à lui, les propriétés vermifuges de l'écorce. Les extraits de racines sont utilisés contre les vers solitaires (VON MAYDELL, 1983). Les écorces sont utilisées en médecine humaine et vétérinaire comme anthelmintique contre le ténia (OLIVER-BEVER, 1986). Cette indication contre les vers intestinaux est préconisée en Guinée Conakry pour le décocté des racines (KEITA et Coll., 1995).

Antiseptique – antibiotique

Les fleurs sont utilisées pour le traitement des maladies vénériennes (BERHAUT, 1979), syphilis, Blennorragie (KERHARO, 1974). L'écorce pulvérisée se met sur les plaies, les ulcères après lavage avec la décoction de l'écorce. Elle est également employée sous diverses formes (décocté, macéré) en usage interne et externe à la fois dans le traitement de la lèpre, la syphilis, la varicelle et dans ce cas les feuilles sont ajoutées aux différentes préparations (KERHARO, 1974). Les extraits de racines sont utilisés contre la jaunisse, pour la désinfection des plaies sanguinolentes (VON MAYDELL, 1983), ulcérées et la variole (BOUQUET et DEBRAY, 1974).

Le macéré d'écorces et de feuilles est utilisé dans le traitement de la sénescence (KERHARO, 1974). Les feuilles réduites en poudre et prisées sont utilisées contre les céphalées (ADJANOHOUN et Coll., 1985). Les extraits de racines sont utilisés contre les dermatoses (Institut de Recherche en Biologie et Ecologie Tropicale, 1983), la gale (BERHAUT, 1979), les piqûres de scorpion, les allergies (VON MAYDELL, 1983) et les feuilles sont utilisées contre les névralgies. Les racines sont prescrites contre la stérilité, les maladies mentales. *Khaya senegalensis* est signalé comme aphrodisiaque et utilisé également en magie (VON MAYDELL, 1983).

IV.2. DONNEES RECUEILLIES AUPRES DES TRADITHERAPEUTES BURKINABE

Cardiologie

Tachycardies, maux de cœur

Boire la macération de l'écorce de tronc

Maladies vasculaires

Varices, hémorroïdes

Boire la macération de l'écorce de tronc

Prendre des bains de siège (cas d'hémorroïdes)

Dermatologie

Gale, eczéma, ulcères des jambes

Prendre en bain la décoction des écorces ou en application de la poudre d'écorce associée au beurre de karité ;

Gastro-entérologie

Colopathies fonctionnelles, constipation, douleurs abdominales, douleurs rectales, ulcères d'estomac, vomissement, parasitoses, indigestions.

Boire la macération de l'écorce

Gynécologie

Dysménorrhées, stérilité

Boire la macération de l'écorce

Maladies infectieuses et parasitaires

Chancre mou, rougeole, oreillons, varicelle

Paludisme, fièvre, amibiase, teniasis

Boire la décoction des écorces

Prendre des bains de la décoction

Faire une application de la poudre d'écorce

Neurologie

Céphalées : prendre en prise de la poudre d'écorce pilée

Hémiplégie : prendre en bain et boisson la décoction d'écorces

Odonto-stomatologie

Dentition – gingivites

Boire la macération légère des écorces

Ophtalmologie

Brûlures oculaires, conjonctivites

1 goutte de la macération filtrée d'écorce dans l'œil deux fois par jour

ORL

Anosmie : priser de la poudre d'écorces ou prendre une goutte de la macération dans les narines

Pneumologie

Asthme – pneumopathie

Boire la macération d'écorce

Rhumatologie

Arthrite, dorsalgie, lombalgie, douleurs articulaires

Prendre en bain et boisson de la décoction d'écorces

Traumatologie

Luxation : prendre en bain, boisson et application chaude de la décoction d'écorce

Désinfection

Plaie : appliquer la poudre d'écorce

Autres applications

* Dans l'Ouest du Burkina Faso, dans la Comoé, les racines seraient utilisées contre :

- . les maladies sexuellement transmissibles
- . la rougeole
- . la sorcellerie
- . les empoisonnements

* Dans l'Est du Burkina, dans le Gourma, l'écorce de tronc est utilisée pour immuniser les volailles contre les maladies épidémiques.

La poudre d'écorce serait utilisée contre les puces et les termites.

C. RAPPELS SUR LES FORMULATIONS GALENIQUES A USAGE TOPIQUE

I. LES VEHICULES ET EXCIPIENTS

I.1. Propriétés des véhicules

Les véhicules utilisés dans la fabrication des préparations dermatologiques et cosmétiques doivent généralement remplir un double rôle.

Ils doivent en effet d'une part pouvoir pénétrer facilement soit par miscibilité aux sécrétions sébacées, soit par transfert direct à travers ou entre les cellules de la couche cornée de l'épiderme dans les couches superficielles de la peau et, d'autre part, pouvoir libérer les matières actives qu'ils renferment au niveau de la zone barrière ou du site d'action des substances actives.

Les propriétés des excipients qui semblent exercer l'influence la plus profonde sur la résorption percutanée des médicaments sont encore assez mal connues.

Les mieux définies d'entre elles semblent toutefois représentées par leur facilité d'étalement sur la peau dépendant en grande partie de leur viscosité, leur facilité de miscibilité aux sécrétions sébacées, leur affinité pour les lipides et les sécrétions des

glandes sudorifiques, de même que leur affinité pour les liquides tissulaires, leur pouvoir solvant vis-à-vis des médicaments, leur pH.

L'utilisation comme véhicules de nombreux solvants apolaires à pouvoir dissolvant marqué vis-à-vis du sébum permet d'améliorer la résorption percutanée de nombreuses substances. L'influence favorable des solvants hydrophiles comme par exemple les humectants employés pour éviter la dessiccation des préparations dermatologiques pourrait être interprétée par l'action hydratante qu'ils sont susceptibles d'exercer au niveau des couches cornées de la peau.

Selon JAMINET et Coll.(1971) plusieurs expériences ont montré que des solvants possédant une affinité mixte c'est-à-dire ayant de bonnes propriétés dissolvantes vis-à-vis des substances polaires comme des substances non polaires exerçaient une influence très favorable sur l'absorption percutanée. A ce titre parmi les substances les mieux étudiées figurent l'alcool tétrahydrofurfurylique, le diméthylacétamide et le diméthylsulfoxyde (DMSO).

Par ailleurs, les systèmes biphasiques que représentent les bases émulsionnées des types H/E et E/H sont actuellement considérés comme les véhicules dermatologiques les plus aptes à favoriser la résorption percutanée de nombreux médicaments. Ces préparations, une fois appliquées sur la peau abandonnent leur phase aqueuse en créant un effet de refroidissement ou de rafraîchissement surtout marqué avec les types H/E. De ce fait, on peut considérer que le médicament est uniquement véhiculé dans les différentes couches de l'épiderme par la phase lipophile et l'émulsif de l'excipient résiduel.

Les tensioactifs employés dans la préparation des bases émulsionnées des types H/E et E/H semblent également jouer un rôle important par certains facteurs comme l'abaissement de la tension superficielle au niveau des voies de pénétrations ; le maintien au niveau des surfaces absorbantes d'un film d'agent pénétrant...

Le pH des véhicules, par l'action qu'il exerce sur la dissociation des matières actives de nature ionique et par voie de conséquence sur leur liposolubilité peut intervenir largement dans certains cas pour favoriser la résorption des médicaments par voie percutanée.

I.2. Critères de qualité des excipients (JAMINET et DENOEL ; 1971)

Les excipients (ou bases) des préparations dermatologiques et cosmétiques doivent répondre à un certain nombre de critères généraux de qualité, ainsi qu'à divers critères particuliers, plus spécifiques, en rapport avec la destination des préparations, le type de peau ou d'affection à traiter, la nature et les propriétés des composants actifs à incorporer, etc....

I .2.1. Les critères généraux

Un pH neutre ou légèrement acide, voisin le plus possible du pH cutané ;
une stabilité physique et chimique suffisante ;
une grande inertie vis-à-vis des médicaments incorporés et des articles de conditionnement (pots, tubes etc....) ;
une grande facilité d'application ou, en d'autres termes, des propriétés plastiques suffisantes pour que, par suite d'un effort relativement faible (pression, étalement, frottement), leur consistance se modifie et leur forme s'adapte aux parois des cavités de la peau ;
des propriétés thixotropes suffisamment marquées pour qu'ils reprennent facilement leur consistance après étalement ;
une facilité d'élimination au moyen d'eau (onguents lavables) et une absence d'action sur les vêtements et la lingerie ;
une absence de phénomènes d'irritation (irritation primaire et sensibilisation).

I.2.2. Les critères particuliers

Ils sont très variables suivant les cas (type d'affections ou de peaux à traiter, nature des médicaments, etc....). On peut citer entre autre :

- la non miscibilité au film lipidique cutané et l'absence de pouvoir pénétrant, critère particulièrement indiqué pour les préparations à action locale, superficielle, ainsi que dans les préparations occlusives destinées à s'opposer à une perspiration excessive ;
- miscibilité au film lipidique cutané et au sébum pour les préparations destinées à agir en profondeur (action dermique ou systémique) ;

- pouvoir pénétrant élevé lié à une faible viscosité et à une bonne affinité pour le sébum et l'eau des tissus dans le cas des préparations destinées à agir en profondeur ;
- action absorbante vis-à-vis des solutions aqueuses ou hydro-alcooliques dans toutes les préparations où il est nécessaire d'incorporer des principes actifs en solution aqueuse ou hydro-alcoolique, ainsi que des extraits ;
- un pouvoir protecteur élevé, notamment une grande imperméabilité aux substances irritantes (acides, alcalis, solvants organiques) sera recherché dans certains cas (onguents dits barrière) ;
- action absorbante vis-à-vis des sécrétions pathologiques (eczémas suintants) ; cette action sera également obtenue par l'emploi de poudres ou de pâtes à propriétés desséchantes :
- action à une grande capacité de diffusion des principes actifs incorporés, qu'il s'agisse d'une diffusion en surface (préparation à action locale à base d'antiseptiques ou d'antibiotiques) ou d'une diffusion en profondeur (préparations à action dermique ou systémique) ;
- une grande facilité de stérilisation, en particulier pour les préparations où un degré de propreté bactériologique très élevé est exigé, notamment pour les préparations destinées à être appliquées sur des brûlures ou des peaux couvertes de lésions.

I.3. Classification des excipients

I.3.1. Classification en fonction de la composition

Elle a été établie en fonction de la nature des constituants des bases, ainsi que des propriétés particulières à certains de ces composants.

I.3.1.1. Véhicules gras

I.3.1.1.1. Bases grasses hydrophobes (bases pour pommades)

a) Caractéristiques

- anhydres
- faible pouvoir d'absorption d'eau
- insolubles dans l'eau
- non lavables à l'eau

b) Exemples

hydrocarbures (vaseline, paraffine, huile de paraffine, perhydrosqualène, et mélange d'hydrocarbures)

huiles végétales ;

- esters d'acides gras (myristate et palmitate d'isopropyle, etc....) ;
- mélange de ces substances.

Ces bases présentent l'avantage d'une très grande stabilité physique et chimique, ainsi que d'une bonne inertie vis-à-vis des matières actives (surtout les hydrocarbures). Leur pouvoir pénétrant est faible, souvent même nul. On les utilise surtout dans la préparation des onguents à action superficielle, parfois même comme base d'onguents occlusifs en vue de réduire la perte en eau des couches cornées de l'épiderme.

I.3.1.1.2. Bases grasses hydrophiles (bases pour pommades)

a) Caractéristiques

- anhydres,
- capacité d'absorption d'eau variable suivant composition,
- insolubles dans l'eau,
- la plupart ne sont pas facilement lavables à l'eau.

b) Exemples

- lanoline et dérivés (alcools de lanoline, lanoline hydrogénée etc...),
- mélanges divers de lanoline et de ses dérivés avec des huiles, hydrocarbures, etc...

L'avantage principal de ces bases par rapport à celles du groupe précédent réside dans une certaine capacité d'absorption d'eau, variable par ailleurs suivant la composition. Ces bases ont généralement un pouvoir pénétrant supérieur à celle du groupe précédent.

I.3.1.1.3. Bases émulsionnées (bases pour crèmes)

I.3.1.1.3.1. Bases émulsionnées du type E/H

a) Caractéristiques

- bases (phase aqueuse dispersée),
- capacité d'absorption d'eau élevée, variable suivant la composition,
- insolubles dans l'eau,
- pas ou difficilement lavables à l'eau.

b) Exemples

- cérats (agent émulsif : cire d'abeilles)
- onguents de formules diverses à base d'émulsifs à HLB faible (Spans, Arlacels, etc...)

I.3.1.1.3.2. Bases émulsionnées du type H/E

a) Caractéristiques

- aqueuses (phase aqueuse continue)
- capacité d'absorption d'eau très élevée
- insolubles mais dispersibles dans l'eau
- facilement lavable à l'eau

Ces 2 types de bases sont recommandées pour leur pouvoir pénétrant élevé.

Les bases du type H/E sont souvent préférées aux bases du type E/H en raison de leur facilité de lavage à l'eau et de leur action rafraîchissante supérieure.

I.3.1.1.4. Pâtes

Ce sont des mélanges de corps gras plus ou moins hydrophiles auxquels on a incorporé des quantités assez élevées de substances pulvérulentes, le plus souvent de l'oxyde de zinc ou de l'amidon.

L'incorporation des poudres a pour effet de conférer à la préparation une action absorbante et d'interrompre le film de recouvrement hydrophobe qui résulte de l'application des seuls corps gras en vue d'empêcher une hydratation trop accusée de l'épiderme et d'éviter la macération de la peau.

I.3.1.1.4.1. Pâtes lipophiles

a) Caractéristiques

- hydratées (le plus souvent à phase aqueuse dispersée),
- capacité d'absorption d'eau variable, dépendant du type d'émulsif,
- insolubles dans l'eau,
- plus ou moins facilement lavables à l'eau.

b) Exemples

- pâte d'oxyde zincique PH BV,
- pâte de Lassar PH BV.

Les pâtes lipophiles sont habituellement réalisées à partir de corps gras hydrophobes (vaseline, paraffine) additionnés de quantités plus ou moins importantes de lanoline.

I.3.1.1.4.2. Pâtes hydrophiles

a) Caractéristiques

- hydratées (le plus souvent à phase aqueuse dispersée),
- capacité d'absorption d'eau variable, dépendant du type d'émulsif,
- insolubles dans l'eau,
- plus ou moins facilement lavables à l'eau.

b) Exemples

- pâtes molles à l'oxyde de zinc à la cire de lanette N ou SX,
- pâtes molles à l'oxyde de zinc à base d'esters d'alcools gras supérieurs,
- pâtes molles à l'oxyde de zinc à base d'esters cireux d'origine animale.

Les pâtes hydrophiles sont en fait des préparations dans lesquelles l'excipient est représenté par une base du type E/H et dont la consistance a été améliorée par addition d'eau.

I.3.1.1.5. Collodions

Ce sont des préparations liquides renfermant en solution dans un solvant organique divers médicaments destinés à agir en surface, par exemple des antiseptiques, ainsi que des substances macromoléculaires insolubles dans l'eau, par exemple des dérivés cellulosiques, qui abandonnent à la surface de la peau un film protecteur.

a) Caractéristiques

- anhydres,
- capacité d'absorption d'eau généralement nulle
- insolubles dans l'eau,
- non lavables à l'eau.

b) Exemples

- collodion élastique,
- traumaticine.

I.3.1.2. Véhicules solubles (ou dispersibles) dans l'eau

I.3.1.2.1. Véhicules hydratés

I.3.1.2.1.1. Lotions

Les lotions sont habituellement représentées par des solutions, (ou des dispersions quand les matières actives sont insolubles) dans l'eau ou des mélanges d'eau et d'alcool additionnés de différents types d'adjuvants : agents viscosifiants (glycérine, propylène-glycol, méthylcellulose, carboxyméthyl cellulose) afin d'augmenter la consistance et de faciliter l'adhérence à la peau ou d'agents de suspension (alcools gras polyoxyéthylénés,

monostéarate de glycéryle, tensioactifs divers) en vue d'assurer une bonne dispersion des produits actifs insolubles.

a) Caractéristiques

- hydratées (phase aqueuse continue),
- forte teneur en eau,
- solubles ou dispersibles dans l'eau,
- facilement lavables à l'eau.

b) Exemples

- lotions au soufre,
- lotions à la calamine,
- lotion hydrophile.

I.3.1.2.1.2. Gels aqueux (ou gels de colloïdes protecteurs)

Les gels sont des préparations très riches en eau, de consistance plus élevée que celle des lotions, généralement thixotropes afin d'éviter la sédimentation au stockage des particules de matières actives insolubles et de faciliter leur étalement sur la peau.

a) Caractéristiques

Identiques aux lotions.

b) Exemples

Gels de calamine à base de bentonite, Veegum, Aérosil.

I.3.1.2.2. Véhicules anhydres

La grande majorité des préparations qui appartiennent à cette catégorie sont constituées par des mélanges de polyéthylène-glycols liquides, semi-solides ou solides (carbowax).

On s'accorde généralement à considérer que le pouvoir pénétrant de ce type de préparations est assez faible.

a) Caractéristiques

- anhydres,
- capacité d'absorption d'eau très élevée,
- solubles dans l'eau,
- lavables à l'eau.

b) Exemples

- pommade au polyéthylène-glycol Ph B.V,
- base d'onguent au polyéthylène-glycol USP XIV,
- waxol.

I.3.1.3. Solvants

I.3.1.3.1. Solvants miscibles à l'eau

Plusieurs solvants : l'eau de même que certaines solutions aqueuses par exemple la solution d'hydrate calcique, l'alcool éthylique, la glycérine sont parfois employés en dermatologie dans la préparation de différentes formes, par exemple des pansements humides, des bains médicamenteux, des teintures.

a) Caractéristiques

- fort voisines des lotions

b) Exemples

- lotions diverses à base d'alcool et de glycérine.

I.3.1.3.2. Solvants non miscibles à l'eau

Quelques solvants volatils, notamment l'éther et le chloroforme sont employés dans la fabrication de plusieurs préparations dermatologiques : teintures, collodions, etc...

I.3.1.4. Poudres

Elles sont employées en dermatologie et en cosmétologie pour leurs propriétés rafraîchissantes et absorbantes de même que dans le but d'atténuer les irritations causées sur des peaux sensibles, par exemple par le frottement des pièces d'habillement.

Certains auteurs les classent en 2 groupes :

- poudres inorganiques : exemple : oxyde de zinc, le talc, le bioxyde de titane ;
- poudres organiques : exemple : le stéarate de zinc et les amidons.

D'autres auteurs les classent selon leur pouvoir absorbant : on distingue alors :

- les poudres hydrophobes : talc, stéarate de zinc ;
- les poudres hydrophiles : amidons.

I.3.2. Classification des excipients en fonction du type de peau

On distingue en général 3 types de peaux selon que la régulation de l'hydratation et de la sécrétion sébacée est plus ou moins bien assurée :

- peaux sèches soit par alipidie, soit par simple déshydratation ;
- peaux grasses ou séborrhéiques ;
- peaux normales, parfaitement saines et équilibrées, parmi lesquelles les dermatologues et cosmétologues distinguent différentes nuances à savoir les peaux normales à tendance sèche et les peaux normales à tendance grasse. Dans l'un ou l'autre des cas, les dermatologues et cosmétologues orientent leur choix pour des véhicules tendant à maintenir ou à corriger l'équilibre hydrique et lipidique des différentes peaux.

I.3.3. Classification en fonction du pouvoir pénétrant

Selon GOODMAN et MARILIER cités par JAMINET et DENOEL (1971) les préparations dermatologiques peuvent être classées en 3 groupes en fonction du lieu d'action de leurs principes actifs :

- préparations à actions superficielles ou préparations épidermiques,
- préparations à actions dermiques ou préparations épidermiques,
- préparations à actions systémiques ou préparations diadermiques.

I.3.3.1. Les préparations à action superficielle

Elles doivent agir à la surface de la peau, à l'endroit même où elles ont été appliquées et sont employées dans le traitement de certaines affections de l'épiderme. Cas des pommades antibiotiques.

Les excipients utilisés dans ce cas doivent :

- répartir les principes actifs à la surface de l'épiderme et les céder facilement. Le coefficient de distribution des médicaments entre le véhicule et les milieux aqueux de
-
- l'épiderme devra être en faveur de ces derniers. Les véhicules utilisés seront de préférence lipophiles dans lesquels les principes actifs sont insolubles ;
- pouvoir exercer une action protectrice des lésions contre les souillures et le contact de l'air ;
- présenter une bonne adhérence avec l'épiderme même exsudatif.

On emploie le plus souvent comme excipient à cet effet, des excipients gras insolubles dans l'eau comme les cires, la vaseline...

I.3.3.2. Préparations à action dermique

Elles ont pour rôle de permettre aux principes actifs la traversée de la barrière cutanée et d'amener ces derniers dans l'épaisseur du derme. Cas des pommades antihistaminiques, antiprurigineuses... Les excipients utilisés dans ces cas sont la plupart

des véhicules qui se liquéfient facilement à la température du corps tels que les huiles végétales, l'axonge, la lanoline et ses dérivés, ainsi que divers mélanges de ces substances.

I.3.3.3. Préparations à action systémique

Ce sont des préparations qui doivent exercer leur action dans une partie quelconque du corps, loin du lieu d'application. Elles sont très analogues aux préparations à action dermique. Cas des pommades antiseptiques bronchiques. L'eucalyptol qui est le principe actif pénètre dans le derme, gagne la circulation générale par les capillaires cutanés et est ensuite excrété au niveau des bronches où il joue son rôle antiseptique.

- Comme excipients très pénétrants, on cite entre autre les crèmes du type H/E à base de lipides d'origine naturelle (animaux et végétaux).
- Comme excipients à pouvoir pénétrant majeur, on note les huiles végétales (olive, arachide, avocat, etc...), les émulsions du type H/E à base de lipides animaux et végétaux .
- Les excipients à faible pouvoir pénétrant sont constitués par les huiles minérales et les émulsions du type E/H à base d'huiles minérales.

1.3.4 Classification suivant le caractère de l'affection cutanée.

Le médecin choisit souvent les véhicules des préparations dermatologiques en fonction de l'état d'évolution des affections cutanées (aigu, subaigu ou chronique) et de certains effets spécifiques.

Les propriétés couramment prises en considération combinent à la fois l'action en profondeur (pouvoir pénétrant), l'action sur le transfert de l'eau au niveau de l'épiderme de l'intérieur vers l'extérieur et inversement, l'effet rafraîchissement et le stade d'évolution des affections cutanées.

I.4. Choix des formes à réaliser

Au regard des caractéristiques ci-dessus cités des principaux excipients, nous nous sommes orientés vers les crèmes de type H/E (huile dans l'eau) qui utilisent des bases émulsionnées de type H/E non ionique ; et des hydrogels.

I.4.1. Les crèmes de type H/E

I.4.1.1. Définition

Les crèmes sont des préparations émulsionnées multiphases de consistance molle préparées à partir de substances grasses associées à un milieu aqueux grâce à l'addition d'un émulsif. Selon la nature de celui-ci, on obtiendra des crèmes E/H (eau dans l'huile) ou H/E (huile dans eau). Dans notre cas, nous utiliserons des émulsifs du type H/E.

Les crèmes H/E sont appelées « crèmes sèches » par opposition aux crèmes de type E/H dites « crèmes grasses » par le fait que ces dernières procurent une sensation d'onctuosité sur la peau.

I.4.1.2. Composition des crèmes H/E

Ce sont des préparations de loin les plus nombreuses à être utilisées.

Elles comportent généralement dans leur composition :

- un facteur de consistance : alcool gras, cire, esters d'acides gras et de polyols,
- une huile naturelle ou synthétique,
- un émulsif de type H/E anionique ou non ionique,
- un agent humectant : glycérol, propylène glycol, sorbitol,
- de l'eau et des agents conservateurs, éventuellement un viscosifiant.

NB : Nous utiliserons un émulsif du type H/E non ionique.

I.4.1.3. Avantages et inconvénients des crèmes H/E de type non ionique

Les bases émulsionnées sont considérées actuellement comme les véhicules les plus aptes à favoriser la résorption cutanée de nombreux médicaments (cf. propriétés des véhicules). Elles sont rafraîchissantes et lavables à l'eau. Elles ont un bon étalement sur la peau, une bonne adhérence et favorisent le transfert de l'eau de l'intérieur de la peau vers l'extérieur d'où leur tendance à l'action antiphlogistique qui cadre bien avec l'effet anti-inflammatoire (aigu ou subaigu) recherché.

Les crèmes H/E non ioniques sont des préparations compatibles avec pratiquement tous les principes actifs et permettent d'ajuster le pH dans un intervalle plus large que les crèmes anioniques (COUMONT et Coll., 1995).

Les inconvénients des crèmes H/E sont qu'il faut utiliser un agent conservateur approprié et parfois un antioxydant.

I.4.2. Les hydrogels

I.4.2.1. Définitions

Les gels sont des préparations constituées par des liquides gélifiés à l'aide d'agents appropriés. Ils sont soit à base d'huiles (oléogels) soit à base d'eau et/ou de polyols (hydrogels).

I.4.2.2. Composition des hydrogels

- agent gélifiant : polymères d'acide acrylique (carbopols), dérivés cellulosiques...
- agent humectant : propylène glycol...
- solvant de gélification : eau, glycol, mélange hydro-alcoolique contenant jusqu'à 80° d'alcool ;
- agent neutralisant (alcali ou amine) : soude, triéthanolamine, triéthylamine ;
- stabilisateur : EDTA.

I.4.2.3. Avantages – inconvénients

Ce sont des gels transparents qui forment un film invisible une fois étendus sur la peau. Ils sont lavables à l'eau. Les carbopols donnent de beaux gels non collants avec une sensation de fraîcheur sur la peau.

Les carbopols présentent cependant une très grande sensibilité aux électrolytes ; ils sont incompatibles avec les principes actifs cationiques et des cations plurivalents (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} .)

Les solutions contenant un acide ne peuvent pas être gélifiées par les carbopols.

Dans ces cas, il convient d'avoir recours à des polymères non ioniques (méthylcellulose, hydroxypropylmethyl cellulose (HPMC), hydroxypropylcellulose).

1.5 Choix des véhicules

1.5.1 Cas de la crème de type H/E non ionique

Selon JAMINET et DENOEL, (1971) les véhicules utilisés dans la réalisation des crèmes à base d'émulsifs non ioniques sont en général très compatibles avec la plupart des médicaments des types anioniques et cationiques. Les plus importants des véhicules émulsionnés du type H/E pour crème à base d'émulsifs non ioniques peuvent être classés en quatre grandes catégories suivant la nature des agents émulsifs employés :

- véhicules à base d'esters de polyoxyéthylène glycols (MYRJ, TEFOSE etc....) ;
- véhicules à base d'éthers de polyoxyéthylène glycols (BRIJ, EMULGINE etc....) et cires autoémulsives non ioniques, par exemple : EMULCIRE 61, EMULGADE, TENSACTOL NO, etc....) ;
- véhicules à base de TWEENS ou de mélanges TWEENS/SPANS ;
- véhicules à base de sucroglycérides ou d'esters d'acides gras de saccharose.

Nous avons choisi le 2^{ème} type de véhicules car :

- . compatible avec la plupart des médicaments ;

. contenant une cire autoémulsive émulgade 1000 NI non ionique de type H/E qui joue à la fois le rôle d'agent émulsif et d'agent épaississant.

La formulation retenue est du type BASE DE BEELER modifiée

Formulation type Base de BEELER :

- cire blanche 1 g
- alcool cétylique 9 g
- propylène glycol 10 g
- emulgade 1000 NI 10 g
- eau conservante Q.S.P 100 g

Ainsi, la formule définitive choisie est la suivante :

- extrait de plante 1 g
 - cire blanche 1 g
 - alcool cetylique (lanette 16) 9 g
 - propylène glycol 10 g
 - emulgade 1000 NI 10 g
 - eau conservante 100 g
- (acide sorbique 0.2g + H₂O 68.8 g)

I.5.2. Cas des hydrogels

Les carbopols et les dérivés cellulosiques ont été utilisés dans le but de rechercher la formulation la plus stable conférant une meilleure biodisponibilité de la forme réalisée.

La formule retenue pour les gels au carbopol comportera comme véhicule :

- carbopol 940 1.5 g
- propylèneglycol 15 g
- EDTA 50 mg
- triethanolamine 5 g
- eau conservante q.s.p 100 g

La formule retenue pour les gels aux dérivés cellulosiques comporte comme véhicule :

- dérivé cellulosique	3 g
- propylène glycol	15 g
- eau conservante q.s.p	100 g

II. FORMULATION GALENIQUE PROPREMENT DITE:

II.1. Formulation des émulsions (ROUSSOS et Coll., 1983)

II.1.1. Généralités

Deux liquides non miscibles peuvent, sous l'effet d'une agitation mécanique, former un système dispersé. L'huile de paraffine, par exemple, se disperse dans l'eau sous agitation. Les gouttelettes formées sont d'autant plus fines que l'action mécanique est plus énergique. La dispersion subsiste tant que dure l'agitation, mais dès que cette dernière cesse, les globules se rassemblent, il y a coalescence et les deux liquides se séparent. Nous avons à faire à un système thermodynamiquement instable.

La formulation d'une émulsion vise à apporter au mélange le ou les produits qui vont permettre ou faciliter la formation d'un système stable au repos, pour un temps plus ou moins long suivant l'usage prévu.

II.1.2. Techniques d'émulsification

L'émulsifiant étant dissous dans l'une des phases ou dans les deux phases dans le cas des mélanges d'émulsifiants de solubilité différente, l'émulsion peut être préparée en additionnant soit l'huile dans l'eau soit l'eau dans l'huile.

Les règles générales suivantes peuvent être énoncées :

Dans le cas où on additionnerait l'huile dans l'eau :

- si le tensioactif a été dissous dans l'eau, l'huile ne se dispersera dans l'eau que sous très vive agitation ; on obtient le plus souvent des émulsions grossières et qui ont une stabilité limitée dans le temps mais suffisante pour certaines applications ;
- si le tensio-actif a été dissous dans l'huile, on obtient un concentré émulsionnable qui se disperse dans l'eau beaucoup plus facilement et qui donne des émulsions plus fines et plus stables.

De nombreuses spécialités pour l'agriculture sont présentées sous forme de concentrés émulsionnables qui se dispersent sous faible action mécanique lorsqu'on les verse dans l'eau. L'émulsification spontanée n'est possible que si les phases sont très fluides.

Dans le cas où on additionnerait l'eau dans l'huile, on forme d'abord une émulsion eau dans l'huile, généralement très visqueuse, qui s'inverse et se fluidifie simultanément lorsque la quantité d'eau est suffisante. On obtient ainsi des émulsions très fines (de l'ordre du micron) et généralement très stables. Cette technique, appelée méthode par inversion de phase est très utilisée dans les industries de la cosmétique et de l'alimentation.

Une autre méthode utilisée plus particulièrement pour la préparation d'émulsions alimentaires (les mayonnaises par exemple) consiste à additionner alternativement et par petites portions l'huile et l'eau à l'émulsifiant.

Lorsque les phases hydrophile et lipophile sont des liquides fluides, et lorsque l'on a trouvé l'agent émulsionnant qui permet de préparer des émulsions fines et stables, l'émulsion peut être préparée par simple agitation manuelle. C'est le cas des huiles ou solvants auto-émulsionnables. En fait, ce cas est rarement rencontré, et diverses méthodes sont utilisées selon l'importance de l'énergie nécessaire pour réduire la phase à disperser en gouttelettes fines. De nombreux appareils et modèles, tant au stade du laboratoire, qu'à l'échelle industrielle sont disponibles.

II.2. Formulations des gels (COUMONT et Coll., 1995)

II.2.1. Gels de carbopol

Les carbopols sont capables de gélifier l'eau mais aussi d'autres solvants à condition de choisir le neutralisant de telle façon que le sel formé soit soluble dans le solvant concerné :

AGENTS NEUTRALISANTS	SOLVANTS A GELIFIER
NaOH : 0.3g par g de carbopol	Eau, glycérol, éthanol jusqu'à 30°
Triéthanolamine : 1.1 à 1.2g par g de carbopol	Eau, glycérol, éthanol jusqu'à 50°, Propylèneglycol + eau (9 : 1)
Triéthylamine : 0.8g par g de carbopol	Eau, glycérol, éthanol jusqu'à 80°, Propylèneglycol

Lorsque la quantité à préparer est faible ou lorsque le solvant à gélifier est visqueux (glycérol), travailler le carbopol à la plaque avec un peu de solvant à l'aide d'une spatule jusqu'à disparition de tout agrégat : diluer avec le solvant puis neutraliser. Les quantités plus importantes seront préparées à la manière des suspensions.

Les gels de carbopol sont stables et de bonne conservation ; toutefois ils subissent une diminution de viscosité s'ils sont exposés à la lumière. Ce phénomène est évité par addition de 0.050% d'EDTA.

II.2.2. Gels de méthylcellulose ou dérivés

Le polymère est trituré avec un non-solvant (glycol) jusqu'à obtention d'une suspension lisse, sans particules apparentées. Ajuster, en agitant lentement, l'eau conservante glacée et laisser s'hydrater par repos de 1 à 2 heures au réfrigérateur.

Un gel transparent exempt de bulles d'air est obtenu. Ces gels sont sensibles à la contamination et doivent être additionnés d'un agent conservateur.

Lorsqu'il faut gélifier un liquide autre que l'eau, il faut choisir un polymère qui y est soluble :

méthylcellulose : soluble dans l'eau – insoluble dans l'éthanol, le glycérol, le propylèneglycol.

Hydroxypropylcellulose : soluble dans l'eau, le méthanol, l'éthanol 84°, l'isopropanol à 95 %, le propylèneglycol, le chloroforme, le mélange acétone/eau (9 :1).

Hydroxypropylméthylcellulose : soluble dans l'eau et l'éthanol jusqu'à 60°

II.3 Contrôles pharmaceutiques

II.3.1 Principes

Comme tout produit pharmaceutique, les médicaments à usage dermique doivent remplir un certain nombre de critères pour être acceptés comme tels. Cela impose au médicament de nombreuses qualités qui répondent aux normes requises et qui doivent faire l'objet d'un contrôle systématique.

II.3.2. Types de tests réalisés

Les différents tests réalisés vont des essais des propriétés d'ordre technologique à la recherche d'une éventuelle toxicité cutanée. Les principaux tests sont les suivants :

- * Détermination du type d'émulsion
 - Essai de rinçage
 - Test des colorants

- * Essai d'homogénéité
 - Examen macroscopique
 - Examen microscopique
- * Détermination de la capacité d'étalement
- * Détermination du pH
- * Détermination de l'activité et son évaluation quantitative
- * Test de la stabilité des formes réalisées
 - Evaluation organoleptique
 - Test physique : Etalement sur la peau
 - Stabilité d'activité
- * Détermination de la toxicité cutanée.

DEUXIEME PARTIE :
TRAVAUX EXPERIMENTAUX

CHAPITRE I :

MATÉRIELS ET MÉTHODES

A. MATERIELS D'ETUDE

I. MATERIELS POUR LES ETUDES PHYTOCHIMIQUES

I.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué d'écorces récoltées dans la région de Saponé (province du BAZEGA) de janvier à mars 1994, séchées, pulvérisées et conservées à l'abri de la poussière dans des sachets appropriés au laboratoire de l'Institut de Recherche en Science de Santé au département de Médecine – Pharmacopée Traditionnelles / Pharmacie (ME.PHA.TRA. /PH.).

I.2. Solvants , réactifs et matériels divers (cf. Méthodes d'études chimiques)

II. MATERIELS POUR LES ETUDES GALENIQUES

II.1. Matériel végétal

- Extrait aqueux lyophilisé
- Extrait à la pétroléine
- Extrait chloroformique

II.2. Matériels de formulation

II.2.1. Matériels divers (cf. Méthodes d'études galéniques)

II.2.2. Excipients et réactifs

- Carbopol 940
- Propylèneglycol
- Triéthanolamine
- Polyéthylèneglycol
- Cire blanche en pastilles
- Emulgade 1000 NI
- Lanette 16
- EDTA sodique
- Acide sorbique

- Eau désionisée
- Méthocel K4M (HPMC) premium E.P.
- Hydroxybenzoate de méthyle (NIPAGINE)
- Hydroxybenzoate de propyle (NIPASOL)

II.3 MATERIELS DE CONTROLE DES FORMES REALISEES

II.3.1. Appareils

- Microscope à vernier
- Extensomètre de POZO
- PH mètre
- Papier pH
- Balance de précision Sartorius

II.3.2 Matériels divers

- Spatules
- Pipettes pasteurs

II.3.3 Solvants et réactifs

- Eau
- Erythrosine

III. MATERIELS POUR LES ETUDES PHARMACOLOGIQUES

III.1. Test anti-inflammatoire

III.1.1. Extraits de plantes

- Extrait aqueux lyophilisé
- Extrait à l'éther de pétrole
- Extrait chloroformique
- Extrait méthanolique
- Extrait aqueux après épuisements successifs
- Fraction des phytostérols
- Fraction des esters triterpéniques

III.1.2. Matériel animal

Souris mâles IOPS (Indemnes d'Organismes Pathogènes Spécifiques) provenant de l'élevage de IFFA CREDO de poids compris entre 28 et 32 g et stabulées au

laboratoire de Pharmacologie de l'U.L.B. dans les conditions suivantes : 21 à 22° C de température du local et 70% d'humidité atmosphérique.

III.1.3. Réactifs et solvants divers

- Ketamine chlorhydrate (SIGMA)
- Huile de croton (SIGMA)
- Indométacine (Merck)
- Dichlorométhane (Merck)
- Eau distillée
- Eau pour préparation injectable
- Ethanol
- Méthanol
- Ether de pétrole (pétroléine)
- Chloroforme

III.1.4. Matériels divers

- Balance de précision
- Perce-bouchon 7 mm de diamètre
- Seringue de 25 μ l, de 1 cc gradué au centième du ml
- Chronomètre
- Pipettes jaugées de 1 cc et de 5 cc
- Paire de ciseaux
- Balance pèse-souris
- Marqueurs à encre
- Flacons de verre

III.2 TEST SUR LA TEMPERATURE CORPORELLE

III.2.1. Matériel végétal

Extrait aqueux (macéré aqueux de poudre d'écorce)

30 g de poudre d'écorces de tronc sont mis en macération dans 100 ml d'eau distillée sous agitation magnétique pendant 1 heure.

Le macéré est ensuite conservé au réfrigérateur pendant 24 heures. Il est filtré à l'aide d'un papier filtre.

III.2.2. Animaux

Souris femelles NMRI pesant entre 20 et 30 g constituées en cinq lots de 10 souris provenant d'un élevage de l'animalerie de l'Institut de Recherche en Science de la Santé. Elles sont maintenues dans un local d'expérimentation à $22^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et $70 \pm 5\%$ d'humidité ambiante dans un éclairage naturel du jour (6h à 18h) et obscurité le soir (18h à 6h).

Le premier lot, lot témoin ne reçoit que le solvant d'extraction (eau). Les quatre autres lots reçoivent respectivement des doses croissantes de l'extrait aqueux à raison de 750 ; 1000 ; 1125 et 1500 mg/kg.

III.2.3. Matériels de mesure

- Un thermomètre électronique digital est utilisé pour la mesure de la température rectale : Physitemp Model BAT-12 avec un thermocouple sensortek N.J. 07013 USA mesurant entre -100°C et $+200^{\circ}\text{C}$; de résolution 0.1°C ;
- Un chronomètre pour la mesure des temps d'expérimentation ;
- Une balance électronique Sartorius de précision au dix millième du gramme.

III.2.4. Matériels divers

- Seringues de 1 ml graduées au centième,
- Flacons de dilution,
- Pipettes diverses.

IV. MATERIELS DE L'ETUDE DE LA TOXICITE

IV.1. Toxicité générale aiguë

IV.1.1. Matériel végétal

- Extrait aqueux lyophilisé,
- Extrait chloroformique.

IV.1.2. Animaux

Souris femelles (IFFA CREDO) pesant entre 25 et 32 g constituées en plusieurs lots de 6 animaux. Elles sont maintenues dans un local d'expérimentation à $22^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et $70 \pm 5\%$ d'humidité ambiante.

IV.1.3. Solvants divers

- Eau pour préparation injectable,
- DMSO (Diméthylsulfoxyde),
- Suspension à 0.5 % de carboxyméthylcellulose.

IV.1.4. Matériels divers

- Balance pèse-souris
- Seringue de gavage
- Seringues injectables de 1cc
- Flacons
- Pipettes.

IV.2. Toxicité cutanée

IV.2.1. Formes réalisées à tester

- Excipient des crèmes : Base de Beeler modifiée
- Excipient des gels
- Crème de l'extrait aqueux lyophilisé à 1%
- Crème de l'extrait à la pétroléine à 1%
- Crème de l'extrait chloroformique à 1%
- Gel de l'extrait aqueux lyophilisé à 1%
- Gel de l'extrait à la pétroléine à 1%
- Gel de l'extrait chloroformique à 1%

IV.2.2. Les animaux

Lapins mâles albinos de souche néo-zélandaise, pesant environ 4kg provenant de l'élevage de la K.U.L. (Université Catholique de Louvain). Ils sont maintenus dans le local d'expérimentation à la température de $22^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ sous une humidité résiduelle de 70% pendant 8 jours au moins.

IV.2.3. Matériels divers

- Tondeuse rasoir
- Lames de scarification
- Ciseaux
- Sparadrap hypoallergique
- Bandes compresses

B. METHODES D'ETUDE

I. METHODES D'ETUDES PHYTOCHIMIQUES

I.1. Extractions

Les différentes extractions sont réalisées en utilisant des solvants de polarité croissante notamment : l'éther de pétrole, le chloroforme, le méthanol et l'eau. Des extraits totaux bruts directement à l'eau et lyophilisés ont été également réalisés.

I.1.1. Extrait aqueux lyophilisé

100 g de poudre d'écorces sont mis à macérer dans 500 ml d'eau distillée au réfrigérateur pendant 24 h. Après agitation magnétique, l'extrait est filtré sur du coton hydrophile et lyophilisé pour donner une poudre de 5.9 g soit un rendement de 5.9%.

I.1.2. Extrait à la pétroléine

520 g de poudre d'écorces sont macérés dans un litre d'éther de pétrole sous agitation pendant 96 h en chambre froide. Le macéré est ensuite introduit dans un percolateur sur lequel 1 litre d'éther de pétrole est versé goutte à goutte. Le percolat est recueilli et évaporé au rotavapor à 40° C sous pression réduite.

Un résidu de 1.67 g est recueilli. Le rendement est de 0.32%.

I.1.3. Extrait chloroformique

Sur le marc résultant de l'extraction à l'éther de pétrole, 2.5 l de chloroforme sont versés goutte à goutte et le percolat est recueilli dans un ballon rodé d'évaporation. Cette solution chloroformique est également évaporée comme précédemment au rotavapor. Le résidu obtenu pèse 6.3 g soit un rendement de 1.21%.

I.1.4. Extrait méthanolique

Sur le Marc issu de l'extraction chloroformique, 3.8 l de méthanol sont versés au goutte à goutte. Le percolat est recueilli et traité de la même manière que précédemment. Le résidu méthanolique obtenu pèse 97.8 g soit un rendement d'extraction de 18.81%.

I.1.5 Extrait aqueux

2.750 l d'eau distillée sont enfin coulés goutte à goutte sur le marc resté dans le percolateur. Le percolat est évaporé sous pression réduite à 50° C pour donner un résidu sec de 25.5 g. Le rendement obtenu est de 4.90%.

I.2. Screening phytochimique

I.2.1. Principe

Il consiste après avoir adopté une méthode d'extraction appropriée à caractériser ou identifier les principaux groupes chimiques de la plante.

I.2.2. Réactifs

- solution éthanolique d'acide sulfurique à 3% (solution contenant 3 volumes d' H_2SO_4 pour 97 volumes d'éthanol à 96°) ;
- solution éthanolique de vanilline à 1.5% (1.5 g de vanilline est dissout dans 100 ml d'éthanol) ;
- autres réactifs (CIULEI, 1982 in LOMPO, 1993).

I.2.3. Méthode (CIULEI, 1982 in LOMPO, 1993)

I.3. Chromatographie sur couche mince

Caractérisation des stérols et triterpènes.

La méthode est fondée sur le principe de caractérisation selon la réaction de Lieberman après avoir réalisé une chromatographie sur couche mince à l'aide d'un système de solvant approprié. La révélation se fait par la vanilline sulfurique. Cela

consiste en un premier temps à pulvériser sur la plaque une solution éthanolique d'acide sulfurique à 3%, à porter à l'étuve à 110°C pendant 15 mn puis à pulvériser de nouveau sur la plaque une solution éthanolique de vanilline à 1.5%.

Les composés triterpeniques apparaissent en violet et les stéroliques en bleu.

I.4. Fractionnement de l'extrait à la pétroléine

I.4.1. Principe

Il consiste par la méthode de la chromatographie sur colonne de gel de silice, à séparer différentes fractions de l'extrait en utilisant des systèmes de solvant de polarité croissante.

I.4.2. Méthode

Une colonne de silice Vel B 24 – P1 de diamètre 2.7 cm est remplie de silice sur une hauteur de 32 cm. La pétroléine y est coulée jusqu'à recouvrir toute la silice sur une hauteur de 10 cm. Après avoir laissé la silice se tasser, le niveau de la pétroléine est ajusté au niveau de celui de la silice par l'ouverture du robinet de la colonne. 2 ml de la solution à 2 g/ml d'extrait à la pétroléine dans du chloroforme sont déposés au-dessus de la silice à l'aide d'une pipette de 5 ml.

L'élution se fait successivement avec des systèmes de solvants de polarité croissante :

- 1er système (SI) : Pétroléine ; Toluène ; Acétate d'éthyle dans les proportions (2 :1 :1).
- 2ème système (SII) : Pétroléine ; Acétate d'éthyle dans les proportions (7 :1).

Les fractions (25 ml) sont récoltées et analysées par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant le mélange cyclohexane, toluène, éther (4 :4 :4) comme phase mobile.

Les fractions ayant des chromatogrammes similaires sont regroupées et une chromatographie sur couche mince préparative (C.C.M.P) en bande est réalisée en

utilisant comme phase mobile le système (SMI) composé de : cyclohexane, toluène, éther dans les proportions (4 :4 :4). Les différentes bandes sont repérées puis récoltées séparément et éluées par du chloroforme. Le degré de pureté est évalué par C.C.M. Les substances ainsi purifiées sont analysées par les relevés spectroscopiques de (RMN¹H, RMN¹³C). Ces relevés sont complétés par une analyse par chromatographie en phase gazeuse (C.P.G.) en comparaison avec des standards.

I.5. Procédés des mesures spectrométriques destinés à l'élucidation de la structure des phytostérols

I.5.1. Spectrométrie de Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres ¹H-RMN de la fraction B1 et de son dérivé acétylé ainsi que son spectre ¹³C-RMN ont été relevés sur un appareillage Bruker WP 250 respectivement à 250 MHz et à 62.89 MHz en utilisant le tétraméthylsilane (TMS) comme standard interne. Le CDCl₃ a été utilisé comme solvant et les déplacements chimiques sont exprimés en (ppm).

I.5.2. Chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse sous forme d'acétate et de triméthylsilyl éthers des phytostérols

I.5.2.1. Acétylation de la fraction B1

La fraction B1 est solubilisée dans 0.5 ml d'un mélange à parts égales de pyridine anhydre et d'anhydride acétique. Cette solution est ensuite abandonnée à température ambiante pendant 12 heures. La réaction terminée, le solvant d'acétylation est évaporé sous pression réduite et le produit acétylé est purifié par chromatographie sur couche mince préparative (CCMP). La solution destinée à l'analyse par C.P.G. est réalisée en dissolvant 3.5 mg de résidu dans 3 ml d'iso-octane.

I.5.2.2 Silylation

3.5 mg de la solution à silyler sont dissous dans 3 ml d'un mélange à parts égales de pyridine anhydre, de bis-triméthylsilyl-trifluoro-acétamide (BSTFA) et de sylon BTZ (N, O-bis-triméthylsilyl-acétamide, 3/8 ; triméthylchlorosilane, 2/8 ;

triméthylsilylimidazole, 3/8. Le mélange est ensuite abandonné à température ambiante pendant 90 mn avant l'analyse par chromatographie gazeuse.

I.5.2.3. Chromatographie en phase gazeuse

Cette opération a été effectuée sur un chromatographe HRGC 5160 Mega séries (CARLO ERBA STRUMATAZIONE). La colonne utilisée est une WCOT en silice fondue (25 m x 0.32 mm DI ; phase stationnaire greffée : CP – sil –8 CB, chrompack).

La colonne est couplée à un détecteur à ionisation de flamme.

La température du détecteur et de l'injecteur est portée à 340°C. La température de la colonne est programmée de la manière suivante : 200°C pendant 1 mn et 8°C/mn jusqu'à 325°C (température finale).

L'hélium est utilisé comme gaz vecteur sous une pression de 49 Kpa; le débit est de 2.00 ml/mn et la vitesse linéaire de 37 cm/sec. Le volume injecté est de 0.5 µl et l'injecteur dispense 1/40 de ce volume à l'intérieur de la colonne.

II. METHODES D'ETUDES GALENIQUES

II.1. Choix des formes à réaliser

Au regard des caractéristiques principaux des excipients, nous nous sommes orientés vers les crèmes de type H/E (Huile dans Eau) qui utilisent des bases émulsionnées de type H/E non ionique et des hydrogels.

II.2. Modes de préparation

II.2.1. Préparation des crèmes du type H/E

II.2.1.1. Méthode générale à l'officine

La préparation des crèmes du type H/E comprend trois stades importants :

- l'émulsification initiale à chaud
- le refroidissement
- l'homogénéisation

a) L'émulsification initiale

Elle comporte :

1ère phase : les constituants solubles des crèmes sont mis en solution dans leurs dissolvants respectifs : les substances hydrosolubles dans l'eau de la phase aqueuse et les substances liposolubles dans la phase huileuse. Quand un ou plusieurs agents émulsifs sont employés, les fabricants recommandent généralement de les ajouter à la phase huileuse.

2ème phase : la phase huileuse est chauffée à une température variant suivant le point de fusion des matières grasses de 60 à 85° sans dépasser toutefois une température excessive (risque d'auto-oxydation et d'apparition de coloration dans le produit fini).

3ème phase : dans un récipient séparé on porte la phase aqueuse à une température supérieure d'environ 5°C à celle de la phase huileuse.

4ème phase : le mélange des phases peut alors s'effectuer de deux manières :

- on ajoute la phase huileuse par petites portions à la phase aqueuse tout en agitant énergiquement et continuellement (méthode mayonnaise) ;

- on ajoute la phase aqueuse par petites portions à la phase huileuse tout en agitant énergiquement et continuellement (méthode dite par inversion de phase).

b) Le refroidissement

Le refroidissement de l'émulsion est ensuite effectué au stade de l'officine en plaçant sous le jet d'un robinet d'eau froide le récipient dans lequel l'émulsion initiale a été réalisée, tandis que dans l'industrie, il se fait par réfrigération d'une cuve à double paroi dans laquelle le produit a été préparé.

Le refroidissement s'effectue sous agitation jusqu'à une température d'environ 20-25°C. Il est recommandé dans les dernières phases du refroidissement d'agiter le produit plus lentement pour empêcher l'inclusion des bulles d'air.

c) L'homogénéisation

L'homogénéisation des crèmes, opération recommandable en vue de réduire les agglomérats ou grumeaux éventuels n'est cependant pas toujours nécessaire et se fait généralement au moyen de deux types d'appareils analogues à ceux utilisés dans l'industrie : homogénéisateurs où la crème est pressée à travers de très fins orifices ou des laminoirs à trois rouleaux réglables.

II.2.1.2. Méthode utilisée

a) Formule utilisée

Elle est basée sur la composition de la base émulsionnée de BEELER :

- cire blanche	1 g
- alcool cétylique	9 g
- polyéthylèneglycol	10 g
- émulgade 1000 NI	10 g
- eau conservante Q.S.P	100g

La formule définitive adoptée est la suivante :

- extrait de plante	1 g
- cire blanche	1 g
- alcool cétylique (lanette 16)	9 g
- propylèneglycol	10 g
- émulgade 1000 NI	10 g
- eau conservante Q.S.P	100 g

b) Modes opératoires

- *Cas de l'extrait aqueux lyophilisé.*

Après avoir pesé les différents constituants,

- 1- Faire fondre dans un mortier au bain-marie à une température voisine de 70°C le mélange émulgade 1000 NI, alcool cétylique (lanette 16) et cire blanche.
- 2- Dissoudre le propylèneglycol dans $\frac{3}{4}$ de la quantité d'eau nécessaire dans laquelle on a préalablement dissout à chaud l'agent conservateur (acide sorbique). Porter la température à 75°C.
- 3- Dissoudre l'extrait aqueux lyophilisé dans le $\frac{1}{4}$ restant d'eau. Retirer le mortier du bain-marie et ajouter par petites portions 2 dans 1 en agitant vivement. Y additionner 3 en fin d'opération en agitant lorsque la température du mélange est tombée au voisinage de 40°C. Mélanger en agitant de moins en moins vigoureusement jusqu'à refroidissement.
- 4- Conditionner dans des pots de 125 ml.

- Cas de l'extrait chloroformique

La même formule que précédemment est utilisée avec cette fois-ci l'extrait chloroformique.

Après avoir pesé les différents constituants,

- 1- Faire fondre dans un mortier au bain-marie à une température voisine de 70°C le mélange émulsif 1000 NI, alcool cétylique, cire blanche.
- 2- Dissoudre l'extrait chloroformique dans le propylène glycol en utilisant au besoin un bain ultra-son.
- 3- Dissoudre à chaud autour de 75°C l'acide sorbique dans l'eau.

Mélanger 3 dans 1 par petites portions en agitant vivement. Retirer le mortier du bain-marie et y ajouter 2 en agitant lorsque la température du mélange est tombée au voisinage de 40°C. Mélanger en agitant de moins en moins vigoureusement jusqu'à refroidissement pour éviter l'incorporation des bulles d'air.

- 4- Conditionner dans des pots de 125 ml

- Cas de l'extrait à la pétroléine

Le mode opératoire est identique à celui du cas de l'extrait chloroformique.

II.2.2. Préparation des gels

II.2.2.1. Gels aux carbopols de l'extrait aqueux lyophilisé

Gel n°1

a) Formule

- | | |
|-----------------------------|-------|
| - Extrait aqueux lyophilisé | 1 g |
| - Carbopol 940 | 1.5 g |
| - Propylène glycol | 15 g |

- E.D.T.A.	50 mg
- Triéthanolamine	5 g
- Eau conservante Q.S.P	100 g

b) Mode opératoire

Après avoir pesé les différents constituants,

- 1- dissoudre l'acide sorbique et l'E.D.T.A. dans $\frac{3}{4}$ de l'eau nécessaire additionnée de triéthanolamine
- 2- dissoudre l'extrait aqueux lyophilisé dans le $\frac{1}{4}$ restant d'eau
- 3- dans un mortier, triturer avec soin le carbopol et le propylèneglycol (homogénéiser).
- 4- Verser 1 dans 3 en remuant lentement pour éviter les bulles d'air et enfin verser 2 dans le mélange obtenu tout en remuant lentement pour homogénéiser
- 5- Laisser reposer le gel et conditionner dans des pots en plastique de 125 ml

Gel n°2

a) Formule

- extrait aqueux	1 g
- carbopol 940	1.5 g
- propylèneglycol	15g
- tween 80	1 g
- E.D.T.A.	50 mg
- Triéthanolamine	5 g
- Eau conservante Q.S.P	100 g

a.1 : Préparation de l'aqua conservans (Eau conservante)

- Formule

- . Solution concentrée d'hydroxybenzoates FNV 1g
- . Eau, Q.S.P 100 ml

- Mode opératoire

- . Chauffer la majeure partie de l'eau à 50°C
- . Mélanger avec la solution d'hydroxybenzoates
- . Laisser reposer jusqu'à refroidissement et compléter à 100 ml avec de l'eau.

a. 2 : Préparation de la solution concentrée d'hydroxybenzoates FNV (solution concentrée de parabens)

- Formule

- . Parahydroxybenzoate de méthyle 8 g
- . Parahydroxybenzoate de propyle 2 g
- . Propylèneglycol 90 g

- Mode opératoire

Dissoudre les hydroxybenzoates dans le propylèneglycol en chauffant.

- Usage : préparation de l'eau conservante.

b) Mode opératoire

Peser les différents constituants :

- 1- Triturer avec soin carbopol et propylèneglycol
- 2- Dans un verre de montre, triturer l'extrait aqueux lyophilisé et le tween 80
- 3- Triturer 2 dans 1
- 4- Dissoudre l'E.D.T.A. dans l'eau conservante et verser par petite quantité en tournant dans 3. Bien mélanger
- 5- Verser la triéthanolamine dans le mélange et homogénéiser

Gel n°3

a) Formule

- Extrait aqueux lyophilisé	1 g
- P.E.G. 400	40 g
- Carbogel 4% Q.S.P.	100 g

b) Mode opératoire

Dissoudre l'extrait aqueux lyophilisé à l'aide d'une spatule dans le P.E.G. Mélanger en tournant la solution au carbogel 4% FN VI.

b.1 Préparation du carbogel 4% FN VI

- Formule

. Carbopol 940	4 g
. Propylèneglycol	15 g
. EDTA	50 mg
. Triéthanolamine	5 g
. Eau conservante Q.S.P.	100 g

- Mode opératoire

- 1- Dissoudre 0.2 g d'acide sorbique préalablement broyé au mortier dans le Propylèneglycol.
- 2- Dissoudre l'EDTA dans l'eau et mélanger avec la triéthanolamine
- 3- Triturer avec soin carbopol et solution 1
- 4- Ajouter enfin 2 à 3 par petites portions et mélanger pour obtenir un gel uniforme.

II.2.2.2. Gels aux dérivés cellulosiques de l'extrait aqueux lyophilisé : gel au HPMC (hydroxypropylméthylcellulose)

a) Formule

- Extrait aqueux lyophilisé	1 g
- HPMC (METHOCEL K 4M Premium E.P)	3 g
- Propylèneglycol	15 g
- Eau conservante Q.S.P	100 g

b) Mode opératoire

- 1- Dans un mortier en porcelaine, disperser le polymère dans le propylèneglycol
- 2- Dissoudre l'extrait aqueux lyophilisé dans l'eau conservante froide
- 3- Verser 2 dans 1 et tourner pour homogénéiser. Laisser reposer une nuit au réfrigérateur, homogénéiser et garder une nuit au réfrigérateur
- 4- Conditionner dans des pots en plastique de 125 ml.

II.2.2.3 Gel aux carbopols de l'extrait chloroformique

a) Formule

- Extrait chloroformique	1 g
- carbopol 940	2 g
- Propylèneglycol	15 g
- E.D.T.A. sodique	50 mg
- Triéthanolamine	2.5 g
- Eau conservante Q.S.P.	100 g

b) Mode opératoire

- 1- Triturer avec soin carbopol et propylèneglycol dans lequel on a préalablement dissout l'extrait chloroformique
- 2- Dissoudre l'EDTA sodique dans l'eau conservante et mélanger avec la triéthanolamine
- 3- Ajouter 2 à 1 par petites portions et mélanger pour obtenir un gel uniforme

II.2.2.4. Gels aux carbopols de l'extrait à la pétroléine et de l'indométacine

Les formules et les modes opératoires sont identiques à ceux du gel de l'extrait chloroformique.

III. METHODE DE L'ETUDE PHARMACOLOGIQUE

III.1. Test anti-inflammatoire (Test de l'œdème à l'huile de croton de l'oreille de souris)

III.1.1. Test anti-inflammatoire des extraits

III.1.1.1. Préparation des solutions utilisées

- Solution de ketamine chlorhydrate à 15 mg/ml
75 mg de ketamine chlorhydrate sont dissous dans 5 ml d'eau pour préparation injectable
- Solution d'huile de croton à 15 mg/ml
75 mg d'huile de croton sont dissous dans 5 ml de dichlorométhane ou d'éthanol selon le cas,
- Solution d'indométacine à 50 mg/ml : 50 mg d'indométacine sont dissous dans 1 ml de la solution d'huile de croton ci-dessus
- Les solutions d'extrait à la pétroléine, des phytostérols et des esters triterpéniques se préparent de la même façon que l'indométacine. Les solutions d'extraits au méthanol et à l'eau se préparent de la même manière mais en utilisant respectivement comme solvants la solution éthanolique de croton et de l'eau.

III.1.1.2. Protocole

Deux lots d'au moins six souris pesées et marquées sont nécessaires pour chaque test. Le 1er lot (lot contrôle) ne recevant que la solution d'huile de croton et l'autre lot recevant la substance à étudier dissous dans la solution d'huile de croton (des essais préliminaires ont montré l'inexistence d'interférences entre ces substances ; NIKIEMA (1997)).

L'inflammation cutanée est induite chez le lot contrôle en appliquant 5 µl de la solution d'huile de croton sur la surface interne du pavillon de l'oreille droite de la souris préalablement anesthésiée par la solution de ketamine chlorhydrate (150 mg/kg) par voie intrapéritonéale. L'oreille gauche n'est pas traitée et sert de témoin.

Le lot n°2 reçoit sur la face interne du pavillon de l'oreille droite après être anesthésié comme précédemment 5 µl de la solution de la substance à étudier (250 µg par oreille).

NB : Pour les solutions aqueuses, les extraits sont dissous dans de l'eau. Leur dépôt se fera immédiatement après celui de la solution d'huile de croton. Le lot contrôle recevra un dépôt (même volume) d'eau pour préparation injectable immédiatement après celui de la solution d'huile de croton.

Les deux lots sont observés pendant 6 heures (maximum de l'inflammation (TUBARO, 1985)) Les animaux sont sacrifiés par rupture de la moelle épinière au niveau cervical par étirement. Les oreilles droites et gauches sont alors sectionnées au ras de leur implantation. A l'aide d'un perce-bouchon (diamètre 7 mm), un morceau du pavillon de l'oreille est prélevé au niveau de la marge en pointe et pesée immédiatement.

Les différences de poids entre les morceaux de l'oreille droite et gauche sont notées. Les tests sont réalisés de 10H à 16 H pour éviter les éventuelles variations des réponses dues aux fluctuations circadiennes des corticostéroïdes des animaux.

III.1.1.3. Etude comparée de l'effet anti-inflammatoire des extraits organiques (chloroformique et à l'éther de pétrole) des écorces de tronc de *khaya senegalensis*

Protocole

Il est le même que précédemment. Des doses croissantes sont testées pour l'extrait chloroformique, l'extrait à la pétroléine et l'indométacine comme témoin. Les droites de régression sont tracées et les doses-effets 50% (DE 50) sont calculées avec leur intervalle de confiance.

III.1.2. Test anti-inflammatoire des formulations galéniques

Le test de l'effet anti-inflammatoire par voie topique suivant le modèle de l'œdème à l'huile de croton a été pratiqué pour toutes les formes réalisées (crèmes et gels)

A. Principe

Il consiste à évaluer le niveau de l'inflammation par la différence de poids des morceaux d'oreille de souris d'un lot témoin n'ayant reçu que l'agent irritant et d'un lot traité ayant reçu à la fois l'agent irritant et la substance à étudier.

B. Protocole

Deux lots au moins de six souris mâles sont nécessaires pour chaque test.

Le premier lot (lot contrôle) ne reçoit sur l'oreille que la solution au dichlorométhane d'huile de croton puis immédiatement après 25 mg de l'excipient de la forme réalisée sur la même oreille.

Le lot à tester quant à lui, reçoit la solution au dichlorométhane de l'huile de croton suivi de 25 mg de la forme réalisée. Tous les animaux ont été au préalable anesthésiés à la solution aqueuse de ketamine chlorhydrate à raison de 150 mg/kg en i.p.

Les deux lots sont observés pendant 6 heures au bout desquelles les animaux sont sacrifiés par dislocation cervicale. Un morceau d'oreille est prélevé à l'aide d'un perce-bouchon et pesé.

L'effet anti-inflammatoire obtenu est comparé à celui des extraits non formulés.

Le résultat rend compte de la biodisponibilité des principes actifs au niveau des formes réalisées.

III.1.3. Expression des résultats

Soit D.M. la différence moyenne de poids entre les morceaux des oreilles droites traitées à l'huile de croton et ceux des oreilles gauches non traitées du lot contrôle.

Soit D.M.T. la différence moyenne de poids entre les morceaux des oreilles droites traitées à la substance anti-inflammatoire et ceux des oreilles gauches non traitées.

Soit $D.i$ la différence de poids entre les morceaux de l'oreille droite et de l'oreille gauche d'une souris donnée.

$$\text{Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation est} = \frac{D.M - DMT}{D.M} \times 100$$

$$\text{Le pourcentage d'inhibition calculé pour chaque animal} = \frac{D.M - D.i}{D.M} \times 100$$

III. 2 – Test sur la température corporelle de l'extrait aqueux

Les souris mises à jeun pendant 12 heures avant l'expérimentation, reçoivent en intrapéritonéale (i. p.) les produits suivants :

- Lot témoin : 0,15ml d'eau distillée ;
- Les quatre autres lots reçoivent de l'extrait de plante respectivement aux doses de 750 ; 1000 ; 1125 ; 1500 mg/kg.

La température rectale initiale (avant l'administration des produits T_0) est mesurée puis des mesures sont faites aux temps $T = 3h ; 5h ; 19h ; 24h ; 48h$ après administration.

L'évolution de la température rectale en fonction du temps et après administration est suivie pour tous les lots. L'analyse des données expérimentales nous permet d'établir les courbes d'évolution des températures et les courbes d'abaissement des températures en fonction du temps (3h ; 5h ; 24h après administration) ; la relation dose-effet est également établie.

IV. METHODE DE L'ETUDE TOXICOLOGIQUE

IV.1. Toxicité générale aiguë

IV.1.1. Principe

Il consiste à administrer à des lots homogènes de souris une substance à des doses croissantes et à observer le pourcentage de morts obtenus pour chaque dose pendant 24 à

72 heures. On recherche la dose ayant provoqué 50% de morts. La dose létale 50% (DL50) est ainsi définie comme celle qui est capable de tuer, dans des conditions déterminées, la moitié des animaux mis en expérience dans une même espèce animale (WEPIERRE, 1977). On notera le comportement des animaux au cours de l'expérimentation.

IV.1.2. Préparation des solutions à administrer

a- Solutions aqueuses de l'extrait aqueux lyophilisé :

- 25 ; 50 ; 75 ; 100 ; 125 ; 150 mg/ml sont préparées et seront administrées per os respectivement aux doses de 250 ; 500 ; 750 ; 1000 ; 1250 et 1500 mg/kg à des lots différents ;
- 5 ; 10 ; 20 ; 30 ; 40 ; 60 mg/ml seront administrées en i.p. respectivement aux doses de 50 ; 100 ; 200 ; 300 ; 400 ; 600 mg/kg à des lots différents ;

b- Suspensions au carboxyméthylcellulose de l'extrait chloroformique :

- 5 ; 10 ; 15 ; 20 ; 40 ; 80 ; 100 mg/ml sont administrées per os respectivement aux doses 50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 400 ; 800 ; 1000 mg/kg à des lots différents.

c- Solutions au D.M.S.O. de l'extrait chloroformique :

les solutions de 125 ; 250 ; 375 ; 500 ; 625 mg/ml ont été administrées en i.p. aux doses respectives de 125 ; 250 ; 375 ; 500 ; 625 mg/kg.

IV.1.3. Protocole

Des lots de 6 souris femelles sont constitués de la façon la plus homogène possible et reçoivent en i.p. ou per os selon les cas des doses croissantes d'extrait. Des observations sont faites au bout de 24, 48, 72 heures. Les souris mortes sont dénombrées et les valeurs enregistrées et traitées à l'informatique au programme Tallarida software pour en déterminer la DL50 et son intervalle de confiance.

Le toxidrome qui est l'ensemble des manifestations de la toxicité générale aiguë est établi.

V. METHODE D'ETUDE DES TOPIQUES

V.1. Effet anti-inflammatoire comparé

L'effet A.I. des topiques est réalisé selon la méthode de l'œdème à l'huile de croton de l'oreille de souris décrite dans le chapitre : METHODE DE L'ETUDE PHARMACOLOGIQUE. La comparaison de l'effet A.I. est faite d'une part entre les différents topiques et d'autre part par rapport aux extraits non formulés

V.2. Contrôle pharmaceutique

V.2.1. Essais des propriétés d'ordre technologique

V.2.1.1. Les crèmes

A. Détermination du type d'émulsion

B.

a) Principe :

Il consiste à vérifier le sens de l'émulsion par détermination de la phase dispersée et de la phase dispersante (émulsion huile dans l'eau : H/E ou eau dans l'huile E/H).

b) Méthode

Il existe différents types d'essais pour cette détermination :

- Essais de rinçage : On étudie le comportement de l'émulsion mélangée à de l'eau ou à de l'huile. Par exemple une émulsion H/E s'éliminera par simple lavage à l'eau froide contrairement à une émulsion à phase continue huileuse.
- Test des colorants : Cet essai utilise le caractère lipophile ou hydrophile des colorants. On emploie classiquement l'érythrosine dans l'eau et le soudan III soluble dans les huiles.

Pour une émulsion H/E, une goutte de solution d'érythrosine se dissout dans la phase aqueuse donnant une coloration homogène de l'émulsion, par contre le rouge soudan III

se dissout dans la phase dispersée huileuse donnant une coloration hétérogène ne se dispersant pas.

Pour une émulsion E/H, les résultats sont inversés.

B. Essai d'homogénéité

a) Examen macroscopique

L'homogénéité est vérifiée par l'étalement de la crème en couche mince. On vérifie visuellement l'absence d'agrégats et la bonne répartition des poudres.

b) Examen microscopique

Il permet de confirmer la bonne dispersion et de vérifier la taille des particules lorsque celle-ci a une influence sur l'activité thérapeutique.

La crème est déposée en fine couche entre lame et lamelle puis observée au microscope muni d'un vernier gradué. Une observation d'ensemble au grossissement 40 est faite pour mettre en évidence l'homogénéité de la répartition des globules.

C. Détermination de la capacité d'étalement

La facilité avec laquelle les onguents peuvent s'étaler au niveau d'une surface donnée sous l'action d'une force déterminée (spreadability) dépend également de leur consistance. Elle peut s'apprécier à l'aide de l'extensomètre mis au point par POZO OJEDA et SUNE ARBUSSA (JAMINET et DENOEL, 1971) :

- **Principe** : il consiste à déterminer les surfaces occupées par un disque d'onguent de volume déterminé après une minute, sous l'action de la pression exercée sur une plaque de verre par des poids croissants ;
- **Méthode** : au centre d'une plaque de verre d'un diamètre compris entre 6 et 10 cm, gradué en millimètres à partir du rond central de 20 mm environ, on dispose à l'aide

d'un emporte-pièce analogue à ceux que l'on utilise dans la préparation des tablettes un disque d'onguent d'environ 20 mm de diamètre et 6 mm d'épaisseur.

Dans ce but, l'onguent est tassé au moyen d'une spatule dans l'espace vide de l'emporte-pièce avant d'être déposé au centre de la plaque.

On dispose ensuite sur l'ensemble une autre plaque de verre de même diamètre et d'un poids compris 25 g et 30 g, puis on mesure après une minute exactement le diamètre moyen du cercle occupé par l'onguent. La surface qu'on exprime en mm^2 est ensuite déterminée à l'aide de la formule suivante : $S = d^2 \times \pi / 4$ dans laquelle d représente le diamètre obtenu.

Les mesures sont répétées après avoir appliqué des poids croissants sur la plaque supérieure.

D. Détermination du pH

La méthode colorimétrique au papier pH a été utilisée.

E. Test de stabilité des formes réalisées

Ces tests ont pour objectif de suivre l'état du produit au cours du temps. L'état du produit peut s'évaluer au cours du temps dans son aspect morphologique (solidification, liquéfaction, sédimentation...), sa couleur, dégradation des principes actifs, son activité, sa toxicité...

Dans ce cas précis où le principe actif n'est pas isolé (donc dont on ne peut pas suivre l'état de dégradation au cours du temps en le dosant), seule l'évaluation organoleptique (toucher, odeur, aspect morphologique, couleur) et le suivi de l'activité au cours du temps ont été réalisés.

1. Evaluation organoleptique

- Odeur,
- toucher (précipités, onctuosité, cristallisation...),
- Aspect morphologique (liquéfaction, solidification, sédimentation...),
- Couleur (apparition ou changement de coloration).

2. Test physique : étalement sur la peau

3. Stabilité d'activité Le protocole d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été utilisé et les tests réalisés à des intervalles de temps de 1 mois pendant 6 mois.

V.2.1.2 Les gels

Les tests d'homogénéité, de rinçage à l'eau, de pH ont été réalisés comme précédemment avec les crèmes. Il en est de même pour le test de stabilité (évaluation organoleptique ; étalement sur la peau et le test de stabilité d'activité)

V.3. Test de tolérance cutanée aux excipients et aux différentes formes réalisées

Les manifestations d'intolérance de la peau vis-à-vis des substances chimiques et notamment vis-à-vis des excipients, des adjuvants et des substances médicamenteuses qui interviennent dans la fabrication des préparations dermatologiques et cosmétiques sont le plus souvent du type eczémateux.

Un simple érythème, une desquamation et surtout un prurit qui, comme dans d'autres types de dermatites allergiques est susceptible de se manifester au contact des produits dermatologiques et cosmétiques.

Les manifestations d'intolérance de la peau sont soit localisées aux régions traitées, soit extensives et généralisées.

Le test utilisé pour évaluer les manifestations d'intolérance de la peau est le test de détermination de l'irritation cutanée primaire chez le lapin.

A. Principe

La substance à étudier sur 6 lapins est appliquée en patch test.

Le dos ou les flancs de chaque animal est divisé en deux zones, après élimination des poils. Sur l'une des zones, le produit est appliqué directement, sur l'autre zone, il est appliqué après scarification. Le produit est maintenu en contact par un pansement pendant 24 heures. Des lectures sont faites une heure après enlèvement du pansement et deux jours après, soit 24 heures et 72 heures après l'application. Les lectures consistent à apprécier l'érythème et l'œdème selon une échelle numérique notée de 0 à 4.

La moyenne des notes obtenues constitue l'indice d'irritation primaire cutanée, noté I.P.

Celui-ci permet de classer la substance de «non irritante » à «sévérement irritante »

B. Protocole (VINCENT in PRADEAU, 1992)

1. Préparation de la peau

La veille de l'application, tondre les flancs des 6 lapins. Vérifier l'état de la peau afin de ne retenir que les animaux présentant une peau saine.

Un flanc servira de côté témoin, l'autre flanc côté essai est scarifié par 3 incisions parallèles de 3 cm de long espacées d'environ 0.5 cm. Si cela est la méthode officielle, Vincent in PRADEAU (1992) préconise une scarification de chaque côté car parfois l'érythème observé peut simplement être dû à la scarification. Quoiqu'il en soit, les scarifications doivent être réalisées sans atteindre le derme c'est-à-dire sans saignement.

2. Application du produit

Le produit à tester (2 x 500 mg) est déposé sur deux carrés de gaze stérile. Un carré est appliqué sur la partie non incisée du flanc, le deuxième carré sur la partie incisée du flanc de l'animal. Le pansement occlusif est maintenu par une bande de gaze stérile et du sparadrap pendant 24 heures. Les crèmes ou les gels sont appliqués sur le flanc gauche, l'excipient sur le flanc droit.

3. Evaluation de l'irritation cutanée primaire

- Observations : les carrés de gaze sont enlevés 24 heures après l'application. On évalue les lésions une heure après selon l'échelle numérique ci-dessous. Une deuxième lecture est faite 72 heures après l'application. Les observations sont faites sur les parties incisées et non incisées ;
- Echelle numérique.

a) Erythème

* Pas d'érythème	0
* Léger érythème (à peine visible)	1
* Erythème bien visible	2
* Erythème modéré à important	3
* Erythème grave (rouge pourpre) avec formation de légers escarres (lésions profondes)	4

b) Œdème

* Pas d'œdème	0
* Très léger œdème (à peine visible)	1
* Léger œdème (contour bien défini), gonflement apparent	2
* Œdème moyen (épaisseur environ 1 mm)	3
* Œdème grave (épaisseur supérieure à 1 mm et surface supérieure à celle du carré)	4

4 . Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée (IP)

Elle se fait par l'addition des chiffres obtenus pour l'érythème et pour l'œdème après 24 heures et 72 heures et pour chacune des zones.

Les chiffres ainsi obtenus sont additionnés. Ce total est divisé par 16. La moyenne ainsi obtenue représente l'indice d'irritation primaire cutanée (IP). Selon la valeur de l'IP, la substance est classée de «non irritante » à «sévèrement irritante ».

VI. METHODES D'ANALYSE DES RESULTATS

VI.1. Phytochimie

L'interprétation des résultats de chimie est basée sur les réactions caractéristiques des principaux groupes chimiques, les Rf des différents spots d'une part, mais également sur les tracés de différents spectres que l'on compare à ceux des témoins ou des résultats de la littérature. (spectres RMN du proton, spectre de masse etc...).

VI.2. Galénique

La consistance des formes doit être molle, homogène, ne doit pas contenir de grumeaux. Les formes doivent s'étaler aisement en adhérant à la peau et procurant une sensation de fraîcheur. Elles doivent conserver leur aspect et leur activité pharmacologique au cours du temps. Leur pH doit être voisin de la neutralité entre 5 et 7.

VI.3. Pharmacologie

VI.3.1. Test anti-inflammatoire

L'analyse des résultats est fondée sur des traitements statistiques en utilisant le test d'ANOVA (Analyse des variances), le test de student et le test du parallélisme de droite de régression suivant le programme informatique Tallarida software (1987). Ce programme permet le calcul des doses-effets inhibiteurs 50% (D.E.50) de l'œdème avec leur intervalle de confiance pour un risque d'erreur donné. Il permet le calcul du rapport d'activité entre deux produits d'activité similaire.

VI.3.2. Test sur la température corporelle.

L'évolution des températures corporelles au cours du temps des animaux traités par l'extrait de plante est comparée à celle du lot témoin qui ne reçoit que de l'eau distillée. L'évaluation de la baisse de la température en fonction de la dose administrée est également faite pour rendre compte de la relation dose-effet.

VI.4. Toxicologie

VI.4.1. Test de la toxicité générale aiguë

L'interprétation des résultats de la toxicité générale aiguë est basée sur la détermination de la valeur de la DL50. Ainsi selon les valeurs de cette DL50 (HODGE et STERNER, 1943), il est possible de classer les produits en :

- produits extrêmement toxiques ceux dont la DL50 < 1 mg/kg
- produits très toxiques ceux dont la DL50 varie de 1 à 50 mg/kg
- produits moyennement toxiques ceux dont la DL50 varie de 50 à 500 mg/kg
- produits faiblement toxiques ceux dont la DL50 varie de 500 à 5000 mg/kg
- produits pratiquement non toxiques ceux dont la DL50 varie de 5 à 15 g/kg
- produits relativement sans danger ceux dont la DL50 est supérieure à 15 g/kg

VI.4.2. Test de tolérance de la peau

La tolérance de la peau vis-à-vis des formes topiques notamment les crèmes et les gels est évaluée par la valeur de l'indice d'irritation primaire cutanée (I.P.). La valeur de cet indice (I.P.) permet de classer les substances ou les produits en :

- non irritants pour I.P. inférieur à 0.5,
- légèrement irritants pour I.P. compris entre 0.5 et 2,
- moyennement irritants pour I.P. compris entre 2 et 5,
- sévèrement irritants pour I.P. compris entre 5 et 8.

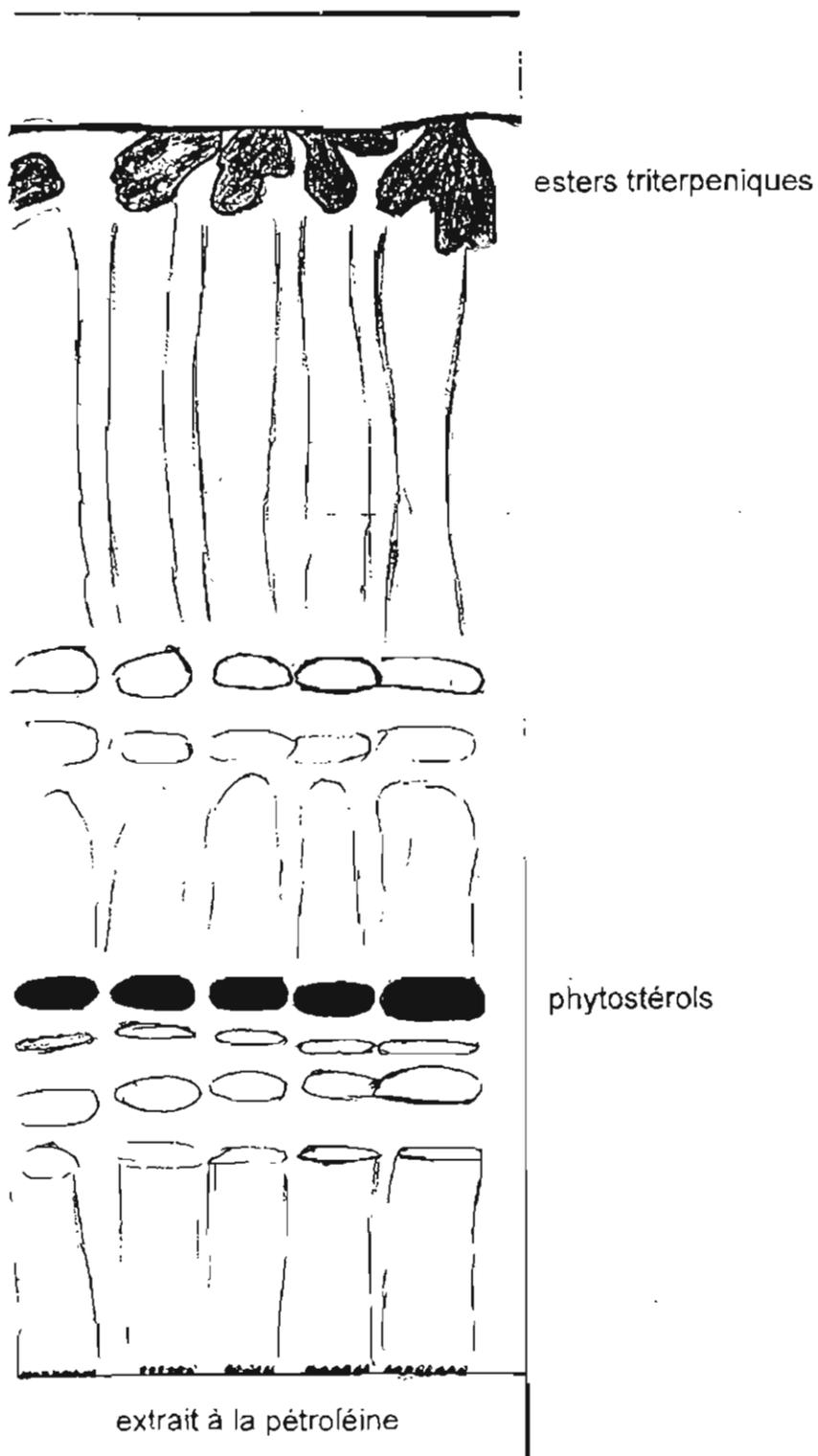
CHAPITRE II :
RESULTATS DE L'ETUDE

A. ETUDES PHYTOCHIMIQUES

I. PRINCIPES CHIMIQUES

Cf. (LOMPO, 1993)

II- CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE DE L'EXTRAIT A LA PETROLEINE



La fraction B1, chromatographiée sur couche mince de gel de silice avec le système (cyclohexane 4 ; Toluène 4 ; Ether 4) comme phase mobile, présente un spot majoritaire (Rf : 0.3), qui donne une réaction positive à la vanilline sulfurique (spot bleu). La purification de cette substance majoritaire fournit une poudre blanche soluble dans le chloroforme. Le comportement chromatographique de cette substance sur gel de silice est similaire à celui du β -sitostérol et du stigmastérol (phytostérols banaux habituellement rencontrés chez les végétaux supérieurs) ; ils ont le même Rf (0.3) en utilisant la même phase mobile.

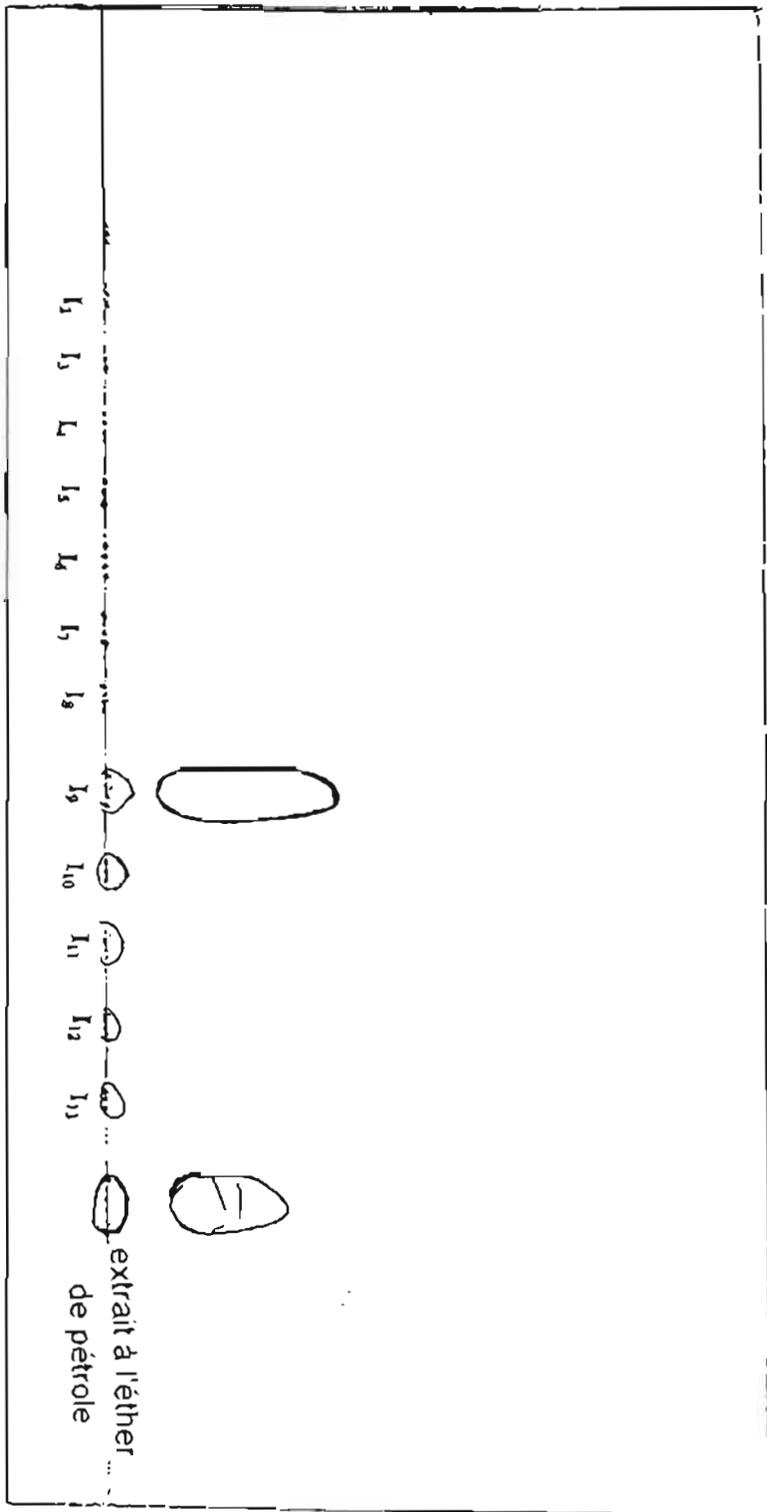


Fig. 3 : Plaque C.C.M.⁴

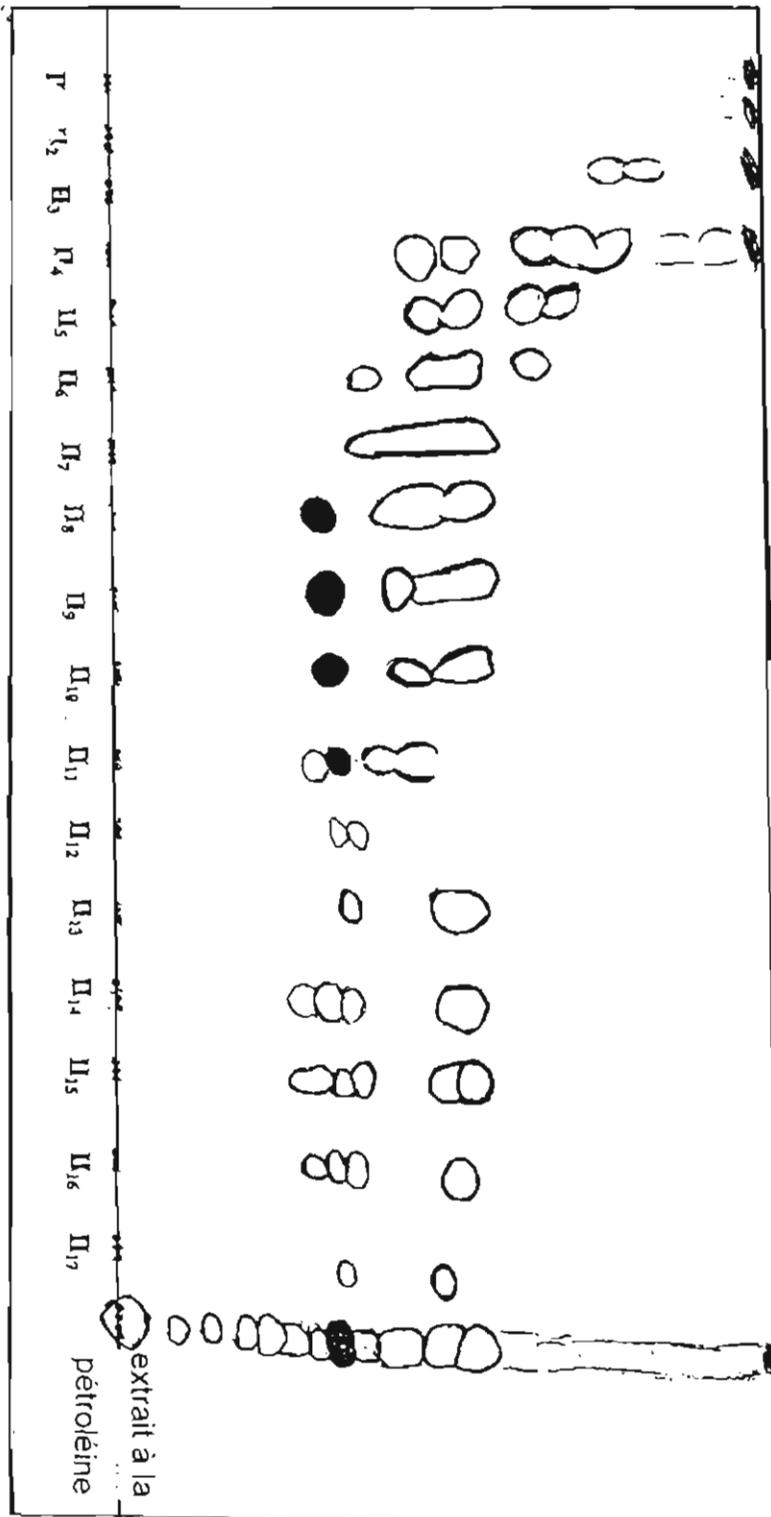


Fig. 4 : Plaque C.C.M.₂

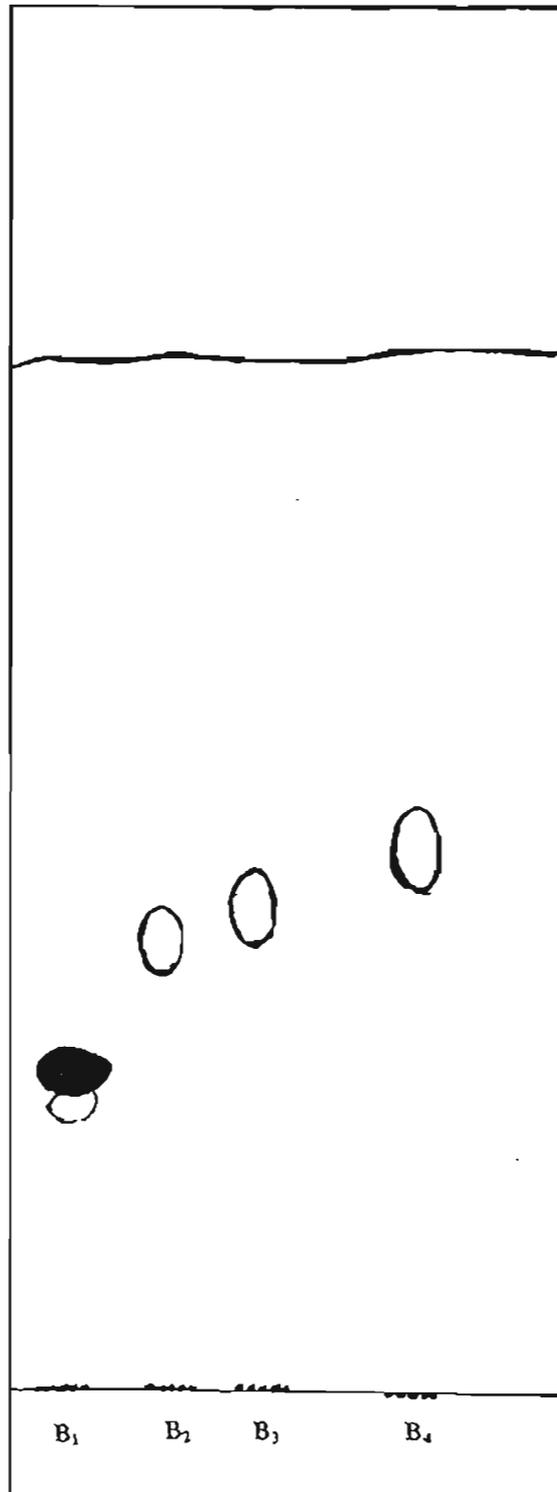


Fig. 5 : Plaque C.C.M.₃

IV- SPECTROMETRIE

IV-1- Identifications des phytostérols

Le spectre de RMN ^1H de la fraction B1 présente un proton vinylique caractéristique d'une insaturation entre les carbones 5 et 6 des phytostérols, en l'occurrence du β sitostérol. Ce spectre comporte également deux doublets, l'un centré à 5.14 ppm et l'autre centré à 5.04 ppm. Ces deux protons sont relativement caractéristiques du stigmastérol.

Le spectre du dérivé acétylé montre un acétate à 2.01 ppm et un déblindage du proton en position 3 qui résonne désormais à 4.6 p.p.m.

Le spectre RMN ^{13}C renforce l'hypothèse de la présence du stigmastérol et β sitostérol avec les signaux de 4 méthyles vinyliques résonnant respectivement à 121.7 et 140.9 ppm pour les carbones 6 et 5 et, à 129.4 ppm et 138.3 ppm pour les carbones 23 et 22 du stigmastérol (SADIKUN et Coll., 1996 ; in NIKIEMA, 1997).

Le spectre de masse renferme les fragments caractéristiques du stigmastérol et du Béta-sitostérol.

L'analyse de la fraction B1 par chromatographie gazeuse, indique la présence du Béta- sitostérol, du stigmastérol et du campesterol confirmant des études de ADESOGAN (1983) qui donne les proportions suivantes : β -sitostérol 73.50 % ; stigmastérol 6.04 % et campesterol 20.46 % ; et les travaux de OLMO et Coll. (1996).

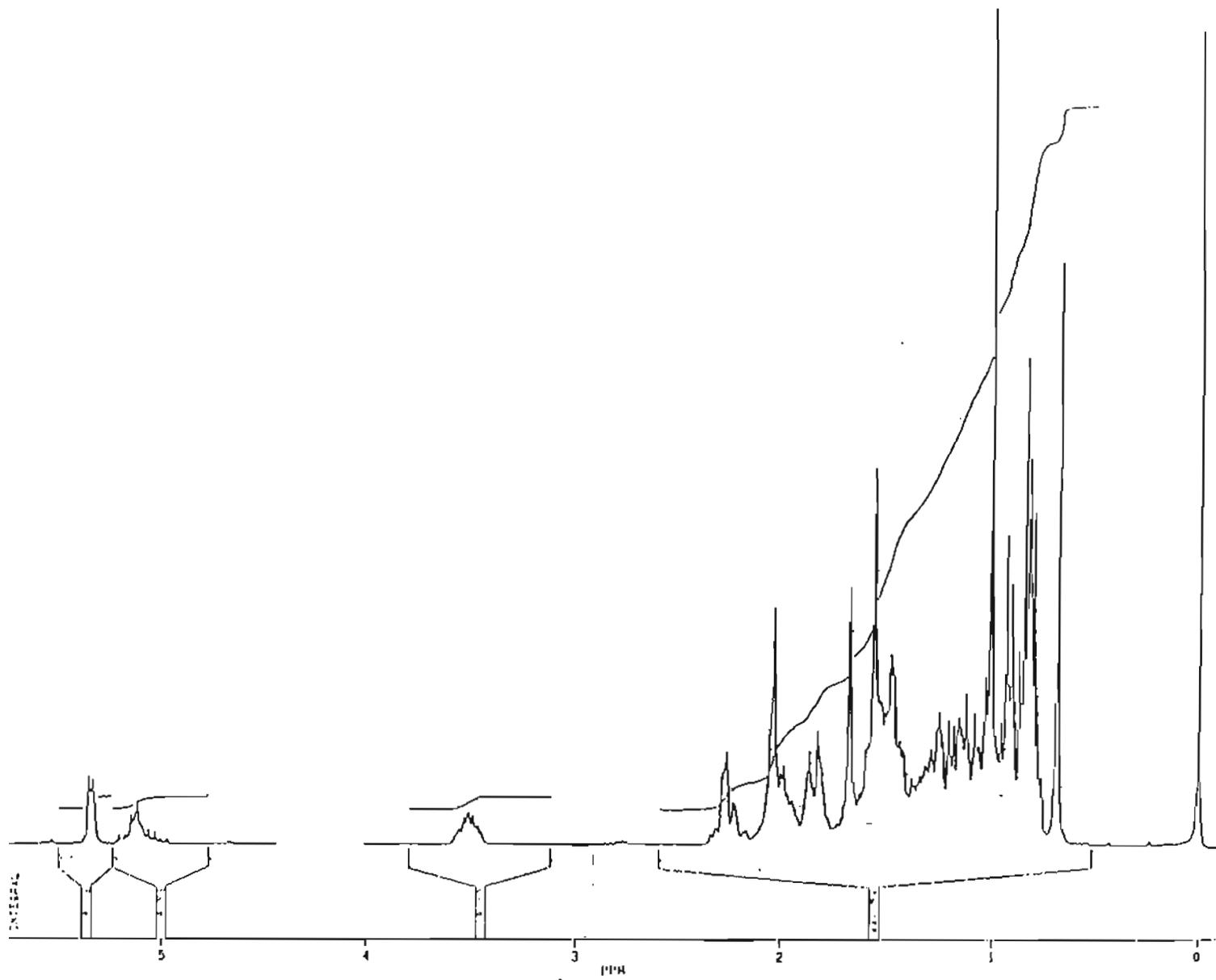


Fig. 6 : Fraction B1 : Spectre de RMN ¹H (CDCl₃)

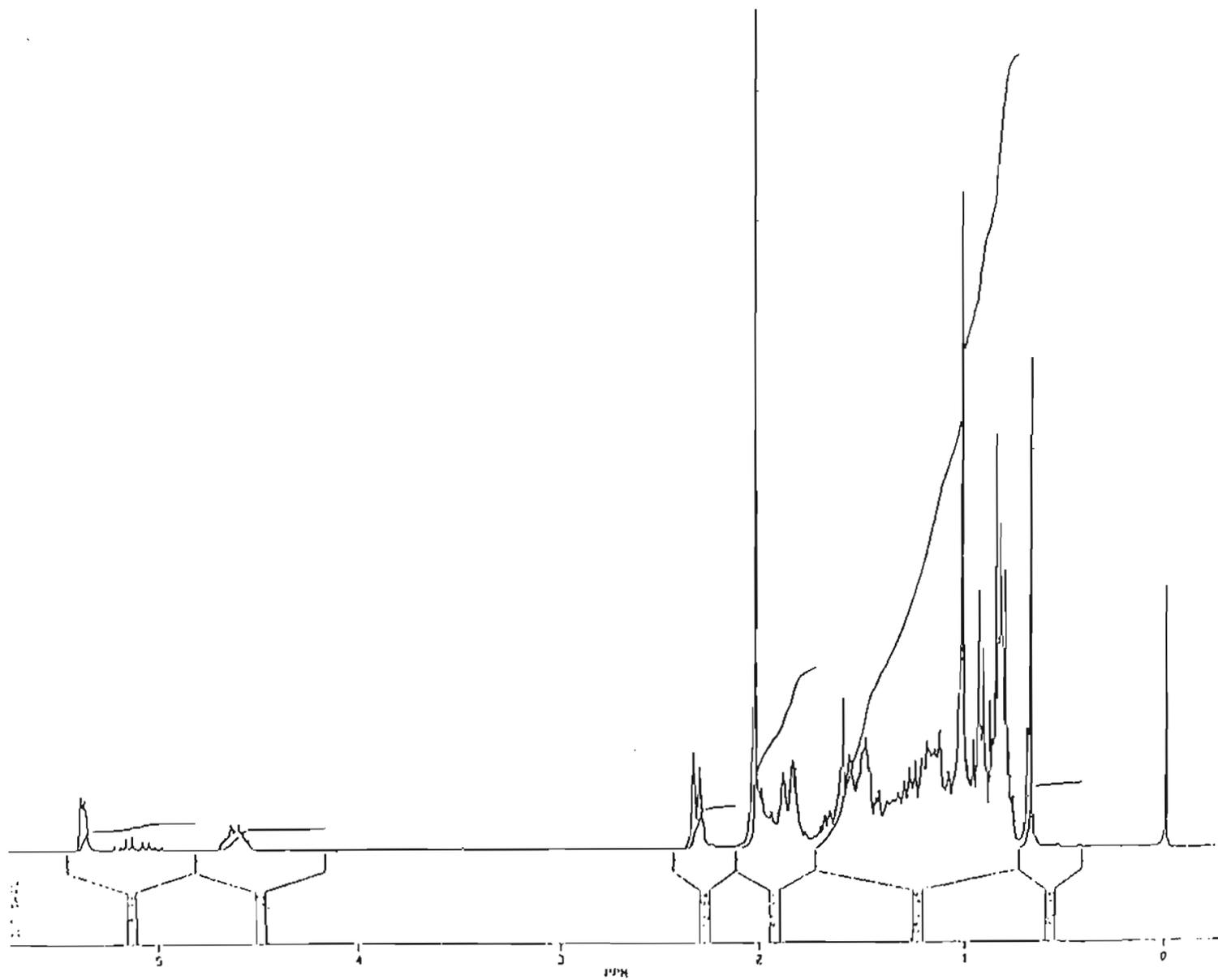
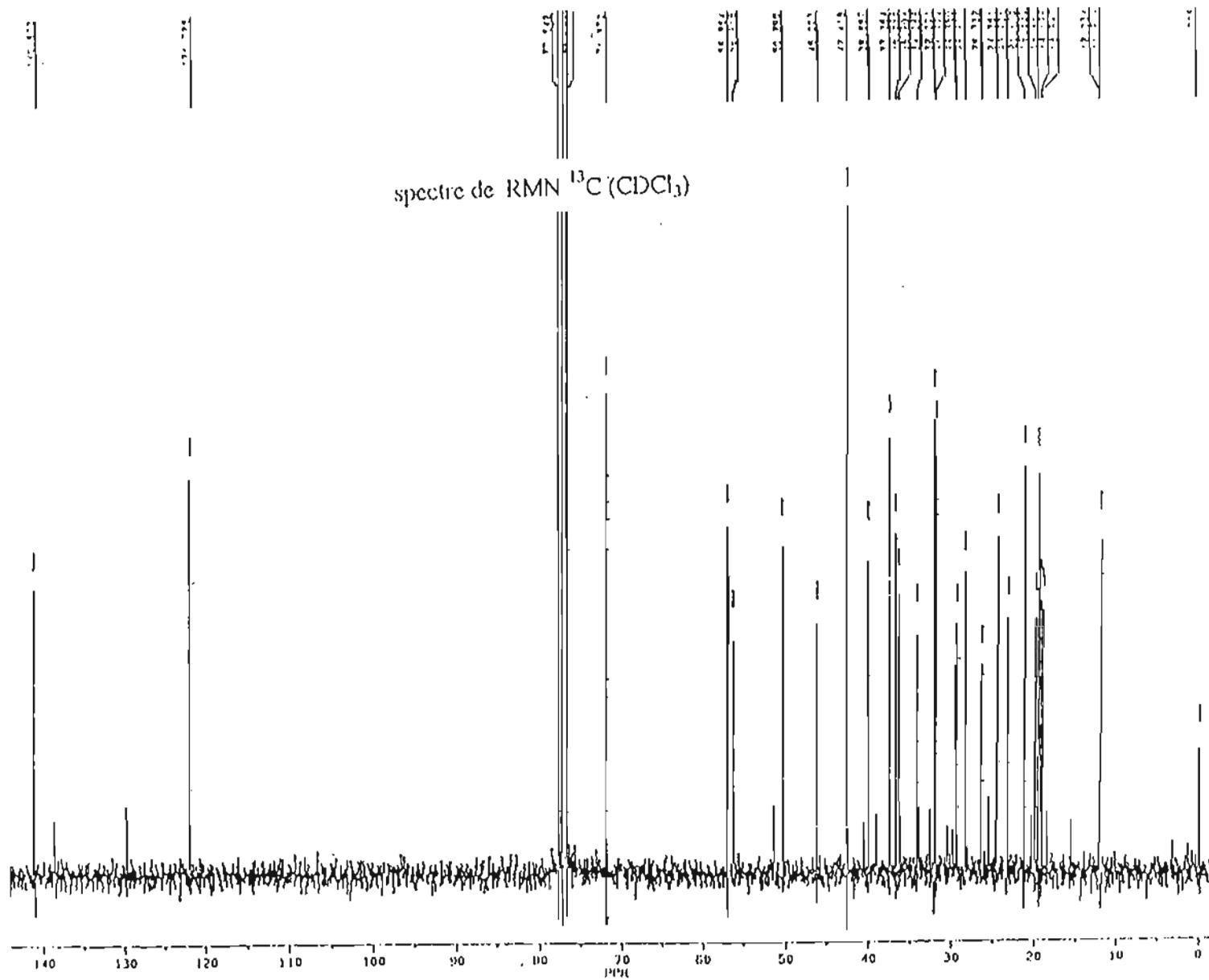


Fig. 7 : Fraction B1 Acétylée : Spectre de RMN ^1H (CDCl_3)



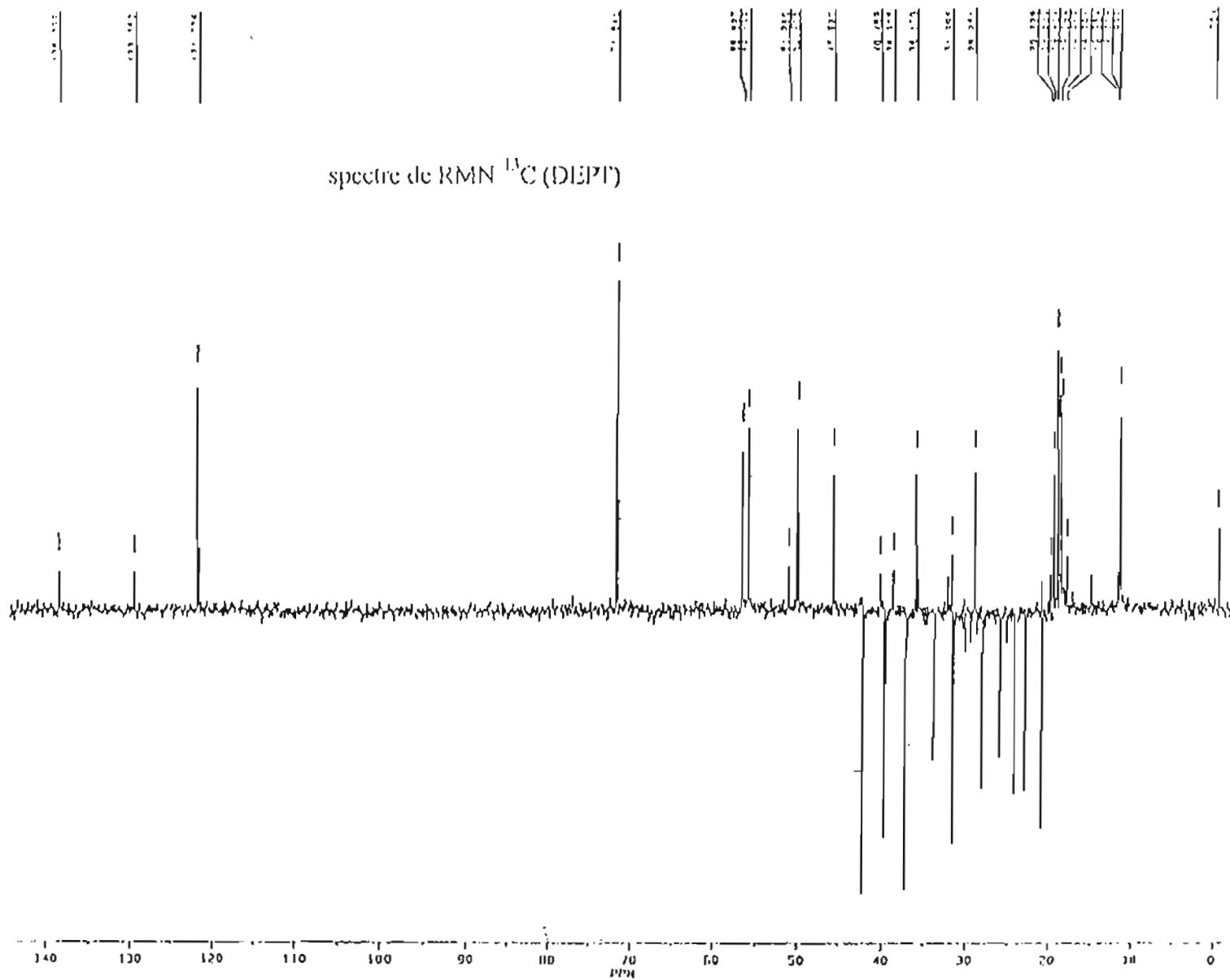
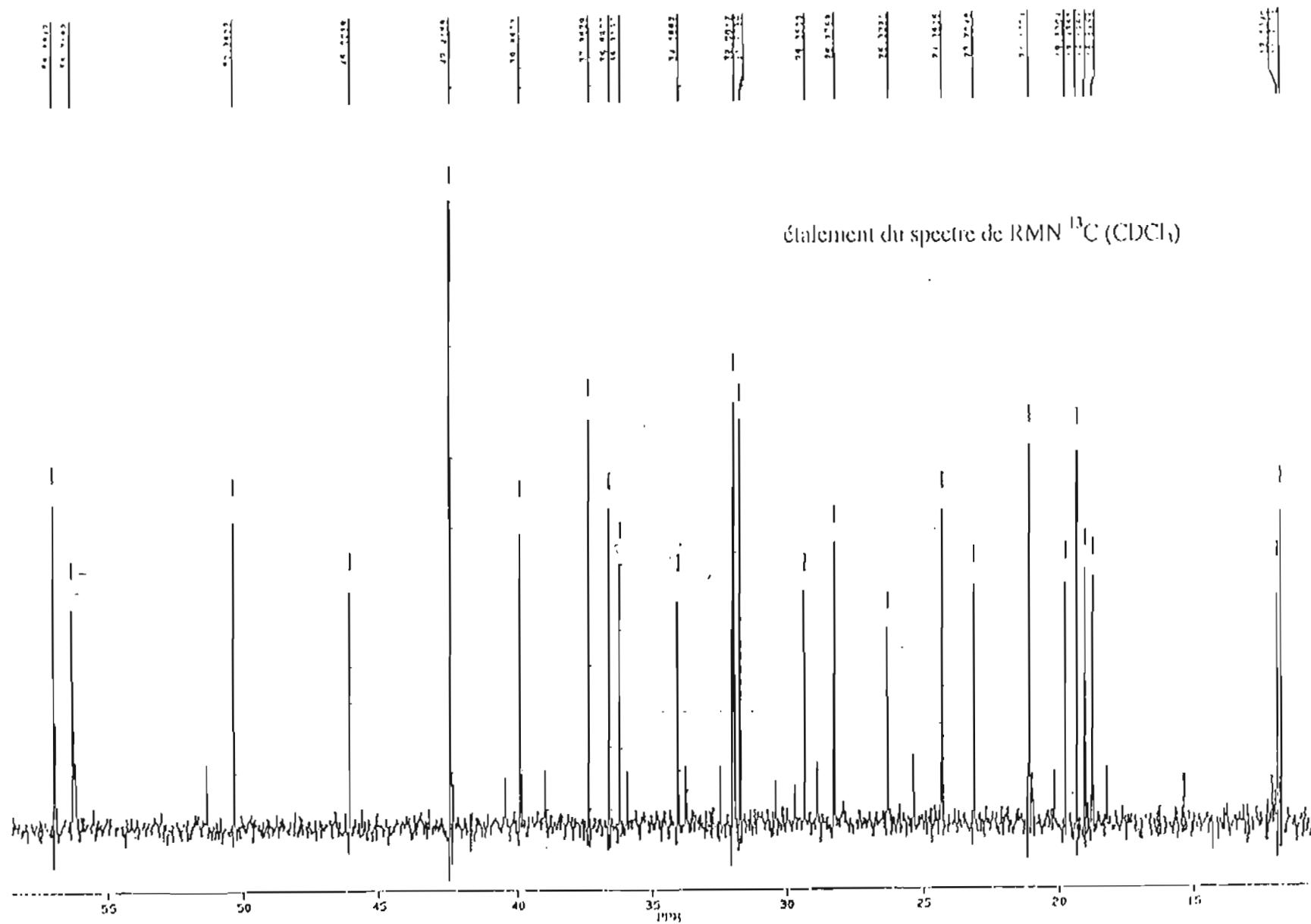


Fig. 9 : Fraction B1 : Spectre de RMN ^{13}C (DEPT)



spectre de masse (IE)

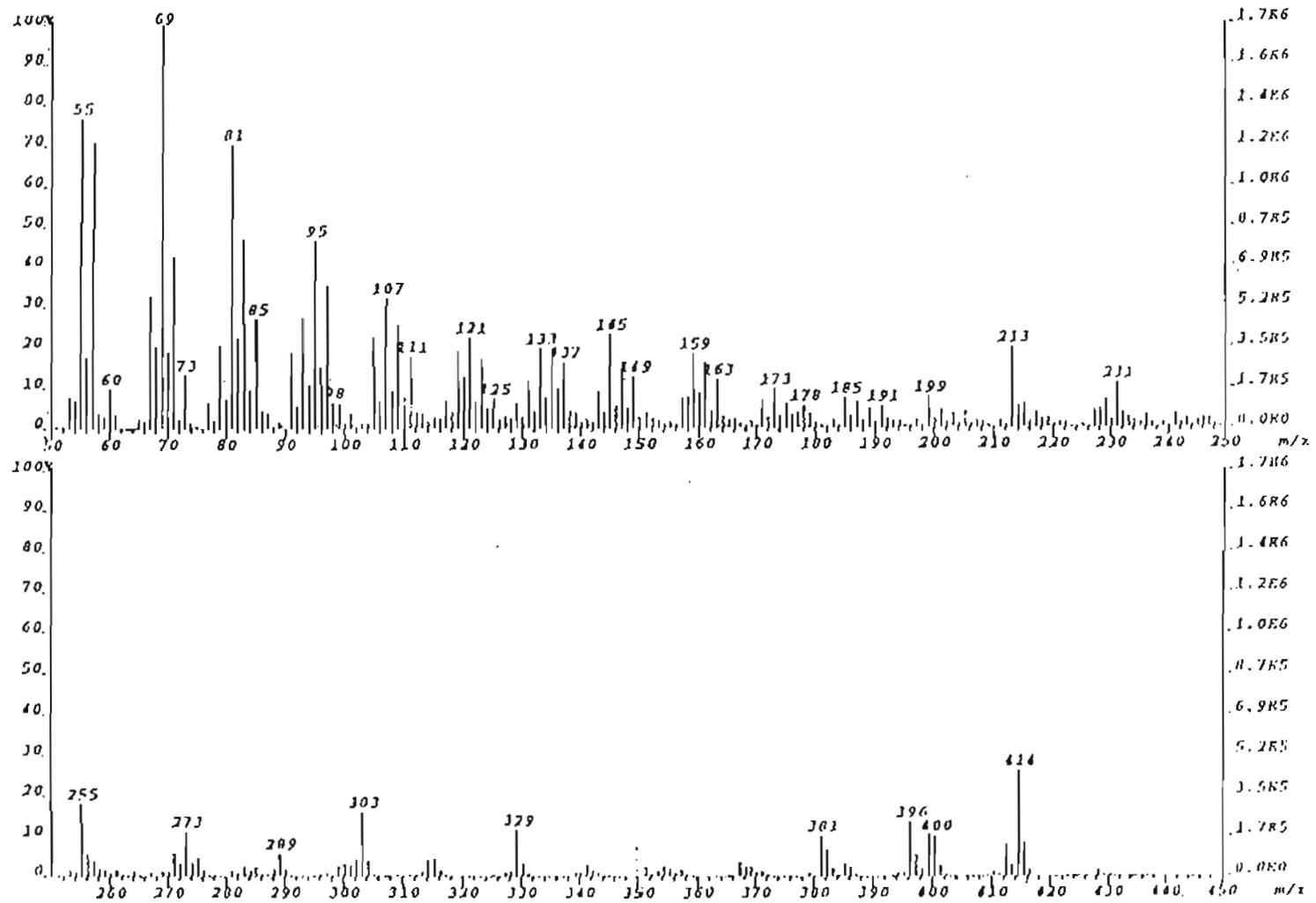


Fig. 11 : Fraction B1 : Spectre de masse (IE)

D-7000 HPLC System Manager Report

System: Appareil 7

Processing Method: Ser.rep.:Stérols & alc.sup.

Application:

Series: 0058

Vial Number: 1

Sample Name: Stérol

Vial Type: STD1

Volume: 1,0 ul

Injection from this vial: 1

Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1

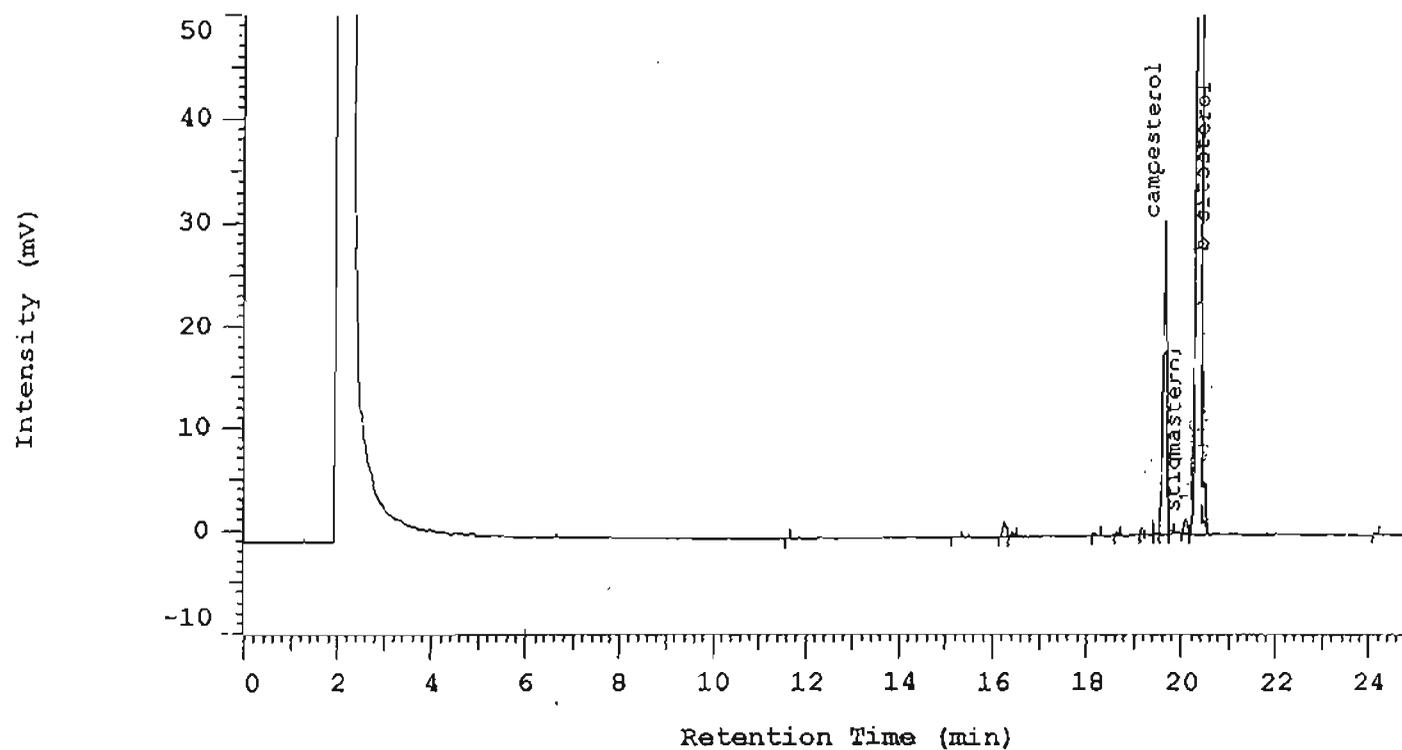


Fig. 12 : Spectres HPLC de la fraction B₁

Peak Quantitation: AREA
Sample Amount: 1,000

Calculation Method: EXT-STD
Scale Factor 1: 1,000

No.	RT	Name	Area	BC
1	11,61			BB
2	15,23			BB
3	16,24			BB
4	16,42			BB
5	18,14			BB
6	18,60			BB
7	19,16			BV
8	19,28	campestérol	113903	VB
9	19,41			TBB
10	19,61			BB
11	19,76	stigmastérol	1180	BB
12	20,07			BB
13	20,32	b-sitostérol	439948	BV
14	20,44			TBB
15	24,11			BB

Peak rejection level: 500

IV-2- Caractérisation des esters triterpéniques

La révélation à la vanilline après développement sur plaque de chromatographie sur couche mince, par la phase mobile composée du mélange : cyclohexane : 4 ; Toluène : 4 ; Ether : 4 ; donne des spots violets situés au niveau du front de chromatogramme. (cf. plaque CCM N°1)

B. RESULTATS GALENIQUES

I. FORMES GALENIQUES

I.1. Crèmes

Trois crèmes à base d'extraits d'écorces de khaya senegalensis A. Juss. ont été réalisées.

I.1.1. Crème de l'extrait aqueux lyophilisé à 1%

* Formule définitive

- Extrait aqueux lyophilisé	1 g
- Cire blanche	1 g
- Alcool cétylique (lanette 16)	9 g
- Propyléneglycol	10 g
- Emulgade 1000 NI	10 g
- Eau conservante QSP	100 g

I.1.2. Crème de l'extrait à la pétroléine à 1%

* Formule définitive

- Extrait à la pétroléine	1 g
- Cire blanche	1 g
- Alcool cétylique (lanette 16)	9 g
- Propyléneglycol	10 g
- Emulgade 1000 NI	10 g
- Eau conservante QSP	100 g

I.1.3. Crème de l'extrait chloroformique à 1%

* Formule définitive

- Extrait chloroformique	1 g
- Cire blanche	1 g
- Alcool cétylique (lanette 16)	9 g
- Propyléneglycol	10 g
- Emulgade 1000 NI	10 g
- Eau conservante QSP	100 g

Les trois crèmes à base d'extrait de *khaya senegalensis* A. Juss se réalisent assez aisément à la paillasse et ne nécessitent pas d'artifice particulier.

I.2. Les gels

Six gels à base d'extraits de *khaya senegalensis* A. Juss et un gel d'indométacine à 1% ont été réalisés.

I.2.1. Gel aux carbopols de l'extrait aqueux à 1%

* Formule définitive du gel n°1 (sans PEG)

- Extrait aqueux lyophilisé	1 g
- Carbopol 940	1.5 g
- Propyléneglycol	15 g
- E.D.T.A.	50 mg
- Triéthanolamine	5 g
- Eau conservante QSP	100 g

* Formule définitive du gel n°2 (avec Tween 80)

- Extrait aqueux	1 g
- Carbopol 940	1.5 g
- Propyléneglycol	15 g
- Tween 80	1 g
- E.D.T.A.	50 mg

- Triéthanolamine	5 g
- Eau conservante QSP	100 g

* Formule définitive du gel n°3 (avec PEG)

- Extrait aqueux lyophilisé	1 g
- P.E.G. 400	40 g
- Carbogel 4% QSP	100 g

I.2.2. Gel à l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) de l'extrait aqueux à 1%

* Formule définitive

- Extrait aqueux lyophilisé	1 g
- HPMC (METHOCEL K 4 M Premium E.P)	3 g
- Propylèneglycol	15 g
- Eau conservante QSP	100 g

I.2.3. Gel aux carbopols de l'extrait chloroformique à 1%

* Formule définitiv

- Extrait chloroformique	1 g
- Carbopol 940	2 g
- Propylèneglycol	15 g
- E.D.T.A. sodique	50 mg
- Triéthanolamine	2.5 g
- Eau conservante QSP	100 g

I.2.4. Gel aux carbopols de l'extrait à la pétroléine à 1%

* Formule définitive

- Extrait à la pétroléine	1 g
- Carbopol 940	2 g
- Propylèneglycol	15 g
- E.D.T.A. sodique	50 mg
- Triéthanolamine	2.5 g
- Eau conservante QSP	100 g

I.2.5. Gel aux carbopols de l'indométacine à 1%

*** Formule définitive**

- Indométacine	1 g
- Carbopol 940	2 g
- Propyléneglycol	15 g
- E.D.T.A.	50 mg
- Triéthanolamine	2.5 g
- Eau conservante QSP	100 g

Tous ces gels se réalisent assez aisément à la paillasse à l'aide d'un dispositif ordinaire d'officine (mortier et pilon).

II. CONTROLE DES FORMES GALENIQUES

II.1. Tests d'évaluation des crèmes

II.1.1. Détermination du type d'émulsion

Les tests de rinçage et des colorants ont confirmé la nature (H/E : huile dans eau) des différentes crèmes réalisées. Elles sont toutes lavables à l'eau et donc sont dites crèmes aqueuses.

II.1.2. Essai d'homogénéité

a- Examen macroscopique

L'examen macroscopique montre une homogénéité de couleur pour chaque crème d'une part et l'étalement sur la peau met en évidence l'absence d'agrégats et de grumeaux.

b- Examen microscopique

L'examen microscopique met en évidence l'homogénéité de la répartition des globules.

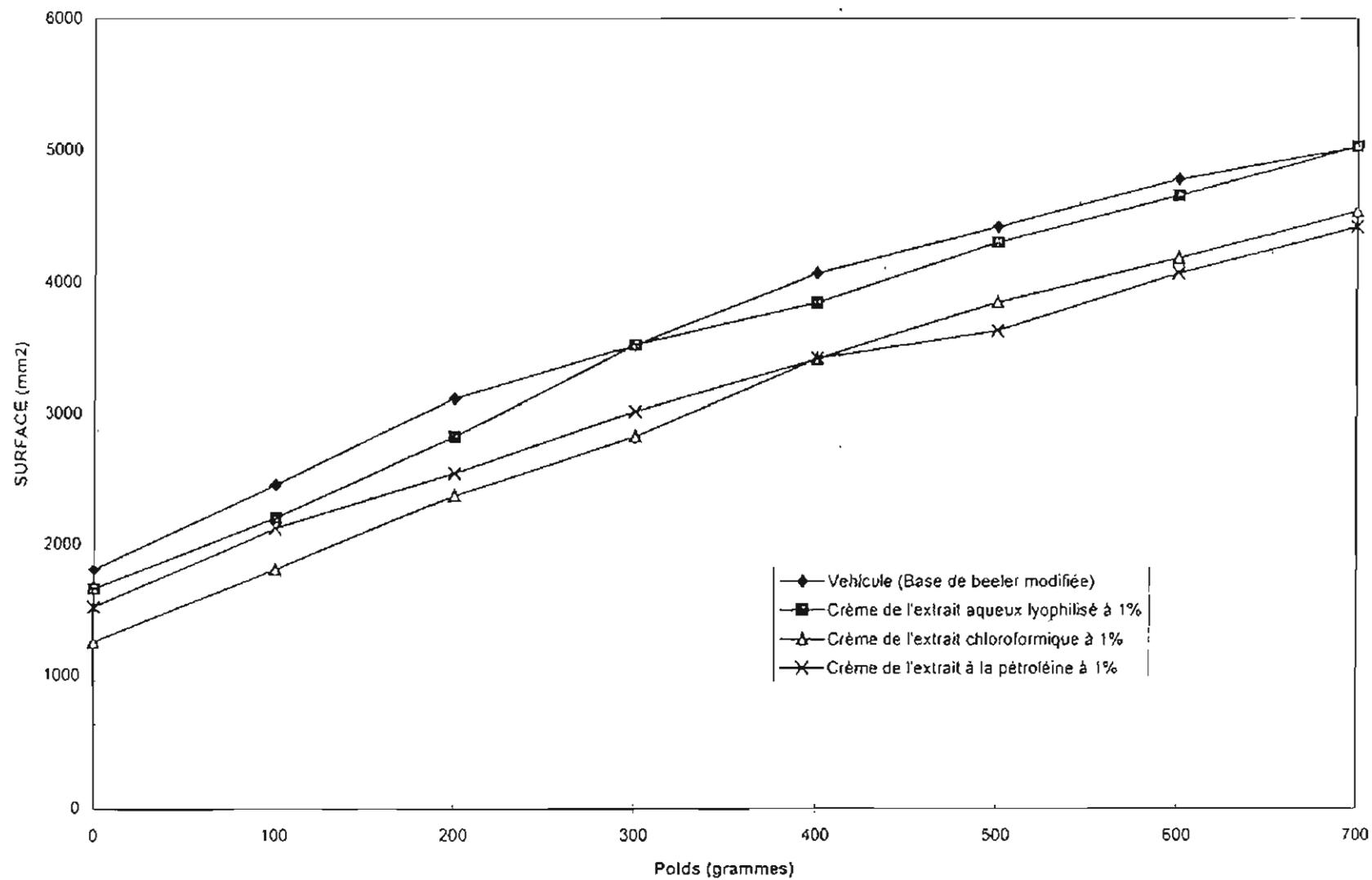
II.1.3. Test de la capacité d'étalement

L'étude de la capacité d'étalement des crèmes à l'aide de l'extensomètre de POZO nous donne les résultats suivants :

Poids appliqués	Base de BEELER modifiée (Véhicule)	Crème extrait aqueux lyophilisé à 1%	Crème extrait à la pétroléine à 1%	Crème extrait chloroformique à 1%
Plaque + 0g	1808.6 mm ²	1551.1 mm ²	1519.8 mm ²	1256 mm ²
Plaque + 100g	2461.8 mm ²	2205.1 mm ²	2122.6 mm ²	1808.6 mm ²
Plaque + 200g	3115.7 mm ²	2826 mm ²	2550.5 mm ²	2374.6 mm ²
Plaque + 300g	3523.9 mm ²	3523.8 mm ²	3017.5 mm ²	2826 mm ²
Plaque + 400g	4069.4 mm ²	3845.5 mm ²	3419.5 mm ²	3419.5 mm ²
Plaque + 500g	4415.6 mm ²	4298.7 mm ²	3629.8 mm ²	3846.5 mm ²
Plaque + 600g	4775.9 mm ²	4654.7 mm ²	4069.4 mm ²	4183.3 mm ²
Plaque + 700g	5024 mm ²	5024 mm ²	4415.6 mm ²	4534.2 mm ²

Tableau II : Surface d'étalement des crèmes et de leur excipient en fonction du poids à 23°C.

Fig. 13 : COURBES D'ETALEMENT DES CREMES FORMULEES A L'AIDE D'UN EXTENSOMETRE



Les courbes d'étalement des crèmes (fig. 13) montrent qu'elles ont la même allure que celle de la base de référence (base de beeler modifiée) qui en est le véhicule. Les différents extraits ne modifient donc pas les caractères physiques d'étalement du véhicule choisi.

II.1.4. PH des crèmes

La mesure des pH au papier pH donne pour toutes les crèmes une valeur comprise entre 5 et 6 donc voisin de celui de la peau.

II.1.5. Test de stabilité des crèmes

A. Tests organoleptiques

Les crèmes, au cours du temps et à la température ordinaire n'ont subi aucune modification de couleur, ni d'odeur ni de texture.

B. Tests physiques

Les crèmes ont également gardé la même consistance et la même adhérence à la peau au cours du temps dans les mêmes conditions que précédemment.

C. Suivi de l'activité anti-inflammatoire des crèmes au cours du temps à la température ordinaire

Les résultats obtenus sont représentés par le tableau suivant :

	Crème de l'extrait aqueux lyophilisé à 1%	Crème de l'extrait à la pétroléine à 1%	Crème de l'extrait chloroformique à 1%
Mois 0	19.3 ± 6.4 %	21.4 ± 12.1 %	22.8 ± 6.9 %
Mois 2	19.9 ± 5.3 %	23.9 ± 5 %	17.7 ± 7.4 %
Mois 4	22.6 ± 4.2 %	-	-
Mois 6	23.9 ± 8.2 %	22.7 ± 8.1 %	20.5 ± 6.1 %

Tableau III : Evolution de l'activité anti-inflammatoire des crèmes au cours du temps.

On note une quasi-stabilité d'activité des crèmes au cours du temps.

II.2. Tests d'évaluation des gels

II.2.1. Tests d'homogénéité

Tous les gels réalisés sont homogènes par étalement sur la peau et au microscope sauf le gel à l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) de l'extrait aqueux lyophilisé à 1% où on note des particules en suspension.

II.2.2. Test de rinçage à l'eau froide

Tous les gels fabriqués sont facilement rinçables à l'eau froide. Ce sont des hydrogels.

II.2.3. Etalement à la peau

Les gels fabriqués s'étalent facilement sur la peau avec une sensation de fraîcheur sans agrégats de particules sauf le gel au HPMC.

II.2.4. PH des gels

L'évaluation du pH des gels au papier pH montre que les valeurs sont comprises entre 6 et 7 (voisins de la neutralité).

II.2.5. Tests de stabilité des gels

A. Tests organoleptiques

Le gel aux carbopols de l'extrait aqueux lyophilisé à 1% sans P.E.G. s'est révélé instable au bout d'une semaine (changement de coloration et modification de texture)

Le gel aux carbopols de l'extrait aqueux lyophilisé à 1% avec le tween 80 s'est également révélé instable. Cette instabilité (modification de coloration) est apparue plus tardivement (environ 1 mois) avec un léger épaissement du gel.

Le gel au H.P.M.C. a présenté dès la formulation des suspensions et par la suite 2 à 3 mois après un dépôt au fond du pot.

Ces trois gels ont alors été exclus comme ne présentant pas l'homogénéité et la stabilité requises. Les autres gels : Gel aux carbopols de l'extrait aqueux lyophilisé au P.E.G., les gels aux carbopols des extraits à la pétroléine, au chloroforme, et le gel à l'indométacine se sont révélés stables du point de vue organoleptique.

B. Test physique

Les gels ont gardé la même consistance et la même adhérence et étalement sur la peau. Il n'apparaît aucun agrégat ni de particule visible après étalement.

C. Suivi de l'activité anti-inflammatoire des gels au cours du temps à la Température ordinaire

	Gel de l'extrait aqueux lyophilisé à 1 % + PEG	Gel de l'extrait à la pétroléine à 1 %	Gel de l'extrait chloroformique à 1 %	Gel Indométacine à 1 %
Mois 0	30.4 ± 8 %	20.4 ± 12.8 %	24.8 ± 11.6 %	24.7 ± 9.1%
Mois 1	-	-	-	-
Mois 2	27.4 ± 8.5 %	21.3 ± 8.2 %	23.4 ± 8.8%	24.9 ± 6.2%
Mois 3	-	-	-	-
Mois 4	27.4 ± 9.1%	-	-	-

Tableau IV : Evolution de l'activité anti-inflammatoire des gels au cours du temps et à la température ordinaire

Une quasi-stabilité d'action anti-inflammatoire des gels est observée tout comme dans les crèmes quoique le temps d'observation mérite d'être plus prolongé.

C – RESULTATS PHARMACOLOGIQUES

I. ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

I.I. ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DES DIFFERENTS EXTRAITS VERSUS INDOMETACINE

I.I.1. Les extraits aqueux

I.I.1.1. Extrait aqueux après épuisements successifs

A - Lot contrôle

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	31	0.31	5	13.4	26.5	13.1
2	29.6	0.30	5	12.5	23.9	11.4
3	31	0.31	5	13.8	26	12.2
4	30	0.30	5	11.7	23.5	11.8
5	31.5	0.32	5	12.8	23.5	10.7
6	30	0.30	5	12.4	22.9	10.5
Moyenne σ	30.52 ± 0.68					DM : 11.62 ± 0.89

Tableau V : lot contrôle du test A.I. de l'extrait aqueux après épuisements successifs

B. Lot test : Extrait aqueux après épuisements successifs à la Pétroléine, au chloroforme puis au méthanol (dose : 250 µg/oreille)

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	29	0.29	5	12.2	23.6	11.4
2	31.5	0.32	5	12	29.9	10.9
3	30.5	0.31	5	13.8	24.1	10.3
4	28	0.28	5	12.1	23.2	11.1
5	29	0.30	5	12.6	22	9.4
6	31.5	0.32	5	13.1	22	8.9
Moyenne σ	29.94 ± 1.18					DM : 10.33 ± 0.91

Tableau VI : lot test de l'effet A.I de l'extrait aqueux après épuisements successifs.

$$\text{Pourcentage d'inhibition de l'œdème} = \frac{11.62 - 10.33}{11.62} \times 100 = 11.10 \%$$

En fonction du pourcentage calculé pour chaque souris, l'inhibition moyenne de l'œdème est de $11.07 \pm 7.83 \%$.

I.1.1.2. Extrait aqueux lyophilisé

A - Lot contrôle

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	30	0.30	5	11.7	23.5	11.8
2	30	0.30	5	12.4	22.9	10.5
3	30	0.30	5	12.5	23.9	11.4
4	31	0.31	5	13.8	26	12.2
5	30	0.30	5	12.8	22.5	9.7
6	31.5	0.32	5	12.8	23.5	10.7
Moyenne σ	30.42 ± 0.61					DM : 11.05 ± 0.84

Tableau VII : lot contrôle du test A.I. de l'extrait aqueux lyophilisé

B. LOT TEST : Extrait aqueux après épuisements successifs à la Pétroléine, au chloroforme puis au méthanol (dose : 250 µg/oreille)

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	29.5	0.30	5	12.7	18.2	5.5
2	30	0.30	5	11.9	17.6	5.7
3	31	0.31	5	12	18.7	6.7
4	29.5	0.30	5	13.3	19.2	5.9
5	30.5	0.31	5	13	19	6
6	30	0.30	5	12.2	19.3	7.1
Moyenne σ	30.08 ± 0.53					DM : 6.15 ± 0.56

Tableau VIII : Lot test de l'effet A.I. de l'extrait aqueux total lyophilisé.

$$\text{Pourcentage d'inhibition de l'œdème} = \frac{11.05 - 6.15}{11.05} \times 100 = 44.34 \%$$

En fonction du pourcentage calculé pour chaque souris, l'inhibition moyenne de l'œdème est de 44.35 ± 5.11 %.

I.1.2. Extrait à la PétroléineA - Lot contrôle

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	30	0.30	5	13.6	23	9.4
2	31	0.31	5	12.4	20.7	8.3
3	32	0.32	5	12.5	21.8	9.3
4	29.5	0.31	5	13.5	23	9.5
5	30	0.30	5	13.2	22	8.8
6	31	0.31	5	12.8	21.3	8.5
Moyenne	30.58					DM : 8.97
σ	± 0.84					± 0.46

Tableau IX: Lot contrôle du test A.I. de l'extrait à la Pétroléine et de l'indométacine

B. LOT TEST : Extrait à la Pétroléine (250 µg/oreille)

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	32	0.32	5	12.4	15	2.6
2	31	0.31	5	12.5	16.5	4
3	29	0.29	5	12.6	16.6	4
4	30	0.30	5	11.7	14	2.3
5	29.5	0.30	5	12.1	16.2	4.1
6	31	0.31	5	13.6	16.6	3
Moyenne	30.41					DM : 3.33
σ	± 1.02					± 0.73

Tableau X : Lot test de l'effet A.I. de l'extrait à la Pétroléine Pourcentage d'inhibition de l'œdème = $\frac{8.97 - 3.33}{8.97} \times 100 = 62.88 \%$

8.97

En fonction du pourcentage calculé pour chaque souris, l'inhibition de l'œdème est de $62.84 \pm 8.13 \%$.

I.1.3. INDOMETACINE

A. Lot contrôle (idem tableau IX)

B. Lot test : INDOMETACINE (250 µg/oreille)

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	30	0.30	5	12	13.6	1.6
2	32	0.32	5	12.1	14.6	2.5
3	31	0.31	5	13.0	13.7	0.7
4	31.5	0.32	5	12.3	13.6	1.3
5	32	0.32	5	12.6	14.4	1.8
6	29.5	0.30	5	12	13.4	1.4
Moyenne σ	31 ± 0.96					DM : 1.55 ± 0.54

Tableau XI : Lot test de l'effet A.I. de l'Indométacine

$$\text{Pourcentage d'inhibition de l'œdème} = \frac{8.97 - 1.55}{8.97} \times 100 = 82.72 \%$$

En fonction du pourcentage calculé pour chaque souris, l'inhibition de l'œdème de $82.72 \pm 6.06 \%$.

I.1.4. EXTRAIT CHLOROFORMIQUE

A - Lot contrôle

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	30	0.30	5	11.8	24.2	12.4
2	32.5	0.33	5	12.4	22	9.8
3	31.5	0.32	5	12.1	22.4	10.3
4	32.5	0.33	5	12	23.6	11.6
5	32.5	0.33	5	13.4	25.9	12.5
6	31	0.31	5	12.4	24	11.6
Moyenne σ	31.67 ± 0.67					DM : 11.37 ± 1.00

Tableau XII: Lot contrôle du test A.I. de l'extrait à chloroformique

B. LOT TEST : Extrait chloroformique (250 µg/oreille)

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	30.5	0.31	5	13	16.2	3.2
2	31.5	0.32	5	12	14	2
3	30	0.30	5	12.1	15.4	3.3
4	32	0.32	5	12	14	2
5	30.5	0.31	5	12.7	14.2	1.5
6	31	0.31	5	10.7	12.4	1.7
Moyenne σ	30.92 ± 0.67					DM : 2.28 ± 0.71

Tableau XIII : Lot test de l'effet A.I. de l'extrait chloroformique

$$\text{Pourcentage d'inhibition de l'œdème} = \frac{11.37 - 2.28}{11.37} \times 100 = 79.95 \%$$

En fonction du pourcentage calculé pour chaque souris, l'inhibition de l'œdème est de $79.92 \pm 6.21\%$.

L1.5. EXTRAIT METHANOLIQUE APRES EPUISEMENTS SUCCESSIFS A LA PETROLEINE ET AU CHLOROFORME

A - Lot contrôle

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	30.5	0.31	5	13.4	20	6.6
2	31.5	0.32	5	12.7	22.5	9.8
3	32	0.32	5	13.1	23.4	10.3
4	31	0.31	5	13	23.4	10.4
5	30	0.30	5	12.1	21.4	9.3
6	30.5	0.31	5	12.4	21.5	9.1
Moyenne σ	30.92 ± 0.67					DM : 9.25 ± 1.28

Tableau XIV : Lot contrôle du test A.I. de l'extrait méthanolique

**B. LOT TEST : Extrait méthanolique après épuisement successifs à la
pétroléine et au chloroforme (250 µg/oreille)**

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	32	0.32	5	13	19.6	6.6
2	31.5	0.32	5	12.7	20.1	7.4
3	30.5	0.31	5	12.8	19.5	6.7
4	30	0.30	5	13	18.8	5.8
5	29.5	0.30	5	11.6	19.5	7.9
6	-	-	-	-	-	-
Moyenne σ	30.70 ± 0.93					DM : 6.88 ± 0.72

Tableau XV : Lot test de l'effet A.I. de l'extrait méthanolique

$$\text{Pourcentage d'inhibition de l'œdème} = \frac{9.25 - 6.88}{9.25} \times 100 = 25.62 \%$$

En fonction du pourcentage calculé pour chaque souris, l'inhibition de l'œdème est de $25.62 \pm 7.78 \%$.

I.1.6. FRACTION DES PHYTOSTEROLS

A. Lot contrôle

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	31.5	0.32	5	12	20.2	8.2
2	29.5	0.30	5	11.7	23.3	11.6
3	30	0.30	5	11.7	21.5	9.8
4	30	0.30	5	13.3	21.9	8.6
5	29	0.29	5	12	21.0	9
6	31	0.31	5	11.9	22.0	10.1
Moyenne σ	30.17 ± 0.85					DM : 9.55 ± 1.13

Tableau XVI: Lot contrôle du test A.I. de la fraction des phytostérols

B. Lot test de la fraction des phytostérols (250 µg/oreille)

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	30	0.30	5	12.2	15.3	3.1
2	30	0.30	5	12.2	16.6	4.4
3	29	0.29	5	13.2	15.9	2.7
4	28.5	0.29	5	12.0	16.1	4.1
5	29	0.29	5	13.0	16.0	3.0
6	29	0.29	5	12.9	16.9	4.0
Moyenne σ	29.3 ± 0.56					DM : 3.55 ± 0.64

Tableau XVII: Lot test de l'effet A.I. de l'extrait méthanolique

$$\text{Pourcentage d'inhibition de l'œdème} = \frac{9.55 - 3.55}{9.55} \times 100 = 62.83 \%$$

En fonction du pourcentage calculé pour chaque souris, l'inhibition de l'œdème est de $62.83 \pm 6.70 \%$.

1.1.7. FRACTION DES ESTERS TRITERPENIQUES

A. Lot contrôle

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	30	0.30	5	12.0	24.5	12.5
2	29.5	0.30	5	12.8	26	13.2
3	29.5	0.30	5	12.4	24	11.6
4	29	0.29	5	11.8	25.2	13.4
5	29.8	0.30	5	12.0	25.8	13.8
6	30	0.30	5	12.2	25.7	13.5
Moyenne σ	29.63 ± 0.35					DM : 13.00 ± 0.70

Tableau XVIII: Lot contrôle du test A.I. de la fraction des esters triterpéniques

B. Lot test de la fraction des esters triterpéniques (250 µg/oreille)

Souris N°	Poids (g)	Volume kétamine administré (ml)	Volume huile de croton (µl)	Poids morceau O.G (mg)	Poids morceau O.D (mg)	Différence de poids entre morceaux O.G et O.D (mg)
1	29.6	0.30	5	13	18.7	5.7
2	29.5	0.30	5	12.2	16	3.8
3	30	0.30	5	12.5	19	6.5
4	30	0.30	5	12.2	16.8	4.6
5	29.5	0.30	5	12.6	16.7	4.1
6	29.6	0.30	5	11.9	19.4	7.5
Moyenne σ	29.70 ± 0.22					DM : 5.37 ± 1.30

Tableau XIX: Lot test de l'effet A.I. de la fraction des esters triterpéniques

Pourcentage d'inhibition de l'œdème = $\frac{13 - 5.37}{13} \times 100 = 58.69\%$

13

En fonction du pourcentage calculé pour chaque souris, l'inhibition de l'œdème est de $58.72 \pm 10.22\%$.

**I.1.8. TABLEAU COMPARATIF DE L'EFFET ANTI-INFLAMMATOIRE DES
DIFFERENTS EXTRAITS ET FRACTIONS VERSUS INDOMÉTACINE
AUX DOSES RESPECTIVES DE 250 µg/oreille**

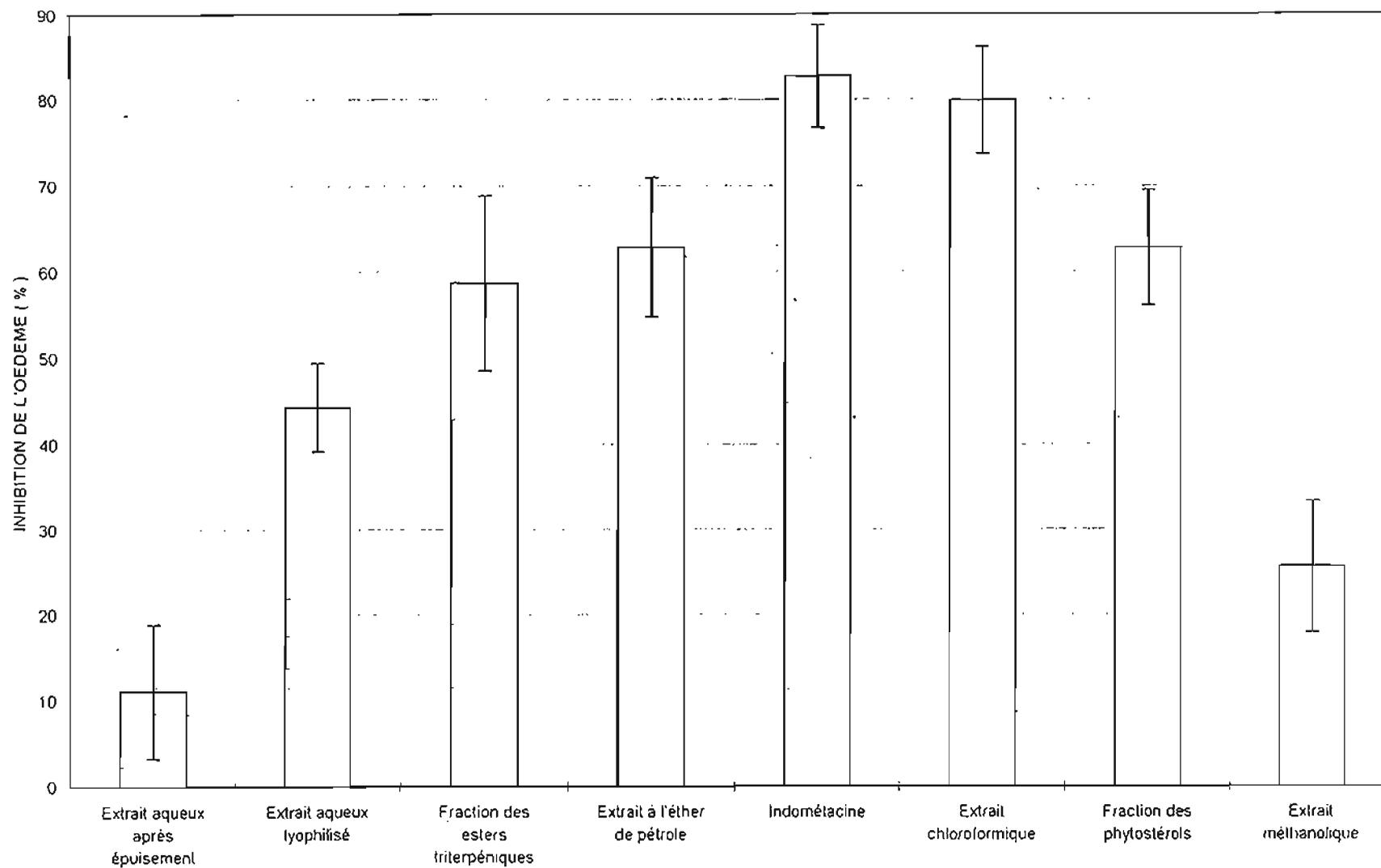
Substances	Lot	Doses µg/ oreille	Nombre animaux	Moyenne œdème (mg) ± σ	Moyenne de l'inhibition de l'œdème calculée sur chaque souris (%) ± σ
Extrait aqueux après épuisement	Contrôle	-	6	11.6 ± 0.9	-
	Test	250	6	10.3 ± 0.9	11.0 ± 7.8
Extrait aqueux lyophilisé	Contrôle	-	6	11.1 ± 0.8	-
	Test	250	6	6.2 ± 0.6	44.3 ± 5.1
Extrait à l'éther de pétrole	Contrôle	-	6	8.9 ± 1.7	-
	Test	250	6	3.3 ± 0.7	62.8 ± 8.1
Indométacine	Contrôle	-	6	8.9 ± 1.6	-
	Test	250	6	1.5 ± 0.5	82.7 ± 6.0
Extrait chloroformique	Contrôle	-	6	11.3 ± 1.0	-
	Test	250	6	2.2 ± 0.7	79.9 ± 6.2
Extrait méthanolique	Contrôle	-	6	9.2 ± 1.2	-
	Test	250	6	6.8 ± 0.7	25.6 ± 7.7
Fraction des phytostérols	Contrôle	-	6	9.6 ± 1.1	-
	Test	250	6	3.6 ± 0.6	62.8 ± 6.7
Fraction des esters triterpéniques	Contrôle	-	6	13.0 ± 0.7	-
	Test	250	6	5.4 ± 0.3	58.7 ± 10.2

Tableau XX : Tableau comparatif de l'effet A.I. des différents extraits et fractions versus indométacine.

I.1.9,FIGURE COMPARATIVE DE L'INHIBITION DE L'OEDEME PAR LES EXTRAITS ET FRACTIONS VERSUS INDOMETACINE.

La figure 14 ci-après ,qui illustre les résultats consignés dans le tableau XX donne le profil de l'activité anti-inflammatoire des différents extraits administrés tous à la même dose (250 µg/oreille). Une nette prédominance de l'effet A-I est marquée pour les extraits organiques (extrait chloroformique et extrait à l'éther de pétrole) ainsi que des fractions réalisées.

Fig. 14 : INHIBITION COMPAREE DE L'OEDEME PAR LES EXTRAITS ET FRACTIONS VERSUS INDOMETACINE



I.1.10. ETUDE COMPAREE DE L'EFFET ANTI-INFLAMMATOIRE DES EXTRAITS ORGANIQUES (CHLOROFORMIQUE ET A L'ETHER DE PETROLE) VIS A VIS DE L'INDOMETACINE

Cette étude a été rendue nécessaire dans la mesure où les deux (2) extraits organiques semblent les plus actifs. Il nous a paru important de les comparer entre eux d'une part et avec indométacine d'autre part.

I.1.10.1. Tableaux des doses-effets des différents extraits

a) Extrait chloroformique

Lot	Doses µg/oreille	Nombre d'animaux	Moyenne œdème (mg) ± σ	Inhibition de lot de l'œdème (%)	Moyenne de l'inhibition de l'œdème calculée sur chaque souris (% ± σ %)
Contrôle	-	6	11.1 ± 0.4	-	-
Test	40	6	7.3 ± 0.9	34.2	33.9 ± 8.9
Contrôle	-	6	11.0 ± 1.2	-	-
Test	50	6	6.7 ± 1	39.1	39.2 ± 9.6
Contrôle	-	6	11.1 ± 0.4	-	-
Test	100	6	4.0 ± 0.6	63.6	63.8 ± 5.0
Contrôle	-	6	11.4 ± 0.8	-	-
Test	150	6	3.4 ± 0.7	70.2	69.6 ± 6.6
Contrôle	-	6	11.3 ± 1.0	-	-
Test	250	6	2.2 ± 0.7	80.5	79.9 ± 6.2
Contrôle	-	6	11.1 ± 1.2	-	-
Test	300	6	1.5 ± 0.8	86.4	86.2 ± 7.4

Tableau XXI : Doses-effets A.I. de l'extrait chloroformique

b) Extrait à la pétroléine

Lot	Doses µg/oreille	Nombre d'animaux	Moyenne œdème (mg) ± σ	Inhibition de lot de l'œdème (%)	Moyenne de l'inhibition de l'œdème calculée sur chaque souris (%± σ %)
Contrôle	-	6	13.5 ± 0.9	-	-
Test	100	6	8.7 ± 0.6	35.6	35.6 ± 4.9
Contrôle	-	6	13.5 ± 0.9	-	-
Test	150	6	6.9 ± 0.9	48.9	48.9 ± 7.3
Contrôle	-	6	12.5 ± 2.3	-	-
Test	200	6	5.9 ± 1.3	52.8	52.8 ± 5.7
Contrôle	-	6	8.9 ± 1.6	-	-
Test	250	6	3.3 ± 0.7	62.8	62.8 ± 8.1
Contrôle	-	6	12.5 ± 2.3	-	-
Test	300	6	3.0 ± 0.7	75.7	75.7 ± 6.3

Tableau XXII : Doses-effets A.I. de l'extrait à la pétroléine

c) Indométacine

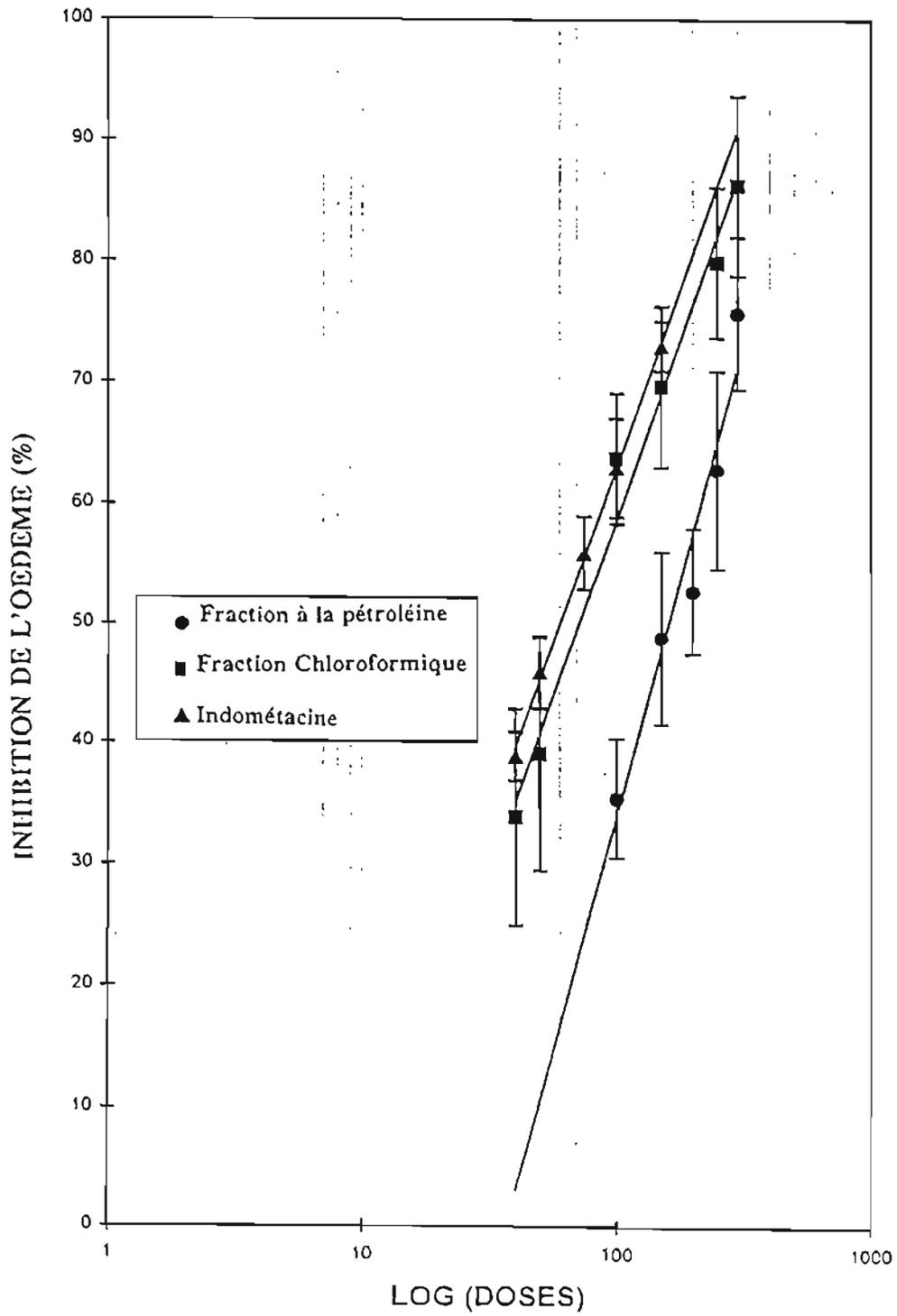
Lot	Doses µg/oreille	Nombre d'animaux	Moyenne œdème (mg) ± σ	Inhibition de lot de l'œdème (%)	Moyenne de l'inhibition de l'œdème calculée sur chaque souris (%± σ %)
Contrôle	-	6	10.9 ± 0.3	-	-
Test	40	6	6.6 ± 0.2	39.5	39.4 ± 2.0
Contrôle	-	6	12.2 ± 0.4	-	-
Test	50	6	6.6 ± 0.2	45.9	45.9 ± 3.0
Contrôle	-	6	13.0 ± 0.6	-	-
Test	75	6	5.7 ± 0.3	56.2	56.1 ± 3.0
Contrôle	-	6	10.9 ± 0.7	-	-
Test	100	6	4.0 ± 0.5	63.3	63.3 ± 4.0
Contrôle	-	6	11.2 ± 0.9	-	-
Test	150	6	3.0 ± 0.2	73.2	73.2 ± 2.0

Tableau XXIII : Doses-effets A.I. de l'indométacine

I.1.10.2. COURBES DOSES-EFFETS DES EXTRAITS ORGANIQUES VIS A VIS DE L'INDOMETACINE

Les résultats représentés dans les tableaux antérieurs (XXI, XXII et XXIII) permettent de tracer les courbes doses-effets suivantes (LOMPO et Coll., 1998).

Fig. 15 : Courbes doses-effets des extraits organiques vis à vis de l'indométacine.



La figure 15 donne l'allure des courbes doses-effets anti-inflammatoire des extraits organiques. L'effet A-I croît avec les doses administrées et est dose-dépendant. Les courbes doses-effet de la fraction chloroformique est parallèle et semble se confondre presque à celle de l'indométacine.

I.2. ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DES TOPIQUES VERSUS INDOMETACINE

I.2.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des crèmes

a) Crème de l'extrait aqueux lyophilisé à 1%

- Lot Contrôle

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)
1	32	13.3	27.1	13.8
2	31	12.4	26.3	13.9
3	30	13.3	25	11.7
4	30.5	13.3	24	10.7
5	29.5	12.7	26.9	14.2
6	32	12.8	29.1	16.3
Moyenne ± σ				13.4 ± 1.8

Tableau XXIV : Lot contrôle du test A.I. de la crème de l'extrait aqueux lyophilisé à 1%

- Lot Test : 25 mg/oreille (correspondant à 250 µg/oreille d'extrait)

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)	Inhibition de l'œdème calculée pour chaque souris (%)
1	31	13.8	25	11.2	16.4
2	29.5	13.9	25.9	12	10.5
3	31.5	13	24.4	11.4	15.0
4	32	13	22.9	9.9	26.1
5	30.5	12	22.9	10.9	18.7
6	31.5	13.9	23.4	9.5	29.1
Moyenne ± σ				10.8 ± 0.9	19.3 ± 6.4

Tableau XXV : Lot test de l'effet A.I. de la crème de l'extrait aqueux lyophilisé à 1%

Pourcentage d'inhibition d'œdème du lot = 19.4%

Moyenne des pourcentages d'inhibition d'œdème calculés pour chaque souris = 19.3 ± 6.4%

b) Crème de l'extrait à la pétroléine à 1%

- Lot Contrôle

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)
1	30	12.1	25.7	13.5
2	29.5	11.5	29.1	17.6
3	32	12.2	25	12.8
4	32	12.8	26.5	13.7
5	31	11.8	24.8	13
6	30.5	12.7	28.7	16
Moyenne ± σ				14.4 ± 1.8

Tableau XXVI : Lot contrôle du test A.I. de la crème de l'extrait à la pétroléine à 1%

Lot Test : 25 mg/oreille (correspondant à 250 µg/oreille d'extrait)

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)	Inhibition de l'œdème calculée pour chaque souris (%)
1	31	12.1	21.5	9.4	34.7
2	29.5	11.2	24.9	13.7	4.9
3	30	12.4	23.7	11.3	21.5
4	30	11.8	25	13.2	8.3
5	32	12.2	21.2	9	37.5
6	31.5	12	23.3	11.3	21.5
Moyenne ± σ				11.3 ± 1.7	21.4 ± 12.1

Tableau XXVII : Lot test de l'effet A.I. de la crème de l'extrait à l'éther de pétrole à 1%

Pourcentage d'inhibition d'œdème du lot = 21.5%

Moyenne des pourcentages d'inhibition d'œdème calculés pour chaque souris = 21.4 ± 12.1%.

c) Crème de l'extrait chloroformique à 1%

- Lot Contrôle

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)
1	31.5	12.9	22	9.1
2	30.5	11.7	23.8	12.1
3	32	12.9	22.9	10
4	31.5	12.7	25.3	12.6
5	30	12.5	23.1	10.6
6	29.5	12.8	21	8.2
Moyenne ± σ				10.4 ± 1.6

Tableau XXVIII : Lot contrôle du test A.I. de la crème de l'extrait chloroformique à 1%

- Lot Test : 25 mg/oreille (correspondant à 250 µg/oreille d'extrait)

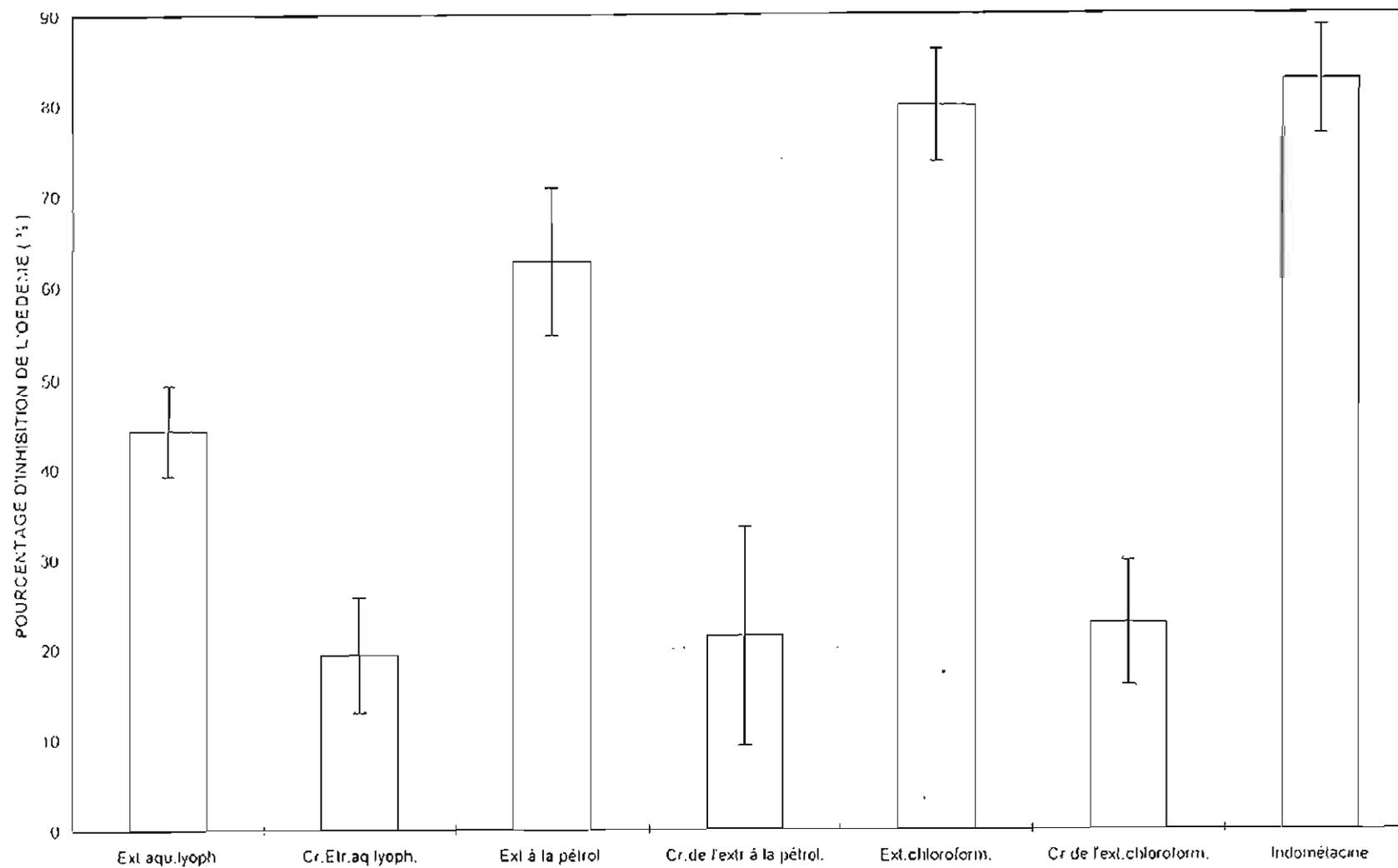
Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)	Inhibition de l'œdème calculée pour chaque souris (%)
1	29	12.7	20	7.3	29.8
2	31.5	12.8	21.8	9	13.5
3	31	13.8	21.9	8.1	22.1
4	29.5	12.2	21	8.8	15.4
5	28.5	12.5	19.5	7	32.7
6	29	12	20	8	23.1
Moyenne ± σ				8 ± 0.7	22.8 ± 6.9

Tableau XXIX : Lot test de l'effet A.I. de la crème de l'extrait chloroformique à 1%

Pourcentage d'inhibition d'œdème du lot = 23.1%

Moyenne des pourcentages d'inhibition d'œdème calculés pour chaque souris = 22.8 ± 6.9%

Fig. 16 : FIGURE COMPARATIVE DE L'EFFET DES DIFFERENTES CREMES PAR RAPPORT AUX EXTRAITS ET A L'INDOMETACINE



La figure 16 montre que les crèmes ont un effet A-I inférieur aux extraits non formulés. Sous forme de crèmes, les extraits perdent au moins 50% de leur activité du fait de leur incorporation dans un véhicule comme la Base de BEELEER modifiée. Il est à noter cependant que le temps d'observation n'est que de 6 heures et cela après seule application.

I.2.2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DES GELS

a) Gel aux carbopols de l'extrait aqueux lyophilisé à 1% sans P.E.G.

- Lot Contrôle

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)
1	32	12.7	23.9	11.2
2	31	13	24	11
3	31.5	12.5	21.5	9
4	32	12.6	22.6	10.4
5	32.5	11	21	10
6	32	13.3	24	10.7
Moyenne ± σ				10.4 ± 0.7

Tableau XXX : Lot contrôle du test A.I. du gel aux carbopols de l'extrait aqueux lyophilisé à 1% sans P.E.G.

- Lot Test : 25 mg/oreille (correspondant à 250 µg/oreille d'extrait)

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)	Inhibition de l'œdème calculée pour chaque souris (%)
1	32.5	11.7	17.5	5.8	44.2
2	31.5	12.1	18.3	6.2	40.4
3	32	12	17.7	5.7	45.2
4	31	11.2	16.5	5.3	49
5	32	11.7	17.5	5.8	44.2
6	32	12.7	18	5.3	49
Moyenne ± σ				5.7 ± 0.3	45.3 ± 3

Tableau XXXI : Lot test de l'effet A.I. du gel aux carbopols de l'extrait aqueux lyophilisé à 1% sans P.E.G.

Pourcentage d'inhibition d'œdème du lot = 45.2%

Moyenne des pourcentages d'inhibition d'œdème calculés pour chaque souris = 45.3 ± 3%

Ce gel s'est révélé instable au bout d'une semaine (coloration et aspect modifiés). Nous avons donc tenté un isolement de l'extrait des carbopols en l'y dissolvant au préalable dans du Tween 80. Ce gel s'est également révélé instable au bout de quelques semaines par un changement de couleur.

Le gel au HPMC a été réalisé mais présente en son sein des particules insolubles.

b) Gel aux carbopols de l'extrait aqueux lyophilisé à 1% avec P.E.G. Il a été réalisé en vue d'isoler suffisamment l'extrait des carbopols avec lesquels de probables incompatibilités existent. Ce gel présente une assez bonne stabilité qui permet d'envisager l'évaluation de son activité anti-inflammatoire.

- Lot Contrôle

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)
1	31.5	12.5	24.4	11.9
2	32	12.2	23.3	11.1
3	32	12.8	22	9.2
4	31	11.4	21.4	10
5	30	12.1	24	11.9
6	31.5	13.3	24.3	11
Moyenne ± σ				10.9 ± 1.0

Tableau XXXII : Lot contrôle du test A.I. du gel aux carbopols de l'extrait aqueux lyophilisé à 1% avec P.E.G.

- Lot Test : 25 mg/oreille (correspondant à 250 µg/oreille d'extrait)

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)	Inhibition de l'œdème calculée pour chaque souris (%)
1	32	13	21.4	8.4	22.9
2	30	12	21	9	17.4
3	30.5	13.2	20.7	7.5	31.2
4	30	11.7	18.9	7.2	33.9
5	31.5	12.1	19.3	7.2	33.9
6	31.5	12.1	18.3	6.2	43.1
Moyenne ± σ				7.6 ± 0.9	30.4 ± 8.3

Tableau XXXIII : Lot test de l'effet A.I. du gel aux carbopols de l'extrait aqueux lyophilisé à 1% avec P.E.G.

Pourcentage d'inhibition d'œdème du lot = 30.3%

Moyenne des pourcentages d'inhibition d'œdème calculés pour chaque souris = 30.4 ± 8.3%

c) Gel aux carbopols de l'extrait à la pétroléine à 1%

- Lot Contrôle

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)
1	32	11.4	21.6	10.2
2	30	12.8	19.7	6.9
3	32	12.3	27.3	15
4	30	11.9	22.7	10.8
5	29	11.8	22.9	11.1
6	31	12.7	26.8	14
Moyenne ± σ				11.3 ± 2.6

Tableau XXXIV : Lot contrôle du test A.I. du gel aux carbopols de l'extrait à la pétroléine à 1%

- Lot Test : 25 mg/oreille (correspondant à 250 µg/oreille d'extrait)

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)	Inhibition de l'œdème calculée pour chaque souris (%)
1	31	12.5	21.5	9	20.4
2	29.5	12.6	21	8.4	25.7
3	28	11.6	22.7	11.1	1.8
4	28.5	11.3	20.9	9.6	15
5	29.5	12	21.6	9.6	15
6	30.5	12.1	18.4	6.3	44.3
Moyenne ± σ				9 ± 1.5	20.4 ± 12.8

Tableau XXXV : Lot test de l'effet A.I. du gel aux carbopols de l'extrait aqueux lyophilisé à 1% avec P.E.G.

Pourcentage d'inhibition d'œdème du lot = 20.4%

Moyenne des pourcentages d'inhibition d'œdème calculés pour chaque souris = 20.4 ± 12.8%

d) Gel aux carbopols de l'extrait chloroformique à 1%

- Lot Contrôle

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)
1	32	13.1	27.8	14.7
2	31	12.4	27	14.6
3	30	12.6	26.7	14.1
4	32	12	25.4	13.4
5	30.5	11.7	24.2	12.5
6	31	12	27.4	15.4
Moyenne ± σ				14.1 ± 0.9

Tableau XXXVI : Lot contrôle du test A.I. du gel aux carbopols de l'extrait chloroformique à 1%

- Lot Test : 25 mg/oreille (correspondant à 250 µg/oreille d'extrait)

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)	Inhibition de l'œdème calculée pour chaque souris (%)
1	31	12.3	23.9	11.6	17.7
2	30.5	12.2	23.8	11.6	17.7
3	30	13.4	25.1	11.7	17
4	32	15	27	12	14.9
5	32	11.5	20.5	9	36.2
6	30	11.9	19.6	7.7	45.4
Moyenne ± σ				10.6 ± 1.6	24.8 ± 11.6

Tableau XXXVII : Lot test de l'effet A.I. du gel aux carbopols de l'extrait chloroformique à 1%

Pourcentage d'inhibition d'œdème du lot = 24.8%

Moyenne des pourcentages d'inhibition d'œdème calculés pour chaque souris = 24.8 ± 11.6%

d) Gel aux carbopols de l'indométacine 1%

- Lot Contrôle

Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)
1	30	12.4	24.9	12.5
2	30	13.4	25.7	12.3
3	32	11.9	24	12.1
4	29	13	25	12
5	30.5	12	24.6	12.6
6	29.5	13.4	27	13.6
Moyenne ± σ				12.5 ± 0.5

Tableau XXXVIII : Lot contrôle du test A.I. du gel aux carbopols de l'indométacine à 1%

- Lot Test : 25 mg/oreille (correspondant à 250 µg/oreille d'extrait)

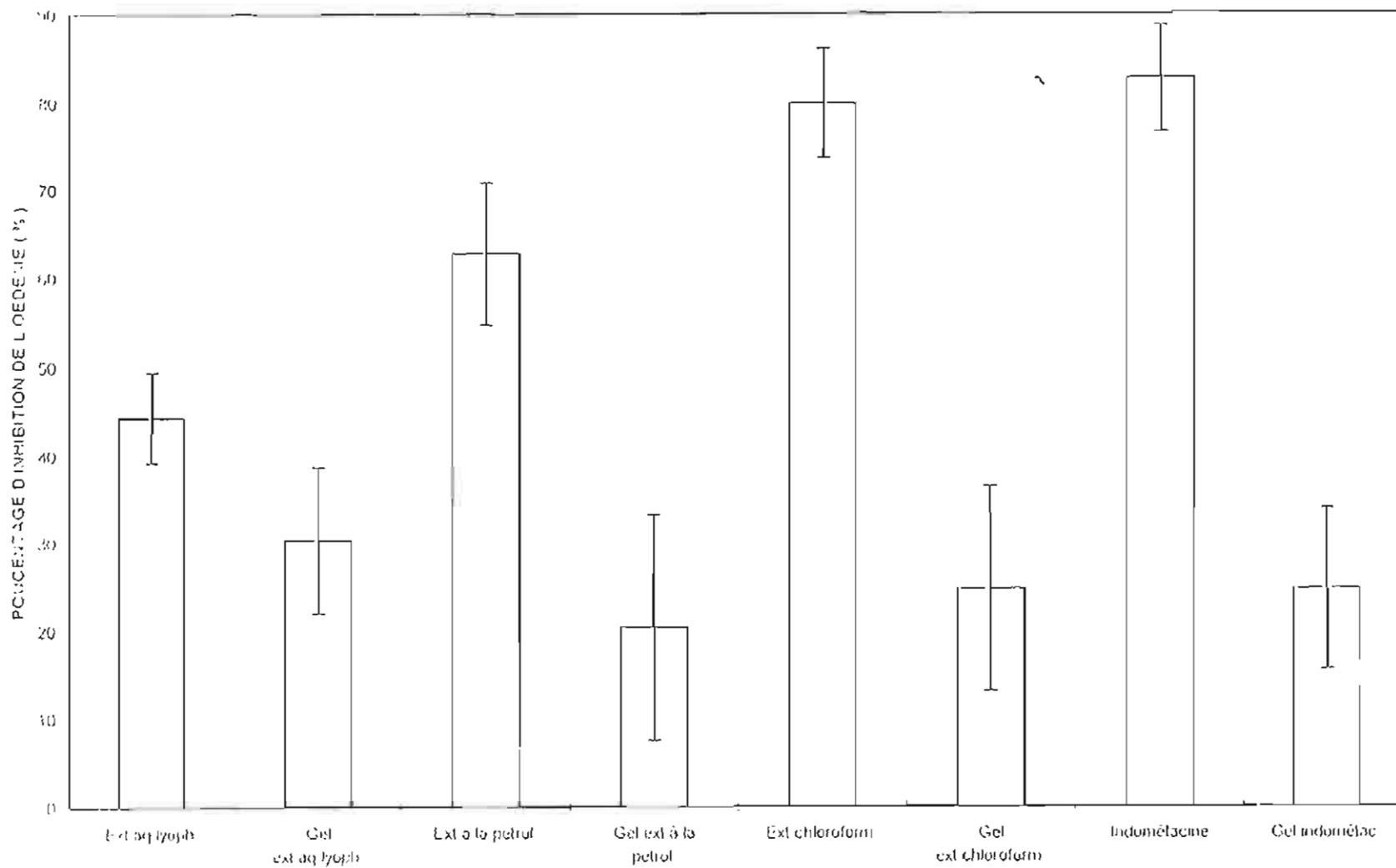
Souris N°	Poids (g)	Poids du morceau d'oreille gauche (mg)	Poids du morceau d'oreille droite (mg)	Différence de poids entre les morceaux d'oreille gauche et droite (mg)	Inhibition de l'œdème calculée pour chaque souris (%)
1	30.5	12.4	21	8.6	31.2
2	32	12.8	23.5	10.7	14.4
3	29	13.5	22.9	9.4	24.8
4	32	12.7	22.7	10	20
5	31	12.9	23.3	10.4	16.8
6	30	11.8	19.2	7.4	40.8
Moyenne ± σ				9.4 ± 1.1	24.7 ± 9.1

Tableau XXXIX : Lot test de l'effet A.I. du gel aux carbopols de l'indométacine à 1%

Pourcentage d'inhibition d'œdème du lot = 24.8%

Moyenne des pourcentages d'inhibition d'œdème calculés pour chaque souris = 24.7 ± 9.1%.

Fig. 17 : FIGURE COMPARATIVE DE L'EFFET DES DIFFERENTS GELS PAR RAPPORT AUX EXTRAITS ET A L'INDOMETACINE



La figure 17 montre comme la figure 16 que les extraits perdent leur activité lorsqu'ils sont mis sous forme galénique du fait de leur incorporation dans un véhicule. Seul l'extrait aqueux lyophilisé perd son activité sous forme de gel d'une valeur inférieure à 50 %.

II. ACTIVITE SUR LA TEMPERATURE CORPORELLE

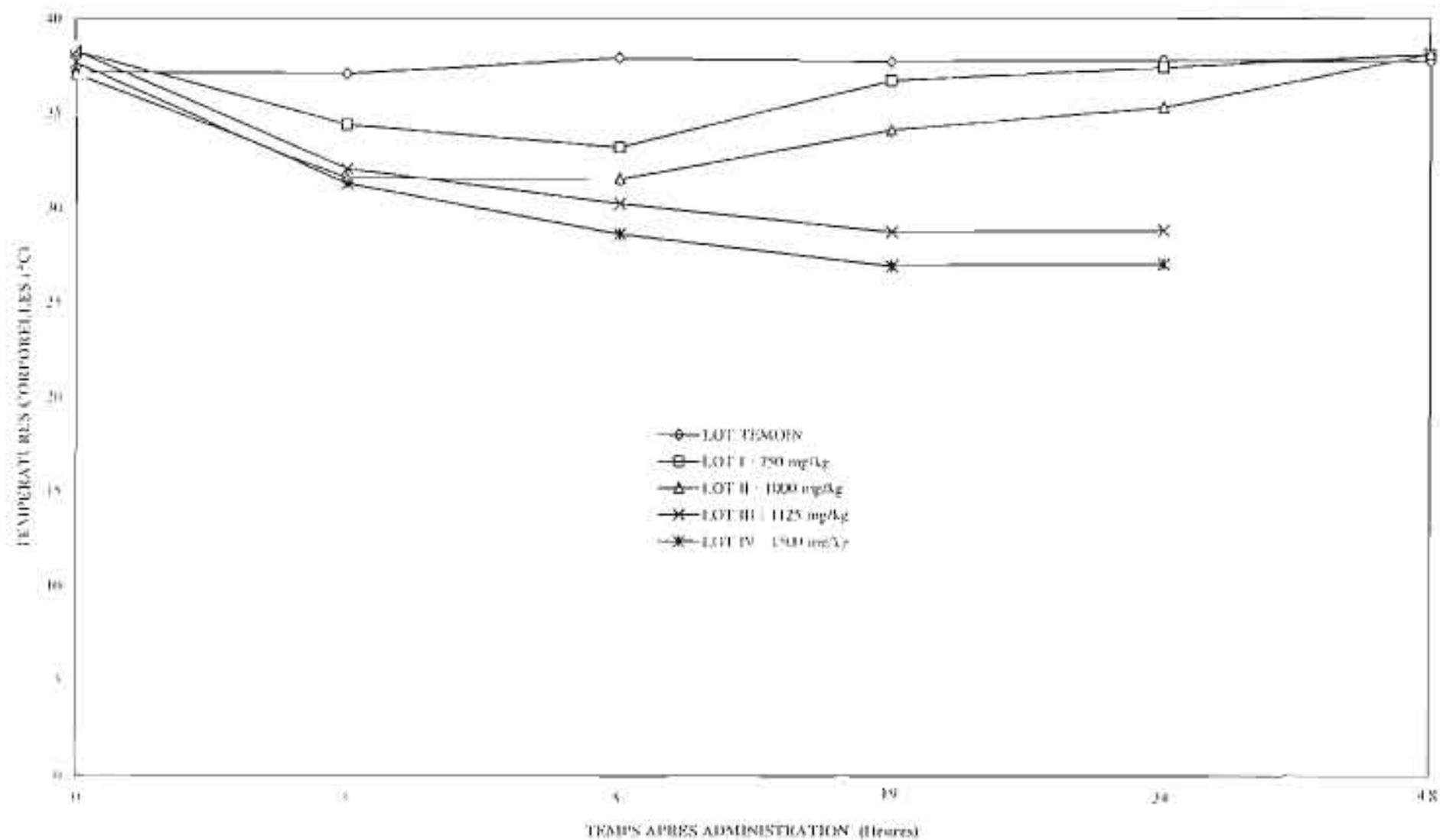
Evolution de la température rectale des souris après administration i.p.
de l'extrait aqueux de poudre d'écorces de *khaya senegalensis* A. Juss.

	Poids (g)	θ_0	θ_{3H}	θ_{5H}	θ_{19H}	θ_{24H}	θ_{48H}
Lot témoin	27.17 ± 0.13	37°2 ± 0°4	37°1 ± 0°6	37°9 ± 0°4	37°7 ± 0°4	37°8 ± 0°3	37°7 ± 0°3
Lot I : 750mg/kg	25.92 ± 2.87	38°3 ± 0°7	34°4 ± 0°8	33°2 ± 0°6	36°7 ± 1°2	37°4 ± 1°1	38°1 ± 0°5
Lot II : 1000 mg/kg	25.50 ± 2.66	37°1 ± 1°0	31°6 ± 1°7	31°5 ± 1°5	34°1 ± 1°8	35°3 ± 1°6	38°1 ± 0°4
Lot III : 1125 mg/kg	26.08 ± 1.86	38°3 ± 0°3	32°1 ± 1°4	30°2 ± 1°4	28°7 ± 0°6	28°8 ± 0°8	-
Lot IV : 1500 mg/kg	25.33 ± 3.78	37°7 ± 0°6	31°3 ± 1°9	28°6 ± 0°7	26°9 ± 2°3	27° ± 2°4	-

Tableau XL : Evolution moyenne de la température corporelle des animaux en fonction du temps selon la dose administrée (n : nombre d'animaux par lot = 6)

Les résultats de l'évolution de la température corporelle en fonction du temps selon la dose administrée nous permettent de tracer la figure suivante :

FIG.18: EVOLUTION DE LA TEMPERATURE CORPORELLE EN FONCTION DU TEMPS APRES ADMINISTRATION



Au niveau du lot témoin, la température est restée stable autour de 37°C pendant le temps d'observation (T_{0H} à T_{48H} après administration). A la dose de 750 mg/kg (lot 1), on observe que la température rectale (fig. 18) subit une baisse rapide qui atteint un maximum (33°2) à 5 heures après administration de l'extrait végétal.

A la dose de 1000 mg/kg, le maximum de baisse de la température (31°5) se situe également à 5 heures après administration du produit : toutefois le retour à la température initiale ne se fait qu'au bout de 48 heures (fig. 18). L'effet est donc plus durable.

Aux doses plus fortes (1125 et 1500 mg/kg) (fig.18), le maximum de baisse de la température intervient autour de 19 heures après administration avec une valeur de 28°7 et 26°9 respectivement.

L'action est plus prononcée et prolongée dans le temps. Au bout de 24 heures après l'administration, la température reste autour de ces valeurs et au-delà de ce temps d'observation (24 heures), une mortalité de plus de 50% des animaux est enregistrée. Les valeurs obtenues au-delà de 24 heures ne seront pas utilisées, plus de la moitié des animaux étant morts.

D. RESULTATS TOXICOLOGIQUES

I. LETHALITE (EVALUATION DE LA DL50)

I.1. Extrait aqueux lyophilisé

a) a) DL50 de l'extrait aqueux lyophilisé administré per os

Aucune souris n'est morte même après une semaine d'observation aux doses respectives de 250 ; 500 ; 750 ; 1000 ; 1250 ; 1500 mg/kg. Nous en déduisons que la DL50 est certainement supérieure à 1500 mg/kg .

b) DL50 de l'extrait aqueux lyophilisé administré en intrapéritonéale (i.p.)

Doses mg/kg	Nombre d'animaux	Nombre de morts après		
		24H	48H	72H
50	6	0	0	0
100	6	0	0	1
200	6	1	1	1
300	6	2	5	6
400	6	4	6	6
600	6	6	6	6

Tableau XLI : Résultats de mortalité d'animaux en fonction de la dose et du temps après administration

Le traitement informatique de ces résultats donne pour $p < 0.05$

DL50 (24 heures) = 318 mg/kg avec comme intervalle de confiance (IC) = [228.9 – 442.6 mg/kg]

DL 5 = 145 mg/kg

DL95 = 700 mg/kg

DL5/DL95 = 0.21

DL5/DL50 = 0.46

DL50/DL95 = 0.45

DL50 (48 heures) = 221.3 mg/kg avec IC = [165.6 – 295.9 mg/kg]

DL50 (72 heures) = 203.6 mg/kg avec IC = [124.6 – 332.6 mg/kg]

Ces valeurs de la DL50 classent l'extrait aqueux lyophilisé en administration i.p. comme étant moyennement toxique.

1.2. L'EXTRAIT CHLOROFORMIQUE

a) DL50 de la suspension au carboxyméthylcellulose de l'extrait chloroformique administré per os.

Aucune souris n'est morte même après une semaine d'observation aux doses respectives de 50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 400 ; 800 ; 1000 mg/kg. La DL50 est certainement supérieure à 1000 mg/kg.

b) DL50 de la solution au D.M.S.O. (Diméthylsulfoxyde) de l'extrait chloroformique en i.p.

Aucune souris n'est morte après une semaine d'observation aux doses respectives de 125 ; 250 ; 375 ; 500 ; 625 mg/kg et donc la DL50 est certainement supérieure à 625 mg/kg.

II. TOXIDRÔME

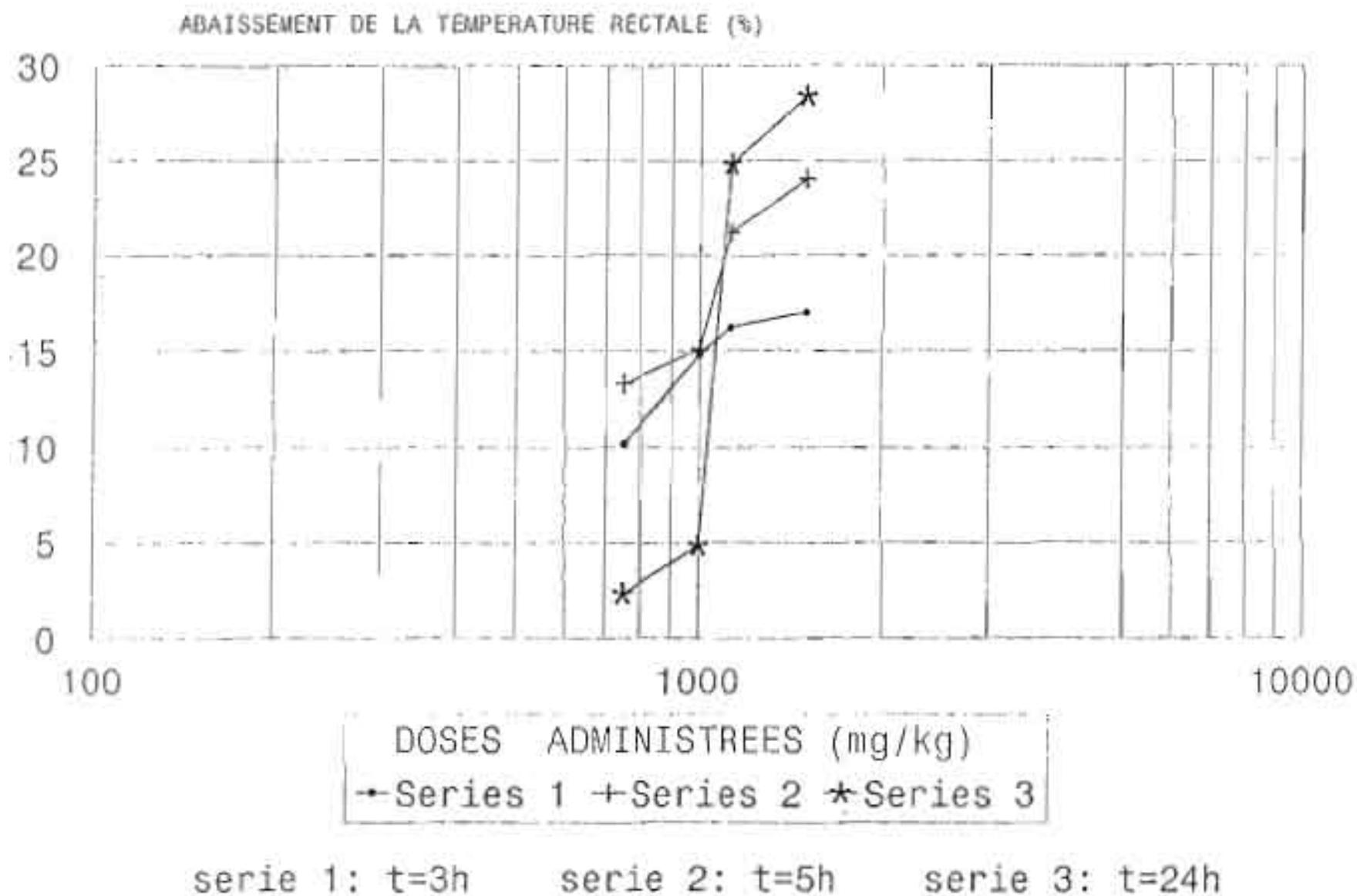
II.1. HYPOTHERMIE

II.1.1. Abaissement de la température corporelle à un temps précis en fonction de la dose administrée.

	Abaissement à 3 h (%)	Abaissement à 5 h (%)	Abaissement à 24 h (%)
Lot I (750 mg/kg)	10.18	13.32	2.35
Lot II (1000 mg/kg)	14.82	15.09	4.85
Lot III (1125 mg/kg)	16.19	21.15	24.80
Lot IV (1500 mg/kg)	16.98	24.05	28.38

Tableau XLII : Abaissement de la température corporelle à des temps précis en fonction de la dose administrée (n : nombre d'animaux par lot = 6).

Fig. 19 : Abaissement de la température rectale en fonction des doses 3, 5, 24 heures
Après administration de l'extrait.



Le tableau XLII et la figure 19 indiquent la cinétique de la variation de température en fonction de la dose administrée pour des temps précis après cette administration. La représentation graphique de cette variation laisse apparaître des sigmoïdes dont la médiane est une droite pour les temps d'observation à 5 heures après administration ou plus. A partir de la dose de 1000 mg/kg jusqu'à 1500 mg/kg, une faible variation de la dose provoque un important abaissement de température d'où la mortalité.

II.2. AUTRES MANIFESTATIONS DE LA TOXICITE GENERALE AIGUE

Les autres signes observés au cours de l'étude de la toxicité générale aiguë sont :

- La tendance à l'immobilisation
- La perte de l'instinct d'exploration
- La tendance à l'endormissement et au regroupement
- La perte du tonus
- Le refus de s'alimenter

III .TOLERANCE CUTANEE

III.1. TOLERANCE DE LA PEAU VIS-A-VIS DES CREMES

A. Crème de l'extrait aqueux lyophilisé à 1%

Produit appliqué : excipient

Application : 500 mg par zone et par animal

Lapin N°	Flanc	24 Heures		72 Heures		Total (24 + 72H) Erythème + œdème
		Erythème	Oedème	Erythème	Oedème	
1	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
2	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
3	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
4	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
5	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
6	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
						Total = 0

Tableau XLIII : Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée de l'excipient de la crème de l'extrait Aqueux lyophilisé à 1%.

I.P. = $0/16 = 0$. L'excipient est donc non irritant

Produit appliqué : 500mg de Crème de l'extrait aqueux lyophilisé à 1%

	Flanc	24 Heures		72 Heures		Total (24 + 72H) Erythème + œdème
		Erythème	Oedème	Erythème	Oedème	
1	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
2	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
3	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
4	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
5	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
6	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
Total = 0						

Tableau XLIV: Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée de la crème de l'extrait aqueux lyophilisé à 1%.

I.P. = $0/16 = 0$. La crème de l'extrait aqueux lyophilisé à 1% est donc non irritante.

B. Crème de l'extrait à la pétroléine à 1%

a) Produit appliqué : 500 mg d'excipient par zone et par animal

Lapin N°	Flanc	24 Heures		72 Heures		Total (24 + 72H) Erythème + œdème
		Erythème	Oedème	Erythème	Oedème	
1	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
2	Non incisé	1	0	1	0	2
	Incisé	1	0	1	0	2
3	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
4	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
5	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
6	Non incisé	0	0	0	0	0
	Incisé	0	0	0	0	0
						Total = 4

Tableau XLV : Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée de l'excipient de la crème de l'extrait à la pétroléine à 1%.

$$I.P. = 4/16 = 0.25$$

I.P. < 0.5 d'où l'excipient est donc non irritant.

b) Produit appliqué : Crème de l'extrait à la pétroléine à 1%.

Application : 500 mg par zone et par animal. L'indice d'irritation primaire cutanée est le même que l'excipient < 0.5 , d'où la crème de l'extrait à la pétroléine à 1% est non irritante.

C. Crème de l'extrait chloroformique à 1%

La crème comme son excipient ont tous un I.P. < 0.5 et sont donc non irritants.

III.2. TOLERANCE DE LA PEAU VIS-A-VIS DES GELS

Les gels ont été tous testés comme ci-dessus pour les crèmes et présentent un I.P. < 0.5 donc sont non irritants.

CHAPITRE III :
DISCUSSIONS DE L'ETUDE

A. CHIMIE

Les résultats du screening phytochimique obtenus et qui ont permis de mettre en évidence entre autres les stérols et triterpènes (LOMPO. 1993) confirment les données de la littérature. Ils conduisent à émettre des hypothèses sur leur probable activité anti-inflammatoire. En effet, ANTON (1979) attribuait aux composés terpéniques comme les monoterpènes et les sesquiterpènes extraits des huiles essentielles de nombreuses propriétés biologiques parmi lesquelles l'activité anti-inflammatoire et antiphlogistique

Par ailleurs les composés stéroïdes et en particulier les corticostéroïdes selon TYLER et Coll. (1976) contribuent à une large application thérapeutique notamment comme agents anti-inflammatoires. Dès lors, la notion de relation structure-activité qui est une notion importante dans la recherche de l'activité des composés chimiques nous a conduit à opérer des fractionnements selon la méthode standard par gradient de polarité des solvants. Ainsi, une fraction d'esters triterpéniques et une fraction de stéroïdes notamment les phytostérols ont été isolées en vue d'être testées pharmacologiquement dans le but d'établir une relation structure activité anti-inflammatoire. Pour la fraction de composés stéroïdes l'identification selon les méthodes chromatographiques et spectrales (CCM ;CCMP ;Chromatographie sur colonne ;RMN¹H ;RMN¹³C ;CPG ;Spectres de Masse) du β -sitostérol (phytostérol majeur), du campestérol et du stigmastérol a été faite et a constitué un approfondissement de nos études phytochimiques antérieures (LOMPO , 1993).

Ces phytostérols, de structure analogue aux corticostéroïdes nous permettent d'envisager l'hypothèse de leur activité anti-inflammatoire. Cette hypothèse a été confirmée au cours de notre présente étude. Il en est de même pour la fraction des esters triterpéniques dont les principaux composés n'ont pas été isolés comme pour le cas des phytostérols. Cependant, leur structure en tant que groupe chimique laissent entrevoir une possible activité anti-inflammatoire comme c'est le cas des esters palmitiques, linoléiques et linoleniques de l' α -amyrine et du lupéol (NIKIEMA, 1997).

B. PHARMACOLOGIE

I. Etude de l'activité anti-inflammatoire des différents extraits d'écorce de tronc de *Khaya senegalensis* A.Juss

L'analyse des résultats montre l'existence d'un effet anti-inflammatoire pour tous les extraits réalisés mais à des degrés divers. On peut classer ces extraits suivant , un ordre croissant de l'effet anti-inflammatoire de la façon suivante :

- Extrait aqueux après épuisement successif à la pétroléine, au chloroforme et au méthanol : effet anti-inflammatoire : 11% d'inhibition d'œdème
- Extrait méthanolique après épuisement à la pétroléine et au chloroforme : 25.6 % d'inhibition d'œdème
- Extrait aqueux total lyophilisé : 44.4 % d'inhibition d'œdème
- Extrait à la pétroléine : 62.8 % d'inhibition d'œdème
- Extrait chloroformique après épuisement à la pétroléine : 79.9 % d'inhibition d'œdème
- L'indométacine : 82.7 % d'inhibition d'œdème

Les extraits organiques (moins polaires) semblent présenter un effet anti-inflammatoire supérieur à celui des extraits méthanoliques et aqueux plus polaires.

Cette différence d'activité entre les extraits moins polaires voire apolaires et les extraits plus polaires peut d'une part s'expliquer par le caractère lipophile plus prononcé pour les premiers que les deuxièmes. En effet, la barrière épidermique est essentiellement constituée par la couche cornée qui est surtout une barrière limitante de caractère lipophile (WEPIERRE, 1977). Les composés lipophiles pourraient s'y dissoudre et diffuser dans la matrice lipidique située entre les filaments de kératine et au sein des lipides intercellulaires. Les petites molécules hydrophiles beaucoup moins diffusibles migreraient lentement au sein des régions riches en eau.

Cette différence d'activité peut s'expliquer d'autre part par la différence de composition chimique des deux types d'extraits. Les extraits organiques moins polaires voire apolaires contiennent comme nous l'avons indiqué (cf. Screening phytochimique)

des composés triterpéniques dont les activités anti-inflammatoires ont été décrites (RECIO et coll. : 1995 ; NIKIEMA, 1997 ; INOUE et coll. , 1988 ; DELLA LOGGIA et coll.: 1994) et des composés stéroïdes dont l'activité anti-inflammatoire a été démontrée alors que les extraits polaires n'en contiennent pas.

La différence d'activité peut également être due à l'existence de part et d'autre de substances appartenant au même noyau de base reconnu pour avoir une activité anti-inflammatoire (dans le cadre de la relation structure-activité) mais sous forme de génines dans les extraits apolaires et d'hétérosides dans les extraits polaires.

II. ETUDE COMPAREE DE L'EFFET ANTI-INFLAMMATOIRE DES EXTRAITS ORGANIQUES (FRACTION CHLOROFORMIQUE ET FRACTION A LA PETROLEINE) VERSUS INDOMETACINE)

Les deux fractions testées et l'indométacine inhibent l'œdème à l'huile de croton de l'oreille de souris d'une manière dose-dépendante (cf. fig. 15). A la même dose (150 µg/oreille), la fraction chloroformique inhibe l'œdème de 70% pendant que l'indométacine en inhibe de 73% et la fraction à l'éther de pétrole de 49% (inhibitions significatives à $p < 0.05$). Les doses-effets 50% (D.E 50) calculées selon le programme informatique de Tallarida (1987) ont pour valeurs 71 ± 4 µg pour la fraction chloroformique ; 160 ± 9 µg pour la fraction à l'éther de pétrole et 60 ± 1 µg pour l'indométacine.

Le rapport d'activité de la fraction chloroformique versus indométacine défini comme étant le rapport entre leur dose-effet 50% est de 0.84 voisin de l'unité témoigne de la quasi-similitude de puissance d'activité anti-inflammatoire ce qui n'est pas le cas pour la fraction à l'éther de pétrole dont la droite de régression ne présente aucun parallélisme par rapport à l'indométacine.

Ces résultats indiquent que la fraction chloroformique apparaît plus active que celle à l'éther de pétrole. La puissance de l'activité anti-inflammatoire des extraits totaux des écorces de tronc de *khaya senegalensis* A. Juss. serait alors imputable à la forte activité de la fraction chloroformique qui pourrait avoir le même mécanisme d'action que l'indométacine sur l'inflammation induite par l'huile de croton sur l'oreille de souris.

Lorsque l'on sait que l'indométacine (anti-inflammatoire non stéroïdien) inhibe la production des prostaglandines (dans le processus inflammatoire) l'hypothèse qui nous vient est celle de vérifier cette similitude de mécanisme d'action d'avec l'indométacine. La vérification de cette hypothèse constituera un axe de recherche de nos futurs travaux.

Il en est de même pour la détermination chimique de la ou les substance(s) active(s) qui pourraient être comme l'indométacine des anti-inflammatoires non stéroïdiens.

D'autres substances à activité anti-inflammatoire seraient présentes dans la fraction à l'éther de pétrole et pourraient avoir, quant à elles, un mécanisme d'action différent d'avec l'indométacine. C'est dans ce but que le fractionnement de cet extrait à l'éther de pétrole est effectué et les fractions testées.

III. INHIBITION COMPAREE DE L'ŒDEME PAR LES EXTRAITS ET FRACTIONS DE L'EXTRAIT A LA PETROLEINE VERSUS INDOMETACINE

Les deux fractions isolées de l'extrait à la pétroléine sont d'une part la fraction des triterpénoïdes (esters triterpéniques) et celle des phytostérols. L'étude de l'activité anti-inflammatoire de ces fractions d'extrait à la pétroléine administrés à la dose de 250 µg/oreille montre qu'à l'instar des extraits réalisés antérieurement, elles possèdent également une activité anti-inflammatoire significative à $p < 0.01$ versus contrôle. Cette activité est évaluée à 58.7 % d'inhibition de l'œdème pour la fraction des triterpénoïdes (esters triterpéniques) et à 62.8 % pour la fraction des phytostérols composée de (Béta-sitostérol, campestérol et stigmastérol. Cette activité des fractions reste cependant inférieure à celles de l'extrait chloroformique (79.9% d'inhibition d'œdème) et de l'indométacine (82.7 % d'inhibition d'œdème) mais supérieure à celle de l'extrait aqueux après épuisement successifs à l'éther de pétrole, au chloroforme (11% d'inhibition d'œdème), à celle de l'extrait méthanolique après épuisement à la pétroléine et au chloroforme (25.6 % d'inhibition d'œdème), à celle de l'extrait aqueux total lyophilisé (44.4 % d'inhibition d'œdème).

L'existence d'une activité anti-inflammatoire de la fraction des triterpénoïdes (esters triterpéniques) confirme l'hypothèse que nous avons formulée dans le chapitre screening phytochimique pour l'identification des composés actifs (anti-inflammatoires). KWEIFIO-OKAI et coll. in NIKIEMA (1997) indique que les esters palmitiques linoléiques de l' α -amyrine et du lupéol manifestent une activité antiarthritique importante. Ces esters diminueraient la production de leucotriènes B_4 grâce à une activité inhibitrice sur la 5-lipoxygénase des neutrophiles.

L'activité anti-inflammatoire démontrée de la fraction des phytostérols confirme également l'activité des stéroïdes comme anti-inflammatoires. L'activité anti-inflammatoire de la fraction des phytostérols équivaut à celle de l'extrait total à l'éther de pétrole et semble à elle seule expliquer l'activité de cet extrait total.

L'hypothèse selon laquelle il existerait d'autres substances dont le mécanisme d'action est différent de celui de l'indométacine et donc différent de celui des AINS (anti-inflammatoire non stéroïdien) que nous avons émise plus haut est confirmée par la mise en évidence de composés stéroïdes (notamment les phytostérols) dont l'activité anti-inflammatoire a été évaluée.

Il reste à vérifier le mécanisme d'action de ces stéroïdes quand on sait que les stéroïdes de la corticosurrénale en particulier les glucocorticoïdes empêchent l'activation de la phospholipase A_2 qui libère l'acide arachidonique des phospholipides de la membrane cellulaire antagonisant ainsi les processus inflammatoires. La même étude est à réaliser pour les composés terpénoïdes qui agiraient en inhibant la cycloxygénase et la synthèse des prostaglandines. Ils empêcheraient la biosynthèse des acides eicosaénoïques et les leucotriènes par inhibition des lipoxygénases. Ils exerceraient une inhibition de la biosynthèse du Tromboxane (TXA_2), une inhibition de la migration des leucocytes et des macrophages.

IV. ACTIVITE HYPOTHERMISANTE

L'inflammation est caractérisée par les symptômes classiques qui sont la rougeur (pour les peaux claires), la douleur, l'œdème, l'hyperthermie et la perte de fonction. Après avoir mis en évidence l'inhibition de l'œdème par les différents extraits, il nous a semblé intéressant pour compléter cette étude anti-inflammatoire, d'explorer l'effet de

ces extraits sur la thermorégulation en particulier l'aspect hypothermisant qui pourrait participer à l'activité antihyperthermisante recherchée parfois lors des traitements anti-inflammatoires.

Les résultats obtenus montrent l'existence d'un effet hypothermisant net qui est réversible pour les faibles doses (750 mg/kg) d'extrait aqueux de poudre d'écorce. L'effet hypothermisant est plus prononcé et prolongé dans le temps à la dose de 1000 mg/kg. La réversibilité se fait plus lentement au bout de 48 h.

Au-delà de la doses de 1125 mg/kg, la baisse de température est plus prononcée et le maximum de baisse est atteint autour de 19 heures après administration. Cette baisse devient irréversible et plus de 50% des animaux en expérimentation meurent.

Cet effet hypothermisant peut alors (à condition de ne pas se situer dans les doses toxiques) participer à l'effet antihyperthermisant (antipyrétique) parfois recherché dans le traitement anti-inflammatoire. Il reste que l'effet antipyrétique des extraits d'écorces de *khaya senegalensis* doit être étudié dans le cadre de nos futures études.

V. TOXICITE GENERALE AIGUË

Les résultats obtenus attestent la validité du test réalisé. En effet, les rapports DL5/DL50 (= 0.46) et DL50/DL95 (= 0.45) sont pratiquement les mêmes démontrant la régularité de la pente de la droite de regression de la mortalité en fonction des doses. DL95 vaut 5 fois DL5.

L'évaluation de la toxicité des extraits d'écorces de *khaya senegalensis* est très importante pour fixer un garde-fou de l'utilisation de la plante. La DL50 de l'extrait aqueux lyophilisé nous permet de le classer parmi les extraits moyennement toxiques lorsqu'il est administré en intrapéritonéale chez la souris. L'extrait aqueux lyophilisé semble exercer une toxicité supérieure par voie intrapéritonéale que par voie orale dont la DL50 est supérieure à 1500 mg/kg contre 203 mg/kg en 72 heures en i.p.

Cette toxicité est corrélée d'un certain nombre de signes :

- hypothermie
- tendance à l'immobilisation
- perte d'instinct d'exploration

- tendance à l'endormissement et au regroupement
- perte de tonus
- refus de s'alimenter

L'hypothermie relevée au cours de cette étude serait alors un témoin, voire un signe de la toxicité de l'extrait aqueux lyophilisé des écorces de la plante à l'instar de ce qui est observé avec certains psychotropes tels les neuroleptiques (COHEN, 1986 ; GINESTET et coll., 1988).

Une action centrale pourrait alors être envisagée si l'on considère les manifestations associées à cette hypothermie au cours de la toxicité générale aiguë. ADESINA (1983) avait déjà fait mention que l'extrait hydro-alcoolique des écorces de tronc à raison de 2g /kg provoquait une dépression, une sédation et réduisait l'activité locomotrice chez la souris.

Les études sur la toxicité aiguë des extraits organiques en particulier l'extrait chloroformique (extrait le plus actif) montrent qu'ils sont moins toxiques eu égard au protocole adopté, leurs DL50 étant supérieures à celle de l'extrait aqueux lyophilisé. Cela semble présenter un intérêt quant à leur utilisation lorsqu'on établit le rapport activité et toxicité par rapport aux extraits aqueux.

C. GALENIQUE

Les méthodes de préparation et de contrôle de qualité des produits formulés ont été exécutées selon les préceptes de l'art. Ce sont des méthodes validées et consignées dans divers ouvrages de Pharmacie Galénique et qui répondent aux normes de bonnes pratiques de fabrication.

I. Les crèmes réalisées

Les trois crèmes se réalisent assez aisément à la paillasse sans artifice particulier. Elles sont de bonne consistance et adhèrent bien à la peau en procurant une sensation de fraîcheur. Lavables à l'eau, la taille des globules et leur répartition assez régulière leur confèrent une assez bonne stabilité physique. Leur pH compris entre 5 et 6 est voisin de

celui de la peau et ne semble pas provoquer d'irritation comme le témoigne l'indice d'irritation cutanée primaire qui est inférieur à 0.5.

Du point de vue de l'activité, après 6 heures de contact, la crème de l'extrait aqueux lyophilisé provoque une inhibition de 13.9 % de l'œdème à l'huile de croton de l'oreille de souris soit 43.5% de l'effet attendu (exercé par la même dose de l'extrait aqueux lyophilisé seul et non formulé qui est de 44.4 %). Cette activité est de 21.4 % pour la crème de l'extrait à la pétroléine soit 34.1 % de l'effet attendu (exercé par la même dose d'extrait à la pétroléine non formulé qui est de 62.8 %). Elle est de 22.8% pour la crème de l'extrait chloroformique soit 28.5% de l'effet attendu (exercé par la même dose d'extrait chloroformique seul et non formulé qui est de 79.9%).

On en déduit que d'une manière absolue, la biodisponibilité de la crème de l'extrait chloroformique est supérieure à celle de la crème de l'extrait à la pétroléine qui est elle-même supérieure à celle de la crème de l'extrait aqueux lyophilisé. D'une manière relative, la crème de l'extrait aqueux lyophilisé est plus active, ensuite la crème de l'extrait à la pétroléine et enfin la crème de l'extrait chloroformique. L'observation des tests (organoleptiques, physiques, pH) et le suivi de l'activité des crèmes au cours du temps à la température ambiante montrent une stabilité de la formulation et de l'effet anti-inflammatoire (les différences d'effet observées au cours du temps (6 mois) de chaque crème étant non significatives à $p < 0.05$).

II. Les gels réalisés

Comme les crèmes, les gels se réalisent aisément à la paillasse. Ils adhèrent bien à la peau en produisant une sensation de fraîcheur et sont lavables à l'eau. Ce sont des gels dont l'indice d'irritation cutanée primaire est inférieur à 0.5 et sont donc des gels non irritants de la peau. Du point de vue de leur activité, le gel de l'extrait aqueux lyophilisé provoque une inhibition de l'œdème à l'huile de croton de 30.4 % soit 68.5 % de l'effet attendu qui est de 44.4 % ; le gel de l'extrait à la pétroléine a, quant à lui, un effet inhibiteur de l'œdème de 20.4% soit 32.5 % de l'effet attendu qui est de 62.8 %. Le gel de l'extrait chloroformique a un effet inhibiteur de 24.8 % soit 31.0 % de l'effet attendu tandis que le gel de l'indométacine, utilisé comme témoin exerce un effet de 24.7 % soit 29 % de l'effet attendu qui est de 82.7%

D'une manière absolue, la biodisponibilité semble plus importante pour le gel de l'extrait aqueux que celle des gels des autres extraits. La biodisponibilité du gel de

L'extrait chloroformique semble identique à celle du gel de l'indométacine, leur activité étant la même 25 % environ confirmant la similitude d'activité décrite au chapitre pharmacologie entre l'extrait chloroformique et l'indométacine. Le gel de l'extrait à la pétroléine, quant à lui, semble avoir une biodisponibilité inférieure aux autres gels, son activité n'étant que de 20 % d'inhibition d'œdème.

D'une manière relative, la biodisponibilité du gel de l'extrait aqueux lyophilisé semble demeurer la plus importante, puis viennent le gel de l'extrait à la pétroléine, le gel de l'extrait chloroformique et de l'indométacine. Les tests (organoleptiques, physiques et pH) de stabilité et le suivi de l'effet inhibiteur de l'œdème de l'oreille de souris au cours du temps montrent que pour une période d'observation de 4 mois, les gels conservent leur stabilité physique et d'action.

**CONCLUSION GENERALE
ET
PERSPECTIVES**

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Khaya senegalensis ou quinquina du Sénégal fait partie des 1400 espèces de la famille des Meliaceae et l'un des six éléments du genre *khaya* qui poussent en Afrique. C'est un grand arbre de 25 à 30 m de haut typique des savanes arborées. Il est souvent utilisé pour son ombrage et comme arbre d'avenues dans les grandes villes en particulier au Burkina Faso où il jouit d'une grande réputation en médecine et pharmacopée traditionnelles.

D'usages très diversifiés en médecine et pharmacopée traditionnelles, toutes les parties de la plante sont utilisées. Rares sont les plants adultes de *khaya senegalensis* dont le tronc n'ait pas été mutilé pour les nombreux usages des écorces. Parmi ces usages, on peut citer non seulement son emploi comme tonique et fébrifuge dans le paludisme d'où il tire son nom de quinquina du Sénégal, mais également dans diverses pathologies en Gastro-entérologie, en Rhumatologie, en Parasitologie, en Gynécologie, en Dermatologie, en Pneumologie, en O.R.L., en Cardiologie, en Maladies infectieuses, en Odontostomatologie, en Ophtalmologie, en Traumatologie... et dans diverses pathologies à composante inflammatoire.

Du point de vue chimique, nos études sur l'écorce de tronc mettent en évidence les principaux groupes chimiques suivants : Acides gras, Coumarines, Tanins catéchiques et galliques. Anthracénosides, Glycosides stéroïdiques, Flavonosides, Composés réducteurs, Glucides, Saponosides, Stérols et triterpènes, Anthocyanosides. Le fractionnement de l'extrait à l'éther de pétrole a permis l'identification de trois phytostérols notamment le β sitostérol composant majeur, le stigmasterol et le campesterol.

Du point de vue pharmacologique, la recherche d'un support pharmacodynamique explicatif de l'utilisation des écorces de tronc dans les pathologies à composante inflammatoire a été réalisée justifiant cet usage traditionnel. Ainsi, différents extraits et fractions d'extrait ont été testés vis-à-vis de l'œdème provoqué par l'huile de croton sur l'oreille de souris et ont donné les résultats suivants permettant de les classer par ordre croissant d'activité anti-inflammatoire :

- Extrait aqueux après épuisements successifs à l'éther de pétrole, au chloroforme, au méthanol (11% d'inhibition d'œdème)
- Extrait méthanolique après épuisement à l'éther de pétrole et au chloroforme (25.6 % d'inhibition d'œdème)
- Extrait aqueux total lyophilisé (44.4% d'inhibition de l'œdème)
- Fraction des esters triterpeniques de l'extrait à l'éther de pétrole (58.7 % d'inhibition de l'œdème)
- Fraction des phytostérols de l'extrait à l'éther de pétrole (62.8 % d'inhibition de l'œdème)
- Extrait à l'éther de pétrole (62.8 % d'inhibition de l'œdème)
- Extrait chloroformique après épuisement à l'éther de pétrole (79.9 % d'inhibition d'œdème)
- Indométacine (82.7 % d'inhibition d'œdème).

Cette investigation préliminaire a permis de cibler les extraits organiques (moins polaires voire apolaires) comme étant plus actifs que les extraits alcooliques et aqueux (plus polaires). Ainsi, une étude comparative de l'activité des extraits moins polaires (extrait chloroformique et extrait à l'éther de pétrole) a été faite versus l'indométacine comme témoin. Les résultats montrent que l'extrait chloroformique a une activité dose dépendante comparable avec celle de l'indométacine (AINS) et qu'il n'y a pas de différence significative entre leur droite de régression dose-effet.

Cette quasi-similitude de droite de régression dose-effet semble indiquer la possible existence d'un même mécanisme d'action pour les deux produits (mécanisme d'action anti-inflammatoire des AINS). Les doses-effets 50 % (DE 50) sont respectivement $160 \pm 9 \mu\text{g}$ pour l'extrait à l'éther de pétrole ; $71 \pm 4 \mu\text{g}$ pour l'extrait chloroformique et $60 \pm 1 \mu\text{g}$ pour l'indométacine.

Le fractionnement de l'extrait à l'éther de pétrole a permis de tester l'activité de deux fractions : les phytostérols (β sitostérol, campestérol et stigmastérol) et les esters triterpeniques. La fraction des phytostérols a une activité inhibitrice de l'œdème de 62.8 % équivalente à celle de l'extrait total à l'éther de pétrole.

La fraction des esters triterpéniques, quant à elle, exerce une activité inhibitrice de l'œdème de 58.7 %. L'activité des phytostérols seuls semble expliquer celle de l'extrait total à l'éther de pétrole.

L'investigation sur l'activité de l'extrait aqueux total sur la thermorégulation montre un effet hypothermisant net qui peut participer à l'activité antipyrétique recherchée. Cet effet hypothermisant est réversible 24 heures après aux doses faibles 750 mg/kg

Il devient plus important et prolongé dans le temps aux doses plus fortes (1000 mg/kg) où la réversibilité intervient au bout de 48 heures. Aux doses massives de 1125 et 1500 mg/kg, l'abaissement de la température corporelle est plus importante et devient irréversible. La mort survient pour plus de 50 % des animaux en expérimentation au-delà de 24 heures d'observation.

Du point de vue de la toxicité générale aiguë, l'extrait aqueux lyophilisé présente une DL50 (après 72 heures d'observation et en intrapéritonéale) de 203 mg/kg le classant parmi les substances moyennement toxiques. Il est à noter que cette toxicité est moindre lorsque l'extrait aqueux lyophilisé est administré per os (DL50 supérieure à 1500 mg/kg). L'extrait chloroformique présente une toxicité moindre que l'extrait aqueux lyophilisé et possède une DL50 en i.p. supérieure à 625 mg/kg dose à laquelle aucune mortalité n'a été observée.

Du point de vue galénique, les essais de formulation ont permis de réaliser trois crèmes à 1% et trois gels à 1% dont l'activité anti-inflammatoire s'avère satisfaisante et cela, au bout de six heures et en application unique :

- Crème de l'extrait aqueux lyophilisé : 19.3 % d'inhibition de l'œdème
- Crème de l'extrait à l'éther de pétrole : 21.4 % d'inhibition de l'œdème
- Crème de l'extrait chloroformique : 22.8 % d'inhibition de l'œdème
- Gel de l'extrait aqueux lyophilisé : 30.4 % d'inhibition de l'œdème
- Gel de l'extrait à l'éther de pétrole : 20.4 % d'inhibition de l'œdème
- Gel de l'extrait chloroformique : 24.8 % d'inhibition de l'œdème
- Gel de l'indométacine : 24.7 % d'inhibition de l'œdème

D'une manière générale les gels obtenus présentent une meilleure biodisponibilité.

Les rapports effet (gel) sur effet (extrait correspondant) sont les suivants : 68.5 % pour l'extrait aqueux lyophilisé ; 32.5 % pour l'extrait à l'éther de pétrole ; 31 % pour l'extrait chloroformique et 29.9 % pour l'indométacine. Les rapports effet (crème) sur effet (extrait) sont respectivement 43.5 % pour l'extrait aqueux lyophilisé ; 34.1 % pour l'extrait à l'éther de pétrole et 28.5 % pour l'extrait chloroformique. La crème et le gel de l'extrait aqueux lyophilisé à 1 % semblent les plus intéressants d'exploiter compte tenu de leur plus grande biodisponibilité et que l'extrait lui-même présente le meilleur rendement d'extraction.

Comme perspectives, au niveau de la chimie, l'isolement de substances pures responsables de l'activité anti-inflammatoire est à envisager afin de pouvoir suivre la stabilité chimique des formes réalisées. Par ailleurs la détermination chimique des substances actives nous permettra de comprendre mieux suivant la relation structure-activité et les propriétés physico-chimiques de ces composés leurs mécanismes d'action.

Au niveau de la pharmacologie, les mécanismes d'action des différents extraits devront être étudiés et cela, conformément à la nature des composés isolés. Une activité anti-inflammatoire similaire à l'indométacine nécessite une investigation en direction du mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens à savoir la recherche de l'inhibition de la production des prostaglandines par exemple. La démonstration faite de l'activité anti-inflammatoire des phytostérols (composés stéroïdes) nous recommande pour les études futures une recherche en direction du mécanisme d'action des anti-inflammatoires stéroïdiens.

La recherche de l'activité antipyrétique et antalgique des extraits d'écorces de *khaya senegalensis* A. Juss. est à envisager pour compléter l'activité anti-inflammatoire démontrée.

Au niveau de la formulation galénique, il nous paraît opportun dans le but de poursuivre les objectifs définis dans le cadre de ce travail, de réaliser une production suffisante des formes réalisées dans la perspective des études cliniques complémentaires sur des animaux puis en milieu hospitalier. Dès lors, les formes réalisées offrent des perspectives d'utilisation des extraits d'écorces de *khaya senegalensis* sous forme de crèmes et de gels anti-inflammatoires. Elles contribuent ainsi à la valorisation des

données de la médecine et de la pharmacopée traditionnelles par une approche plus rationnelle et par la mise en forme galénique moderne adéquate selon des normes de bonnes pratiques de fabrication.

BIBLIOGRAPHIE

- ADESINA S. K. (1983) – Chemical Examination of *Khaya senegalensis* and *Khaya senegalensis* Fitoterapia, 54 (3) , 141-143
- ADESOGAN E. K., POWEL J. W., TAYLOR D.A.H. (1967) – Extractives from the Seed of *Khaya senegalensis* J. Chem. Soc., C , 554-556
- ADESOGAN E. K., TAYLOR D.A.H. (1968). Extractives from *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss. J. Chem. Soc.,C, 1974-1983
- ADESOGAN E. K. (1968) .The Chemical Constituents of *Khaya senegalensis* (Vernier du Sénégal) Comm. Symposium. Interafric. Pharmacopées Traditionnelles Méd. (Dakar)
- ADJANHOHOUN E.J., AHYI A.M.R., AKE ASSI L., DAN DICKO L., BAQUIDA H., DELMAS M., DE SOUZA S., GARBA M., GUINKO S., KAYONGA A., N'GOLO D., RAYNAL J.L., SAADOU M. (1985). Médecine traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristique au Niger. A.C.C.F. 2 ème Ed. Paris –99.
- ANONYME (1978). L'OMS et les plantes médicinales. Pharmacie mondiale N° 108, 17-18.
- ANTON R. (1979). Médicaments aromatiques, une thérapeutique d'avenir ? Les Actualités Pharmaceutiques N° 154, 26.
- ASPINAL G.O., JOHNSON M.J., STEPHEN A. M. (1960). Plant Gums of the genus *Khaya*. Part II. The Major Component of *Khaya senegalensis* Gum. J. Chem. Soc. C, 4918-4927.
- ASPINAL G.O., JOHNSON M. J., YOUNG R. (1965). Plant Gums of the genus *Khaya*. Part III. The Minor Component of *Khaya senegalensis* Gum. J. Chem. Soc. C, 2701-2710.

ASPINAL G.O., BHATTACHARJEE A.K. (1970). Plant Gums of the Genus *Khaya*, Further Studies on *Khaya senegalensis* Gum. J. Chem. Soc. (c), N°2, 365-369

ATTISO M. A. (1979). Une matière première de grande consommation. Le courrier de L'UNESCO-ONU, Paris, 7-8.

BANERJI B., NIGAM S. K. (1984). Wood Constituents of MELIACEAE : A Review- Fitoterapia, 55 (1), 3-36

BERHAUT J. (1967). Flore du Sénégal. Editions Clairafrique, 2ème Ed. Dakar – 60-62.

BERHAUT J. (1979). Flore illustrée du Sénégal. Editions Clairafrique. Dakar, 4, 329.

BEVAN C.W.L., POWEL J. W., TAYLOR D.A.H. (1963). West African Timbers – Part VI- Petroleum Extracts from Species of Genera *Khaya*, *Guarea*, *Carapa* and *Cedrela*, J. Chem. Soc., 980-982.

BEVAN C.W.L., EKONG D.E.U., TAYLOR D.A.H.(1965). Extractives from West African Members of the Family Meliaceae. Nature G.B., 206, 1323-1325.

BOUQUET A., DEBRAY M. (1974). Plantes médicinales de la Côte d'Ivoire Travaux et Documents de l'ORSTOM, Paris, 32, 111-113.

BROCHERE-FERREOL G., POLONSKY G., MITRA C. (1958). Sur le Nimbostérol. C.R. Ac. Sc., 246, 3082-3084.

CAVENTOU E. (1849). Recherches chimiques sur l'écorce du Caïlcédrat, *Swietenia senegalensis* Thèse Ecole Sup. Pharm., Paris.

CAVENTOU E. (1849). Recherches chimiques sur l'écorce du Caïlcédrat. J. Pharm. Chim., 16, 355-362.

CHAMPAGNE D.E., KOUL O., ISMAN M.B., SCUDDER G.G.E., TOWERS G.H.N. (1992). Biological Activity of Limonoids from the Rutales. *Phytochem.* . 31 (2), 377-394.

CIULEI I. (1982). Methodology for Analysis of Vegetable Drug. Practical Manuals on Industrial Utilization of Medicinal and Aromatic Plants – Edited by the Ministry of Chemical Industry Bucharest- 16-27.

COHEN Y. (1986). *Abrégé de Pharmacologie*. Masson, 2ème Ed., Paris, 89-263.

COUMONT H., DELFOSSE M., DUYSKAERTS B., FERONT-VANSLAMBROUCK J., GAUQUIER P., GOSSELIN M., HANQUIN J.M., LAPAILLE J. P., VERVAEREN J. (1995). *Memento de Pharmacie Galénique*. A.P.B/Service Scientifique. Bruxelles, 175-228.

DELACROIX G. (1903). Sur quelques processus de gommification. *C.R. Ac. Sc.*, 137, 278-279

DELESPESE G. (1985). Les corticostéroïdes dans les années 80. *Actualités hospitalières*. UPJOHN. Canada, 10-12.

DELLA LOGGIA R., TUBARO A., SOSA S., BECKER H., SAAR S., ISSAC O. (1994) .The Role of Triterpenoids in the Topical Anti-inflammatory Activity of *Calendula Officinalis* Flowers *Planta Med.*, 60, 516-520.

DOMART A., BOURNEUF J. (1981). *Nouveau Larousse Médical*. Editions de la librairie LAROUSSE, Paris, 530.

DUVEAU N. M. (1856). De l'écorce de Caillédraat (*Khaya senegalensis*) et de l'emploi de ses préparations comme succédané du quinquina. Thèse diplôme Pharm. Paris.

FORTIN D., LO M., MAYNART G. (1990). Plantes médicinales du Sahel CECI (MONTREAL) et ENDA (DAKAR). Série Etude et Recherche, 174-176.

GINESTET D., KAPSAMBELIS V., BRION N. (1988). Neuroleptiques in Pharmacologie Clinique ; Bases de la thérapeutique. Expansion Scientifique Française, 2ème Ed., Paris, 1209-1232.

GUINKO S. (1977) . Médecine traditionnelle et Pharmacopées Africaines. Traitement traditionnel de quelques maladies en pays Bissa (République de Haute Volta). 3ème Colloque du CAMES, Kigali (RWANDA), 229.

GUINKO S., MILLOGO/RASOLODIMBY J., BOUSSIM I. J. (1995). Caractéristiques de quelques familles d'Angiospermes représentées dans l'Ouest Africain. Fascicule à l'usage des Etudiants de Pharmacie II, de Licence et Matrisse en Sciences Biologiques. Labo. Bota. Bio. Végét., Université de Ouagadougou, 21.

HODGE H.C., STERNER J.H. (1943) – Détermination of Substances acute Toxicity by DL50 – American Industrial Hygien Association, 10, 93.

INOUE H., MORI T., SHIBATA S., KOSHIMARA Y. (1988). Inhibitory Effect of Glycyrrhetic Acid Derivatives on Arachidonic Acid-induced Mouse Ear Oedema. J. Pharm., Pharmacol., 40, 272-277.

INSTITUT DE RECHERCHE EN BIOLOGIE ET ECOLOGIE TROPICALE (1982). Fiche monographique. Bilan : *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss. IIIème Comité de la recherche forestière. Ouagadougou.

INSTITUT DE RECHERCHE EN BIOLOGIE ET ECOLOGIE TROPICALE (1983). Inventaire de l'herbier du Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique de Haute-Volta. 1 vol. polygr. De 81 p. Ouagadougou, 48.

JAMINET F., DENOEL A. (1971). Pharmacie Galénique V. Les Presses Universitaires de Liège, 244.

KEITA S.M., ARNASON J.T., BAUM B.R., MARLES R., CAMARA F., TRAORE A.K. (1995). Etude ethnopharmacologique traditionnelle de quelques plantes médicinales antihelminthiques de la République de Guinée. *Revue Méd. Pharm. Afr.*, 9 (2), 119-133.

KERHARO J., ADAM J.G. (1974). La Pharmacopée sénégalaise traditionnelle : Plantes médicinales et toxiques. Edition Vigot frères. Paris, 3-545.

KONATE L.D., SINARE T., SEROUSSI M. (1994). Enquête démographique et de santé. BURKINA FASO. I.N.S.D. et Macro International Inc., 11-17.

LOMPO M. (1993). Etude pharmaco-toxicologique chez la souris et le rat de *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss (MELIACEAE) utilisé en tradithérapeutique au Burkina Faso Mémoire de D.E.A. *Physiol. Anim. Appl.* Université de Ouagadougou.

LOMPO M., GUISSOU I.P, SOME N. (1995a). Inhibition des contractions intestinales du rat par l'extrait aqueux (Macération) des écorces de tronc de *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss. (MELIACEAE). *Rev. Méd. Pharm. Afr.*, 9 (2), 83-96.

LOMPO M., GUISSOU I.P., SOME N. (1995b). Effet hypothermisant et toxicité général aiguë chez la souris de l'extrait aqueux des écorces de tronc de *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss. (MELIACEAE). *Rev. Méd. Pharm. Afr.*, 9 (2), 97-106.

LOMPO M., NIKIEMA J.B., GUISSOU I.P., MOES A.J. and FONTAINE J. (1998). The Topical Antiinflammatory Effect of Chloroform Extract from *Khaya senegalensis* Stem Barks. *Phytother. Res.* 12, 448-450.

MARCHE-MARCHAD J. (1965). Le monde végétal en Afrique intertropicale. Editions de l'Ecole. Paris, 345-348.

MASCRE M. (1965). Matière médicale végétale : Champignons, Algues, Lichens, Cryptogrammes vasculaires, Gymnospermes, Monocotylédones, Dicotylédones apétales. C.D.U. Fascicule II, Paris, 377.

MOYSE-MIGNON H. (1942). Recherches sur quelques Méliacées et sur leurs principes amers. Thèse Doct. Univ. (Pharm.), Paris

NIELSEN M. (1965). Introduction to the Flowering Plants of West Africa. University of London Press LTD, London, 132-136.

NIKIEMA J.B. (1997). Contribution à l'étude phytochimique et pharmacologique de *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne. Thèse Doctorat es Sciences Pharmaceutiques, Institut de Pharmacie, Université Libre de Bruxelles.

NJOKU C.I., OKUWASABA F.K., ISIGUZE G.O., UZOIGWE N.R., KEKU T.O., DADAH A.J., MAIDERI M. (1988). «Local Medicinal Plants in Health Care System in Parts of Plateau State, Nigeria, I. Plant Extracts Used in the Treatment of Gastrointestinal Disorders», A Paper presented in the 4th Annual Conference of the Biotechnology Society of Nigeria, Von , Jos Nigeria. 22-23 May.

OLAYINKA A.O., ONORUVWE O., LOT T.Y. (1992). Cardiovascular Effects in Rodents of the Methanolic Extract of the Stem Bark of *Khaya senegalensis* A. Juss. *Phytotherapy Research*, 6, 282-284.

OLAYINKA A.O., ONORUVWE O., UDOH F.V., LOT T.Y. (1994). Effect of *Khaya senegalensis* Purinergic Transmission in the Rat Bladder. *International Journal of Pharmacognosy*, 32 (4), 346-351.

OLIVIER-BEVER B. (1986). Medicinal Plants in Tropical West Africa. Cambridge University Press, 86.

OLMO L.R.V., DASILVA M.F.G.F., FO E.R., VIEIRA P.C., FERNANDES J.B., MARSAJOLI A.J., PINHEIRO A.L., VILELA E.F. (1996). Rearranged Limonoids from *Khaya senegalensis*. *Phytochem.*, 42 (3), 831-837.

OLMO L.R.V., DA SILVA M.F.G.F., FO E.R., VIEIRA P.C., FERNANDES J.B., PINHEIRO A.L., VILELA E.F. (1997). Limonoids from Leaves of *Khaya senegalensis*. *Phytochem.*, 44 (6), 1157-1161.

O.M.S. (Representation de Ouagadougou) (1994). Rapport du 1er atelier interpayés sur les médicaments traditionnels (Burkina-Guinée-Mali). Document N°1. OMS OUAGADOUGOU, 24.

OLWA O., MAKANGA B., BYARUHANGA M.A. (1990). Toxicity of the Seed Extract of *Khaya grandifoliola* on some Pulmonate Fresh Water Snails. *Fitoterapia*, 61 (1), 50-53.

PARES Y., ANDRE M., NDOYE S., LEYE G. (1979). Etude des plantes utilisées en médecines traditionnelles africaines pour le traitement de la lèpre. 4ème Colloque du CAMES. Libreville (GABON), 65.

PARIS R., MIGNON H. (1939). Sur quelques Meliacées réputées fébrifuges. *Bull. Sc. Pharmacolog.*, 46, 104-108.

PELT J.M. (1979). Les plantes médicinales : un savoir à réinventer. *Le courrier de l'UNESCO- ONU*, Paris, 8-13.

PLOUVIER V. (1965). Sur la recherche des polyalcools dans quelques groupes botaniques, Le pinitol et séquoyitol des cycadacées. *C.R. Ac. Sc.*, 260, 1003-1006.

POLONSKY J., LEDERER E. (1959). Note sur l'isolement de la diméthoxy-2.6 benzoquinone des écorces du bois de quelques Simarubacées et Mimosacées. *Ann. Soc. Chim., France*, 1157-1158.

RAGEAU J. (1973). Les plantes médicinales de la Nouvelle Calédonie. *Revue et Documents de l'ORSTOM*, Paris, 23, 61.

RECIO M.C., GINER R.M., MANEZ S., GUEHO J., JULIEN H.R., HOSTETTEMANN K., RIOS J.L. (1995). Investigation on the Steroidal Anti-inflammatory Activity of Triterpenoids From *Diospyros leucomelas*. *Planta Med.*, 61, 9-12.

ROUSSOS J. (1983). Formulation des émulsions (in *Galenica 5: les systèmes dispersés*). *Technique et Documentation Lavoisier*, Paris, 407-421.

SCHORDERET M. (1992) - Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Editions FRISON-ROCHE. (PARIS) et SLATKINE (GENEVE). 2ème Ed., 529-561.

TALLARIDA R.J., MURRAY R.B. (1987). *Pharmacological Calculation System based on «Manual of Pharmacological Calculations With Computer Programs»* 2nd edn Springer-Verlag-New York Inc.

TIDJANI M.A., DIENG C., FAYE B., DIOUF A. (1993). Etude de l'activité anti-inflammatoire de *Khaya senegalensis* (A. Juss.), in vivo. *Plantes médicinales et Phytothérapie*, 26 (4), 404-409.

TYLER V.E., BRADY L.R., ROBBERS J.E., (1976). *Steroids. Pharmacognosy*. Seven Edition. LEA AND FEBIGER. Philadelphia, 197-201.

VON MAYDELL H.J. (1983). Arbres et Arbustes du Sahel. Leurs caractéristiques et leurs utilisations. G.T.Z. ESCHBORN. 283-284.

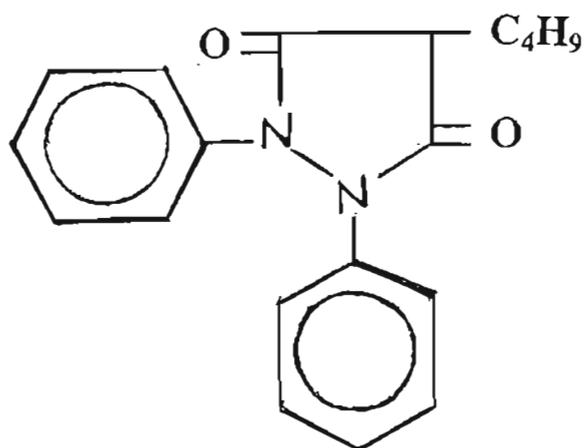
WEPIERRE J. (1977). *Abrégé de Pharmacodynamie générale*. Editions Masson, Paris. 18-22.

ANNEXES

STRUCTURES CHIMIQUES DE QUELQUES GRANDES FAMILLES DES ANTI-INFLAMMATOIRES

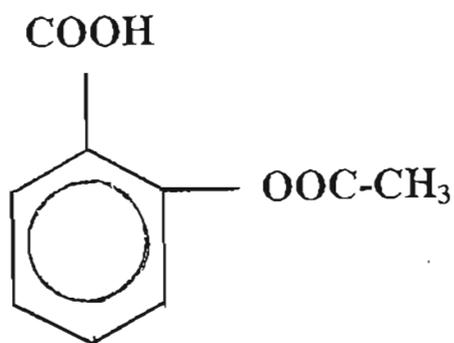
I - LES ANTI-INFLAMMATOIRES NON STERODIENS

1- Les Pyrazolés



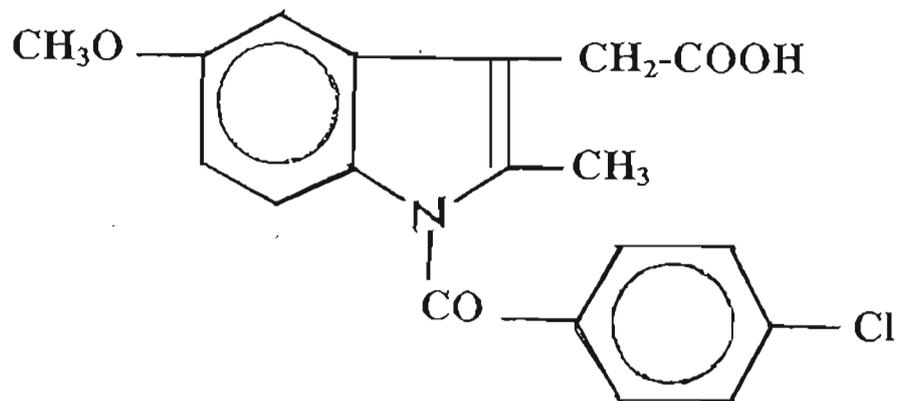
Phenylbutazone

2- Les Salicylés



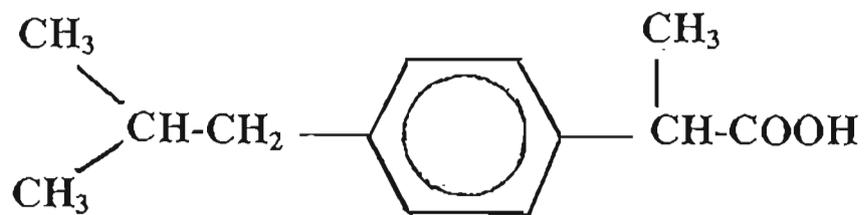
Acide Acétylsalicylique

3-Les Dérivés de l'indole



Indométacine

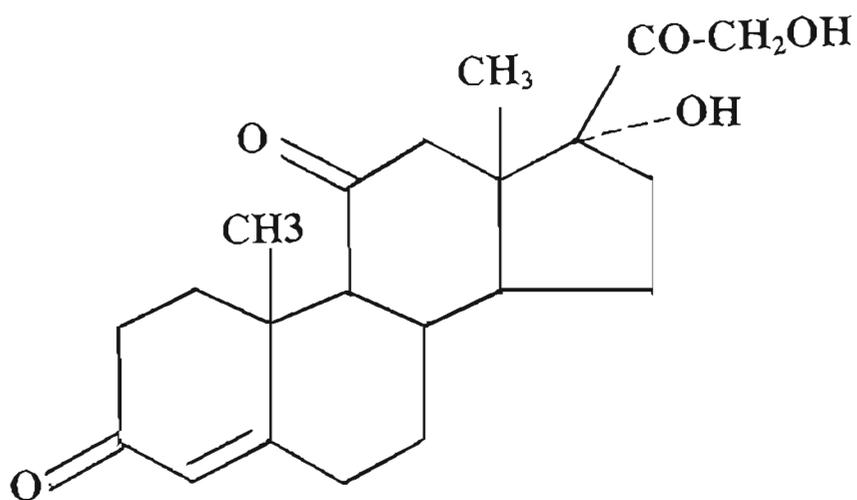
4-Les Dérivés de l'acide Phénylpropionique



Ibuprofène

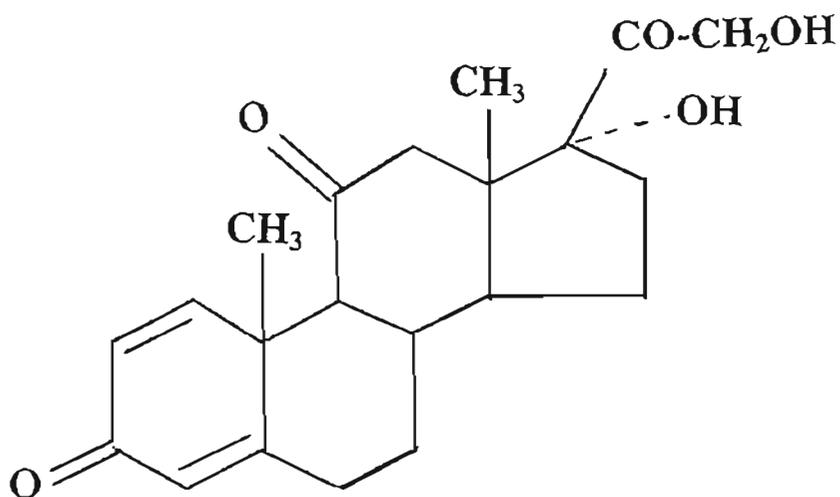
II -LES ANTI-INFLAMMATOIRES STERODIENS

1-Les Glucocorticoïdes naturels



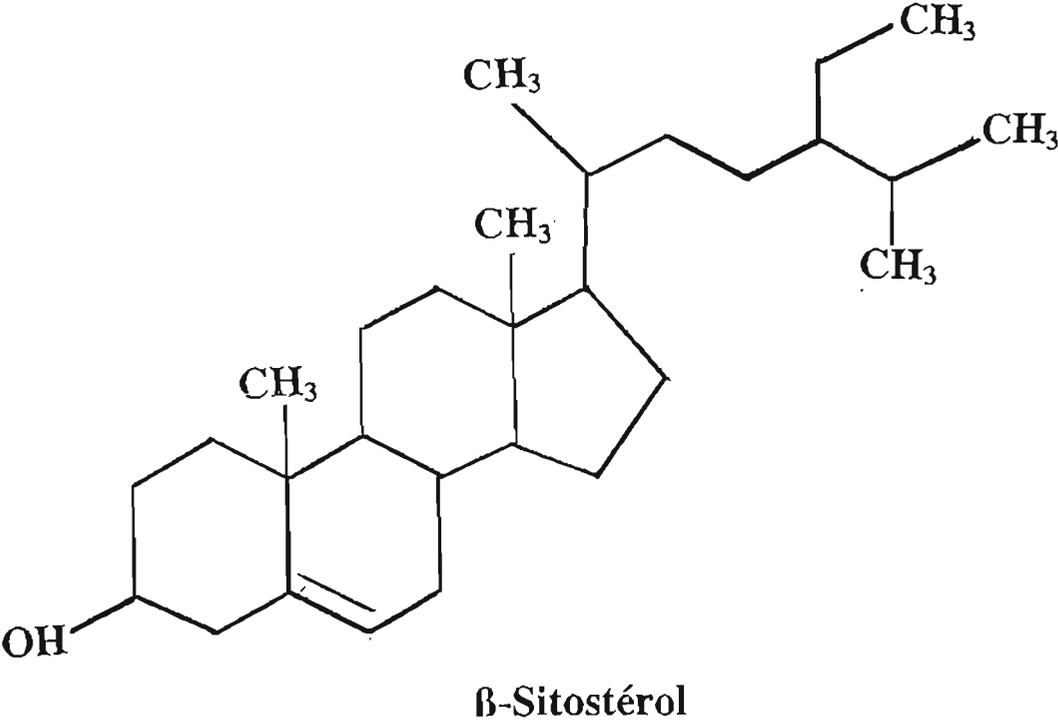
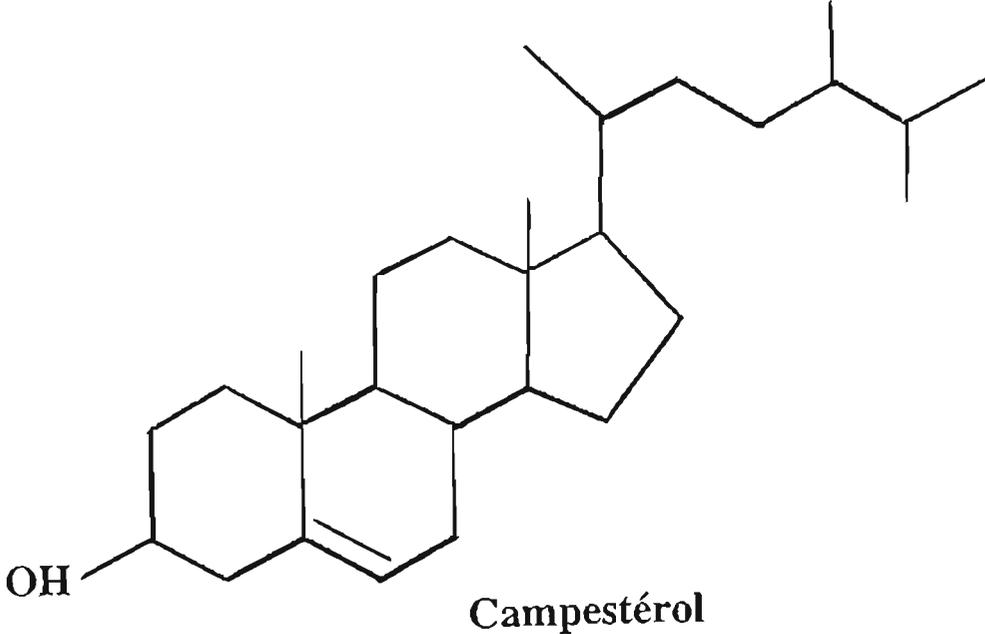
Cortisone

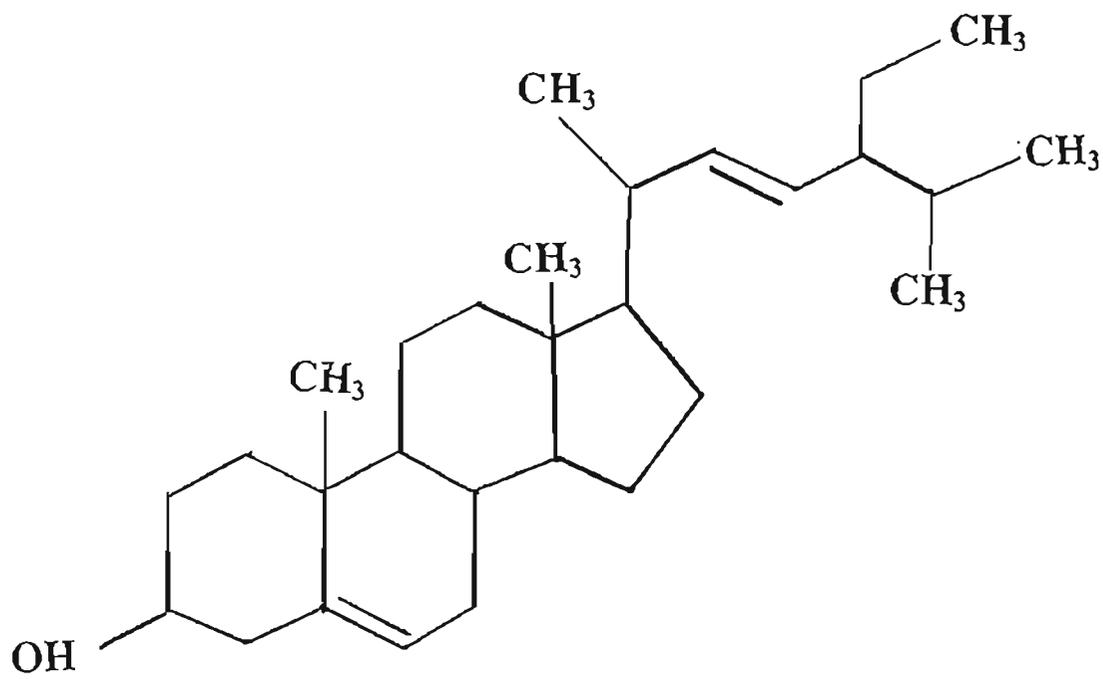
2-Les Glucocorticoïdes de synthèse



Prednisolone

3-Les Stéroïdes d'origine végétale (phytostérols)





Stigmastérol

TITRE : ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DES EXTRAITS D'ECORCES DE TRONC
DE *KHAYA SENEGALENSIS* A. JUSS. (MELIACEAE).
MISE AU POINT D'UNE FORME GALENIQUE TOPIQUE (PHASE I).

MOTS CLES : Anti-inflammatoire. *Khaya senegalensis*. Pharmacopée traditionnelle.
Pharmacologie.

RESUME :

Khaya senegalensis A. Juss. (Meliaceae) est un grand arbre des savanes arborées de 25 à 35m de haut et d'un diamètre pouvant atteindre 100 cm. D'usage très varié, toutes les parties de l'arbre sont utilisées en particulier les écorces de tronc dont les extraits sont employés dans les pathologies à composante inflammatoire au Burkina Faso en tradithérapeutique.

La présente étude a permis la mise en évidence de l'effet anti-inflammatoire de différents extraits sur l'œdème à l'huile de croton de l'oreille de souris fournissant ainsi un support pharmacodynamique explicatif de cet usage traditionnel. Plusieurs fractions de polarité croissante ont été étudiées dans le sens de définir la fraction la plus active et les substances responsables de cet effet anti-inflammatoire. Les résultats obtenus sont : 62.8% d'inhibition d'œdème pour l'extrait à l'éther de pétrole ; 79.9% pour l'extrait chloroformique après épuisement à l'éther de pétrole ; 25.6% pour l'extrait méthanolique après épuisement à l'éther de pétrole et au chloroforme ; 11% pour l'extrait aqueux après épuisements successifs à l'éther de pétrole au chloroforme puis au méthanol.

L'inhibition de l'œdème de l'extrait aqueux total lyophilisé est de 44.4% tandis que la fraction des phytostérols et des esters triterpéniques de l'extrait à l'éther de pétrole provoquent respectivement des inhibitions d'œdème de 62.8% et de 58.7%. L'indométacine, utilisée comme témoin exerce une inhibition de l'œdème de 82.7%.

L'étude montre que les extraits organiques semblent plus actifs et que l'extrait chloroformique après épuisement à l'éther de pétrole a un effet anti-inflammatoire dose-dépendante comparable avec celui de l'indométacine dont les droites de régression doses-effets qui sont parallèles ne présentent pas de différence significative à $p < 0.05$. Les doses-effets 50% (DE50) calculées sont respectivement $160 \pm 9 \mu\text{g}$ pour l'extrait à l'éther de pétrole ; $71 \pm 4 \mu\text{g}$ pour l'extrait chloroformique après épuisement à l'éther de pétrole et $60 \pm 1 \mu\text{g}$ pour l'indométacine.

La formulation de crèmes et de gels à 1% à base de ces différents extraits a permis la mise au point de formes galéniques de bonne qualité et d'activité A.I. intéressante et cela en une seule application et après 6 heures d'observation. Ainsi, la crème de l'extrait aqueux total lyophilisé à 1% inhibe l'œdème de 19.3% ; la crème de l'extrait à l'éther de pétrole à 1% inhibe l'œdème de 21.4% ; la crème de l'extrait chloroformique après épuisement à l'éther de pétrole à 1% inhibe l'œdème de 22.8% ; le gel de l'extrait aqueux total lyophilisé à 1% inhibe l'œdème de 30.4% ; le gel de l'extrait à l'éther de pétrole à 1% inhibe l'œdème de 20.4% ; le gel de l'extrait chloroformique après épuisement à l'éther de pétrole à 1% inhibe l'œdème de 24.8%. Le gel de l'indométacine à 1% inhibe l'œdème de 24.7%.

Une étude de la toxicité générale aiguë des différents extraits a permis d'évaluer la DL50 de l'extrait aqueux total lyophilisé qui est de 203 mg/kg en i.p. chez la souris le classant parmi les substances moyennement toxiques. Les autres extraits apparaissent encore moins toxiques. L'investigation sur la toxicité des formes réalisées montre qu'elles sont dénuées de toute irritabilité, leur indice d'irritation cutanée primaire étant inférieur à 0.5 (norme requise).

AUTEUR : LOMPO MARIUS - PHARMACIEN-

ADRESSE : IRSS/CNRST 03 B.P. 7192 OUAGADOUGOU 03 - BURKINA FASO-