

# Université Assane SECK de Ziguinchor



## UFR Sciences et Technologies

### Département de Chimie



## Mémoire de Master

Spécialité : **S**ynthèse **O**rganique et **P**roduits **N**aturels

**ETUDES D'ACTIVITES ANTIPLASMODIALES D'EXTRAITS  
DE *ICACINA OLIVIFORMIS* (POIRET) RAYNAL ET DE *HURA  
CREPITANS L.***

Présenté par : **Eliane Adelaïde MANGA**

Soutenu publiquement le 15 Juin 2019 devant le jury composé de :

#### **PRESIDENT**

Dr Abdoulaye GASSAMA      Maître de conférences      CAMES      UASZ

#### **RAPPORTEUR**

Dr Mamadou LÔ      Maître Assistant      CAMES      UASZ

#### **EXAMINATEURS**

Dr Mbaye Diagne MBAYE      Maître de conférences      CAMES      UASZ

Dr Armel DIATTA      UASZ

#### **DIRECTRICE DE MEMOIRE**

Dr Anastasie MANGA      Maître Assistant      CAMES      UASZ

## DEDICACES

*Je dédie ce travail*

*A mes très chers parents pour le soutien, l'amour, la patience, l'écoute,  
et la bonne humeur.*

*A Mes tuteurs*

*A Mes sœurs*

*A Mes cousines et cousins*

*A Toute ma famille*

*A Toutes et à tous mes amis*

*Et enfin mille mots ne seraient suffisants pour exprimer à ma mère et  
mon père ma gratitude pour leur soutien, leur aide, leur joie de vivre et  
leur amour...*



## Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à remercier ma directrice de mémoire **Dr Anastasie MANGA** pour le temps qu'elle m'a consacré et pour les informations précieuses qu'elle m'a prodiguées. Je la remercie également pour son soutien, son engagement, ses conseils et l'influence de sa rigueur scientifique. Votre expérience et votre savoir ont été précieux. Merci pour votre confiance réconfortante et pour votre grande disponibilité qui m'ont facilité l'accès à tout moment à votre bureau pour discuter des résultats obtenus. Aussi, je vous remercie pour vos qualités humaines : votre humour, votre enthousiasme et votre sympathie. Je suis extrêmement heureuse et fière d'avoir travaillé avec vous. Votre humilité et votre force de caractère resteront pour moi un exemple à suivre.

Je remercie également **Pr Abdoulaye GASSAMA** pour son suivi, sa disponibilité, ses conseils et son influence sur sa rigueur scientifique. Son implication m'a été d'un grand intérêt pour la conception et l'achèvement de ce document.

J'adresse aussi mes vifs remerciements au **Dr Mamadou LÔ** pour avoir accepté de rapporter ce travail malgré ses occupations, au **Pr Mbaye Diagne MBAYE** pour avoir examiné ce travail.

Je remercie l'ensemble des enseignants chercheurs du département de chimie de l'Université Assane SECK de Ziguinchor (**Pr Chérif BALDE, Pr Magatte CAMARA, Dr Saïdou Nourou DIOP, Dr Papa Aly GAYE, Dr Abdou MBAYE**) ainsi que **Mme Fatoumata M. B. SOUMARE CAMARA** pour tous les efforts consentis, pour la qualité de notre formation et pour vos encouragements. Je tiens à vous exprimer ma reconnaissance.

J'adresse mes sincères remerciements au **Dr Armel DIATTA** pour sa disponibilité, sa contribution et pour sa rigueur. Je ne saurais continuer sans remercier les doctorants du département de chimie pour leurs conseils et leurs remarques pertinentes. Je ne pourrai oublier mon papa, ma maman, et toute ma famille, ainsi que tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réussite de ce document. Une pensée à mes condisciples, aux étudiants du Master 2 (2018-2019) et à toute l'équipe pour toutes les années de partage, de délires, et surtout pour ce parcours très enrichissant. Cela a été un énorme plaisir pour moi de partager ces moments avec vous.

## **Sigles et abréviations**

CQ : Chloroquine

CC : Concentration cytotoxique

CG : Chromatographie en phase gazeuse

CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse-spectrophotomètre de masse

DCFH : Décocté cyclohexanique de feuilles de *Hura*

DAFH : Décocté acétate d'éthyle de feuilles de *Hura*

DDFH : Décocté dichlorométhane de feuilles de *Hura*

DEFH : Décocté éthanol de feuilles de *Hura*

DHAF : Décocté hydro alcoolique de feuilles de *Hura*

DCRH : Décocté cyclohexanique de racines de *Hura*

DARH : Décocté acétate d'éthyle de racines de *Hura*

DDRH : Décocté dichlorométhane de racines de *Hura*

DERH : Décocté éthanol de racines de *Hura*

DHARH : Décocté hydro alcoolique de racines de *Hura*

EDTI : Extrait dichlorométhane des tiges de *Icacina*

EEtTI : Extrait éther des tiges de *Icacina*

EHATI : Extrait hydro alcoolique des tiges de *Icacina*

EA<sub>Q</sub>TI : Extrait eau des tiges de *Icacina*

EHARI : Extrait hydro alcoolique des racines de *Icacina*

EDRI : Extrait dichlorométhane des racines de *Icacina*

EARI : Extrait acétone des racines de *Icacina*

ECRI : Extrait cyclohexane des racines de *Icacina*

CI : concentration inhibitrice

THs : tanins hydrolysables

TCs : tanins condensés

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Cycle de vie du plasmodium.....	4
<b>Figure 2</b> : Structure de la quinine .....	5
<b>Figure 3</b> : Structure de la chloroquine .....	5
<b>Figure 4</b> : Structure méfloquine.....	5
<b>Figure 5</b> : Structure de l'artémisinine.....	6
<b>Figure 6</b> : Structures de quelques acides phénoliques .....	7
<b>Figure 7</b> : Structures de quelques flavonoïdes.....	8
<b>Figure 8</b> : Structures de l'acide gallique et d'un tanin gallique.....	8
<b>Figure 9</b> : Structures de quelques quinones.....	9
<b>Figure 10</b> : Structures chimiques de quelques alcaloïdes.....	10
<b>Figure 11</b> : Structure de base de l'isoprène et de quelques terpènes .....	10
<b>Figure 12</b> : <i>Hura crepitans</i> (tronc, feuilles, inflorescence, fruits et graines) .....	11
<b>Figure 13</b> : Structures du propionate d'éthyle et de l'alcool isopentylique .....	12
<b>Figure 14</b> : <i>Icacina oliviformis</i> (feuilles, tiges, fruits).....	14
<b>Figure 15</b> : Quelques images du procédé de décoction.....	19
<b>Figure 16</b> : Schéma illustrant l'extraction des métabolites secondaires de la poudre de racine de <i>Icacina oliviformis</i> . .....	20

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Rendements d'extractions de <i>Hura crepitans</i> .....	23
<b>Tableau 2</b> : Résultats du screening phytochimique .....	23
<b>Tableau 3</b> : Résultats des tests de l'activité antipaludique .....	24
<b>Tableau 4</b> : Rendements d'extractions de <i>Icacina oliviformis</i> .....	25
<b>Tableau 5</b> : Résultats des tests screening phytochimique .....	25
<b>Tableau 6</b> : Résultats des tests d'activités antipaludéennes .....	26

## SOMMAIRE

DEDICACES .....	I
Remerciements .....	II
Sigles et abréviations .....	II
Liste des figures .....	III
Liste des tableaux .....	IV
INTRODUCTION.....	1

---

**Chapitre I: Synthèse bibliographique**


---

I. QUELQUES GENERALITES .....	3
I.1 Paludisme.....	3
I.2 Les traitements antipaludiques .....	4
I.3 Notions de métabolites secondaires.....	6
II. HURA CREPITANS L. (EUPHORBIACEAE).....	11
II.1 Systématique.....	11
II.2 Description botanique.....	11
II.3 Usages traditionnels.....	12
II.4 Etudes antérieures.....	12
II.4.1 Etudes biologiques .....	12
II.4.2 Etudes chimiques.....	13
III <i>ICACINA OLIVIFORMIS</i> (POIRET) RAYNAL .....	13
III.1 Systématique.....	13
III.2 Description botanique.....	14
III.3 Usages traditionnels.....	14
III.4 Etudes antérieures.....	15
III.4.1 Etudes biologiques .....	15
III.4.2 Etudes chimiques.....	16

---

**Chapitre II: Etudes expérimentales**

---

I.	Matériels et méthodes .....	18
I.1	Matériels .....	18
I.2	Méthodes .....	18
I.2.1	Les différentes méthodes d'extractions.....	18
I.2.2	Méthodologie du screening phytochimique.....	20
I.2.3	Méthodologie de la bioactivité.....	21
I.5	Méthodologie de la cytotoxicité .....	22
II	Résultats et discussions.....	22
II.1	Résultats d'extractions de <i>Hura crepitans</i> L. ....	22
II.2	Screening phytochimique des extraits de <i>Hura crepitans</i> L.....	23
II.3	Tests d'activités antipaludéennes des extraits de <i>Hura crepitans</i> L.....	24
II.4	Résultats d'extractions de <i>Icacina oliviformis</i> .....	25
II.5	Screening phytochimique de <i>Icacina oliviformis</i> .....	25
II.6	Activités antipaludéennes des extraits de <i>Icacina oliviformis</i> .....	26
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	28



## INTRODUCTION

Les plantes médicinales ont toujours été utilisées pour se nourrir, se développer, se soigner et aussi pour toutes autres activités nécessaires à la survie de l'homme. Cependant, la médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des plantes est considérée comme une partie intégrante de soins de santé primaires surtout en milieu rural. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), dans certains pays en voie de développement, 80% de la population fait recours à la médecine traditionnelle<sup>1</sup>. Au Sénégal comme dans de nombreux pays africains l'offre de soin de santé étant souvent coûteux pour une certaine couche de la population, cela pourrait justifier leurs recours aux plantes médicinales proposées par des tradipraticiens, des herboristes ou encore trouvées dans les marchés<sup>2</sup>.

En effet, il existe plus de 20000 plantes utilisées dans le monde pour leurs propriétés médicinales et environ 2000 à 3000 plantes ont été étudiées sur le plan scientifique<sup>3</sup>. De ces études, il a été démontré que des structures isolées de ces produits naturels présentent plusieurs caractéristiques (diversité chimique élevée, spécificité biochimique et autres propriétés moléculaires) souvent favorables à la conception de médicaments<sup>4</sup>. Ainsi la plupart de ces composés phytochimiques sont utilisés dans le traitement de plusieurs pathologies telles que le paludisme, le diabète, le cancer, la leishmaniose etc. C'est l'exemple de la découverte des molécules telles que la quinine et l'artémisinine utilisées dans le traitement du paludisme<sup>5</sup>. Cependant, l'apparition de souches multi résistantes à la quinine gêne les progrès du traitement antiplasmodiale actuel. Cela manifeste un besoin réel à la découverte de nouvelles molécules bioactives pouvant traiter de façon efficace le paludisme, à faible coût et sans effets secondaires majeures. Dans le but de trouver de nouvelles molécules antipaludéennes efficaces, nous nous sommes fixés comme objectif de tester l'activité antipaludéenne des extraits de racines, de tiges de *Icacina oliviformis* d'une part et des extraits de racines, de feuilles de *Hura crepitans* L. d'autre part.

La première partie du travail sera consacrée à la synthèse bibliographique (description botanique, études chimiques et biologiques antérieures des plantes étudiées), dans la deuxième partie qui sera consacrée à l'étude expérimentale, nous énumérerons d'abord les matériels et méthodes utilisés puis nous présenterons les résultats et discussions.

*Chapitre I :*  
**Synthèse bibliographique**

## I. QUELQUES GENERALITES

### I.1 Paludisme

Le paludisme est une maladie parasitaire causée par un protozoaire du genre *Plasmodium* et est transmis à l'homme par un vecteur du genre Anophèle<sup>6</sup>. Celle-ci est la plus répandue des infections parasitaires observées dans le monde. Il y a cinquante ans, l'aire d'endémie du paludisme était plus étendue. L'Afrique sub-saharienne est aujourd'hui le plus grand territoire de l'endémie. C'est là que vient plus de 90 % des hommes impaludés (pour 10 % de la population mondiale). Le paludisme y est la deuxième cause de morbidité et de mortalité derrière le sida. Les personnes âgées et affaiblies ainsi que les nouveaux nés sont les principales victimes. L'OMS estime le nombre de décès à 0,99 million et 75% de ces décès toucheraient des enfants de moins de 5 ans<sup>7</sup>.

Il existe de très nombreuses espèces de *Plasmodium* (plus de 140), touchant diverses espèces animales, dont cinq espèces sont habituellement retrouvées en pathologie humaine : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi*. Ces **cinq espèces** diffèrent par des critères biologiques et cliniques, par leur répartition géographique et par leur capacité à développer des résistances aux antipaludiques<sup>8</sup>.

Le cycle de vie du *Plasmodium* se déroule dans deux hôtes, le moustique et l'homme. L'Anophèle femelle injecte des sporozoïtes à l'homme lors d'un repas sanguin, ceux-ci infectent les hépatocytes et mûrissent en schizontes. Les hépatocytes éclatent et libèrent des mérozoïtes. Après cette première répllication dans le foie, le cycle intraérythrocytaire débute. Les mérozoïtes infectent les globules rouges, mûrissent en trophozoïtes puis en schizontes, se divisent et font éclater les globules rouges pour libérer de nouveaux mérozoïtes qui peuvent à leur tour infecter des globules rouges sains. Les parasites du stade sanguin sont responsables des manifestations cliniques de la maladie. Les mérozoïtes quant à eux se différencient en gamétocytes. Les gamétocytes mâles et femelles sont ingérés par un moustique lors d'un nouveau repas sanguin. Dans l'estomac du moustique, les gamétocytes vont former un ookinète qui envahit les intestins du moustique où il se développe en oocyste. Les oocystes vont libérer à leur tour de nouveaux sporozoïtes qui atteignent les glandes salivaires du moustique. L'inoculation de sporozoïtes à un nouvel hôte humain perpétue le cycle de vie du *Plasmodium*<sup>9</sup> (Figure 1).

Le paludisme se manifeste par une fièvre élevée accompagnée de douleurs diffuses : courbatures, troubles digestifs (nausées, diarrhées) trouble de conscience, ictère (teint jaune de

la peau et des muqueuses) précoce et marqué. En l'absence de traitement spécifique, l'accès de primo-invasion dont les symptômes sont illustrés précédemment, peut évoluer et induire à l'accès palustre à fièvre périodique ou même à un état plus avancé et plus grave. A ce stade, se déclare souvent une anémie grave, une insuffisance rénale, un coma, de fortes fièvres, une atteinte du système nerveux central, des problèmes respiratoires entraînant souvent la mort de l'individu<sup>10</sup>.

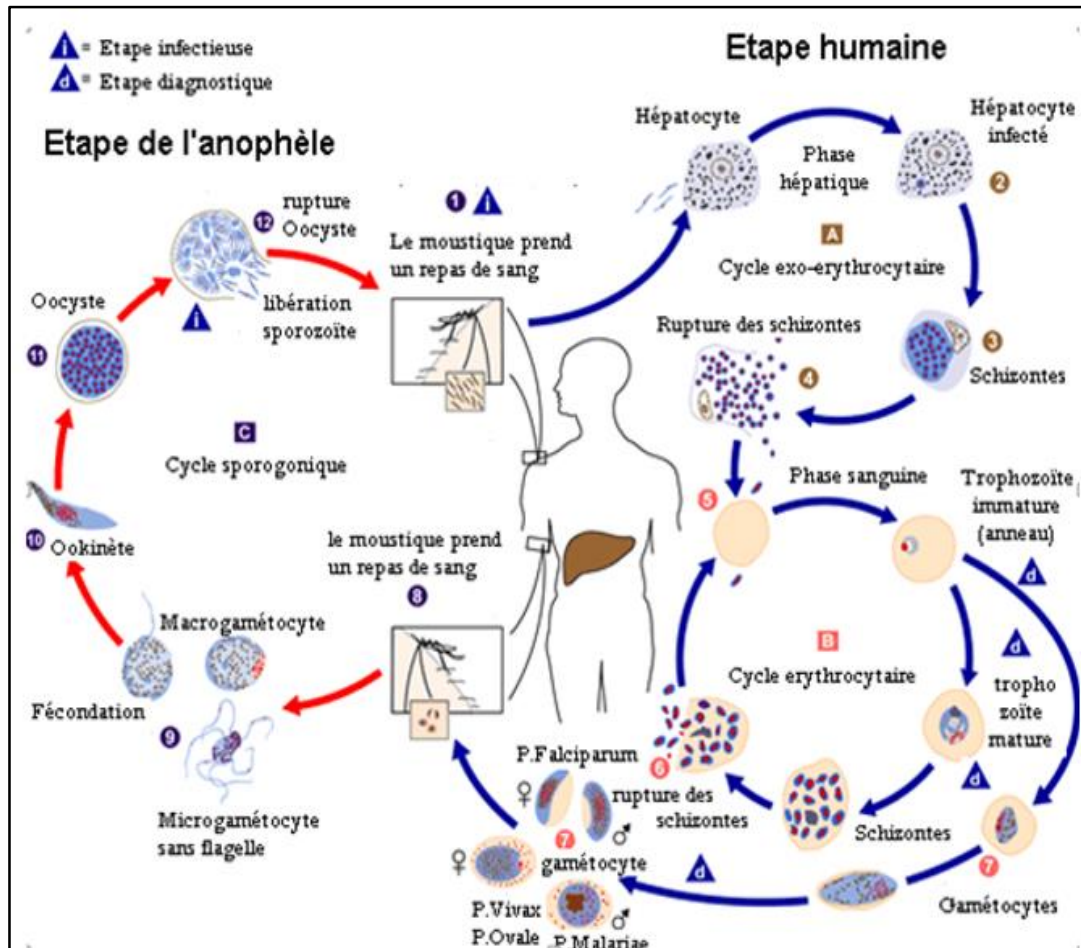


Figure 1: Cycle de vie du plasmodium<sup>11</sup>

## I.2 Les traitements antipaludiques<sup>12</sup>

### ➤ Les anciens médicaments antipaludiques

Les anciens médicaments antipaludiques, en particulier la chloroquine et la méfloquine, sont inspirés de la quinine, elle-même extraite de l'écorce de quinquina en 1820 par deux pharmaciens français, Joseph PELLETIER et Joseph CAVENTOU. Ces composés contiennent un noyau quinoléine plan qui, en s'empilant avec l'hème-fer (II), empêche sa polymérisation en hémotoïne. On inhibe ainsi le système de détoxification du parasite.<sup>13</sup>

- La **quinine** (Figure 2) est le symbole du succès de l'industrie pharmaceutique contre le paludisme mais aussi de son échec. Cet alcaloïde a permis de lutter efficacement contre

la maladie avec des effets secondaires parfois redoutables pendant un moment. Aujourd'hui les résistances sont telles que l'OMS ne recommande l'utilisation de la quinine que dans certains cas de malaria sévères ou chez la femme enceinte avec toutefois la priorité donnée aux dérivées d'artémisinine.

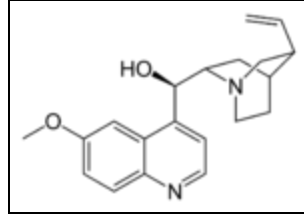


Figure 2: Structure de la quinine

- La **chloroquine** (Figure 3) ou nivaquine développée par Sanofi, qui était jusqu'à récemment l'arme de référence contre le paludisme, plus efficace et mieux tolérée que la quinine, est aujourd'hui mise à l'écart à cause des nombreuses résistances observées.

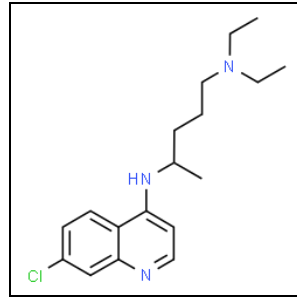


Figure 3: Structure de la chloroquine

- Même chose pour la **méfloquine** (Figure 4), commercialisé par Roche avec le Lariam, et le Fansidar dont l'efficacité décroît progressivement à cause des résistances naissantes et grandissantes, sans parler des graves risques neuropsychiatriques du Lariam.

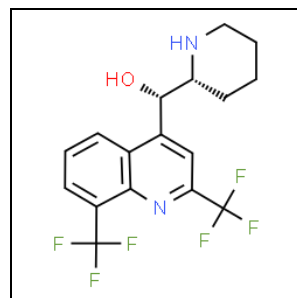


Figure 4: Structure méfloquine

➤ Médicaments antipaludiques actuels

L'histoire de la lutte contre le paludisme est parsemée d'échecs à cause de la résistance du parasite aux médicaments existants.

Aujourd'hui, ce sont les fameux ACT (combinaisons thérapeutique à base d'artémisinine), des polythérapies médicamenteuses qui associent deux molécules dérivées de l'artémisinine (artesunate, artemether, dihydroartémisinine, etc.) qui sont à la base de la lutte contre le paludisme et l'émergence des résistances aux monothérapies. Extraite de la plante *Artemisia annua*, l'artémisinine a une structure très différente des quinoléines. Son activité biologique est due à la fonction peroxyde d'un cycle 1, 2, 4-trioxane (Figure 5)<sup>12</sup>.

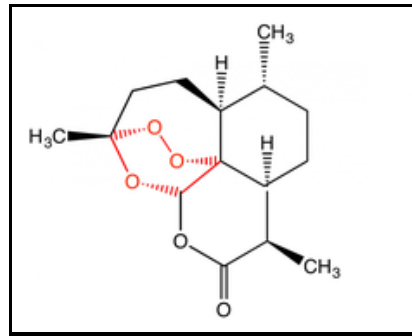


Figure 5: Structure de l'artémisinine

### I.3 Notions de métabolites secondaires

Les plantes produisent un grand nombre de composés (métabolites secondaires) qui ne sont pas directement produits lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures. Ce sont des molécules qui ne participent pas directement au développement de la plante par opposition aux métabolites primaires. Les métabolites secondaires sont produites en très faible quantité en réponse à des situations particulières telles que la communication intercellulaire, la défense contre les herbivores et les pathogènes. Les métabolites secondaires sont aussi très exploités par l'homme dans différents domaines : agroalimentaire (antioxydant), médical (antimicrobien, anti hémolytique), pharmacologique, cosmétique etc. Ces composés interviennent aussi dans la structure des plantes (lignines et tanins).

Les métabolites secondaires peuvent être classés en trois groupes : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpènes<sup>14, 15</sup>.

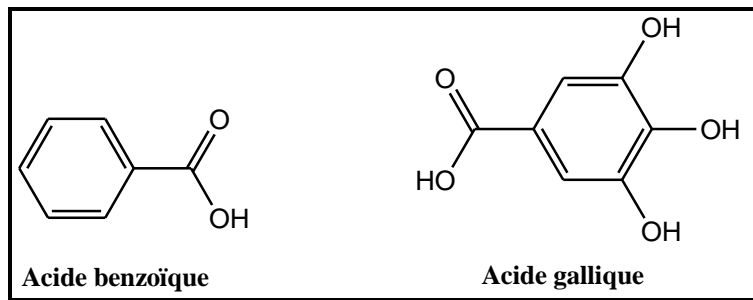
#### a) Les composés phénoliques ou polyphénols

Cette classe regroupe un ensemble de substances remarquables présentes dans le règne végétal. Les polyphénols sont caractérisés, par la présence de plusieurs groupements phénoliques liés à d'autres structures plus ou moins complexes. Les composés de cette classe ont tous en commun la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles. On distingue plusieurs types de composés phénoliques : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les quinones, les coumarines,

les lignines et les saponines<sup>16</sup>. Ils attirent l'attention des chercheurs depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices.

- **Acides phénoliques**

Un acide phénolique ou acide-phénol est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils dérivent de l'hydroxylation de l'acide benzoïque, ces hydroxyles phénoliques OH peuvent ensuite être méthylés (exemple : acide gallique, acide salicylique...). Les acides phénoliques (Figure 6) sont des composés qui ont des propriétés antioxydantes. Ils peuvent contribuer à prévenir l'apparition de plusieurs maladies (cancers, maladies cardiovasculaires et maladies liées au vieillissement) en neutralisant les radicaux libres de l'organisme<sup>17</sup>.



*Figure 6: Structures de quelques acides phénoliques*

- **Flavonoïdes**

Ce sont des composés phénoliques des végétaux qui constituent un groupe d'une extrême diversité. Ces composés sont des pigments quasi universels des végétaux, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles assurant ainsi la protection des tissus contre les agressions des ultraviolets<sup>18</sup>. Les flavonoïdes (Figure 7) se répartissent en quinze familles de composés, dont les plus importantes sont les suivantes : flavones, flavonols, flavanones, isoflavones, isoflavanones, chalcones, auronnes et anthocyanes.

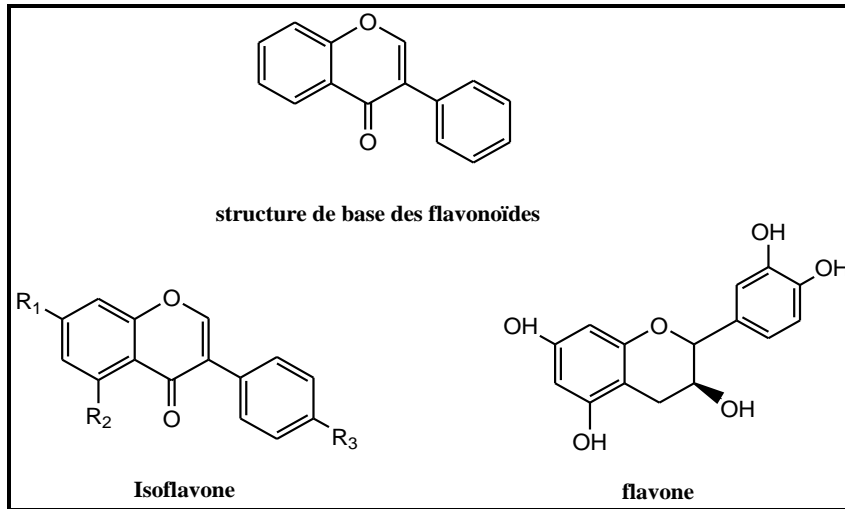


Figure 7: Structures de quelques flavonoïdes

- **Tanins**

Les tanins (Figure 8) sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible, le cuir (Bruneton, 1999). Cette propriété de tanner provient de la création de liaisons entre les molécules de tanins et les fibres de collagène de la peau. Selon leur structure biochimique, on distingue deux classes de tanins : les tanins hydrolysables (THs) et les tanins condensés (TCs)<sup>19</sup>. La structure chimique des tanins présente de nombreux groupements hydroxyles et phénoliques qui leur confèrent la propriété de former des complexes avec de nombreuses macromolécules telles que des protéines et des hydrates de carbones, ou encore avec des ions métalliques<sup>20</sup>.

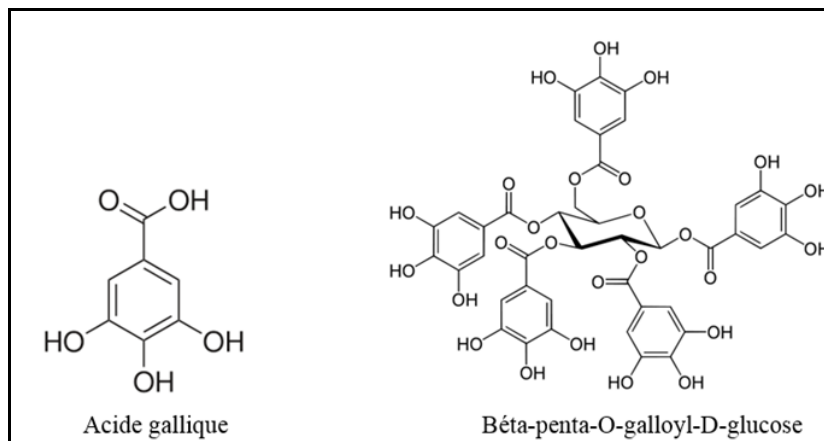


Figure 8: Structures de l'acide gallique et d'un tanin gallique

- **Quinones**

Les quinones se présentent sous forme de pigments biologiques (biochromes), notamment les benzoquinones, les naphtoquinones, les anthraquinones et les quinones polycycliques. Les



quinones (Figure 9) se trouvent dans les bactéries, dans certains champignons et dans diverses formes de plantes supérieures.

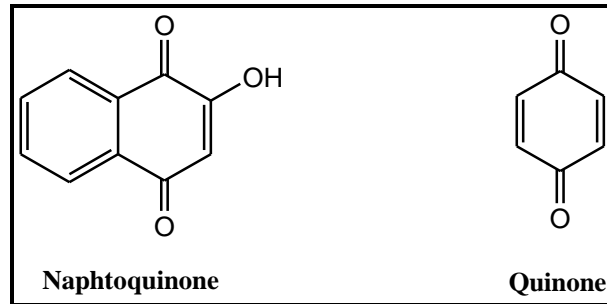


Figure 9: Structures de quelques quinones

### b) Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées d'origine naturelle à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe<sup>21</sup>. La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acides aminés tels que le tryptophane, la lysine, l'aspartate, la phénylalanine et la tyrosine<sup>22</sup>. Bien que beaucoup d'alcaloïdes soient toxiques (comme la strychnine ou la conitine), certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (la morphine, la codéine). On distingue généralement trois groupes d'alcaloïdes (Figure 10).

- Les alcaloïdes vrais, qui sont d'un point de vue de la biosynthèse dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle (la strychnine dérivée du tryptophane).
- Les proto-alcaloïdes, qui dérivent d'acides aminés mais pour lesquels l'azote est en dehors des structures cycliques (la colchicine)
- Et les pseudo-alcaloïdes ne dérivant pas d'acides aminés (la caféine, théobromine, inosine mophosphate)<sup>23</sup>.

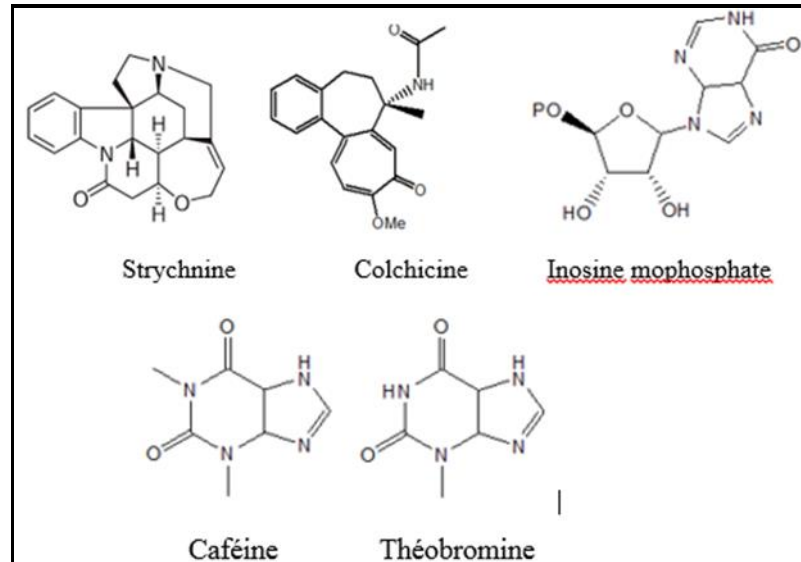


Figure 10: Structures chimiques de quelques alcaloïdes

### c) Les terpènes

Ce groupe de composés possède une structure moléculaire construite à partir d'un monomère à 5 atomes de carbones appelé isoprène ( $C_5H_8$ ). La classification des terpènes est basée sur le nombre d'unités isopréniques (Figure 11). Ainsi, on distingue : les hémiterpènes, monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes, tétraterpènes, polyterpènes. Ils sont utilisés comme produits pharmaceutiques, antiviraux, colorants alimentaires, arômes et parfums<sup>24</sup>.

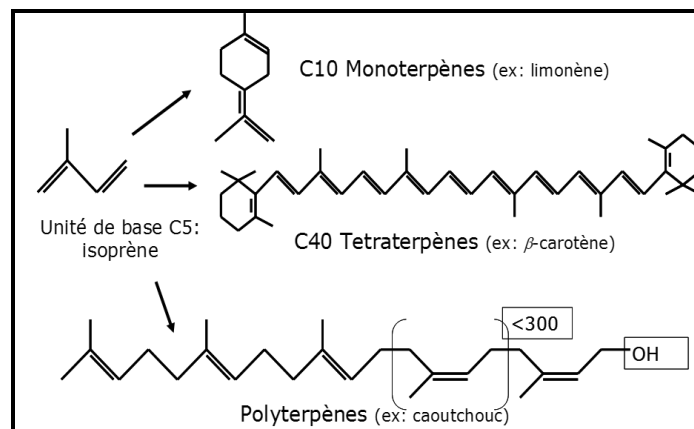


Figure 11: Structure de base de l'isoprène et de quelques terpènes

## II. *HURA CREPITANS L. (EUPHORBIACEAE)*

### II.1 Systématique

*Hura crepitans L.* est une espèce de la famille des Euphorbiacées. Cette famille comprend mondialement plus de 5000 espèces réparties en 300 genres. Les Euphorbiacées possèdent généralement dans leur tissu une substance laiteuse caractéristique de la famille. Elles sont représentées par des arbres, buissons ou arbustes. Cette famille est bien représentée dans les zones tropicales et subtropicales.<sup>25</sup>

#### ✚ Espèce *Hura crepitans L.*

*Hura crepitans L.* synonyme *Hura brésiliensis* appartient à la classe des Magnoliopsida, à la sous classe des Rosidea, à l'ordre des Euphorbiales, à la famille des Euphorbiaceae, au genre *Hura* et à l'espèce *Crepitans*.

### Noms vernaculaires

**Français :** Bombardier, Bois du diable, Sablier des Antilles, Arbre à dauphin.

**Anglais :** Sandbox tree, Dynamite tree, Monkey<sup>26</sup>.

### II.2 Description botanique



**Figure 12:** *Hura crepitans* (tronc, feuilles, inflorescence, fruits et graines)<sup>27</sup>

*Hura crepitans L.* est un arbre pouvant atteindre 40 mètres de haut avec un diamètre de 1m 50. Il se distingue par son tronc droit à écorce grise constitué d'épines sombres et coniques.

Son feuillage est constitué de feuilles vertes en forme de cœur, mesurant environ 5 à 20 cm de long et 5 à 15 cm de large. Les fleurs mâles sont rouges sans pétales avec une inflorescence en épi d'environ 5 cm de long. Les fleurs femelles sont brunes rougeâtres, solitaires et à l'aisselle des feuilles.

Le fruit est une capsule déhiscente en forme de citrouille d'environ 3 à 5 cm de long et de 5 à 8 cm de large, devenant brun rougeâtre à maturité et contenant des graines aplaties d'environ 2 cm de large<sup>28</sup>.

### II.3 Usages traditionnels

Son latex a été utilisé comme poison de guerre en Amérique du sud en provoquant une mort douloureuse et lente. Ce latex est caustique. Ainsi, mis au contact de l'œil il produirait la cécité presque immédiatement. En contact avec les muqueuses ou au contact prolongé de la peau il produirait des ulcérations et serait employé comme insecticide.

Son bois est également utilisé pour la construction de nombreux articles ménagers durables.

L'écorce de *H. crepitans* L. est utilisée pour traiter la lèpre, tandis que l'huile de ses graines est utilisée comme purgatif.

Au Suriname, les feuilles de *Hura* sont utilisées pour traiter l'eczéma<sup>29</sup>. Infusées dans l'huile ou triturées avec de l'eau, elles sont appliquées sur les corps affectés de douleurs chroniques (rhumatismes).

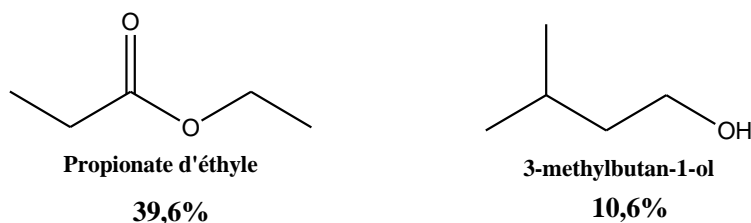
L'infusé des fleurs mâles (épis rouges), ou des bractées fraîches, permet le ramollissement des furoncles. Aux Antilles, les inflorescences mâles serviraient à préparer des confitures.

Au Pérou, la plante est utilisée par la population pour traiter la leishmaniose<sup>30</sup>. Cette espèce a connu de nombreuses autres applications ethno-médicinales comme émétique, antimicrobien et anti inflammatoire<sup>31</sup>.

### II.4 Etudes antérieures

#### II.4.1 Etudes biologiques

Des échantillons de feuilles fraîchement prélevés (300 g) de *H. crepitans* L. ont été soumis à une hydro distillation donnant une huile essentielle à 1,20%. Cette huile, incolore à odeur caractéristique, a été analysée par CG et CG/SM. Ainsi, sept composés représentant 66,1% de l'huile essentielle totale ont été identifiés. De ces travaux, ils ressortent que le propionate d'éthyle et l'alcool isopentylique (Figure 13) étaient les principaux constituants trouvés dans l'huile essentielle de *Hura crepitans*<sup>30</sup>.



**Figure 13:** Structures du propionate d'éthyle et de l'alcool isopentylique

L'extrait hydro alcoolique de feuilles de *Hura crepitans* a montré une très bonne activité contre *P. falciparum* (CI<sub>50</sub> < 5,7 µg/mL) et une excellente sélectivité (IS > 18,8). Des polyphénols tels

que l'acide ellagique, un composé antipaludique très efficace et d'autres flavonoïdes, ont été extraits de l'extrait actif des feuilles<sup>32</sup>.

Pour étudier et valider les propriétés antiprotozoaires de plantes médicinales cubaines, Garcia et al, 2012, ont testé l'activité anti-leshmanienne de 48 extraits de 46 plantes. Dans ces travaux, 20 extraits ont montré une activité, avec une  $CI_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ , dont seuls 4 extraits (*Bambusa vulgaris*, *Hura crepitans*, *Mangifera indica* et *Simarouba glauca*) ont démontré une activité sélective contre le parasite et ont été testés contre des amastigotes intracellulaires. Parmi ces quatre extraits évalués, *Hura crepitans* a présenté la plus haute activité antileshmaniale, avec une valeur  $CI_{50} \leq 27,7 \pm 0,6 \mu\text{g/mL}$ <sup>29</sup>.

#### II.4.2 Etudes chimiques

Le criblage phytochimique de l'extrait hydroalcoolique de *Hura crepitans* effectué par Valdès et al, en 2011, a révélé la présence d'alcaloïdes, de triterpénoïdes ou de stéroïdes, de phénols, de quinones, de flavonoïdes, et d'anthocyanidines.

##### Composition chimique des graines

Les résultats des analyses anti nutriments ont montré que la graine de *Hura crepitans L.* contient : ( $5,0 \pm 0,2 \text{ mg/100g}$ ) d'alcaloïde, ( $5,0 \pm 0,3 \text{ mg/100g}$ ) de tannins, ( $53,0 \pm 6,0 \text{ mg/100g}$ ) de phytate, ( $2,2 \pm 0,1 \text{ mg/100g}$ ) de saponine.

Les résultats ont également montré que l'huile de *Hura crepitans L.* contient : 20,1% d'acide oléique suivi de 3,0% d'acide stéarique et d'une faible quantité de 0,03% d'acide linoléique<sup>33</sup>.

### III ICACINA OLIVIFORMIS (POIRET) RAYNAL

#### III.1 Systématique

*Icacina oliviformis* appartient à la famille des Icacinacées. Dans cette famille on trouve des arbres, des arbustes, et des plantes herbacées. En 1851, Miers décrit la famille des Icacinaceae et à cette époque, plus de 400 espèces regroupées dans environ 54 genres ont été décrites<sup>34</sup>. On retrouve cette espèce en abondance au Sénégal, en Guinée-Bissau, au Ghana et à la République Centre Africaine<sup>35</sup>.

##### Espèce *Icacina oliviformis*

*Icacina oliviformis* synonyme de *Hirtella oliviformis* appartient à la classe des Embryophyta, à la sous classe des Tracheophyta, à l'ordre des Magnoliopsida, à la famille des Icacinacées, au genre *Icacina*. A. Juss et à l'espèce *Icacina oliviformis* (Poiret) J. Raynal<sup>36</sup>.

#### Noms vernaculaires :

Anglais : false yam

Diola : furaba, furabân

Wolof : bâkanas, mâkanas

Manding : mâkanaso

### III.2 Description botanique

*Icacina senegalensis* A. Juss (famille *Icacinacée*) est une petite plante résistante à la sécheresse. Elle est une plante vivace arbustive avec un gros tubercule souterrain et d'une teneur élevée en amidon. Elle est constituée de hautes tiges de 5 à 8 cm, couvertes de feuilles ovales (3 à 6 cm) alternes et parfois denses. *Icacina oliviformis* fleurit de mars en août, ces fleurs sont blanches, larges de 7 cm, et généralement en pédoncule terminale arrondie.

Elle produit des fruits vers la fin de la saison sèche. Le fruit est sphérique ou ovoïde de couleur jaune ou rouge carmin à la maturité. La longueur d'un fruit varie de 2,5 à 3 cm et la largeur comprise entre 2 et 2,5 cm<sup>37</sup> (Figure 14).



Figure 14: *Icacina oliviformis* (feuilles, tiges, fruits)<sup>38</sup>

### III.3 Usages traditionnels<sup>39, 40, 41</sup>

*Icacina oliviformis* a été répertorié comme plante alimentaire autochtone. L'espèce est exploitée en cas de pénurie des produits de bases tel que le sorgho. Les fruits sont appréciés par les enfants.

#### ✓ Les racines

Les racines sont employées pour traiter diverses affections chez les populations locales, selon Berhaut (1975). Ainsi, la décoction des racines est donnée, comme adjuvant thérapeutique, dans de nombreuses affections : dermatoses, maux de tête, de poitrine, de reins. La poudre de racines est utilisée contre les maux de ventre, la carie dentaire. Ainsi, les études ethno pharmacologiques menées sur la plante ont montré son utilisation dans le traitement traditionnel du diabète, la prévention du rachitisme et du paludisme au Sénégal. Kerhara et Adam (1974) ont noté que la plante est l'un des médicaments les plus utilisés en Casamance (Sénégal). En

Gambie, les racines additionnées avec des feuilles de *Mangifera indica* sont bouillies dans l'eau. Le décocté ainsi obtenu serait un bon remède contre le paludisme. Au Togo, le tubercule serait utilisé pour traiter la hernie (Raphaël, 2011).

#### ✓ Les feuilles

Pour les indications concernant les propriétés qui lui sont attribuées, il est toujours prescrit seul, mais on trouve souvent le décocté de feuilles comme adjuvant dans de nombreuses formules magistrales concernant les affections les plus diverses. D'ailleurs le décocté de feuilles est utilisé contre les morsures de serpents d'une part et d'autre part les feuilles en association avec celles de l'*Annona senegalensis* seraient utilisées dans le traitement externe des asthénies. Dans le Sénégal oriental, régions administratives de Tambacounda et de Kédougou, mais aussi en remontant jusqu'au Fouta Toro, ce sont les tiges feuillées qui sont utilisées pour trois applications médicinales importantes. La première semble concerner les hémorragies internes consécutives à des chocs (décocté concentré de feuilles en bains et boissons), la deuxième la toux et les affections broncho-pulmonaires, la troisième les états fébriles infectieux. Dans ce dernier cas, on fait absorber au malade le décocté de feuilles et on le fait reposer la nuit sur un véritable lit de feuilles fraîchement coupées, tout en le couvrant soigneusement de nombreux pagnes. Selon Sarr, le décocté de la poudre des feuilles de *ICACINA oliviformis* est recommandé par les guérisseurs contre le paludisme et la fièvre.

### III.4 Etudes antérieures

#### III.4.1 Etudes biologiques

Des études sur le plan pharmacologique ont été réalisées et publiées par Sarr et al en 2011. Selon ces études, l'extrait méthanolique de feuilles de *ICACINA oliviformis* a révélé une action inhibitrice sur la croissance de *Plasmodium falciparum* qui est chloroquinosensible (3D7) et chloroquinorésistant (7G8). Cependant, cet extrait lyophilisé n'a aucun effet hémolytique sur les globules rouges<sup>42</sup>. Ils rapportent aussi que le test de cytotoxicité effectué sur la lignée de cellules hépatiques 1-6 révèle une constance d'inhibition  $CI_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ . En plus, aucune toxicité est notée sur les cellules des fibroblastes dermiques humains normaux même à des concentrations supérieures à  $500 \mu\text{g/mL}$  (Sarr et al, 2011).

Des travaux de Ndiaye et al, en 2008, portant sur les extraits éthanolique et aqueux de feuilles de *ICACINA oliviformis*, ont montré une activité anti-hyperglycémiant chez des rats normoglycémiques et sur un modèle de diabète induit par l'alloxane. Ce qui est conforme avec

l'utilisation traditionnelle des feuilles de *Icacina oliviformis* au Sénégal dans le traitement du diabète<sup>43</sup>.

### III.4.2 Etudes chimiques.

#### ✓ Les graines

Les résultats des analyses chimiques des graines de *Icacina oliviformis* (Poiret) Raynal provenant de la République Centrafricaine sont présentés comme suit : 80,7% de matières non-azotées, 14,0% de protéines, et 0,5% de lipides (poids sec). Le taux moyen d'humidité des graines vivantes est de 18,3%. Pour la farine des graines, la composition est la suivante : 12,3% d'eau, 8% de protéines, 0,1% de lipides, 72,73% de glucides et 0,5% de cendres<sup>44</sup>.

#### ✓ Les tubercules

Dans les études phytochimique faites par Anastasie et *al*, en 2013, il est noté que le tubercule de la plante renferme 0,08% d'icacénone, 0,03% d'icacéinol, 55% de  $\beta$ -sitostérol, 45% de stigmastérol<sup>45</sup>. Des analyses nutritionnelles des racines tubéreuses de *Icacina oliviformis* (Poiret) Raynal provenant de la République Centrafricaine ont révélé que les tubercules contiennent 84,5% de matières non-azotées, 4,4% de protéines, et 1,6% de lipides (poids sec). Une analyse chimique de la farine du tubercule séché au soleil a confirmé la présence de résines (facteurs anti-nutritifs) identifiées comme étant des terpènes. Selon Dei et *al*, (2011), l'étude chimique de la farine de tubercules séchés au soleil a montré la présence de certains acides aminés essentiels et non essentiels. Les acides aminés essentiels détectés sont : l'arginine, la glycine, l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la phénylalanine, la méthionine, la thréonine, le tryptophane et la valine. Les acides aminés non essentiels sont : l'alanine, l'acide aspartique, la proline, la cystine, l'acide glutamique, la sérine et la tyrosine<sup>46</sup>. Des études sur la composition chimique menées par Woot-Tsuen et *al.*, en 1968 puis reprises 19 ans après de façon beaucoup plus étendues par Kay en 1987 ont permis de montrer que les tubercules contiennent environ 10 à 15% d'amidon. En plus, la farine fabriquée à partir des tubercules a la composition approximative suivante : eau 11,7% ; Protéines 10,3% ; matières grasses 0,7% ; Hydrates de carbone (Saccharide, glucides) 74,5% ; Cendres 2,8% ; Calcium 150 mg/100 g ; Fer 7 mg/100 g ; Thiamine 0,04 mg/100 g ; Riboflavine 0,18 mg/100 g ; Niacine (Vitamine B3) 1,4 mg/100 g. De plus, un principe toxique amer, signalé comme une résine de gomme, est présent en quantité allant de 0,9 à 2,8%<sup>47, 48</sup>.



***Chapitre II :***  
**Etudes expérimentales**

## I. Matériels et méthodes

### I.1 Matériels

#### ▪ Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de la poudre de feuilles et de racines de *Hura crepitans*. Récolté au jardin botanique de l'université de Dakar, elles ont été lavées, séchées à l'abri des rayons solaires et à la température ambiante du laboratoire de botanique et de pharmacognosie. Les drogues séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur (type Bradender OHG Duisburg). La poudre fine (200 g) ainsi obtenue après pulvérisation a été utilisée comme matière première pour faire les extractions.

Concernant *Icacina oliviformis*, le matériel végétal est constitué de racines et de tiges. Les échantillons de racines et de tiges ont été séchés à l'abri des rayons solaires et à la température ambiante du laboratoire de chimie physique des matériaux (LCPM) de l'Université Assane SECK de Ziguinchor. Les drogues séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur (type Bradender OHG Duisburg). La poudre fine ainsi obtenue après pulvérisation (92 g de racines et 270 g de tiges) a été utilisée comme matière première pour faire les extractions.

#### ▪ Verrerie et appareillage

- Ballon de 1L
- Papier filtre et un entonnoir en plastique
- Flacons
- Bécher
- Un évaporateur rotatif
- Broyeur (type Bradender OHG Duisburg).

### I.2 Méthodes

#### I.2.1 Les différentes méthodes d'extractions

L'extraction est la technique qui permet d'extraire les molécules présentes dans la poudre fine. Elle consiste à faire passer, par solubilisation, la substance à extraire dans un solvant. Ce dernier peut être de l'eau ou un solvant organique (cyclohexane, éther de pétrole, toluène...).

Il existe différentes méthodes d'extraction : la macération, la décoction et l'infusion.

#### ✓ Macération

Dans la macération, l'échantillon est mis en contact prolongé avec le solvant, à température ambiante. Cette méthode peut se faire de manière continue, et s'applique de préférence aux composés thermolabiles comme les protéines.

✓ **Décoction**

Dans la décoction, l'échantillon est immergé dans le solvant maintenu en ébullition, elle s'applique aux composés thermostables.

✓ **L'infusion**

Dans l'infusion, l'eau bouillante est déversée sur l'échantillon, puis on laisse refroidir.

Ainsi dans nos travaux nous avons utilisé la méthode la plus utilisée en médecine traditionnelle (décoction).

✚ **Méthode d'extraction utilisée**

• **Décoction**

La poudre fine ainsi obtenue après pulvérisation a été extraite par décoction successivement avec des solvants de polarité croissante selon le protocole suivant :

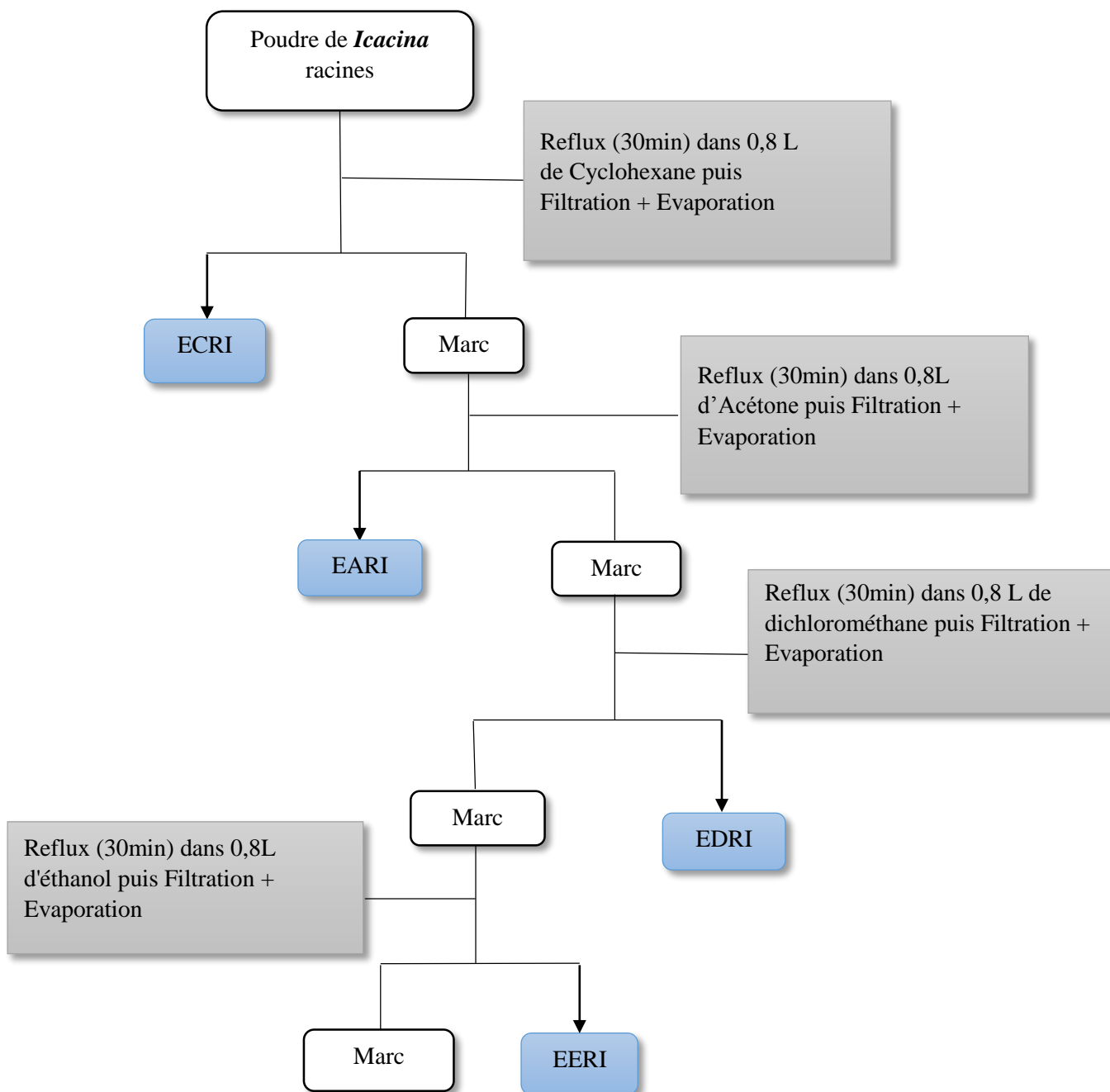
Dans un ballon de 1L, on ajoute quelques grammes de poudre qu'on mélange avec 0,8L de solvant. Le mélange est porté au reflux pendant 30 minutes puis refroidi à la température ambiante. Le mélange est ensuite filtré pour séparer le solvant et le résidu de la poudre (marc). Le marc ainsi obtenu a été épuisé trois fois dans 0,8L par le même solvant. Après filtration, les trois solutions obtenues (filtrats) sont regroupées puis évaporées à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif, ou rota vapeur qui permet d'éliminer le solvant sous vide. Les produits bruts obtenus sont conservés dans des flacons et gardés à l'étuve (Figure15).

La décoction des tiges de *Ipacina oliviformis* a été effectuée avec les solvants suivants : éther, dichlorométhane et éthanol.

Les solvants de décoction des racines et des feuilles de *Hura crepitans* sont les suivants : cyclohexane, acétate d'éthyle, dichlorométhane, éthanol, éthanol/eau.



**Figure 15:** Quelques images de la procédure de décoction<sup>49</sup>



**Figure 16:** Schéma illustrant l'extraction des métabolites secondaires de la poudre de racines de *Icacina oliviformis*.

### I.2.2 Méthodologie du screening phytochimique

Cette étude nous permet d'avoir une idée sur la composition chimique des racines, des tiges de *I. oliviformis* et des racines, des feuilles de *Hura crepitans* :

✓ Les stérols et les polyterpènes

Pour mettre en évidence les stérols et les polyterpènes, nous avons utilisé le réactif de LIEBERMANN qui consiste à dissoudre à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique 5 ml d'extrait

sec et 0,5 ml d'acide sulfurique concentré. L'apparition à l'interphase d'un anneau pourpre et violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive.

✓ Les polyphénols

Pour mettre en évidence les polyphénols, on ajoute dans 2 ml de chaque extrait une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée indique que le test est positif.

✓ Les flavonoïdes

Pour mettre en évidence les flavonoïdes, la réaction de SHIBATA a été utilisée. Elle consiste à mettre 2 ml d'extrait aqueux à 10% dans un tube à essai, 5 ml d'alcool chlorhydrique (4 ml d'EtOH + 1 ml de concentré) et 2 ou 3 copeaux de magnésium.

L'apparition d'une coloration rose orangée ou violacée confirme la présence des flavonoïdes.

✓ Les tanins

Pour mettre en évidence les tanins on ajoute dans 5 ml de chaque extrait évaporé à sec 15 ml du réactif de STIASNY (formol 30%, HCl concentré : 1/0,5). Le mélange est maintenu au bain-marie à 80 °C pendant 30 min. L'observation d'un précipité en gros flocons caractérise les tanins catéchiques.

✓ Les alcaloïdes

Pour mettre en évidence les alcaloïdes, les réactifs de DRAGENDORFF (réactif de l'iodobismuthate) et de BOUCHARDAT (réactif iodo-ioduré) ont été utilisés. En effet, 6 ml de chaque solution ont été évaporés à sec. Le résidu est repris dans 6 ml d'alcool à 60 °C. L'addition de 2 gouttes du réactif de Dragendorff à la solution alcoolique provoque un précipité ou une coloration orangée. L'ajout de 2 gouttes du réactif de Bouchardat à la solution alcoolique provoque un précipité de coloration brun-rougeâtre et indique ainsi une réaction positive.

✓ Les saponines

Le principe est d'introduire 10 ml de chacun des extraits aqueux dans un tube à essai. Si une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm apparaît après agitation pendant 15 secondes, puis laisser au repos, cela indique que le test est positif.

### **I.2.3 Méthodologie de la bioactivité**

L'activité antipaludéenne des extraits a été évaluée sur la souche *P. falciparum* 3D7 et, en utilisant l'approche de dosage SYBR Green I à base de la fluorescence dans des microplaques à 96 puits comme décrit Smilkstein et al. Les puits de contrôles positifs pour chaque test ne contenaient aucun inhibiteur tandis que les contrôles négatifs contenaient de la chloroquine (CQ). Les expériences ont été effectuées en double avec des extraits testés et des témoins utilisés à des concentrations variables. Des solutions mères (composés) ont été préparées dans

le diméthylsulfoxyde (DMSO) et diluées dans le milieu de culture pour donner une concentration maximale de 0,5% de DMSO dans un volume final de 200  $\mu$ L contenant 1% de parasites et 2,5% d'hématocrite. Les composés et le contrôle négatif [chloroquine (CQ)] ont été préparés par dilution double, dans un intervalle de titration de dose de 0,098 à 100  $\mu$ g/mL, pour obtenir 11 concentrations différentes.

Après 42 h d'incubation dans un pot à bougie à 37 °C, les plaques ont été congelées pendant une nuit. Les plaques congelées ont ensuite été soumises à trois cycles de congélation-décongélation de 1 heure de décongélation à température ambiante, 5 minutes d'homogénéisation et 1 heure de congélation. Cinq microlitres (5  $\mu$ L) d'homogénat ont ensuite été ajoutés à 45  $\mu$ L de SYBR Green I dans un tampon de lyse (lyse de tampon) dans une plaque de PCR. La plaque de PCR a été incubée à température ambiante pendant une heure et la fluorescence a été mesurée à l'aide d'un lecteur de plaques à puits multiples (Eppendorf realplex mastercycler epgradient S) avec des bandes d'excitation et d'émission centrées à 485 nm et 530 nm respectivement. La  $CI_{50}$  (concentration du composé qui inhibe la croissance à 50% des cellules du *P. falciparum*) a été estimée à l'aide de l'estimateur de l'antipaludique.

### **I.5 Méthodologie de la cytotoxicité**

Des cellules HUVEC ont été cultivées dans le milieu DMEM-F12 en présence du FBS à 10% et de la streptomycine à 1% et incubées dans 5% de CO<sub>2</sub> à 37 °C. La cytotoxicité des composés a été évaluée pour les tester à l'aide de la méthode colorimétrique au MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium). Les cellules HUVEC ont étéensemencées dans une plaque de 96 puits environ 15 000 cellules/puits et incubées pendant 24 h pour adhérer. Après avoir écarté le vieux milieu, les cellules ont été incubées dans le milieu contenant huit concentrations (0,78-100  $\mu$ g/mL) de chaque composé. Après 24 h d'incubation, 20  $\mu$ L de MTT (5 mg/ml) ont été ajoutés à chaque puits et les cellules ont été incubées pendant 3 heures supplémentaires. Finalement, le milieu de culture contenant la solution de MTT a été éliminé et les cristaux de formazan formés ont été dissous dans 100  $\mu$ L de DMSO. L'absorbance a été lue avec un lecteur de plaques Eppendorf à 546 nm. La concentration du composé qui réduit le nombre de cellules viables à 50% ( $CC_{50}$ ) a été calculé en utilisant le logiciel GraphPad Prism (version 5.0, San Diego, CA, USA).

## **II Résultats et discussions**

### **II.1 Résultats d'extractions de *Hura crepitans* L.**

Les extractions des métabolites secondaires de la poudre de feuilles et de racines de *H. crepitans* L nous ont conduit aux résultats suivants :

Tableau 1: Rendements d'extractions de *Hura crepitans*

Extraits	Masse des extraits (g)	Rendements %
DCFH	36,11	18,05
DAFH	37,71	18,86
DDFH	37,36	18,68
DEFH	50 ,39	25,19
DHAF	1,94	0,97
DCRH	6,82	3,41
DARH	15,29	7,65
DDRH	19,03	9,52
DERH	2,60	1,3
DHARH	3,83	1,92

## II.2 Screening phytochimique des extraits de *Hura crepitans* L

Le screening phytochimique nous permettra ainsi d'avoir un aperçu sur la composition chimique des extraits de *H crepitans* L.

Tableau 2: Résultats du screening phytochimique

Extraits	Tanins	Flavonoïdes	Alcaloïdes
DCFH	-	-	-
DDFH	-	-	-
DAFH	+	+	-
DEFH	+	+	-
DHAFH	*	*	*
DCRH	-	-	-
DDRH	-	-	-
DARH	+	+	-
DERH	+	+	-
DHARF	*	*	*

+ : Positif

- : Négatif

\* : Réaction pas encore fait

Le criblage phytochimique des extraits DAFH, DARH, DEFH et DERH de *Hura* a révélé une présence de flavonoïdes et de tanins. Par contre aucun alcaloïde n'est présent dans les extraits de feuilles et de racines testés. Dans les extraits DCFH, DDFH, DCRH et DDRH également aucune présence de flavonoïdes et de tanins n'a été notée. Néanmoins, ces familles peuvent être présentes dans les autres parties de la plantes et aussi dans les extraits non testés comme il a été démontré dans les études de Valdes (2011).

### II.3 Tests d'activités antipaludéennes des extraits de *Hura crepitans*

Le tableau ci-dessous résume les résultats des tests d'activités antipaludiques des extraits de *Hura crepitans* testés sur la souche *plasmodium falciparum* (3D7) sensible à la chloroquine ( $CI_{50} = 0,02296 \pm 0,00336 \mu\text{g/mL}$ ).

Selon les recommandations de l'OMS et les travaux antérieurs, les activités antiplasmodiales des extraits de plantes ont été classées comme suit: extraits hautement actifs avec une  $CI_{50} < 5 \mu\text{g/mL}$ , activité prometteuse entre 5-15  $\mu\text{g/mL}$ , activité modérée entre 15-50  $\mu\text{g/mL}$  et inactivité lorsque  $CI_{50} > 50 \mu\text{g/mL}$ .

La cytotoxicité, elle est déterminée par les tests in vitro de la concentration des viables à la moitié des cellules HUVEC. Plus la valeur de la  $CC_{50}$  est petite plus le produit est cytotoxique et plus la valeur de la  $CC_{50}$  est élevée moins le produit est cytotoxique.

**Tableau 3:** Résultats tests de l'activité antipaludique

Extraits	$CI_{50}$ <i>plasmodium falciparum</i> 3D7 strain	$CC_{50}$ HUVEC	Indice cytotoxicité
	$CI_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) $\pm$ SD	$CC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) $\pm$ SD	
DCFH	$32,02 \pm 2,42$	>100	>3,12
DAFH	$17,42 \pm 2,16$	>100	>2,67
DDFH	$13,72 \pm 5,05$	$46,52 \pm 3,12$	3,39
DEFH	$8,15 \pm 0,95$	$49,56 \pm 3,87$	6,08
DHAF	$13,2 \pm 1,73$	>100	>7,58
DCRH	>100	$89,56 \pm 4,56$	0,9
DARH	$17,35 \pm 3,11$	$51,26 \pm 2,89$	3,24
DDRH	$49,7 \pm 13,43$	>100	>2,01
DERH	$13,7 \pm 1,35$	$23,49 \pm 2,15$	1,71
DHARH	$38,58 \pm 4,26$	>100	>2,59
CQ	$0,02296 \pm 0,00336$	$0,75 \pm 0,046$	32,67

En se référant sur les recommandations de l'OMS, nous pouvons conclure que les extraits DEFH, DHAFH, DERH et DDFH présentent tous une activité antiplasmodiale prometteuse, avec une concentration inhibitrice ( $CI_{50}$ ) de ( $8,15 \pm 0,95$ ), ( $13,2 \pm 1,73$ ), ( $13,7 \pm 1,35$ ), et ( $13,72 \pm 5,05$ ) ( $\mu\text{g/mL}$ ), respectivement. Les extraits DARH, DAFH, DCFH, DHARH et DDRH quant à eux, présentent chacun une activité biologique modérée avec des valeurs respectives de  $CI_{50}$  de ( $17,35 \pm 3,11$ ), ( $17,42 \pm 2,16$ ), ( $32,02 \pm 2,42$ ), ( $38,58 \pm 4,26$ ), ( $49,7 \pm 13,43$ ) ( $\mu\text{g/mL}$ ). Cependant, l'extrait DCRH avec une  $CI_{50} > 100$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) est considéré comme inactif.

L'étude de la  $CC_{50}$  des extraits de Hura nous a induit aux résultats suivants : DCFH, DAFH, DHAF, DDRH et DERH avec une  $CC_{50} > 100$  ( $\mu\text{g/mL}$ ), nous pouvons en déduire que ces extraits ne sont pas cytotoxiques. Par contre les extraits DERH, DDFH, DEFH, DCRH, DARH avec une  $CC_{50}$  de ( $23,49 \pm 2,15$ ), ( $46,52 \pm 3,12$ ), ( $49,56 \pm 3,87$ ), ( $51,26 \pm 2,89$ ) et ( $89,56 \pm 4,56$ )



( $\mu\text{g/mL}$ ), respectivement présentent une certaine cytotoxicité à des degrés divers. De ces résultats nous pouvons dire que l'activité biologique de 3 extraits (DEFH, DHAFH, DERH) est peut-être due à leurs compositions chimiques sauf le DDFH qui fait l'exception.

#### II.4 Résultats d'extractions d'*Icacina oliviformis*

Le tableau ci-dessous nous renseigne sur les rendements des extraits de tiges et de racines d'*Icacina oliviformis* après extractions et évaporations.

**Tableau 4:** Rendements d'extractions

Extraits	Masse des extraits (g)	Rendement %
EEtTI	1,24	0,45
EDTI	5,65	2,09
EETI	7,96	2,94
ECRI	3,96	4,3
EARI	0,74	0,8
EDRI	0,88	0,95
EERI	2,15	2,33

#### II.5 Screening phytochimique de *Icacina oliviformis*

Les résultats des tests screening des extraits de racines et tiges sont consignés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 5:** Résultats des tests du screening phytochimique

Extraits	Stérols et polyterpènes	Poly phénols	Flavo noïdes	tanins	Anthra quinones	alcaloïdes	Les saponines
EDTI	+	-	-	-	+	+	*
EEtTI	+	+	-	+	+	+	*
EHATI	-	+	+	+	-	+	+
EA <sub>Q</sub> TI	-	-	+	-	-	-	+
EHARI	+	+	+	+	+	-	+
EDRI	+	+	-	+	+	+	*
EARI	+	-	-	-	-	+	*
ECRI	+	-	-	-	*	-	*

+ : Réaction positive

- : Réaction négative

\* : Expérience non réalisée par faute de solubilité

Les résultats obtenus précédemment ont été réalisés par une série de méthodes adoptées dans des études similaires. Selon les résultats, les tiges de *Icacina oliviformis* sont riches en alcaloïdes car l'analyse phytochimique des extraits dichlorométhane, éthanol et éthanol/eau révèlent la présence d'alcaloïdes. Les tiges de *I. oliviformis* sont aussi riches en stérols, terpènes,

anthraquinones, tanins, flavonoïdes, polyphénols même si certains tests des extraits issus des tiges de *I. oliviformis* ont donné des résultats négatifs. D'après les résultats des tests, les extraits EHARI, EDRI, EARI et ECRI des racines de *I. oliviformis* sont riches en stérols et en terpènes. Par contre pour EHARI et EDRI le screening a révélé la présence de polyphénols, de tanins et d'anthraquinones. Tant dis que la présence d'alcaloïdes est noté que dans EDRI et EARI. De plus seul l'extrait EHARI a révélé la présence de flavonoïdes.

## II.6 Activités antipaludéennes des extraits de *Icacina oliviformis*

L'efficacité antipaludéenne des extraits est évaluée sur la souche *Plasmodium falciparum* 3D7 (souche chloroquinosensible). Malgré les efforts déployés pour la découverte de nouveaux traitements antipaludiques et la mise en place effective de combinaisons thérapeutiques, *P. falciparum* s'adapte en permanence et développe des résistances. La chloroquine (CQ) qui s'est imposée comme un remarquable antipaludique et qui malheureusement présente aujourd'hui des résistances est prise comme témoin pour les tests d'activités antipaludiques de nos extraits. La concentration inhibitrice à 50% (CI<sub>50</sub>) permet de déterminer l'activité antipaludéenne d'un tel composé. Si CI<sub>50</sub> est élevé c'est-à-dire > 100 µg/mL, l'extrait est inactif. Par contre plus la CI<sub>50</sub> est faible (≤ 5 µg/mL), plus l'extrait présente une bonne activité.

Les résultats des tests d'activités antipaludéennes des extraits de racines et tiges de *Icacina oliviformis* sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 6:** Résultats des tests d'activités antipaludéennes

Extraits	<i>Plasmodium falciparum</i> 3D7 strain	cellules HUVEC	Indice cytotoxicité
	CI <sub>50</sub> (µg/mL) ± SD	CC <sub>50</sub> (µg/mL) ± SD	
EDTI	25,59 ± 4,07	47,50 ± 3,12	1,85
EEtTI	11,72 ± 2,86	26,30 ± 2,10	2,24
EHATI	1,8 ± 0,51	78,30 ± 2,45	43,5
EA <sub>Q</sub> TI	24,23 ± 1,83	15,20 ± 2,12	0,63
EHARI	>100	>100	>1
EDRI	12,22 ± 2,85	49,25 ± 5,02	4,03
EARI	17,5 ± 4,25	>100	5,71
ECRI	18,17 ± 5,22	3,125 ± 4,18	0,17

Les extraits de racines et de tiges ont été testés sur la souche *P. falciparum* 3D7 sensible à la chloroquine avec (CI<sub>50</sub> = 0,02296 ± 0,00336 µg/mL).

Selon la classification faite par l'OMS, on peut dire que l'extrait EHATI est un extrait hautement actif avec une  $CI_{50}$  de  $(1,8 \pm 0,51 \mu\text{g/mL})$ . Les extraits EEtTI et EDTI sont des extraits à activité prometteuse avec une  $CI_{50}$  de  $(11,72 \pm 2,86 \mu\text{g/mL})$  et de  $(12,22 \pm 2,85 \mu\text{g/mL})$  respectivement. Cependant les extraits EDTI, EA<sub>Q</sub>TI, EARI et ECRI sont des extraits à activité modérée. L'extrait EHARI avec une  $CI_{50} > 50 (\mu\text{g/mL})$  est un extrait inactif.

Les extraits EDTI, EA<sub>Q</sub>TI, EEtTI, EDRI et ECRI présentent des résultats modérés pour certains et prometteurs pour d'autres, par contre, ils présentent une cytotoxicité. Les extraits EHARI et EARI ont une  $CC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$  ce qui veut dire que ces extraits ne présentent pas de cytotoxicité. L'extrait EHATI qui a donné la meilleure  $CI_{50}$  lors des tests présente une certaine cytotoxicité avec une  $CC_{50}$  de  $(78,30 \pm 2,45 \mu\text{g/mL})$ . L'extrait cyclohexane de racines de *Icacina* (ECRI) est la plus cytotoxique de tous les extraits de racines testés avec un  $CC_{50}$   $(3,125 \pm 4,18 \mu\text{g/mL})$ .

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans ce travail, un screening phytochimique, des tests d'activités antipaludéens et des tests de cytotoxicité des extraits de *Hura* et de *Icacina* ont été réalisés.

Le screening des extraits de *Hura* a révélé pour les 4 extraits (DAFA, DEFH, DARH et DERH) une présence de flavonoïde et de tannins. En effet les extraits de *Hura crepitans* L. soumis à des tests d'activités antipaludiques sur la souche *plasmodium falciparum* 3D7 sensible à la chloroquine ont conduits aux résultats suivants : les extraits DEFH, DHAFH, DERH et DDFH ont donné les meilleurs tests biologiques avec une activité antiplasmodiale prometteuse  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) égales ( $8,15 \pm 0,95$ ), ( $13,2 \pm 1,73$ ), ( $13,7 \pm 1,35$ ), et ( $13,72 \pm 5,05$ ), respectivement, de plus ils ne présentent aucune cytotoxicité  $CC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ .

Cependant le screening des extraits de *I. oliviformis* a révélé la présence d'alcaloïdes, de stérols, de terpènes, d'antraquinones, de tanins, de flavonoïdes et de polyphénols même si certains tests des extraits ont donné des résultats négatifs. Concernant les tests d'activités, EHATI a présenté une meilleure activité antiplasmodiale avec un  $CI_{50}$  de ( $1,8 \pm 0,51 \mu\text{g/mL}$ ) mais avec une certaine cytotoxicité ( $CC_{50} = 78,30 \pm 2,45 \mu\text{g/mL}$ ). Néanmoins les extraits EEtTI et EDRI restent prometteuses mais cytotoxique.

Les travaux menés dans cette étude ont ainsi permis de participer à l'amélioration des connaissances biologique, chimique, et cytotoxique de *Hura crepitans* et d'*Icacina oliviformis* mais aussi de justifier leurs utilisations dans la médecine traditionnelle.

En perspectives, il serait donc intéressant de vérifier la présence de stérols, polyterpènes, d'antraquinones et de saponines, de faire des tests d'activités antiplasmodiales sur la souche *P. falciparum* W2 et à partir des extraits actifs, faire à une isolation et caractérisation des principes actifs.

1. Zeggwagh A. A., Lahlou Y., Bousliman Y. *Pan African Medical Journal*, **2013**, 14 (125), 2-6.
2. Duboz P., Gueye L., Macia E. *Médecine et Santé Tropicales*, **2015**, 25, 165-171
3. Gruffat X. phytothérapie (définition). Disponible sur : [www.creapharma.ch/phytotherapie.htm](http://www.creapharma.ch/phytotherapie.htm). [Consulté le 10/01/2019]
4. Clardy J., Walsh C. *Nature*, **2004**, 432, 829-837.
5. Portet Bénédicte. Recherche bioguidée de molécules antipaludiques d'une plante guyanaise : *Piper hostmannianum* var. *berbicense*. Thèse de doctorat : Chimie-Biologie-Santé. Lieu de soutenance : Université de Toulouse III- Paul Sabatier, **2007**, 249p.
6. Malaria vector control and personal protection : raport of a WHO study group, organisation mondial de la santé, **2006** (OMS, série de rapports techniques, n°936). Disponible sur : [www.who.int/malaria](http://www.who.int/malaria). [Consulté le 10/01/2019].
7. Amat R. J. M. *L'information géographique*, **2002**, 66(3), 236-243.
8. Campus de Parasitologie-Mycologie - Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL). Université Numérique Francophone des Sciences de la Santé et du Sport (unf3s). [campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/2.html](http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/2.html) [Consulté le 10/01/2019].
9. Laboratory Identification Parasites of Public Health Concern. *Malaria*, 2009.
10. Rossant L., Rossant-Lumbroso J. Doctissimo santé. Disponible sur : [www.doctissimo.fr/html/sante/encyclopedie/sa\\_1252\\_paludisme.htm](http://www.doctissimo.fr/html/sante/encyclopedie/sa_1252_paludisme.htm). [Consulté le 15/01/2019].
11. Institut de recherche pour le développement. <http://www.suds-enligne.ird.fr/paludisme/systemes/gen-plasmodium01>.
12. ANSO J. Dur à avaler. [www.dur-a-avaler.com/artemisia-la-plante-derangeante-qui-guerit-le-paludisme](http://www.dur-a-avaler.com/artemisia-la-plante-derangeante-qui-guerit-le-paludisme). [Consulté le 27/05/2019].
13. ROBERT A. Culture sciences chimie. [http://culturesciences.chimie.ens.fr/le-fer-de-l'hème-cible-pour-la-chimiothérapie-du-paludisme](http://culturesciences.chimie.ens.fr/le-fer-de-l-heme-cible-pour-la-chimiotherapie-du-paludisme). [Consulté le 27/05/2019].
14. Bruneton J. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris, **1993**, 535-545.
15. Krief S. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda.

- Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat : Sciences du Vivant [q-bio]. Museum national d'histoire naturelle – MNHN. PARIS, **2003**, 343p.
16. Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. *phytothérapie*, **2004**, 1, 3-6.
  17. Plantes et fruits-Esprit santé. Encyclo' Bio. [www.espritsante.com/articles/encyclobio.html](http://www.espritsante.com/articles/encyclobio.html)
  18. Bruneton J. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier Tec et Doc. Paris 2<sup>ème</sup> édition, **1993**, 915 p.
  19. Brunet S. Analyse des mécanismes d'actions antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestif des ruminants. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse, **2008** 246p.
  20. Bravo L. *Nutrition Review*, **1998**, (56), 317-333.
  21. Badiaga M. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia Smith* une plante médicinale Africaine récoltée au Mali. Thèse : chimie organique. Lieu de soutenance : FAST de Bamako, **2011**, 137p.
  22. Cyril T. Etude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. **2001**. 28p.
  23. Rakotonanahary M. thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, Université Joseph Fourier. **2012**, 16, 19, 27, 28p.
  24. Mebarki N. Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne, magister en génie des procédés chimique et pharmaceutiques, *Université M'Hamed Bougara Boumerdes*. **2010**. 11p
  25. STÄUBLE N. *journal of Ethnopharmacology*, **1986**, 16, 23-103.
  26. Marie-Odile et Philippe. Overglog. <http://delaunay-kourou.over-blog.com/2014/04/l-arbre-sablrier-ou-pet-du-diable-hura-crepitans.html> [Consulté le 15/01/2019].
  27. Turamar J. HURA CREPITANS. Disponible sur : <http://chooselove.live/hura-crepitans-26> [consulté le 20/05/2019]
  28. Disponible sur : <https://florafaunaweb.nparks.gov.sg/special-pages/plant-detail.aspx?id=2966>. [Consulté le 15/01/2019].
  29. Fowomola M. A., Akindahunsi A. A. *J Med food*, **2007**, 10 (1), 159-164
  30. Garcia M., Monzote L., Scull R and Herrera P. *International, Scholarly, Research, Network (ISRN) Pharmacology*, **2012**, 1-7.
  31. Oloyede G. K., Olatinwo M. B. *Academia Arena*, **2014**, 6 (5), 7-15.
  32. Valdés A. F. C., Martínez J. M., Rodríguez D. A., Lorenzo Y. C., Lizama R. S., Gaitén, Y. G. *Rev Cubana Med Trop*, **2011**, 63 (1), 52-57.

33. Fowomola M. A., Akindahunsi A. A. *J Med food*, **2007**, 10 (1), 159-164.
34. Miers. Icacinaceae. *Annals And Magazine of Natural History (Series 2)*. **1851**, 8, 174
35. Fay M. J. *Econ Bot*, **1987**, 41, 512-522.
36. Base de données ITIS (<https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt#null>).
37. National Research Council. *Lost Crops of Africa. Volume III: Fruits*, Washington, D. C.: The National Academies Press, **2008**, 281-289.
38. Sarr S. O., Porrotey S., Fall I., Ennahar S., Zhao M., Diop Y. M., Candolfie E., Marchioni E. *Malaria Journal*, **2011**,10, 1-10.
39. Barhaut J. *Flore illustrée du Sénégal. Dicotylédones, Connaracées à Euphorbiacées*, Tome III, Préface de M. Léopold Sédar Senghor Président de la république du Sénégal, **1975**, 402-404.
40. Raphaël D., Eklou-Natey Annie B. *Dictionnaire et monographies multilingues du potentiel médicinal des plantes africaines. Afrique de l'ouest*, Volume 1 Editions Traditions et Médecine T et M Genève, **2011**, 547.
41. Berhaut J. *Flore illustrée du Sénégal. 2e édition plus complète avec les forêts humides de la Casamance*. Edition Clairafrique Dakar, **1967**, 334-335.
42. Sarr S. O., Perrotey S., Fall I., Ennahar S., Zhao M., Diop Y. M., Candolfi E., Marchioni E. *Malaria Journal*, **2011**, 10(85), 10p.
43. Ndiaye M., Diatta W., Sy G.Y., Fall A.D., Faye B., Basséne E., *Méd. d'Afr. Noir* **2008**, 55(8-9), 442-445.
44. Moses K.G., Bernice A. *Pakistan Journal of Nutrition* **2013**, 12(1), 80-84.
45. Manga A., Gassama A., Sy G. Y., Basséne E., Lavaud C. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* **2013**, 035, 15-27.
46. Dei H. K., Bacho A., Adeti J., Rose S. P. *Poultry Science* **2011**, 90, 1239-1244.
47. Woot-Tsuen W. L., Busson F., and Jardin C. *Food composition table for us in Africa*, Rome : Food and Agriculture Organization of United Nations **1968**, 306, p 35.
48. Kay D.E. *Crop and Product Digest n°2. Second Edition*. London: Tropical Development and Research Institute(TDRI), **1987**, 380.
49. Photo Armel DIATTA. Thèse, janvier 2019.