



Université de Mahajanga

REPUBLIQUE DE MADAGASCAR
Fitiavana-Tanindrazana - Fandrosoana
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



BioMad III - Mahajanga-MADAGASCAR

APPEL A COMMUNICATIONS

L'UNIVERSITE DE MAHAJANGA - MADAGASCAR

Organise

une manifestation scientifique BIOMAD III

les 12 et 13 Décembre 2013

au Campus Universitaire d'Ambondrona, Mahajanga

sur le thème

SANTE ET BIODIVERSITE

**Valorisation chimio-pharmacologique d'une
recette antipaludique
issue de la médecine traditionnelle malgache**

Présentés par :

RAKOTOARIMANANA Hajatiana

(Doctorant en Biochimie)

RAFATRO Herintsoa

(Professeur de Pharmacologie)

INTRODUCTION

Actuellement, beaucoup de maladies épidémiques mortelles circulent dans le monde.

Tableau 1 : Liste des maladies la plus mortelle dans le monde en 2003

Maladies	Nombre de décès (millions)
Maladies respiratoires aiguës	3
SIDA	3
Maladies diarrhéiques	2,5
Tuberculose	2
Paludisme	2

- la troisième place à Madagascar (2010)

INTRODUCTION

Le paludisme est endémique dans 107 pays : environ 40% de la population mondiale.

❖ Aucun vaccin antipaludique homologué



❖ Traitements médicamenteux

INTRODUCTION

En Afrique, 80% de la population utilise la médecine traditionnelle.

Objectif :

Contribuer à la prise en charge du paludisme par la valorisation scientifique des vertus des plantes médicinales.

Méthodologie



Approche
« TÉRRAIN-LABO »
2003 - 2006

MATÉRIELS ET MÉTHODES

TÉRRAIN - LABO

Enquêtes

Chimie

Biologie

- Extraction
- Fractionnement
- Chromatographie

- Palu : *in vitro* et *in vivo*
- Toxicité : *in vitro*

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Enquêtes ethnobotaniques

Documentation: version
[Papier – Electronique]



Descente sur terrain
[Tradipraticiens, Particuliers]



Confrontation des informations
&
Collecte des plantes
puis
Identification botanique



MATÉRIELS ET MÉTHODES

Etudes phytochimiques

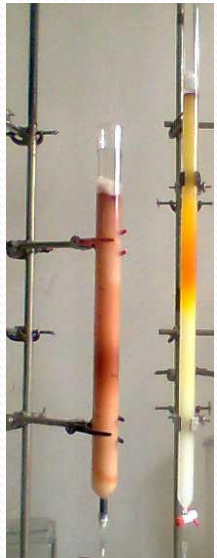


Plantes fraîches
ou
Partie séchée et broyée
+
Macération



ou décoction

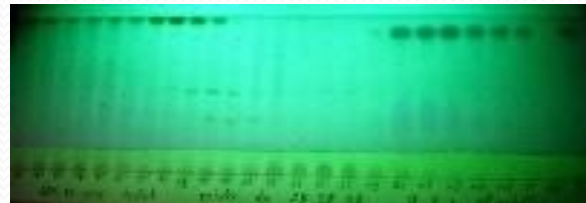
Fractionnement
liquide-liquide



Sephadex



Silice



CCM (254 nm)

MATÉRIELS ET MÉTHODES

TESTS BIOLOGIQUES

Évaluation de l'activité anti-plasmodiale *in vitro*

ENTRETIEN EN CULTURE *IN VITRO*

Plasmodium falciparum FcM 29C₁ + Solution synthétique + Hématie
+ atmosphère de bougie allumée [37°C]

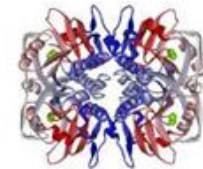


Mise en plaque: contact « parasite / substances testées »



24 heures

Rajout d'hypoxanthine tritiée

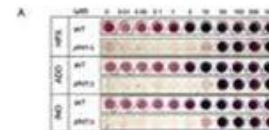


18 heures

Lecture de la quantité de radioactivité
(Détermination de la

Concentration inhibant 50% de la croissance parasitaire -CI₅₀)

TEST D'INHIBITION
DE LA CROISSANCE PARASITAIRE



MATÉRIELS ET MÉTHODES

TESTS BIOLOGIQUES

Évaluation de l'activité anti-plasmodiale *in vivo*

Plasmodium yoelii N67 var. *nigeriensis* + Souris suisses (donneuses)



**TEST DE SUPPRESSION
PARASITAIRE
(Peters, 1975)**

Impaludation des souris (20 gr, quatre semaines)



Gavage (quatre jours)



**Frottis: lecture de la parasitémie
(Détermination du Pourcentage d'inhibition
ou Dose efficace à 50% - DE₅₀)**



MATÉRIELS ET MÉTHODES

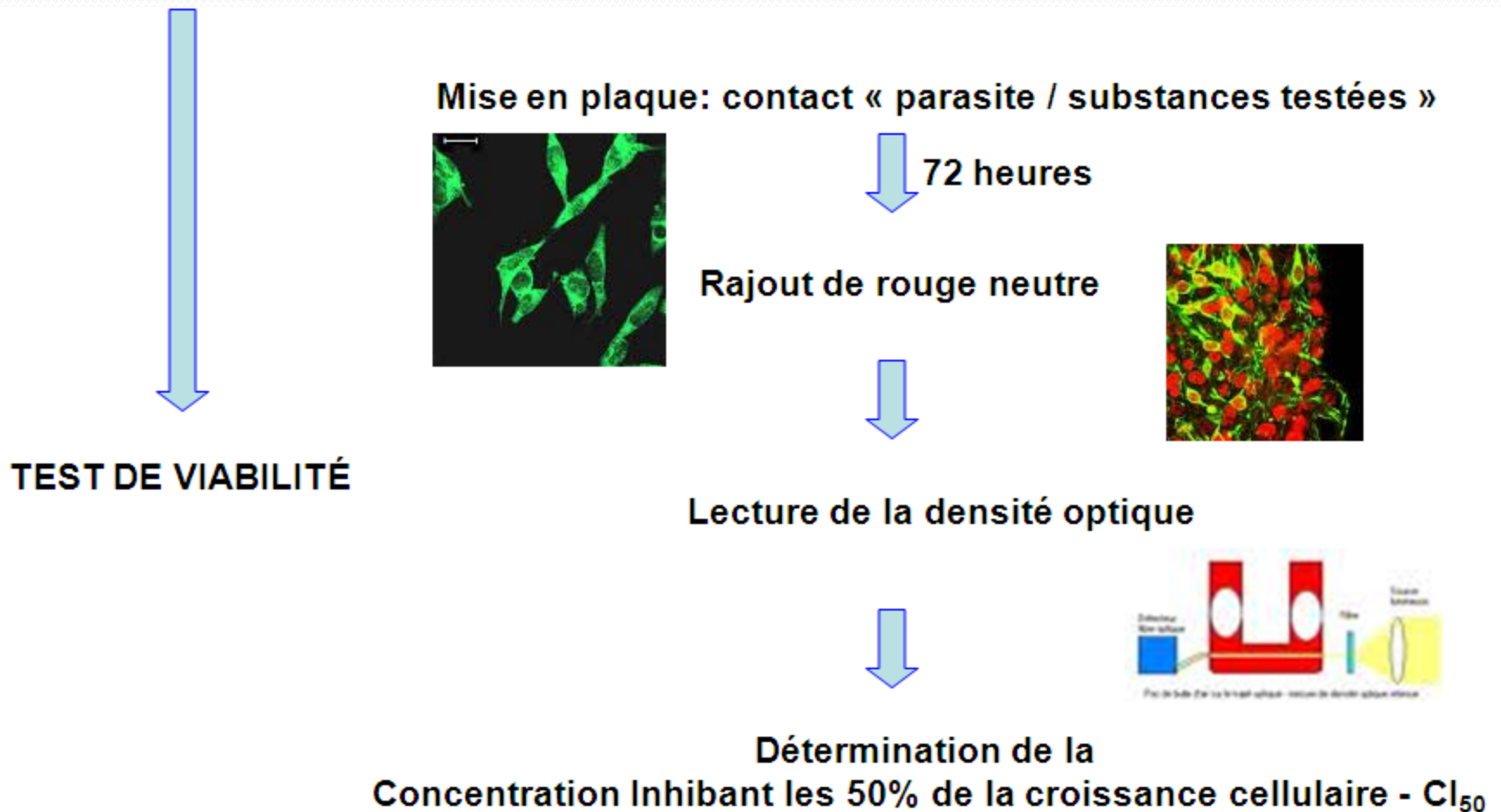
TESTS BIOLOGIQUES

Évaluation de l'activité toxique *in vitro*

ENTRETIEN EN CULTURE *IN VITRO*

P388 lignée leucémique de souris + solution synthétique

+ 75% N₂, 20% O₂, 5% CO₂ [37°C]



A lush tropical scene featuring a waterfall cascading over large, moss-covered rocks. The water is clear and greenish, reflecting the sunlight. The background is filled with dense green foliage and trees, with a large fallen log leaning against the rocks. The overall atmosphere is serene and natural.

Résultats

RÉSULTATS

Tableau 2 : Liste des ingrédients composants la recette antipaludique

Noms scientifiques	Famille botanique	Utilisations thérapeutiques traditionnelles	Parties utilisées
<i>Cassinopsis madagascariensis</i>	Icacinaceae	paludisme	Décocté de tiges feuillées
<i>Gambeya boiviniana</i>	Sapotaceae	paludisme, délivrance	Décocté de tiges feuillées
<i>Noronhia divaricata</i>	Oleaceae	paludisme	Décocté de tiges feuillées
<i>Pachytrophe dimepate</i>	Moraceae	paludisme, infection rénale	Décocté de tiges feuillées
<i>Tambourissa purpurea</i>	Monimiaceae	paludisme	Décocté de tiges feuillées

RÉSULTATS

Tableau 3 : CI_{50} (*in vitro*) et % I (*in vivo*) du décocté de la recette et de leur macérat hydro-alcoolique

Décocté de la recette		Macérat de la recette	
<i>In vitro</i> CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	<i>In vivo</i> % I à 500 mg/kg/j	<i>In vitro</i> CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	<i>In vivo</i> %I à 500 mg/kg/j
$395,01 \pm 77,21$	$- 14,26 \pm 4,61$	$15,81 \pm 4,63$	$+ 13,18 \pm 4,63$

RÉSULTATS

Tableau 4 : Cl_{50} (*in vitro*) et % I (*in vivo*) du macérat hydro-alcoolique de la recette et de ses ingrédients

Produits	<i>In vitro</i> ($\mu\text{g/ml}$)	<i>In vivo</i> %I
Recette	$15,81 \pm 4,63$	$+ 13,18 \pm 4,63$
<i>Cassinopsis madagascariensis</i>	> 50	$+ 14,72 \pm 1,45$
<i>Gambeya boiviniana</i>	$39,36 \pm 9,97$	$- 9,40 \pm 5,54$
<i>Noronhia divaricata</i>	$24,21 \pm 4,95$	$- 27,00 \pm 3,00$
<i>Pachytrophe dimepate</i>	> 50	$+ 11,68 \pm 14,04$
<i>Tambourissa purpurea</i>	> 50	$+ 1,59 \pm 2,51$
<i>Cinchona sp</i>	$0,13 \pm 0,02$	$- 29,20 \pm 3,13$

RÉSULTATS

Tableau 5 : Concentrations inhibitrices 50% des différentes phases sur la croissance *in vitro* de *Plasmodium falciparum*

Produits		CI ₅₀ (µg/ml) (moyenne ± SD)	Test "t ₁ "	Test "t ₂ "
<i>Noronhia divaricata</i>	Extrait EtOH	24,21 ± 4,95		
	HEX	6,94 ± 1,78	P < 0,05	P < 0,01
	DCM	3,60 ± 0,99	P < 0,05	P < 0,01
	AE	23,40 ± 4,77	NS	P < 0,01
	AQ	> 50		
témoin (+)	<i>Cinchona sp</i>	0,15 ± 0,04		

RÉSULTATS

Tableau 6 : Pourcentages d'inhibition des différentes phases sur la croissance *in vivo* de *Plasmodium yoelii*

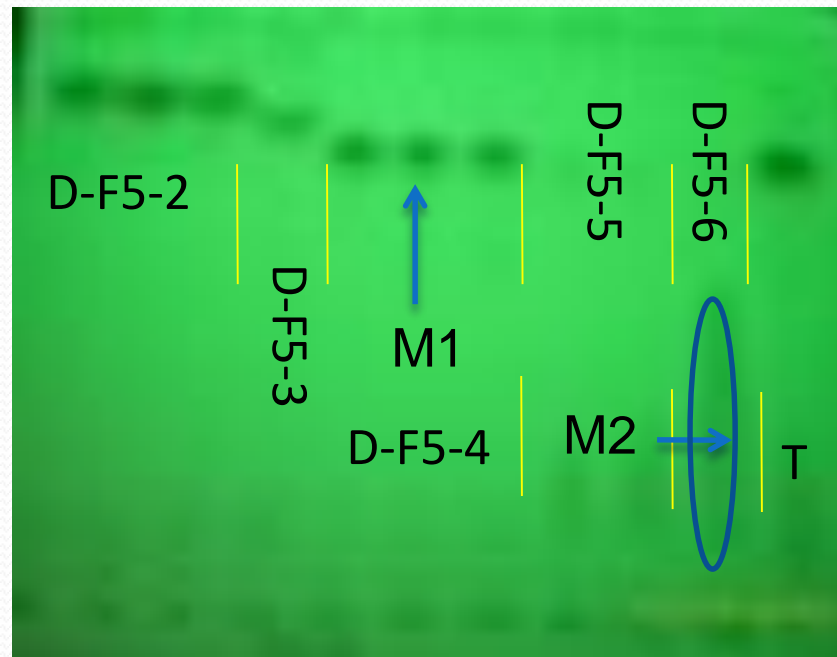
Produits		Doses (mg/kg)	%I Moyenne \pm SD	Test "t"
<i>Noronhia divaricata</i>	Extrait EtOH	500	-27,00 \pm 3,00	
	HEX	500	-15,56 \pm 5,82	NS
	DCM	500	-40,50 \pm 7,50	NS
	AE	500	-33,72 \pm 9,49	NS
	AQ	500	-8,83 \pm 0,79	P < 0,05
témoin (+)	<i>Cinchona sp</i>	100	-39,58 \pm 9,03	

RÉSULTATS

Tableau 7 : Pourcentages d'inhibition des différentes fractions sur la croissance *in vivo* de *Plasmodium yoelii*

Produits		Doses (mg/kg)	%I
Fractions	D-F1	200	-2,74
	D-F2	200	+6,14
	D-F3	200	+0,23
	D-F4	200	-5,10
	D-F5	200	-40,00
témoin (+)	<i>Cinchona sp</i>	100	-27,41 ± 06,97

RÉSULTATS



révélation (UV 254 nm)

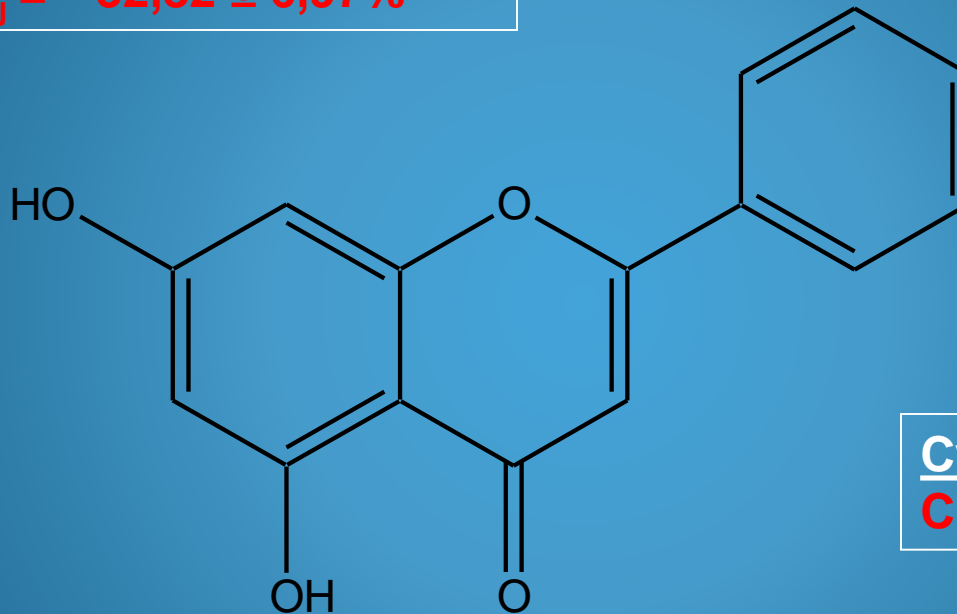
Photo 1 : CCM après chromatographie sur gel de silice de la fraction D-F5

RÉSULTATS

Antiplasmodiales :

$Cl_{50} = 34,27 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$

$\%I_{100\text{mg/kg/j}} = -32,82 \pm 6,97\%$



M1 = C₁₅H₁₀O₄

Cytotoxique :

$Cl_{50} > 50 \mu\text{g/ml}$

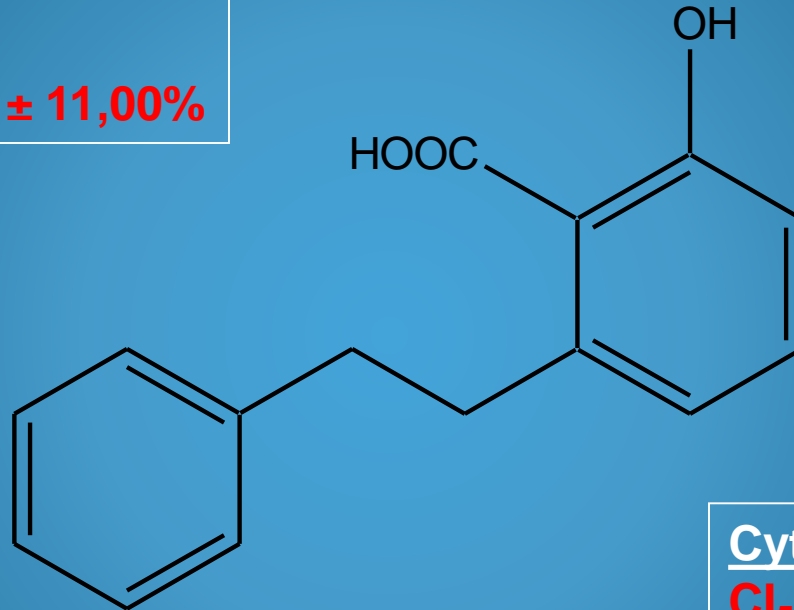
5,7-dihydroxy 2-phényl 4-benzopyrone
[Chrysin]

RÉSULTATS

Antiplasmodiales :

$CI_{50} > 50 \mu\text{g/ml}$

$\%I_{100\text{mg/kg/j}} = -33,00 \pm 11,00\%$



$M2 = C_{15}H_{14}O_3$

Cytotoxique :

$CI_{50} = 27,70 \pm 3,29 \mu\text{g/ml}$

Acide 2-hydroxy 6-(2'-phényléthyl) benzoïque
[Analogue d'Acide lunularique]

CONCLUSION

- Deux molécules ont été isolées :
M1 **chryisine**, *in vitro* et *in vivo*.
M2 **dérivée de l'acide lunularique**, *in vivo*
- Les résultats obtenus ouvriraient des axes vers le développement d'un RTA ou fabrication des médicaments potentiels contre le paludisme.

REMERCIEMENTS

- ➔ **LES LABORATOIRES DE L'IMRA pour les études chimiques et biologiques**
- ➔ **RCS / TDR DE L'OMS pour le financement de ce projet**
- ➔ **TRADIPRATICIENS en acceptant de nous faire partager leurs savoirs faires sur l'utilisation des plantes médicinales**
- ➔ **SANOFI- AVENTIS France pour la détermination structurale des molécules isolées**



**MERCI DE VOTRE AIMABLE
ATTENTION**