

Activité inhibitrice de quelques plantes médicinales camerounaises sur les β -lactamases

J. Gangoué-Piéboji^{1,2,3*}, S. Baurin³, M. Galleni³, P. Ngassam², A. Azebaze⁴, P. Waktuen⁵, D.E. Pegnyemb⁵, B. Ngameni⁵, C. Goffin³, J.M. Frere⁵

¹Centre de Recherches en Plantes médicinales et Médecine Traditionnelle, IMPM, B.P. 6163, Yaoundé, Cameroun

²Laboratoire de Biologie Générale, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, B.P. 812 Yaoundé, Cameroun

³Centre d'ingénierie des Protéines, Laboratoire d'Enzymologie, Institut de Chimie B6, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgique

⁴Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université de Douala, Cameroun

⁵Département de Chimie Organique, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, B.P. 812 Yaoundé, Cameroun

*

Abstract

Les β -lactamases jouent un rôle important dans la thérapie antibactérienne. La présente étude a été effectuée dans l'optique de chercher des inhibiteurs des β -lactamases dans des extraits bruts de cinq plantes médicinales camerounaises. Le screening effectué en utilisant la nitrocéfine comme substrat a montré que les différents extraits avaient une activité inhibitrice sur les différentes classes de β -lactamases. A la concentration de 6 mg/ml, les extraits bruts les plus actifs sur TEM-1 sont *Mammea africana* et *Adenia lobata* avec respectivement une activité résiduelle de TEM-1 de 0,6% et de 9,6%. Sur OXA-10 les extraits de *Garcinia lucida*, de *Bridelia micrantha*, de *G. kola* et de *M. africana* ont montré une bonne activité inhibitrice avec respectivement une activité résiduelle de l'enzyme de 0,2%, 0,8%, 0,3% et 2,4%. Quant à l'enzyme P99, les extraits de *G. lucida* et *B. micrantha* se sont montrés très actifs. L'activité résiduelle de P99 a été de 0,1% (*G. lucida*) et de 8% (*B. micrantha*). Les Extraits bruts de *G. lucida*, *G. kola* et *M. africana* sont les plus actifs sur IMP-1. Cette enzyme a une activité résiduelle de 1,7% (*G. lucida*), 2,4% (*G. kola*) et 4,1% (*M. africana*). Les concentrations inhibant 50 % de l'activité de l'enzyme (CI₅₀) des *G. lucida* composés 1 et *B. micrantha* 3 sont de 0,01 mg/ml pour le composé 1 vis-à-vis de P99 et de 0,019 mg/ml pour le composé 3 vis-à-vis de OXA-10. Le produit 4 issu de la purification par chromatographie haute performance de l'extrait brut de *G. lucida* est très actif sur P99 (CI₅₀ = 0,038 mg/ml) alors que les produits 2' et 3' provenant de l'extrait brut de *B. micrantha* sont actifs sur OXA-10 (CI₅₀ de 0,09 mg/ml et 0,11 mg/ml respectivement). Cette étude qui est une première montre que les plantes médicinales constituent un axe de recherche des inhibiteurs des β -lactamases.

Mots clés : Plante médicinale Camerounaise, Activité inhibitrice, β -lactamase, inhibiteur, enzyme

Introduction

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus développée et la plus utilisée dans le monde entier et même dans les pays en voie de développement. Cette large utilisation est due à leur large spectre d'action, leur faible toxicité, leur efficacité et à leur faible coût pour certaines molécules (LIVERMORE, 1995).

Quatre mécanismes principaux sont utilisés par les bactéries pour résister aux β -lactamines : l'inactivation enzymatique, la modification de la cible cellulaire de l'agent antibactérien, l'efflux cellulaire et la diminution ou l'absence de pénétration de l'antibiotique dans la bactérie. L'association de ces différents mécanismes chez une bactérie la rend multirésistante à de nombreux antibiotiques.

Le mécanisme de résistance le plus répandu chez les bactéries vis-à-vis des β -lactamines est l'inactivation du cycle β -lactame par des enzymes appelées β -lactamases et qui en fonction de leur structure primaire ont été classées en 4 classes A, B, C et D (Ambler et al, 1980). On distingue aujourd'hui plus de 285 types de ces enzymes (http://www.lahey.org/studies/inc_webt.asp).

Aujourd'hui, la résistance des bactéries aux antibiotiques est devenue l'un des problèmes les plus importants des thérapeutiques anti-infectieuses dans le monde et dans l'industrie pharmaceutique. Les infections causées par les bactéries résistantes aux antibiotiques sont responsables d'un taux élevé de morbidité et de mortalité, comparé aux infections causées par les bactéries sensibles aux antibiotiques. Le coût de traitement annuel des infections causées par des germes résistants aux antibiotiques est estimé aux Etats Unis à environ quatre milliards de dollars et est en pleine augmentation (ARCHIBALD *et al.* , 1997). Confronté au problème du coût des antibiotiques, la plupart des populations des pays en voie de développement se tournent vers la médecine traditionnelle.

Les moyens utilisés pour lutter contre le problème de résistance des bactéries aux antibiotiques sont entre autre la recherche des nouveaux antibiotiques, la recherche d'inhibiteurs des différents mécanismes de résistance. Pour ce qui est des β -lactamases, les inhibiteurs utilisés en clinique sont de moins en moins efficaces avec l'apparition des résistances et bien plus ces inhibiteurs ont un spectre limité à la classe A. Il est dès lors judicieux de chercher de nouveaux inhibiteurs de ces enzymes.

Les β -lactamases jouant un rôle important dans la thérapie antibactérienne, l'objectif de cette étude est de rechercher dans cinq plantes médicinales camerounaises les inhibiteurs de ces enzymes.

I. Méthodologie

I.1. Plantes Médicinales

Les plantes médicinales étudiées ont été récoltées dans plusieurs régions camerounaises (tableau 1). Ces plantes sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs maladies (tableau 1). Les différentes plantes étudiées ont été identifiées par des botanistes et des échantillons sont placés à l'Herbier National du Cameroun.

I.2. Extractions des plantes

Plusieurs solvants ont été utilisés pour l'extraction du matériel végétal. Les parties extraites sont, suivant, les plantes, les fruits, les graines, les feuilles, l'écorce du tronc, les racines, les brindilles (tableau 1). Les différentes parties ont été choisies à partir des usages thérapeutiques des tradipraticiens. Suivant le solvant utilisé, l'extraction est faite à froid ou à chaud. Les différentes extractions ont été effectuées dans les laboratoires de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I. Pour l'étude de leur activité, les différents extraits de plantes ont été solubilisés dans du tampon phosphate 50 mM, pH 7 seul ou contenant le DMSO à 10% et le Tween 20 à 0,1% (v/v).

I.4. Elimination des tannins des extraits de plantes

Les extraits bruts de plantes ont été traités avec de la poudre de peau (Sigma) en vue d'enlever les tanins suivant la méthode préconisée par la pharmacopée européenne 4 (2003). Le mélange constitué de 10 mg d'extrait brut de plante, de 100 mg de poudre de peau et de 10 ml d'eau milliQ a été agité sur agitateur magnétique pendant une heure. Il a été ensuite centrifugé pendant 10 mn à 16000g et filtré au filtre millipore 0.45 µm. Le filtrat obtenu est ensuite lyophilisé. La poudre obtenue est pesée et dissoute dans le tampon phosphate 50 mM, pH 7 pour les tests d'activité sur les différentes enzymes.

I.4. Les enzymes

Les enzymes utilisées ont été purifiées dans les laboratoires du Centre d'Ingénierie des Protéines de l'Université de Liège. Ce sont des enzymes des différentes classes des β-lactamases : A (TEM-1), B (IMP-1), C (P99) et D (OXA-10).

I.5. Activité inhibitrice des extraits de plante sur les β -lactamases

L'activité des différentes β -lactamases a été déterminée en présence et en absence des extraits de plante. Les mesures ont été réalisées au lecteur Micoplaque Powerwave X (Biotek, UK) pendant au moins 30 mn à 482 nm. Les différents tests ont été réalisés avec du tampon phosphate 50 mM, pH 7. Le substrat utilisé a été la nitrocéfine (Oxoid, Ltd).

Les différents tests ont été effectués dans les plaques de microtitration et plusieurs concentrations en extrait de plante ont été testées au même moment. Le volume réactionnel est de 100 μ l et constitué de l'extrait de plante, du tampon phosphate, de l'enzyme (10 μ l) et de la nitrocéfine (500 μ M) (10 μ l). Les différentes concentrations d'enzymes utilisées ont été les suivantes : TEM-1 (0,65 μ g/ml), OXA-10 (0,96 ng/ml), IMP-1 (0,164 μ g/ml) et P99 ($4,18 \times 10^{-4}$ nM).

Le mélange constitué d'extrait de plante, du tampon et de l'enzyme est incubé à la température ambiante pendant 30 mn. Le substrat a été ajouté près du spectrophotomètre en commençant par le puits le plus concentré en extrait (6 μ g/ml) pour finir dans le puits dépourvu d'extrait (témoin). Les vitesses initiales sont déterminées en UA/mn en tenant compte du pourcentage de substrat consommé (10%) et en utilisant le logiciel Excel (Microsoft office). L'activité résiduelle de l'enzyme a été déterminée en pourcentage à partir de l'activité de l'enzyme dans le puits témoin et suivant la formule $(Vie/Vit) \times 100$, où Vie est la vitesse initiale de l'enzyme dans le puits contenant l'extrait de plante et Vit l'activité de l'enzyme dans le puits témoin. Nous avons cherché à isoler le principe actif de deux des extraits qui ont montré une forte activité inhibitrice sur P99 et OXA-10. Il s'agit du composé 1 (AZ1) et du composé 3 (AZ3) pour respectivement P99 et OXA-10.

I.6. Chromatographie Liquide Haute Performance

Dans l'optique d'isoler le principe actif des extraits AZ1 et AZ3 nous avons utilisé la chromatographie liquide haute performance pour fractionner ces extraits et purifier les différents produits. Nous avons réalisé la chromatographie analytique.

I.6.1. Chromatographie liquide haute performance analytique

Le système que nous avons utilisé est Waters, Alliance 2695 muni d'un détecteur Photo Diode Array (PDA) Waters 996 (Milford, MA, USA). Les données de chromatographie ont été enregistrées et traitées par le logiciel Waters Millennium. Les analyses ont été réalisées en utilisant la colonne Symetry Shield RP18 (3,9x150 mm, 5 μ m, Waters, USA) et la colonne Licosphere 100 RP18e (4x 250 mm, 5 μ m, Merck, Germany). La température de la colonne a été de 30°C et celle de l'extrait 16°C. Le débit utilisé a été de 1 ml/mn. Le fractionnement

chromatographique a été effectué en utilisant deux solvants : A (H₂O + acide phosphorique, pH 2,5) et B (acétonitrile). L'acide phosphorique a été remplacé parfois par le formiate d'ammonium a pH 2,5. Les changements de la colonne et du solvant A ont entraîné une modification des temps de rétention des différentes fractions. Toutefois, l'ordre de sortie n'a pas été changé et les spectres U.V. des différentes fractions sont les mêmes. La détection des différents produits a été faite à 290 nm et 270 nm pour les extraits AZ1 et AZ3 respectivement.

Pour l'extrait AZ1 le gradient utilisé est le suivant :

Temps (mn)	Solvant	
	A	B
0	88	12
20	78	22
22	20	80
25	20	80
26	88	12
30	88	12

Pour l'extrait AZ3 nous avons utilisé le gradient suivant :

Temps (mn)	Solvant	
	A	B
0	94	6
20	84	16
25	74	26
30	44	56
32	20	80
34	20	80
35	94	6
40	94	6

Les solvants utilisés sont des solvants prévus pour la chromatographie liquide haute performance. Le solvant A a été préparé en utilisant l'eau milliQ. Il a été filtré sur un filtre millipore de 0.22 µm avant son utilisation.

L'extrait brut a été dissous dans du méthanol pur à une concentration de 10 mg/ml. La solution est filtrée au filtre de 0.22 µm avant son utilisation. Le volume d'injection est

variable. L'extrait brut traité avec la poudre de peau, c'est à dire dans lequel les tanins ont été éliminés est dissous dans du tampon phosphate à une concentration de 6 mg/ml. Il est aussi filtré avant son utilisation.

Les fractions des différents extraits ont été recueillies et après passage au concentration au speedVac, lyophilisées. L'activité des différentes fractions a été déterminée en suivant le protocole décrit précédemment. Cette activité est évaluée sur les enzymes P99 et OXA-10 pour respectivement les extraits AZ1 et AZ3.

II. Résultats et commentaires

II.1. Activité des extraits bruts de plante sur les β -lactamases

II.1.1. TEM-1

L'activité résiduelle de TEM-1 en présence des différents composés varie considérablement (tableau 2). Lorsque les composés sont testés directement (sans élimination des tanins), l'activité résiduelle la plus faible est observée vis-à-vis du composé **9** (0,6%) suivi des composés **22** (9,6%).

Le test avec des composés dépourvus des tanins (tableau 2) a montré une augmentation générale de l'activité résiduelle de l'enzyme. Pour les composés **9** et **22**, l'activité résiduelle après élimination des tanins est de 33% et 14,7%. Ceci signifierait que les tanins interviennent pour une partie non négligeable dans l'inhibition de TEM-1. Les tanins sont d'ailleurs connus pour les liaisons fortes qu'ils forment avec des protéines.

II.1.2. OXA-10

Globalement, l'activité résiduelle de OXA-10 vis-à-vis des différents composés est comprise entre 0,2% (composé **1**) et 32% (composé **22**) (tableau 2). Les plus faibles activités résiduelles ont été observées en présence des composés **1** (0,2%), **16** (0,3%), **3** (0,8%). Les composés **1**, **9** et **16** font partie des Guttifereae alors que le composé **3** est une Euphorbiaceae.

Comme pour TEM-1, les tests avec les extraits dans lesquels les tanins ont été éliminés ont montré une augmentation globale de l'activité résiduelle de OXA-10 (tableau 2). Toutefois cette activité reste bien faible pour les composés **3** (1%), **1** (6,9%). Ceci montrerait qu'en plus des tanins, il y a des produits qui ont une activité inhibitrice sur OXA-10 dans ces composés.

II.1.3. P99

Trois composés ont montré une bonne activité inhibitrice sur la β -lactamase P99. L'activité résiduelle de cette enzyme est d'environ 3,4% en présence de ces composés. Par ordre croissant, l'activité résiduelle de P99 est de 0,1% (composé 1), 0,4% (composé 16), 3,4% (composé 9). L'activité résiduelle vis-à-vis des autres composés est présentée au tableau 2. L'activité résiduelle est bien conservée après élimination des tanins dans le composé 1 (tableau 2).

II.1.4. IMP-1

Le tableau 2 présente l'activité résiduelle de IMP-1 vis-à-vis des différents composés. Les plus faibles activités résiduelles inférieures à 10% ont été observées vis-à-vis des composés 1 (1,7%), 16 (2,4%), 9 (4,1%). Comme pour les autres enzymes, les tests avec les composés dépourvus de tanins ont montré une augmentation d'activité résiduelle (tableau 2).

De manière globale, les composés étudiés ont une activité inhibitrice sur les β -lactamases. Les composés appartenant à la famille des Guttiferae ont une très forte activité inhibitrice sur toutes les β -lactamases. Il s'agit du composé 1 qui a une très forte activité sur P99, du composé 9 qui est actif sur OXA-10 et du composé 16 qui a une bonne activité sur IMP-1. Le composé 3 qui appartient à la famille des Euphorbiaceae est très actif sur OXA-10. Quant à la β -lactamase TEM-1, le composé vis-à-vis duquel l'activité résiduelle est faible après élimination des tanins est 22, une Passifloraceae.

En tenant compte des différentes activités inhibitrices des composés sur les différentes enzymes, nous avons choisi les composés 1, 3 et 9 pour la suite des études. Après avoir enlevé les tanins de ces composés nous les avons testés à plusieurs concentrations pour voir leur comportement vis-à-vis des différentes enzymes.

Le composé 1 a montré une très bonne activité inhibitrice sur la β -lactamase P-99 (figures 1 A et B). A la concentration de 0,012 mg/ml, l'activité résiduelle de P99 est de 42,7%. La concentration inhibant 50 % (CI_{50}) de l'activité de P99 est de 0,01 mg/ml. La courbe $V_i/V_o = f(I)$ (figure 1B) se rapproche d'une hyperbole indiquant que l'inhibition de P99 par le composé 1 serait due à un seul produit.

Le composé 3 a montré aussi une bonne activité inhibitrice sur la β -lactamase OXA-10 comme l'indiquent les figures 2 A et B. L'activité résiduelle de cette enzyme reste faible (25%) à une concentration de 0,3 mg/ml du composé 3 (CI_{50} est de 0,019 mg/ml). Comme pour la β -lactamase P99 vis-à-vis du composé 1, la courbe $V_i/V_o = f(I)$ montre une bonne

activité inhibitrice du composé **3** sur OXA-10. L'allure de la courbe se rapproche d'une hyperbole, indiquant ainsi que l'inhibition de l'enzyme serait due à un seul produit.

L'activité inhibitrice de ces deux composés a été testée sur les autres β -lactamases. A la concentration de 0,4 mg/ml du composé **1**, les activités résiduelles de IMP-1 et de OXA-10 sont respectivement de 61% et 43 %. Quant au TEM-1, son activité résiduelle est de 39% à 4 mg/ml du composé **1**.

Les activités résiduelles de TEM-1 et P99 à 4 mg/ml du composé **3** sont de 47% et 44% respectivement.

Le composé **9** n'a pas présenté une bonne activité inhibitrice vis-à-vis des β -lactamases TEM-1 et IMP-1. L'activité résiduelle de TEM-1 est de 50% à une concentration de 4 mg/ml de ce composé et celle de IMP-1 de 69% à la concentration de 0,4mg/ml du composé **9**.

Prenant en compte ces résultats, les composés **1** et **3** ont été fractionnés et purifiés par chromatographie liquide haute performance.

II.2. Activité inhibitrice des fractions et produits purs des composés 1 et 3

II.2.1. Composé 1

Les figures 3A et 3B montrent les chromatogrammes de l'extrait brut et de l'extrait dans lequel les tanins ont été éliminés du composé **1**. Nous constatons que le traitement de l'extrait par la poudre de peau enlève bel et bien un certain nombre de produits. A part les produits qui sortent à partir de 20 mn dans le fractionnement de l'extrait brut, tous les autres pics sont présents autant dans l'extrait brut que dans celui dont les tanins ont été enlevés. Nous avons collecté 7 pics entre 0 et 17 mn (figure 3A). Les différents pics collectés ont montré une activité inhibitrice sur P99 (résultats non montrés). Ces différents pics ont été purifiés. Les activités des produits purs provenant des pics 2 et 4 ont été étudiées vis-à-vis de P99. Les figure 4 A et B montre que l'activité résiduelle de P99 est de 50% à la concentration de 0,03mg/ml du produit 4. Par contre le produit 2 est moins actif (résultats non montrés). L'activité inhibitrice du produit 4 augmente avec le temps de préincubation de l'enzyme alors que celle du produit 2 baisse plutôt.

II.2.2. Composé 3

Les chromatogrammes des extraits bruts et traités à la poudre de peau du composé **3** ne sont pas très différents (figures 5A et 5B). L'unique différence se situe au pic 2' présent dans l'extrait brut et non dans celui dans lequel les tanins ont été éliminés. La poudre de peau n'enlève pas grand-chose dans l'extrait brut. Nous avons collecté 8 fractions (figure 5A).

Après avoir déterminé l'activité des différentes fractions sur l'enzyme OXA-10, nous avons purifié les pics 2', 3', 6' et 7'.

Le tableau 3 donne l'activité résiduelle de OXA-10 vis-à-vis des différents produits purs. Les produits 2' et 3' sont ceux qui présentent une forte activité inhibitrice vis-à-vis de la β -lactamase OXA-10.

La courbe de $f(I)=V_i/V_0$ montre qu'on a globalement deux profils d'inhibition. Le premier est constitué des produits 2' et 3' qui présentent une bonne activité inhibitrice sur OXA-10 (CI_{50} de 0,09 mg/ml et 0,11 mg/ml respectivement) et le second est formé des produits 6' et 7' qui ont une activité inhibitrice plus faible que les précédents produits (CI_{50} de 0,41 mg/ml et 0,38 mg/ml respectivement) (figure 6). Quel que soit le produit, l'activité inhibitrice augmente avec le temps de préincubation de l'enzyme.

Conclusion

Les différents extraits bruts à la concentration de 6 mg/ml ont montré une forte activité inhibitrice sur les différentes β -lactamases utilisées. Cette activité est bien conservée après élimination des tanins dans certains extraits. Le composé **3** est très actif sur OXA-10 (25% d'activité résiduelle en présence de 0,03mg/ml du composé) alors que le composé **1** est très actif sur P99 (43% d'activité inhibitrice avec 0,012 mg/ml de ce composé). En plus des Euphorbiaceae (composé **3**) nous avons constaté que tous les Guttiferae (composés **1**, **9** et **16**) ont présenté une certaine activité inhibitrice sur les β -lactamases. Cette famille de plantes renfermerait des produits actifs sur les β -lactamases.

L'activité inhibitrice des composés **1** et **3** a été confirmée par les produits purifiés provenant de ces deux composés. Le produit 4 provenant du composé **1** est très actif sur P99 (CI_{50} , 0,04 mg/ml). Les produits 2' et 3' provenant du composé **3** sont actifs sur OXA-10 (CI_{50} 0,09 et 0,11 mg/ml respectivement pour les produits 2' et 3'). L'activité inhibitrice des différents produits purs isolés augmente avec le temps de préincubation avec les enzymes.

Vu les résultats obtenus, cette étude mérite d'être poursuivie. Elle a montré que les plantes médicinales constituent un axe de recherche d'inhibiteurs potentiels des β -lactamases. Les produits purs isolés sont en voie d'analyse pour la détermination de leur structure et pour leur identification. Leur activité sera testée sur les autres β -lactamases et le mécanisme d'inhibition sera étudié.

Remerciements

Cette étude a été financé en partie par la Fondation International pour la Science (FIS), Stockholm, Sweden, et Organisation for the prohibition of chemical Weapons, the Hague, The Netherlands, à travers le financement N°F/330-1 attribué au Dr D.E. Pegnyemb.

Références bibliographiques

- Ambler, R. P. 1980. The structure of β -lactamases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)* **289**: 321-331
- Archibald, L., Phillips, L., Monnet, D., Mac Govan, J. E., Tenover, Jr, F. & R. Gaynes. 1997. Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the United States. Increasing importance of the intensive care unit. *Clinic. Infect. Dis.* **24** : 211-215
- Livermore, D. M. 1995. β -lactamase mediated resistance : past, present and future. *J. Infect. Dis. Soc.* **6** : 75-83.

Tableau 1 : Plantes médicinales étudiées

N° et Code des composés	Nom de la plante (famille)	Partie de la plante	Lieu de récolte	Type d'extrait	Solvant d'extraction	Utilisation thérapeutique
1 = AZ1	<i>Garcinia lucida</i> (Guttiferae)	Fruit	Yaoundé	Brut	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (1/1)	Infections gynécologiques, ulcères gastriques, morsures de serpents (écorce et graine), production et fermentation du vin de palme (écorce)
16 = GRKLA	<i>Garcinia Kola</i> (Guttiferae)	Ecorce du tronc		Brut	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (1/1)	Infections gynécologiques, ulcères gastriques, morsures de serpents (écorce et graine), production et fermentation du vin de palme (écorce)
9 = MAF	<i>Mammea africana</i> (Guttiferae)	Ecorce du tronc		Brut	MeOH	Maladie de la peau (racine, écorce), anti-rhumatique et ulcères gastriques (écorce du tronc), anti-inflammatoire.
3 = AZ3	<i>Bridelia micrantha</i> (Euphorbiaceae)	Ecorce de tronc		Brut	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (1/1)	Antimicrobien, Ulcères gastriques et vers intestinaux (Ecorces), anti-diarrhétiques, conjonctivites (feuilles), anti-helminthiques, purgatif et antidote pour les poisons (racines) antitussifs.
22 = ALFe	<i>Adenia lobata</i> (Passifloraceae)	Feuilles	Baham	Brut	MeOH	Coliques

Tableau 2 : Activité résiduelle des β -lactamases vis-à-vis des extraits de plantes (6mg/ml)

Enzyme	Activité résiduelle (%)									
	Garcinia lucida ^a		Bridelia micrantha		Mammea africana		Garcinia kola		Adenia lobata	
	EB	ET	EB	ET	EB	ET	EB	ET	EB	ET
TEM-1	18,4	- ^b	37,3	-	0,6	33	33,6	-	9,6	14,7
OXA-10	0,2	6,9	0,8	1	2,4	14,1	0,3	13,2	32,0	-
P-99	0,1	1,1	8,0	-	3,4	73,1	0,4	-	61,6	-
IMP-1	1,7	-	26,8	-	4,1	21,6	2,4	8	47,7	24,5

^a EB : Extrait brut ; ET extrait brut dépourvu de tanins

^b non déterminé

Tableau 3 : Activité résiduelle (%) de OXA-10 vis-à-vis des produits purs de *Bridelia micrantha*

Produit pur	Activité Résiduelle (%)					
	0,6 mg/ml	0,3 mg/ml	0,15 mg/ml	0,075 mg/ml	0,038 mg/ml	0 mg/ml
pr2 ^c	2,9	8,1	29,5	72,7	91	100
pr3 ^c	1,6	3	13,1	66,1	92,5	100
pr6 ^c	23,3	64,8	74	80,3	84,2	100
pr7 ^c	17,4	62	77,4	84	89,9	100

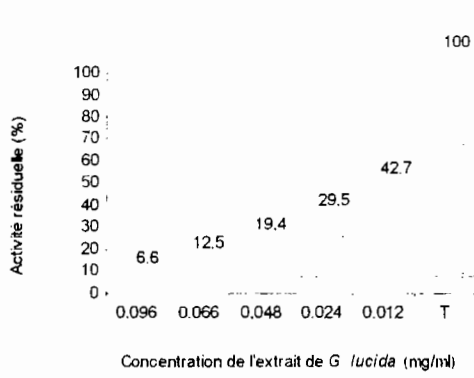


Figure 1 A : Activité résiduelle de P99 vs extrait de *G. lucida*

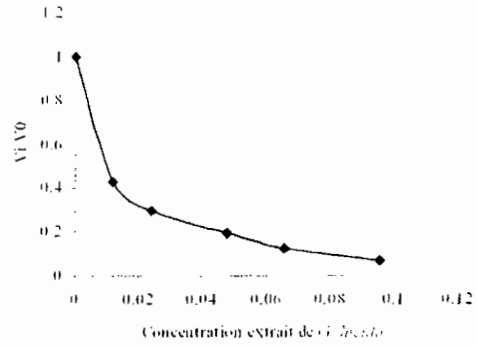


Figure 1 B : Variation de Vi/V0 de P99 en fonction de la concentration de l'extrait de *G. lucida*

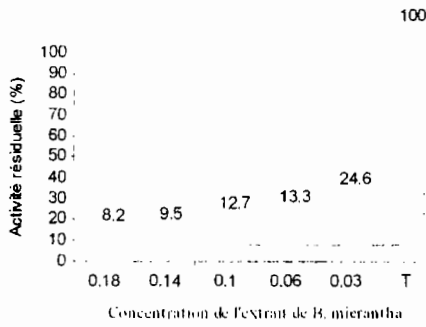


Figure 2 A : Activité résiduelle de OXA-10 vs extrait de *B. micrantha*

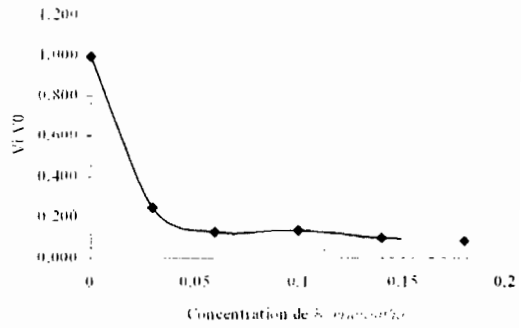


Figure 2 B : Variation de Vi/V0 de OXA-10 en fonction de la concentration de *B. micrantha*

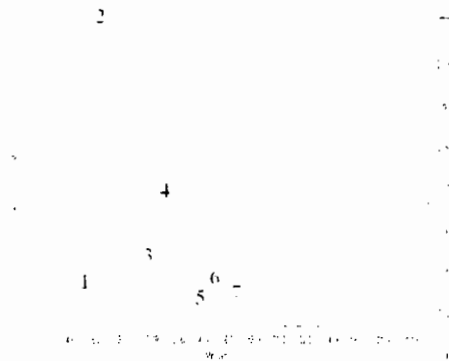


Figure 3 A : Chromatogramme de l'extrait brut de *G. lucida*

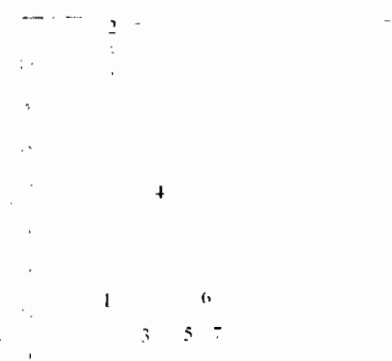


Figure 3 B : Chromatogramme de l'extrait brut de *G. lucida* dépourvu de tannins

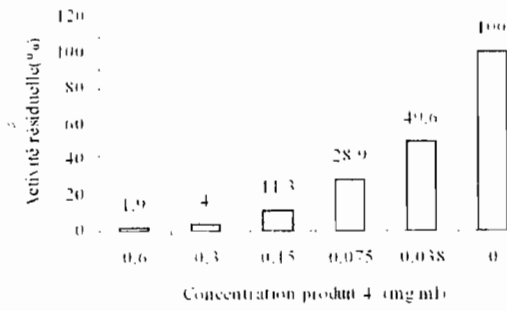


Figure 4 A : Activité résiduelle de P99 vs produit 4

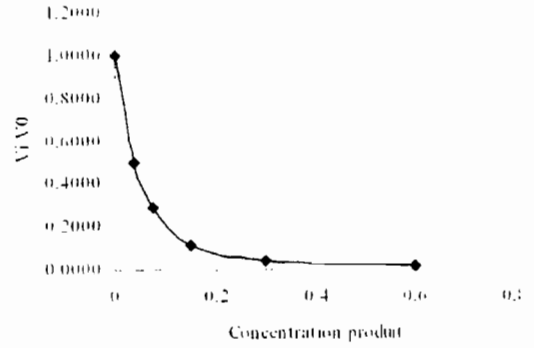


Figure 4 B : Variation de Vi/V0 de P99 en fonction de la concentration du produit 4



Figure 5 A : Chromatogramme de l'extrait brut de *B. micrantha*



Figure 5 B : Chromatogramme de l'extrait brut de *B. micrantha* dépourvu de tanins

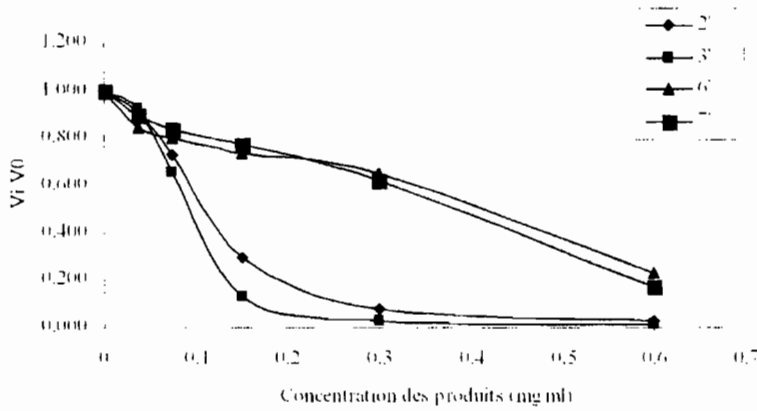


Figure 6 : Variation de Vi/V0 de OXA-10 en fonction de la concentration des