

FORMULATION D'UNE POMMADE DERMIQUE À BASE D'EXTRAITS DE *MITRACARPUS SCABER* (ZUCC)

SANOGO Rokia^{1,2}, KONIPO Abdoulaye⁴, MAIGA Ababacar^{1,2},
ARAMA Augustin Ené^{†*}, DIALLO Drissa^{1,2}, BOUGOUDOGO Flabou^{1,3}

: Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie - Université de Bamako

: Département Médecine Traditionnelle, Bamako - Mali ;

: Institut National de Recherche en Santé Publique, Bamako - Mali ;

: Pharmacie Dr Abdoulaye Konipo, Sévaré, Mali

correspondante : Rokia SANOGO, Département Médecine Traditionnelle, B.P. 1746 Bamako - Mali. Tél: (223) 221 46 23; Portable (223) 674 65 34;

E-mail: rosanogo@yahoo.fr et aidemet@afribonemali.net

Résumé

Mitracarpus scaber Zucc. (Rubiaceae) est très apprécié au Mali pour le traitement traditionnel des dermatoses. De nombreuses études scientifiques ont permis de confirmer les propriétés antibactérienne, antifongique de différents extraits de *Mitracarpus scaber*, contre les germes responsables des infections de la peau.

Le Département Médecine Traditionnelle, dans le cadre de la production des MTA, a mis au point deux formulations galéniques (Mitradermine pommade et lotion) à partir des extraits des parties aériennes de *Mitracarpus scaber* pour le traitement des affections dermatologiques

Dans le but d'améliorer ces formes galéniques nous avons effectué une série d'essais avec différents extraits de *Mitracarpus scaber* et différents excipients. Nous avons également procédé au contrôle de qualité des pommades.

Les résultats obtenus ont permis de proposer une pommade dermique à base d'extraits actifs de *Mitracarpus scaber* avec le beurre de karité comme excipient. Nous avons identifié des marqueurs chimiques pour son contrôle de qualité.

La perspective de ce travail serait la production d'un lot pilote de pommade dermique à base de *Mitracarpus scaber* qui servirait aux essais cliniques.

Mots clés : *Mitracarpus scaber*, activités antibactérienne et antifongique, Pommade, dermatoses.

Summary

The aerial parts of *Mitracarpus scaber* have a popular use for the treatment of skin diseases. Many scientific studies confirm antibacterial, antifungal properties of different extracts of *Mitracarpus scaber* against germs responsible of skin infections.

Two improved traditional medicines have been developed by the Department of Traditional Medicine from *Mitracarpus scaber* aerial parts extracts for the treatment of dermatosis : MITRA-DERMINE ointment and lotion.

In goal to improve those formulations different tests were done with *Mitracarpus scaber* extracts. We also proceeded to the ointment quality control.

Results permitted to propose a dermal ointment with active extracts of *Mitracarpus scaber* and shea butter as excipient. We identified some chemical constituents for quality control of ointment

The perspective of this work would be the production of a pilot share of dermal ointment on basis of *Mitracarpus scaber* for clinical tests.

Key-words : *Mitracarpus scaber*, antibacterial and antifungal activities Ointment, Dermatitis.

1. INTRODUCTION

Mitracarpus scaber est une herbe annuelle de 10 à 50 cm de hauteur, à tige ramifiée, évasée, rondes, blanchâtre ou jaunâtre, pubescentes. La tige porte des feuilles lancéolées de 5 cm sur 1 cm, opposées, glabres dessous, scabres ou lisses dessus. Les inflorescences ont des glomérules compacts axillaires de fleurs blanches entourées de stipules (Kerharo et Adam, 1974).

Mitracarpus scaber Zucc. (Rubiaceae) a une réputation universelle pour le traitement des dermatoses dans plusieurs pays africains (Kerharo et Adam, 1974 ; Adjanohoun et coll., 1985 ; 1986 ; 1989 ; Burkill, 1997).

De nombreuses études phytochimiques et pharmacologiques ont permis de connaître les constituants chimiques et de confirmer les propriétés antibactériennes, antifongiques de différents extraits de *Mitracarpus scaber*, contre les germes responsables d'infections de la peau.

Du point de vue chimique, de nombreux constituants ont été caractérisés et/ou isolés des parties aériennes de *M. scaber* : les flavonoïdes, les tannins (catéchiques et galliques), les anthocyanes, les coumarines, des stérols et tri terpènes (Sanogo et coll., 1994 ; Benjamin et Hugo, 1996), Des naphtoquinoides dont la pentalogine (Moulis et coll. 1992 ; Pialat et coll. 1998) l'harounnoside (Hamidou et coll., 1995), un alcaloïde l'azaanthraquinone (Okunade et coll.,1999) et d'autres substances polyphénoliques (Bisignano et coll. 2000)

Les différents extraits de *Mitracarpus scaber* ont été surtout étudiés pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques et la plupart des travaux associent le criblage phytochimique et la recherche de composés bio-actifs (Benjamin et Hugo, 1986 ; Bamba et coll., 1986 ; Moulis et coll., 1992 ; Pialat et coll., 1998, Irobi et Daramola, 1993 ; 1994 ; Ekpendu et coll., 1994 ; Okunade et coll. 1999 ; Gbaguidi, 1999 ; 2002 ; Ali-Emmanuel et coll., 2003, Cimanga et coll., 2004).

Nous avons étudié l'activité antibactérienne et antifongique de différents extraits de *Mitracarpus scaber* contre les souches standard et cliniques de *Candida* et *Staphylococcus* sp responsables des infections de la peau. C'est l'extrait diétheréthylique qui présente une très bonne activité aussi bien antifongique que antibactérienne avec des CMI de 15,6-31,25µg/ml contre les souches standard de *Candida* et de 7,5-125 µg/ml contre les souches cliniques *Candida*. L'inhibition du *Staphylococcus* donne une CMI de 3,9-62 µg/ml sur souches standard et 1,9-15,6 µg/ml sur souches cliniques (Sanogo et coll. 1996).

L'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique et de 7 constituants isolés de *Mitracarpus scaber* a été confirmée contre des souches de *Staphylococcus aureus* et de *Candida albicans*. L'extrait méthanolique possède aussi bien une activité antibactérienne que antifongique (CMI 31,25 et 62,50 µg/ml respectivement) (Bisignano et coll., 2000). Successivement, l'étude de l'activité antimicrobienne de 7 constituants polyphénoliques a permis de démontrer une bonne propriété antibactérienne de l'acide gallique et de l'acide 3,4,5-triméthoxybenzoïque contre *Staphylococcus aureus* (CMI 3,90 et 0,97µg/ml). Le 4-méthoxyacétophenone et le 3,4,5-triméthoxyacétophenone inhibent le *Candida albicans* (CMI 1,95 et 0,97 µg/ml). Les trois autres constituants présentent une faible activité antimicrobienne (CMI 125 -500 µg/ml). L'efficacité de l'extrait méthanolique de *Mitracarpus scaber* et les 7 constituants a été évaluée par les courbes de mortalité en fonction du temps (Time-kill) de *Staphylococcus aureus* et de *Candida albicans* (Sanogo, 1999).

Les résultats de nos travaux antérieurs sur les propriétés antibactériennes et antifongiques des extraits de *Mitracarpus scaber* et ceux de la littérature scientifique dans le même sens, font de la plante un bon candidat pour la formulation d'une pommade dermique à partir des extraits des parties aériennes de *Mitracarpus scaber* pour le traitement des affections dermatologiques

L'objectif du présent travail est d'effectuer une série d'essais avec différents extraits actifs de *Mitracarpus scaber* et excipients et de procéder au contrôle de qualité des pommades obtenues.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel végétal

Les parties aériennes de *Mitracarpus scaber* Zucc ont été fournies par Herboristerie traditionnelle améliorée du marché de Médine (Bamako) en septembre 2000.

La drogue a été séchée à l'air libre, la pulvérisation a été faite dans un mortier traditionnel.

2.2. Contrôle de la qualité de la matière première

2.2.1. Essais botaniques

Les tests d'identité et de pureté de la drogue (absence de corps étrangers) ont été effectués par observation des caractères macroscopiques, organoleptiques de la drogue (couleur, odeur et saveur).

2.2.2. Dosages

Les dosages de la teneur de l'eau, des cendres et des substances extractibles par l'eau et les solvants organiques ont été effectués selon les méthodes de la Pharmacopée Africaine (OUA, 1988).

2.2.3. Préparation des extraits

Nous avons réalisé trois types d'extraits un décocté, un extrait hydro-alcoolique (Ethanol 60°), un extrait éther de pétrole 35-40° à partir de la poudre de la drogue.

• Décoction

Porter à ébullition dans 600 ml d'eau distillée 100 gr de poudre de la drogue. Maintenir une ébullition modérée pendant 15 minutes. Le filtrat obtenu a été lyophilisé et pesé

• Extrait hydro-éthanolique

Il a été obtenu par macération de 100 g de poudre de drogue dans 200 ml d'éthanol à 60° pour 24 h, l'opération a été répétée trois fois avec la même quantité de solvant. Le filtrat a été concentré et le résidu obtenu est pesé.

• Extrait éther de pétrole

L'extraction a été faite au Soxhlet ; 100 g de poudre de la drogue ont été extraits avec 600 ml d'éther de pétrole 35-40° jusqu'à épuisement de la drogue. L'extrait obtenu a été évaporé à sec et pesé.

Le pH de chaque extrait a été mesuré grâce à une bandelette à pH multiple (Universal Indikator pH :0-14, Merck).

2.2.4. Analyse phytochimique

La caractérisation des principaux groupes chimiques a été effectuée par les réactions colorées en tube et par la chromatographie sur couche mince des extraits :

• Réactions colorées en tube

Les réactifs de caractérisation classiques ont permis de mettre en évidence les groupes chimiques suivants : les alcaloïdes (réactifs de Mayer et Dragendorff), les coumarines (fluorescence UV 366 nm), les flavonoïdes (réaction de la Cyanidine), les quinones (réaction de Brissemoret et Combes) les tanins (Chlorure ferrique) (Wagner et Bladt, 1996 ; Bruneton, 1999).

• Chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits

Nous avons travaillé dans les conditions suivantes :

Solution d'essai : 10 mg de chaque extrait dans 1ml de son solvant.

Support : Plaque de silice FG 250 d'épaisseur 0,25 mm.

Solvants de migration :

Butanol-Acide acétique-Eau (BAW) : 60 - 15 - 25 / v -v

Chloroforme-Méthanol- Eau : 65 - 35 - 5 / v - v

Hexane -Ethyle Acétate : 80 - 20 / v - v

Quantité d'extrait déposée : 10 µl à l'aide d'une micro pipette.

Révéléateur : réactif de Godin (vanilline/ acide perchlorique et acide sulfurique), chauffage de la plaque à 110 °C sous observation pendant 5-10 mn. Observation au visible.

2.3. Préparation et contrôle de qualité des pommades

Nous avons formulé 9 pommades avec les trois extraits (aqueux, hydroéthanolique et éther de pétrole) de *Mitracarpus scaber* et les trois excipients (Beurre de Karité, Lanoline et Vaseline).

2.3.1. Préparation des pommades

Les pommades ont été préparées de la manière suivante : nous avons trituré avec un pilon, dans un mortier en porcelaine, la quantité d'extrait correspondante à 6 g de poudre et la quantité suffisante pour 30 g de l'excipient. L'excipient a été ajouté en petite quantité jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène. Une spatule a été utilisée afin de détacher la pommade du pilon et de mettre la pommade dans les pots en verre.

2.3.2. Contrôle de qualité des pommades

• Caractères macroscopiques

L'observation de la couleur, la consistance et l'odeur de chaque pommade.

- **Homogénéité**

Nous avons vérifié l'homogénéité des pommades en les étalant en couche mince sur une surface plane à l'aide d'une spatule. La répartition régulière ou non des extraits dans les excipients a été notée.

- **Mesure du pH**

Le pH a été déterminé en mesurant celui d'une dilution au dixième de chaque pommade dans de l'eau distillée chaude. Dans les mêmes conditions le pH de chaque excipient a été mesuré.

- **Chromatographie sur couche mince**

La suspension obtenue en triturant 0,1g de chaque pommade dans 1 ml d'éthanol a été utilisée pour CCM. Chaque extrait a été chromatographié avec ses 3 pommades. Le mode opératoire et les conditions chromatographiques sont ceux utilisés pour la CCM des extraits.

3. RESULTATS

3.1. Matière première

3.1.1. Essais Botaniques

- **Caractères macroscopiques et organoleptiques**

La poudre des parties aériennes est de couleur vert clair, d'odeur faible non repoussante et de saveur piquante.

3.1. 2. Dosages

Les teneurs en eau, des cendres et des substances extractibles par l'eau, l'éthanol et l'éther de pétrole. **Le tableau 1** résume les résultats des différents dosages effectués sur la drogue.

3.1. 3. Extraits

Les informations sur les différents extraits sont reportées dans le tableau 2.

3.1.4. Analyses phytochimiques

• Réactions en tube

Les résultats des caractérisations des groupes chimiques des extraits sont reportés dans le **tableau 3**.

Chromatographie sur couche mince

A l'UV 366 nm, il a été observé trois taches de fluorescence bleue claire (RF : 0,59 et 0,71) dans l'extrait éther de pétrole avec le système de solvants (Hexane : Acétate d'Ethyle 80 :20), ce qui confirmerait la richesse de cet extrait en coumarines.

Les extraits aqueux et hydroalcoolique ont présenté de nombreuses taches (Extrait aqueux aux Rf. = 0,45 ; 0,51 ; 0,55 ; 0,59 ; 0,65 ; 0,70 ; 0,77 ; 0,86 ; 0,95 et pour l'extrait hydroalcoolique aux Rf. 0,50 ; 0,56 ; 0,64 ; 0,74 ; 0,81 ; 0,87 ; 0,91 ; 0,96) dans le système de solvants (n-Butanol : Acide acétique :Eau 60 :15 : 25), la révélation des chromatogrammes a montré une richesse de ces extraits en flavonoïdes, naphtoquinones et en coumarines.

3.2. Pommades et qualité des pommades

3.2. 1. Pommades

Les pommades à base d'extraits de *Mitracarpus scaber* sont reportées dans le **tableau 4**.

3.2.2. Paramètres du contrôle de qualité

• Qualités macroscopiques, organoleptiques et pH

Les caractères macroscopiques (couleur et la consistance), l'homogénéité et le pH des pommades sont reportés dans le **tableau 5**.

• Constituants chimiques des pommades

Les résultats de la partie chromatographie sur couche mince effectuée sur les pommades obtenues avec les extraits hydroalcoolique et éther de pétrole sont rapportés dans les tableaux 6 et 7. Chaque extrait a été comparé avec les pommades obtenues avec cet extrait.

4. DISCUSSION

Les résultats de l'étude de la disponibilité des MTA ont permis de comprendre les raisons du choix de la mise au point et au contrôle de qualité d'une pommade dermique à base des parties aériennes de *Mitracarpus scaber* Zuc. (Rubiaceae), utilisée dans le traitement des dermatoses (Konipo, 2001).

La revue des travaux antérieurs et de nos travaux personnels (Konipo, 2001 ; Jegede et coll. 2005), nous ont permis de mieux connaître la plante; de choisir le type d'extraits à préparer ; de centrer les essais phytochimiques sur les coumarines, flavonoïdes, quinones et tanins, déjà rencontrés dans la plante. Ceci nous a facilité le choix de marqueurs chimiques pour le contrôle de qualité des extraits de la plante et aussi de leurs pommades.

Les pourcentages de substances extractibles par l'eau (21,50 %) et par l'éthanol à 60° (25,61 %) confirment la présence dans la drogue de principes actifs solubles dans l'eau et dans l'alcool à 60°, comme les coumarines, les flavonoïdes et surtout les tanins, etc. Ces résultats confirment la pertinence des modes de préparation traditionnelle (décoction) et préparation améliorée du DMT (Mitradermine en lotion dermique).

L'activité antimicrobienne des extraits aqueux et hydroéthanolique de *M. scaber* pourrait être due à une synergie entre ses différents constituants solubles dans l'eau et dans l'éthanol à 60°, une activité globale de l'extrait plutôt qu'à l'action d'un seul principe actif. Le pourcentage des substances extractibles par l'éther de pétrole est faible (4,13%), cependant, cet extrait est riche en naphtoquinoides et d'autres constituants qui ont une bonne activité fongicide (Moulis et coll., 1992 ; Pialat et coll., 1998).

La revue des travaux phytochimiques mentionnés dans la littérature nous a permis de connaître les principaux constituants isolés dans les différents extraits de la plante : coumarines (Benjamin et Hugo, 1986) ; naphtoquinoides (Moulis et coll., 1992 ; Pialat

et coll., 1998), un diglycoside de l'hydroquinone de la Pentalogine ou Harounnoside (Hamidou et coll., 1995) et d'autres substances polyphénoliques (Bisignano et coll., 2000). Nos études phytochimiques ont confirmé la présence dans les extraits de coumarines, flavonoïdes, quinones et tanins etc. (Konipo, 2001).

Les pommades obtenues avec le beurre de karité sont de consistance dure, d'homogénéité assez bonne et bonne. Avec la lanoline comme excipient, les pommades ont une consistance molle avec une très bonne homogénéité. Les pommades préparées avec la vaseline, possèdent une consistance semi-dure et une bonne homogénéité. Les pH des pommades obtenues sont pratiquement les mêmes 6 et 6,5. Seule la pommade obtenue avec l'extrait hydroalcoolique et le beurre de karité a un pH 5,5. Les coumarines, les flavonoïdes, les quinones sont présents dans les trois extraits des parties aériennes de *M. scaber*. Les tanins absents de l'extrait éther de pétrole, sont très abondants dans les deux extraits plus polaires (aqueux et hydroalcoolique). L'éthanol à 60° possède une bonne affinité avec les constituants chimiques présents dans la drogue de *M. scaber*. L'extrait hydroalcoolique est donc éligible comme principe actif pour la préparation de la pommade Mitradermine.

En comparant les chromatogrammes des pommades avec ceux des extraits respectifs, nous retrouvons des taches avec les mêmes Rf. C'est ainsi que nous avons retenu les coumarines, les flavonoïdes et les quinones comme marqueurs chimiques aussi bien pour l'extrait que pour les pommades. Parmi les trois excipients des pommades préparées, le beurre de karité semble mieux libérer les différents constituants chimiques des extraits. Les pommades à base d'extraits hydroalcooliques de *M. scaber* et le beurre de karité possèdent un pH de 5,5, ceci est un autre atout en faveur du choix de la pommade à produire.

Les études pharmacologiques effectuées par de nombreux auteurs ont mis en évidence les activités bactéricide et fongicide de différents extraits de la plante et des constituants chimiques responsables de ces activités (Bamba et coll., 1986 ; Irobi et Daramola, 1993; 1994). Nos propres études ont permis de mettre en évidence une très bonne activité antifongique, antibactérienne de l'extrait diétheréthylique aussi bien contre les souches standards que les souches cliniques de *Candida albicans* et de *Staphylococcus aureus* (Sanogo et coll. 1996) avec d'intéressantes propriétés bactéricides et fongicides des substances polyphénoliques isolées de la plante (Sanogo, 1999 ; Bisignano et coll. 2000).

Des activités contre certains germes pathogènes associés aux SIDA (Okunade et coll., 1999), anti-inflammatoires (Ekpendu et coll., 1994) et antiradicalaires (Germano et coll., 1999) de différents extraits de *Mitracarpus scaber* sont des éléments bénéfiques permettant d'élargir les indications thérapeutiques de la plante à d'autres types d'affections cutanées.

Pour ce qui est de la relation structure activité biologique, les coumarines et les flavonoïdes sont essentiellement des médicaments de l'insuffisance veineuse ; leur action se situe au niveau de petites veines ou des capillaires (action vitaminique P) (Paris et Hurabielle, 1981). Certains flavonoïdes, tanins possèdent également des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes (Paris et Hurabielle, 1981 ; Bisignano et coll. 2000). Des naphtoquinoides (benzo et les naphto) fongicides ont été isolés à partir du jus de *M. scaber* (Moulis et coll., 1992 ; Pialat et coll., 1998). Nous avons également mis en évidence que l'acide gallique, l'acide 3, 4,5-triméthoxybenzoïque, le 4-méthoxyacétophenone et les 3,4,5-triméthoxyacétophenone isolés à partir de *Mitracarpus scaber*, inhibent respectivement *Staphylococcus aureus* pour les deux premières et *Candida albicans* pour les deux dernières molécules (Sanogo, 1999 ; Bisignano et coll. 2000). La plupart des dermatoses bactériennes sont causées par le staphylocoque doré et une bonne partie des dermatomycoses superficielles sont provoquées par le *Candida albicans* (Ginette Lapierre, 1985 ; Mallet, 1985).

L'efficacité des différents extraits de la plante contre certains microorganismes responsables de dermatoses, nous aide à mieux cerner les indications thérapeutiques des pommades formulées et nous donne la possibilité d'envisager un contrôle de qualité des préparations à base d'extraits de *M. scaber* sur les bactéries et les dermatophytes.

Ces résultats nous permettent de choisir l'extrait hydroalcoolique comme constituant actif et le beurre de Karité comme excipient pour la préparation de la pommade dermique MITRADERMINE^R qui pourra être utilisée pour des essais cliniques.

Les raisons de ce choix sont les suivantes :

- l'éthanol à 60° possède une bonne affinité avec les constituants chimiques de *Mitracarpus scaber* ;
- seule la pommade obtenue avec l'extrait hydroalcoolique et le beurre de karité possède un pH de 5,5 ;

- Les pommades préparées avec le beurre de karité comme l'excipient semble mieux libérer leurs principes actifs.
- Le beurre de karité est un excipient connu pour ses propriétés eudermiques (Ezema et. Ozioko, 1990)

Au terme de ce travail nous avons pu passer en revue un ensemble d'éléments pour vérifier la faisabilité de la production à une grande échelle d'une pommade dermique à base de plantes (Konipo, 2001) :

- la non disponibilité sur le marché de MTA en pommade pour le traitement des dermatoses infectieuses ;
- la disponibilité d'une quantité importante de matières premières, d'informations sur la botanique, la chimie et l'efficacité des différents extraits de la plante contre des microorganismes responsables de dermatoses.

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats de nos travaux en plus de la littérature existante, nous permettent de proposer cette plante comme matière première pour la production à grande échelle d'une pommade dermique.

Les résultats de la présente étude nous amènent à proposer :

- l'extrait hydroalcolique comme constituant actif et le beurre de Karité comme excipient ;
- les coumarines et flavonoïdes et les quinones comme marqueurs chimiques pour le contrôle de qualité de la pommade par la chromatographie sur couche mince.

En perspective, il faudra :

- procéder à la préparation de lots tests de pommade MITRADERMINER^R ;
- envisager un contrôle *in vitro* de l'activité sur les bactéries et les dermatophytes de ce lot test ;
- effectuer les essais cliniques sur des dermatoses à staphylocoque doré et à *Candida*.

Ces résultats pourront compléter le dossier scientifique de la plante à soumettre au comité scientifique afin d'aboutir à une autorisation de mise sur le marché de MITRA-DERMINE^R pommade.

6. IN MEMORIUM

Ce travail est dédié à la mémoire de M. Augustin Ené Arama, Pharmacien, Docteur en Pharmacotechnie, arraché à notre affection le 26 août 2006

7. BIBLIOGRAPHIE

- Abiodun Ogundaini (1999) Antimicrobial agents from some Nigerian plants Adjanohoun E., Aké Assi, L., Floret, J.J., Guinko, S., Koumaré, M., Ahyi, A.M.R., Raynal, J. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali - ACCT, 1985, Paris.
- Adjanohoun, E., Adjakidje, V., Ahyi, A.M.R., Aké Assi, L., Akoegninou, A., D'Almeida, J., Apovo, F., Boukef, K., Chadare, M., Cusset, G., Dramane, K., Ayme J., Gassita J.N., Gbaguidi, N., Goudote, E., Guinko, S., Houngnon, P., Lo, I., Keita, A., Kiniffo, H.V., Koné-Bamba, D., Musampa Nseyya, A., Saadou, M., Sogodandji, T.H., De Suza, S., Tchabi, A., Zinsou Dossa, C., Zohoun, T.H. Contribution aux études et ethnobotaniques et floristiques au Bénin - ACCT . 1988, Paris.
- Adjanohoun, E., Ahyi, A.M.R., Aké Assi, L., Akpagana, K., Chibon, P., Watara, A.E., Ayme J., Garba, M., Gassita J.N., Gbeassor, M., Goudote, E., Guinko, S., Hodouto, K.K., Houngnon, P., Keita, A., Keoula, Y., Kluga Ocloo, W.P. Lo, I., et al. Contribution aux études ethnobotaniques au Togo - ACCT, 1986, Paris.
- Ali-Emmanuel N. Moudachirou M., Akakpo, J.A., Quetin-Leclercq (2003). Treatment of bovine dermatophilis with *Senna alata*, *Lantana camara* and *Mitracarpus scaber* leaf extracts *Journal of Ethnopharmacology*, 86, 167-1171.
- Bamba K.D., Dempah A.J., Pellissier Y., Nianke P.O., Aubry P., Aké A.C., Fourasté I., (1986) «Propriétés antifongiques de *Mitracarpus scaber* et *Alchornea cordifolia*», *Le pharmacien d'Afrique*, 18, 16.

- Benjammin, T.V. et Hugbo, P.C. (1986) an approach to study of medicinal plants antimicrobial activities with reference to *Mitracarpus scaber*. In : The state of medicinal plant research in Nigeria, A. Sofowora (Ed), University Press, Ife, Nigeria, pp. 243-251.
- Bisignano, G., Sanogo, R. Marino, A., Aquino, R., D'Angelo V., Germanò, M.P., De Pasquale, R. Pizza C. (2000) Antimicrobial activity of *Mitracarpus scaber* extract and isolated constituents *Letters in Applied Microbiology* 30, 105-108.
- Bruneton, J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3^{de} Ed, Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, 1999, p. 1120.
- Burkill H. M The useful plants of west tropical Africa. Ed Royal Botanic Gardens Kew Vol 4. Families M-R 1997.
- Ekpendu, T.O., Akah, P.A., Adesomoju, A.A, Okogium, J.I. (1994) Antinflammatory and antimicrobial activities of *Mitracarpus scaber* Extracts. *International Journal of Pharmacognosy*, (2), 191-196.
- Ezema, D.O. et ozioko, P.O. (1990) *Butyrospermum* lipids as an ointment base. *International Journal of Pharmacognosy*, 30 (2), 117-123.
- Gbaguidi, A. F. Evaluation de l'activité antimicrobienne de *Mitracarpus scaber* sur *Dermatophilus congolensis* Maîtrise en biochimie, Université d'Abouney-Calavi, Bénin, 1999.
- Gbaguidi, A. F. Evaluation de l'activité antimicrobienne de *Mitracarpus scaber* sur *Dermatophilus congolensis* Maîtrise en biochimie, Université d'Abouney-Diplôme d'Etudes Complémentaires en sciences pharmaceutiques, Université Catholique de Louvain-la-Neuve, Belgique, [<http://www.devcoprize.africamuseum.be/fr/laurea02/00simpr.htm>] 2002.
- Germanò, M.P. Sanogo, R. Costa, C., Fulco, R., D'Angelo, V., Torre, E.A. Viscomi, M.G., De Pasquale, R. (1999) Hepatoprotective properties of *Mitracarpus scaber* (Rubiaceae) *Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 51, 729-734.
- Hamidou, H., Faure, R., Elias, R., Debrauwer, L., Saadou, M., Balansard, G. Boudon, G. (1995) Harounoside a Pentalogine Hydroquinone Diglycoside from *Mitracarpus scaber* *Phytochemistry*, 39, 6, pp. 1483-1484.

- Irobi O.N. et Daramola S.O. (1994) Bactericidal properties of crude extracts of *Mitracarpus villosus* (Rubiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 42, 39-43.
- Irobi O.N. et Daramola S.O. (1993) Antifungal activities of crude extracts of *Mitracarpus villosus* (Rubiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 40, 137-140.
- Jegede I.A., Kunle, O.F. Ibrahim, J.A. Ugbabe, G. and Okogun, J.I. (2005) Pharmacognostic Investigation of Leaves of *Mitracarpus villosus* (S.W.) D.C. *African Journal of Biotechnology*. 4, 9, 957-959.
- Kerharo, J. et Adam, J.C. (1974) La Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques, Vigot, frères, Paris.
- Konipo. Etude de marché des médicaments traditionnels améliorés et mise au point d'une pommade dermique à base de *Mitracarpus scaber* Zucc (Rubiaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, 2001
- Malgras, D., Arbres et Arbustes guérisseurs des savanes maliennes. ACCT-KARTHALA, 1992, Paris.
- Moulis C., Pellissier Y., Bamaba D., and Fourasté I., (1992) Pentalogin, an antifungal naphthoquinoid pigment from *Mitracarpus scaber*, *Second International congress on Ethnopharmacology*, UPPSALA, Sweden, July 2-4.
- Nig. J. Nat Prod. And Med.* 1.3: 26-27.
- Okunade, A.L., Clark, A.M., Hufford, C.D., Oguntiemoin, B.O. (1999) Azzaantraquinone. An antimicrobial alkaloid from *Mitracarpus scaber*. *Planta Medica*, 65, 447-448.
- OUA. Méthodes générales d'analyses. Pharmacopée africaine, Lagos, volume 2 1988, p. 264.
- Ouattara, S. (1994) Conservation in-situ et ex-situ de quelques plantes médicinales au Mali. *IER/DS/PRF*. Sotuba, 8p.
- Paris M. et Hurabielle, M. Abrégé de Matière médicale Pharmacognosie, T. 1 Généralités - Monographies, Masson, 1981, Paris.

- Paris R.R. et Moyse, H. : Précis de Matière médicale, T. 1, 2^e édition, Masson, 1976, Paris.
- Pialat J.P., Hoffman P., Moulis C., and Fourasté I., Labidalle S. (1998) Synthesis and extraction of pentalogin, an antifungal naphthoquinoid pigment from *Mitracarpus scaber* Natural Product letter, 12 (1), 23-30.
- R. K. Cimanga, K. Kambu, L. Tona, T. De Bruyne, A. Sandra, J. Totte, L. Pieters, A. J. Vlietinck (2004) Antibacterial and antifungal activities of some extracts and fractions *Mitracarpus scaber* Zucc. (Rubiaceae). Journal of Natural Remedies. 4, 1, 17-24
- Sanogo R., Germano' M.P., De Pasquale R., Iauk L., Keita A., Bisignano G. (1996) Selective antimicrobial activities of *Mitracarpus scaber* Zucc. against *Candida* and *Staphylococcus* sp. *Phytomedicine*. Vol. 2 (3), 265-268.
- Sanogo, R. (1999) Pharmacognosie et Pharmacodynamie de plantes utilisées dans la médecine traditionnelle au Mali (en Italien). Thèse de Doctorat de recherche en Pharmcognosie, Faculté de Pharmacie - Université de Messine - Italie.
- Sanogo, R., Germano', M.P., De Pasquale, R., Keita, A., Bisignano, G. Attività antibatterica ed antimicrobica di estratti di *Mitracarpus scaber* Zucc. Atti del XXI Congresso del Mediterraneo Latino, Lipari, 6-8 ottobre 1994.
- Wagner H., S. Blatt, Plant drug analysis a thin layer chromatography atlas, second edition, Springer, Berlin, 1996, p.384.

Tableau I : Résultats des différents dosages effectués sur les parties aériennes de *Mitracarpus scaber*.

Dosages	Teneur en %
Substances extractibles par l'eau (1 gramme)	21,50
Substances extractibles par l'éthanol 60° macération de 3jours	25,61
Substances extractibles par l'éther de pétrole au Soxhlet	4,13
Eau M. gravimétrique	7,13
M. azéotropique	8,00
Cendres totales	8,75
Cendres sulfuriques - Acide sulfurique 50%	13,39
Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %	2,85

Tableau II : Rendement de l'extraction, couleur et pH des extraits de *Mitracarpus scaber*.

Extraits	Rendements	Couleur	pH
Ether de pétrole	4,13	verdâtre	6
Hydro-alcoolique	25,61	noirâtre	6
Aqueux (Décoction)	19,77	brunâtre	5

Tableau III : Constituants chimiques caractérisés par réactions en tube sur les parties aériennes de *Mitracarpus scaber* et des différents extraits.

Recherches	Parties aériennes	Extraits			Observations
		Ether Pétrole	Hydroalcoolique	Aqueux	
Alcaloïdes	0	0	0	0	Test Négatif
Coumarines	+++	+	+++	++	Bleu-claire
Flavonoïdes	+++	+	+++	++	Rose-orange
Quinones	+++	++	+++	+	Bleu+précipité
Tanins	+++	0	+++	+++	Verdâtre/bleu noire

0 : Absence ; + Présence ; ++Abondant ; +++: Très abondant.

Tableau IV : Formules des 9 pommades obtenues avec les trois extraits de *Mitracarpus scaber* et les trois excipients

Extraits	Quantité extrait en g + QSP 30 g excipients	Pommades
Aqueux	1,20 A + Beurre Karité	PBKA
	1,20 A + Lanoleine	PLA
	1,20 A + Vaseline	PVA
Hydroalcoolique	1,54 HA + Beurre Karité	PBKHA
	1,54 HA + QSP Lanoleine	PLA
	1,54 HA + Vaseline	PVA
Ether pétrole	0,25 EP + Beurre Karité	PBKEP
	0,25 EP + Lanoleine	PLEP
	0,25 EP + Vaseline	PVEP

Extraits : A= aqueux ; HA = Hydroalcoolique ; EP = Extrait éther de pétrole ; P= pommade ; BKA = Beurre de Karité ; L= Lanoleine et V = Vaseline.

Tableau V : Résultats du contrôle de qualité des pommades à bases d'extraits de *Mitacarpus scaber*.

Paramètres	Pommades								
	PBKA	PBKHA	PBKEP	PLA	PLHA	PLEP	PVA	PVHA	PVEP
Couleur	Brune	Vert-noirâtre	Jaune verdâtre	Blanchâtre	Marron	Jaune Blanchâtre	Brune	Noir	Jaune verdâtre
Homogénéité	Bonne	Assez bonne	Assez bonne	Très homogène	Très homogène	Très homogène	Bonne	Bonne	Bonne
Consistance	Dure	Dure	Dure	Molle	Molle	Molle	Semi-dure	Semi-dure	Semi-dure
pH	6	5,5	6	6	6	6	6	6	6,5

P = Pommade ; BK= Beurre de Karité ; L= Lanoléine ; V= Vaseline ; A = Extrait aqueux ; HA= Extrait hydroalcoolique ; EP = extrait éther de pétrole.

Tableau VI : Résultats de la CCM de l'extra it hydroalcoolique de *Mitracarpus scaber* et de ses pommades

Extrait et Pommades	RF	Observations			Interprétation possible
		UV 254 nm	UV 366 nm	Après Révélation	
Hydroalcoolique	0,23	visible	Jaune	Jaune	FLA/NQ
	0,37	---	Jaune	Jaune	FLA/NQ
	0,52	---	Jaune	Jaune	FLA/NQ
	0,60	Visible	Brune	---	---
	0,75	---	Sombre	---	---
	0,85	---	Bleue	Bleue	COUM.
	0,96	Visible	Rouge	verte	---
PBKHA	0,24	---	Jaune	Bleue	TERP.
	0,60	Visible	Brune	---	---
	0,83	----	Sombre	Violacée	TERP.
PLHA	0,23	---	Brune	Violacée	TERP.
	0,60	---	Brune	Violacée	TERP.
	0,83	---	Sombre	Violacée	TERP.
PVHA	----	----	----	---	---

P = Pommade ; BK = beurre de karité ; HA = Hydroalcoolique ; L = Lanoline ; V = vaseline.
FLA= Flavonoïdes ; NQ=Naphtoquinones, COUM.= Coumarines ; TERP. = Terpénoides

Tableau VII : Résultats de la CCM de l'extrait éther de pétrole de *Mitracarpus scaber* et de ses pommades

Extrait et Pommades	RF	Observations			Interprétation Possible
		UV 254 nm	UV 366 nm	Après Révélation	
Ether pétrole	0,19	---	Jaune	Jaune	FLA/NQ
	0,40	---	Rose	---	FLA/NQ
	0,45	---	Noire	---	---
	0,52	---	Rouge	---	---
	0,56	---	Rouge	---	---
	0,75	---	Marron	Jaune	FLA/NQ
	0,96	---	Jaune	Jaune	FLA/NQ
	PBKEP	0,50	---	Rouge	Jaune
0,54		---	Rouge	Jaune	FLA/NQ
0,63		----	Bleue	Violacée	COUM./TERP.
0,81		----	Bleue	Violacée	COUM./TERP.
PLET	----	----	----	---	---
PVET	----	----	----	---	---

P = Pommade ; BK = beurre de karité ; EP = Ether de pétrole; L = Lanoline ; V = vaseline.
FLA= Flavonoïdes ; NQ=Naphtoquinones, COUM.= Coumarines ; TERP. = Terpénoides.