



Le " Bitter-cup " médicinal du Suriname : étude ethnopharmacologique, histologique et chimique.

Guillaume Odonne

► To cite this version:

Guillaume Odonne. Le " Bitter-cup " médicinal du Suriname : étude ethnopharmacologique, histologique et chimique.. Chimie. Université Victor Segalen - Bordeaux II, 2006. Français. NNT : . tel-00636165

HAL Id: tel-00636165

<https://theses.hal.science/tel-00636165>

Submitted on 26 Oct 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Bordeaux 2 – Victor Segalen
U.F.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2006

N° 102

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par Guillaume ODONNE

Né le 18 Novembre 1981 à Bourgoin-Jallieu

Le 21 Décembre 2006 à Bordeaux

LE « BITTER-CUP » MEDICINAL DU SURINAME :
ETUDE ETHNOPHARMACOLOGIQUE, HISTOLOGIQUE ET
CHIMIQUE

Directeur de thèse

Alain BADO

Jury

Mme Catherine CHEZE	Maître de conférences	Présidente
Mme Bénédicte BERKE	Maître de conférences	
Mr Jean-charles CHENIERE	Docteur en Pharmacie	

Remerciements

Ce travail de recherche a été effectué dans le cadre du stage de DEA « environnement tropical et valorisation de la biodiversité » de l'Université des Antilles et de la Guyane et encadré par Mr Eric Deharo et Mme Geneviève Bourdy (UMR 152 IRD-Université Paul Sabatier, Centre IRD, BP 165, 97323 Cayenne cedex, France), Mr Didier Stien (UMR 2728 Ecofog CNRS-CIRAD-Université des Antilles et de la Guyane, BP709, 97379 Kourou cedex, France) et Mr Lionel Chevolot (UPS 2561 CNRS, 16 avenue André Aron, 97300 Cayenne, France). Les essais biologiques ont été réalisés au centre national de référence : chimiorésistance du paludisme (CNRCP, Institut Pasteur de Guyane, 23 avenue Louis Pasteur, BP 6010, 97306 Cayenne cedex, France).

Tâche ardue que de remercier toutes les personnes qui m'ont aidé, conseillé, soutenu et encouragé tout au long de ce travail. En effet, je ne voudrais en oublier aucune.

Je remercie Bénédicte Berké et Jean-charles Chenière pour avoir bien voulu examiner ce travail. Je voudrais également remercier Catherine Chêze pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse.

Merci également à Alain Badoc pour m'avoir guidé dans la réalisation de cette thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie.

Merci aux personnes sans qui je ne serais pas allé en Guyane : Lionel Chevolot et Geneviève Bourdy. Rien de tout cela n'aurait été possible sans eux.

Au CNRS, je souhaite tout particulièrement remercier Bernard Thibault et Didier Stien, tant pour leur accueil, leurs conseils, que pour la liberté qu'ils m'ont accordé dans l'établissement de mon programme et l'utilisation des ressources du L3MA. Je souhaite également à Mariana, Clotilde, ainsi qu'aux stagiaires, le meilleur pour la continuation de leurs projets personnels. Enfin, un grand merci à Emeline Houël, pour ses conseils avisés.

A l'Institut Pasteur de Guyane, mes remerciements vont à toute l'équipe du CNRCP pour m'avoir supporté dans le fond à droite du labo (merci également à Stéphane Bertani d'avoir préparé le terrain...). Je souhaite également témoigner de ma gratitude à Béatrice Volney pour la patience avec laquelle elle a su m'expliquer les subtilités des cultures de *Plasmodium*.

A l'IRD, je souhaite remercier l'ensemble du personnel, et en particulier Véronique Eparvier, ainsi que toute l'équipe du Laboratoire des Moyens Analytiques. Un grand merci également à Marie Fleury et Christian Moretti, pour leurs avis et conseils éclairés.

Au CIRAD, je souhaiterais particulièrement et chaleureusement remercier Jacques Beauchêne, qui m'a introduit à l'anatomie des bois tropicaux.

A l'herbier de la Guyane, mes remerciements vont à la totalité du personnel. Je suis tout particulièrement reconnaissant envers Jean-jacques De Granville, pour son accueil, César Delnatte, pour sa disponibilité, et Marie-Françoise Prévost, pour ses conseils ô combien avisés.

A l'herbier de Paramaribo, je souhaite exprimer ma profonde gratitude à Sabitrie Doerga, pour le temps qu'elle m'a consacré.

Pour tout ce qu'ils m'ont apporté sur la culture Saramaka, mes remerciements vont également à Stanny Handigman et Benito Oosterwolde, ainsi qu'à tous les Saramaka qui ont bien voulu se prêter à cette étude. Un grand merci également à Marcel Fischer pour ses traductions sans lesquelles tout cela aurait été beaucoup plus délicat. A Hélène également, ma coach au Suriname.

Il est une personne que je souhaite ici remercier plus que tout, pour la confiance qu'il m'a accordé, le temps qu'il m'a consacré, pour son encadrement à la fois rigoureux et humain, et pour avoir su me former un tant soit peu aux joies de la parasitologie. Mes plus sincères remerciements à Eric Deharo.

Enfin, à ma famille, à mes amis et, au quotidien, à mes colocataires... Merci de me supporter, quand bien même ce n'est pas toujours facile.

A Caroline...

Table des matières

Glossaire.....	6
Table des illustrations.....	7
I. Introduction.....	9
II. Les cultures Marronnes.....	10
III. Le paludisme.....	11
Cycle du parasite.....	12
Epidémiologie.....	13
a. Amérique du Sud.....	13
b. Suriname.....	13
IV. Matériel et méthodes.....	15
Enquête ethnobotanique.....	15
Analyse anatomique.....	15
Analyse chromatographique.....	16
a. Obtention des extraits et macérats.....	16
b. Evaluation du poids de matière sèche des macérats.....	16
c. CLHP analytique.....	17
d. CLHP semi-préparative.....	17
e. Extraction du bois par un solvant organique.....	17
Essais biologiques.....	18
a. Matériel de départ.....	18
b. Echantillons.....	18
c. Culture.....	18
d. Test de chimiosensibilité sur <i>Plasmodium falciparum</i>	18
V. Résultats et discussions.....	20
Echantillons collectés.....	20
Enquête ethnobotanique.....	22

a. Représentation ethnique	24
b. Identification botanique	24
c. Indications thérapeutiques.....	24
d. Méthode de préparation, voie d'administration.....	25
e. Discussion	26
Analyse anatomique des échantillons	27
a. Observation à la loupe binoculaire.....	27
b. Observation microscopique	29
c. Discussion	32
Analyse CLHP et établissement de signatures chimiques	33
a. Témoin <i>Q. amara</i>	33
b. Bois	33
c. Gobelets	35
d. Témoin négatif <i>Simarouba amara</i>	38
e. Discussion	39
Essais biologiques	39
a. Test de la macération aqueuse	39
b. Test de la macération alcoolique	39
c. Discussion	40
Revue bibliographique : métabolites secondaires du bois de <i>Q. amara</i>.....	41
Revue bibliographique : activités des extraits de <i>Q. amara</i>.....	42
a. Activité antipaludique	42
b. Activité antiulcéreuse	43
c. Activité anti-poux	43
d. Activité anti-rétrovirale.....	43
e. Activité anti-fertilité.....	44
f. Activité anti-appétante pour les insectes phytophages.....	44
g. Activités antibactériennes et antifongiques	44
h. Activités analgésiques et anti-inflammatoires	44

Revue bibliographique : propriétés de molécules du bois de <i>Q. amara</i>	45
a. Activités de la simalikalactone D.....	45
b. Activités de la quassine.....	46
c. Activité anti-tumorale de la quassimarine	46
Fractionnement bioguidé	48
a. CLHP semi-préparative.....	48
b. Essais biologiques.....	49
c. Discussion	49
Extraction et optimisation du fractionnement	50
a. Extraction par un solvant organique	50
b. CLHP semi-préparative	50
c. Essais biologiques.....	57
d. Discussion.....	57
VI. Conclusion générale, discussion et perspectives	59
Références bibliographiques	60
Annexes.....	64

Glossaire

ADN : Acide désoxyribo-nucléique	L3MA : Laboratoire matériaux et molécules en milieu amazonien
CAY. : Indicatif de l'herbier de Cayenne	OMS : Organisation mondiale de la santé
CIRAD : Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement	ONF : Office national des forêts
CLHP : Chromatographie liquide à haute performance	PAHO : Pan American health organisation
CNRCP : Centre national de référence pour la chimiorésistance du paludisme	RF : Facteur de réduction
CNRS : Centre national de la recherche scientifique	RP C18 : Phase inverse greffée avec de la silice C18
CPM : Coups par minutes	RPMI : Royal Park memorial institute (milieu de culture)
EcoFoG : Ecologie des forêts de Guyane	SKD : Simalikalactone D
IC ₅₀ : Concentration inhibant 50 % de la croissance parasitaire	UAG : Université des Antilles et de la Guyane
IRD : Institut de recherche pour le développement	UMR : Unité mixte de recherche

Table des illustrations

Figure 1. Répartitions des différents sous-groupes ethniques Marrons sur le plateau des Guyanes.	11
Figure 2. Cycle de vie du <i>Plasmodium</i> chez l'Homme.	13
Figure 3. Répartition du paludisme au Suriname.	14
Figure 4. Chromatogramme du macérat aqueux de <i>Quassia amara</i> L.	33
Figure 5.a. Chromatogramme du macérat aqueux du bois A.	33
Figure 5.b. Chromatogramme du macérat aqueux du Bois B.	34
Figure 5.c. Chromatogramme du macérat aqueux du Bois C.	34
Figure 5.d. Chromatogramme du macérat aqueux du bois D.	35
Figure 6.a. Chromatogramme du macérat aqueux du gobelet A1.	35
Figure 6.b. Chromatogramme du macérat aqueux du gobelet A2.	36
Figure 7. Chromatogramme du macérat aqueux du gobelet B1.	36
Figure 8. Chromatogramme du macérat aqueux du gobelet C.	37
Figure 9. Chromatogramme du macérat aqueux du gobelet D1.	37
Figure 10. Chromatogramme du macérat aqueux de <i>Simarouba amara</i> Aublet.	38
Figure 11. CLHP préparative de A1, avec délimitation des 5 fractions sur le chromatogramme.	48
Figure 12. CLHP préparative de l'extrait dichlorométhanique et illustration du fractionnement sur le chromatogramme.	50
Figure 13.a. Chromatogramme de la fraction 1.	51
Figure 13.b. Chromatogramme de la fraction 2.	51
Figure 13.c. Chromatogramme de la fraction 3.	52
Figure 13.d. Chromatogramme de la fraction 4.	52
Figure 13.e. Chromatogramme de la fraction 5.	52
Figure 13.f. Chromatogramme de la fraction 6.	53
Figure 13.g. Chromatogramme de la fraction 7.	53
Figure 13.h. Chromatogramme de la fraction 8.	54
Figure 13.i. Chromatogramme de la fraction 9.	54
Figure 13.j. Chromatogramme de la fraction 10.	54
Figure 13.k. Chromatogramme de la fraction 11.	55
Figure 13.l. Chromatogramme de la fraction 12.	55
Figure 13.m. Chromatogramme de la fraction 13.	56
Figure 13.n. Chromatogramme de la fraction 14.	56
Figure 13.o. Chromatogramme de la fraction 15.	57
Photo 1. <i>Middags Markt</i> , étal proposant des <i>Bitter-cups</i>	20
Photo 2. Lot A (échelle 1/3).	21
Photo 3. Lot B (échelle 1/3).	21
Photo 4. Lot D (échelle 1/3).	22
Photo 5. Lot C (échelle 1/3).	22
Photo 6. Stanny Handigman et Benito Oosterwolde consultant des notes de terrain.	23
Photo 7. Bois A, coupe transversale.	28
Photo 8. Bois B, coupe transversale.	28
Photo 9. Bois C, coupe transversale.	28

Photo 10. Bois D, coupe transversale.	28
Photo 11. Témoin <i>Quassia amara</i> , coupe transversale.	29
Photo 12. Bitter-cup D1, coupe transversale.	29
Photo 13. Coupe transversale du bois de <i>Quassia amara</i>	30
Photo 14. Coupe transversale du <i>Bitter-cup</i> D1.	30
Photo 15. Coupe longitudinale du bois de <i>Quassia amara</i>	31
Photo 16. Coupe longitudinale du <i>Bitter-cup</i> D1.	31
Tableau 1. Résultats de l'enquête de terrain.	23
Tableau 2. Teneur en matière sèche des macérats et IC ₅₀ sur <i>Plasmodium falciparum</i> FCB1 des différents gobelets après macération aqueuse.	31
Tableau 3. Alcaloïdes indoliques reportés dans le bois de <i>Quassia amara</i>	41
Tableau 4. Triterpènes reportés dans le bois de <i>Quassia amara</i>	41
Tableau 5. Teneur en matière sèche et IC ₅₀ des fractions collectées après CLHP semi-préparative de A1.49	
Tableau 6. Activités sur <i>P. falciparum</i> FCB1 <i>in vitro</i> des différentes solutions.	50
Tableau 7. Répartition des fractions collectées après CLHP semi-préparative de l'extrait dichlorométhanique.	51
Tableau 8. IC ₅₀ des 15 fractions de l'extrait dichlorométhanique de bois de <i>Quassia amara</i>	57
Annexe 1. Carte de la répartition du paludisme dans le monde en 2002.	64
Annexe 2. Planche d'herbier de <i>Quassia amara</i> GO 1, CAY.	65
Annexe 3. Formules des métabolites secondaires retrouvés dans <i>Q. amara</i>	Tiré à part
Annexe 4. Activité (cpm) des fractions extraites du macérat aqueux de <i>Q. amara</i>	66

I. Introduction

Maladie du Sud, le paludisme reste une maladie de pauvres, perpétuant ainsi un cercle vicieux de difficultés d'accès aux soins, de retard au développement et de mortalité. Actuellement, des programmes de lutte contre le paludisme, principalement menés par l'OMS, intègrent plusieurs aspects préventifs (moustiquaires imprégnées d'insecticides, éducation sanitaire) et curatifs (<http://www.bednet.org/>). Les médicaments utilisés sont basés, pour certains d'entre eux, sur des molécules issues de plantes médicinales : la quinine et ses dérivés issus de l'écorce d'un arbre sud-américain, *Cinchona calisaya* L. (Rubiaceae), ou l'artémisinine et ses dérivés issus d'une plante médicinale chinoise, *Artemisia annua* L. (Asteraceae).

Le paludisme est une maladie que l'on peut éviter et guérir, à condition d'avoir accès aux soins. Cependant, dans de nombreux pays, la majorité de la population exposée ne peut avoir accès aux médicaments "modernes", le plus souvent à cause de problèmes économiques. Ainsi, la pharmacopée locale est largement mise à contribution par le biais de préparations traditionnelles antipaludiques à base de plantes, quelquefois administrées en association avec des traitements conventionnels. Même dans des lieux où l'accès aux soins est performant et gratuit, des recherches de l'IRD en Guyane ont montré que les malades en crise de paludisme se tournent souvent vers un traitement mixte associant plantes et médicaments (1). En ce qui concerne la prévention, un tiers des personnes interrogées dans l'étude précédemment citée déclarait aussi boire régulièrement des remèdes traditionnels préventifs du paludisme appelés "amers". Ces résultats ont permis aux chercheurs de sélectionner les remèdes les plus fréquemment utilisés pour procéder à leur évaluation antipaludique afin d'en recommander ou non l'usage. Au sein de l'UMR-152 (IRD-UPS), cette évaluation se fait grâce à des tests *in vitro* et *in vivo*, permettant tout d'abord de valider l'usage traditionnel. Si une réelle activité antipaludique est détectée, l'étude de la plante ou du remède traditionnel se poursuit, par fractionnement bioguidé, afin d'identifier les principes actifs responsables de l'activité (en collaboration avec l'UMR-2728 EcoFoG (CNRS-UAG) et l'Institut Pasteur de Guyane). C'est dans ce cadre que s'inscrit la présente étude, sur un objet traditionnellement utilisé par les peuples Marrons du Suriname, particulièrement les Saramaka, et réputé antipaludique : le *Bitter-cup* ou "gobelet amer". Si ce type de forme galénique est présent jusqu'au début du XX^{ème} siècle dans les pharmacopées occidentales (2), il est aujourd'hui relégué au rang de pièce de musée. L'objectif de ce travail était donc d'améliorer, par une enquête de terrain, les connaissances ethnopharmacologiques sur cet objet méconnu et ses usages, de lever les doutes

quant à sa provenance botanique, d'étudier son éventuelle activité antimalarique à la lumière d'essais *in vitro*, et enfin, en fonction des résultats, de pratiquer un fractionnement bioguidé des composés chimiques présents dans ce gobelet et dans le bois dont il est issu.

II. Les cultures Marronnes

Le terme *Marron* vient de *Cimarron*, mot Tainos d'Hispaniola, désignant le bétail échappé vers les hauteurs, puis repris en espagnol et passé dans le vocabulaire des planteurs pour qualifier les esclaves en fuite. Si ce mot a gardé aux Antilles une forte connotation péjorative, il désigne dans l'ensemble des Guyanes un ensemble de peuples, descendants d'esclaves, dotés de cultures qui leurs sont propres. Le terme *Busi-Nengé*, parfois employé, ne le sera pas ici car il ne fait pas consensus (3).

Au Suriname, du milieu du XVII^{ème} à la fin du XVIII^{ème}, les esclaves rebelles se sont organisés en sociétés indépendantes, fuyant les mauvais traitements et les conditions de vie atroces dans les plantations. Ce phénomène a été à l'origine de nombreux conflits avec les autorités coloniales hollandaises qui voyaient d'un mauvais œil perdre une part importante de cette "main d'œuvre" (4). Conséquence des différentes vagues de marronnage, on distingue aujourd'hui, sur les 120 000 membres de la communauté Marronne, 6 sous-groupes ethniques : les Aluku (Boni), (6000 personnes) ; les Kwinti, (600) ; les Matawai, (4000) ; les N'dyuka, (50 500) ; les Paramaka, (6000) et les Saramaka, (50 500). Leur répartition sur le plateau des Guyanes est donnée sur la figure 1.

Les Saramaka, en paix avec le régime colonial depuis le traité de 1762, représentent donc plus d'un tiers des Marrons. Ils vivent en forêt, au bord des fleuves qui constituent les seules voies de communication intérieures. Leur subsistance tient essentiellement à la chasse, la pêche, les cultures sur abattis (riz, manioc amer et doux, ignames et bananes plantain) ainsi qu'à une très bonne connaissance des produits de la forêt, utilisés de manière extractiviste, qui leur permet de palier aux mauvaises récoltes ou de se procurer des remèdes (5). La constitution récente de ces groupes, moins de trois siècles, autorise à penser que leurs connaissances du monde végétal ont des origines variées avec des emprunts nombreux, notamment aux divers groupes amérindiens. Du point de vue linguistique, ce métissage se retrouve également. Formés par contact entre groupes africains (akan, tui ...) européens (portugais, anglais ...) et amérindiens (kali'na, tupi ...), les dialectes locaux sont nombreux. Le *Sranan-tongo*, parlé par tous les Créoles afro-surinamiens, sert de *lingua franca* (3). Après le *Gaan man*, chef suprême, l'organisation sociale est structurée autour d'un *Kabitèni* (chef de village), d'un *Basia*

(homme de police) et d'un *Obia man* ou homme médecin (6). Si le tradipraticien est le gardien des savoirs médicaux et des rituels, la connaissance du monde végétal et son utilisation paraît toutefois partagée entre toutes les catégories de la population.

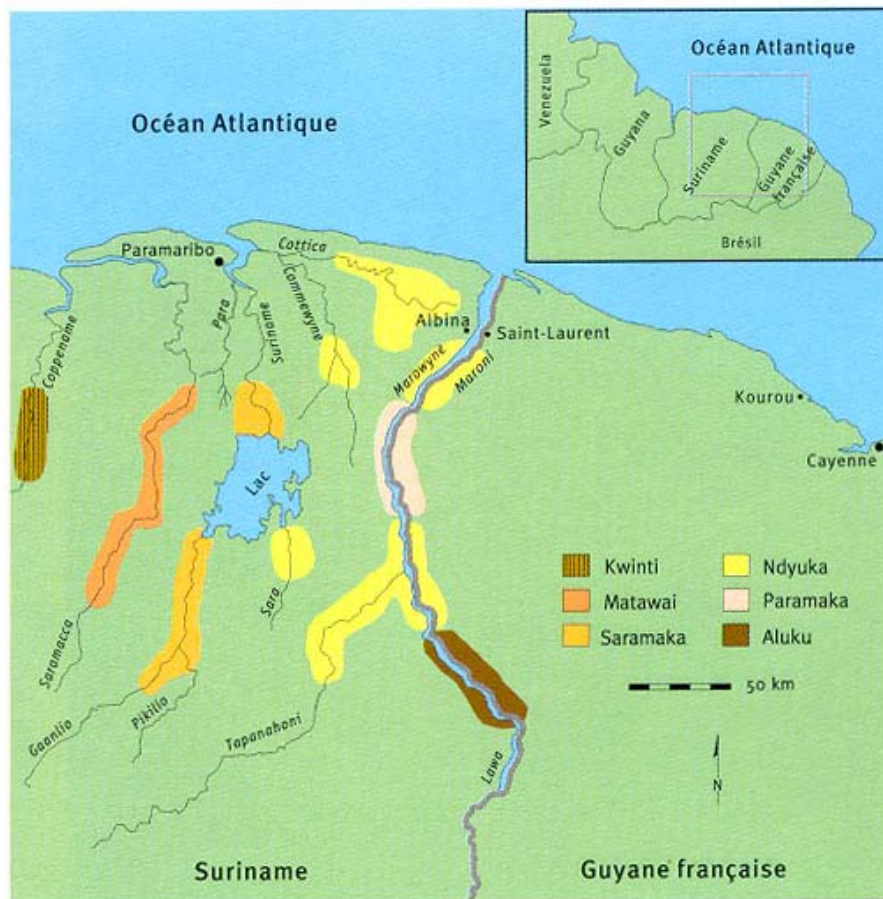


Figure 1. Répartitions des différents sous-groupes ethniques Marrons sur le plateau des Guyanes. (3)

III. Le paludisme

Arme de destruction massive, "serial killer", les organisations spécialisées rivalisent de slogans pour sensibiliser la population au problème mondial causé par le paludisme, maladie parasitaire qui tue le plus dans le monde (un enfant toutes les 30 secondes en Afrique et entre 1 et 3 millions de personnes par an, selon les estimations de l'OMS). Deux milliards d'individus, soit 40 % de la population mondiale, sont exposés et on estime à 500 millions le nombre de cas cliniques survenant chaque année. Maladie des pays tropicaux (voir carte en annexe 1), la prévalence dans les zones insalubres, où l'accès aux soins est limité, en fait un problème tant éthique que de santé publique.

Cycle du parasite

Le paludisme est dû à diverses espèces de protozoaires du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par la piqure d'un moustique du genre *Anopheles*, lui-même infecté après avoir piqué un homme impaludé : la femelle, en prenant le repas sanguin nécessaire à sa ponte, injecte le parasite à son hôte (les mâles se nourrissant de sucs de fruits, ils ne piquent pas). La transmission de *Plasmodium* d'un homme à un autre se fait donc par l'intermédiaire de ce vecteur, principalement *Anopheles darlingi* sur le continent sud américain. Il existe une seule cause de contamination interhumaine directe, lorsqu'une femme enceinte infectée contamine son enfant par voie transplacentaire. Quatre espèces de *Plasmodium* sont susceptibles d'infecter l'être humain : *P. falciparum*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. vivax*.

Le cycle de *Plasmodium* est complexe et comporte deux étapes essentielles : une phase asexuée chez l'homme, et une phase sexuée chez le moustique (figure 2). L'anophèle femelle injecte à l'homme le parasite sous forme de sporozoïte. Celui-ci migre rapidement, *via* la circulation sanguine, vers le foie. Il pénètre dans la cellule hépatique, où il se divise très activement pour donner naissance, en quelques jours, à des dizaines de milliers de nouveaux parasites : les mérozoïtes. La cellule du foie éclate en libérant ces parasites dans le sang : là, ils pénètrent à l'intérieur des globules rouges et se multiplient. Lorsque ces derniers éclatent à leur tour, les mérozoïtes libérés dans la circulation sanguine infectent de nouveaux globules rouges (cycle érythrocytaire). Après quelques cycles de multiplication, des parasites sexués mâles et femelles (gamétocytes) sont formés à l'intérieur des globules rouges. Lorsqu'un moustique pique une personne infectée, il ingère ces gamétocytes, qui se transforment en gamètes. Leur fécondation engendre un zygote, qui se différencie en oocyste dans le tube digestif du moustique. Les oocystes produisent des sporozoïtes, qui migrent vers les glandes salivaires du moustique. Un nouveau cycle peut alors commencer. Les rechutes tardives de paludisme observées lors d'infections par *P. vivax* et *P. ovale* sont dues à la possibilité pour ces espèces de subsister sous une forme latente (hypnozoïte) dans la cellule hépatique de l'homme.

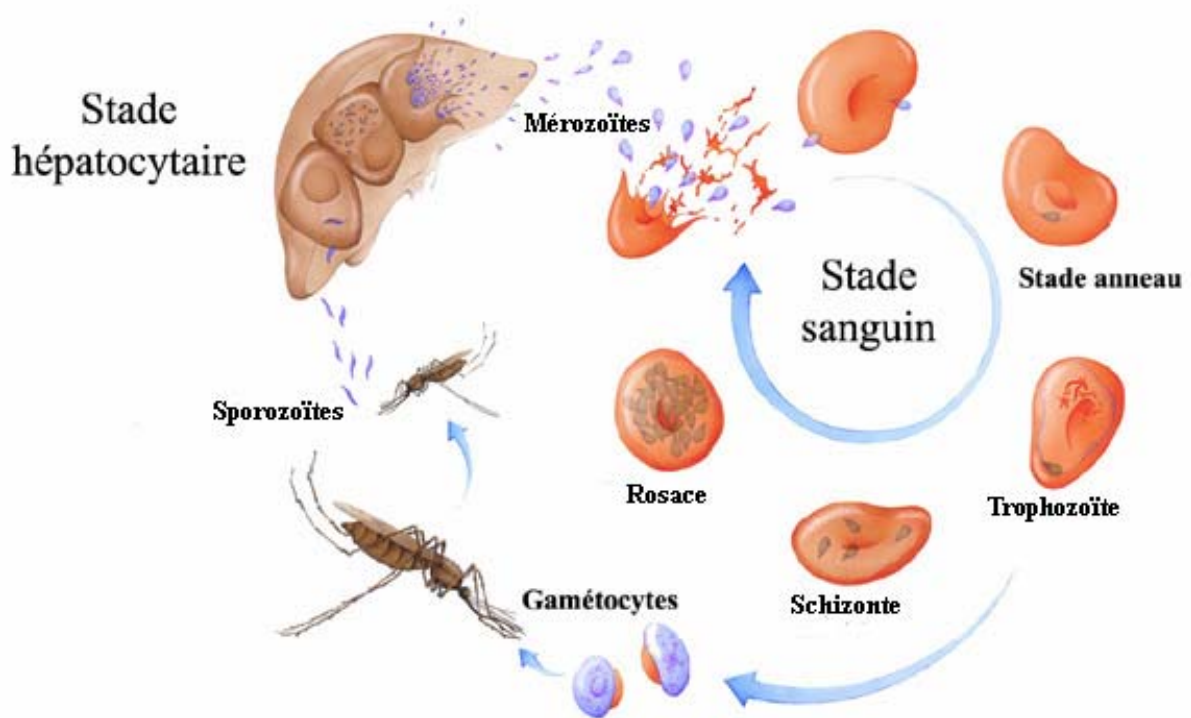


Figure 2. Cycle de vie du *Plasmodium* chez l'homme (d'après Institut Pasteur, 2006).

Epidémiologie

a. Amérique du Sud

La malaria est présente de façon endémique dans neuf pays d'Amérique du Sud qui ont en commun d'être à cheval sur la forêt Amazonienne : Bolivie, Brésil, Colombie, Equateur, Guyana, Guyane française, Pérou et Suriname. De plus, un petit nombre de cas ont été reportés en Argentine et au Paraguay. En Amérique du Sud, on ne trouve que trois des quatre espèces de plasmodies humaines (7) : *P. vivax*, *P. falciparum* et *P. malariae*.

Dans l'ensemble des pays de la zone, environ 25 % des cas rapportés sont causés par *P. falciparum*, le plus pathogène, le reste étant majoritairement imputable à *P. vivax*. Entre 1994 et 2003, la proportion d'infections à *P. falciparum* a décru en Bolivie, Colombie, Equateur et Pérou, alors qu'elle restait stable dans les autres pays (8).

b. Suriname

Le Suriname occupe une position centrale sur le bouclier des Guyanes, formation géologique s'étendant du Venezuela au Nord-Est du Brésil. Il couvre 163 820 km² sur le bord nord de l'Amazonie, dont plus des trois quarts sont recouverts de forêts. La population s'élève à 430 000 personnes, majoritairement réparties le long de la côte et autour de la capitale, Paramaribo. De nombreuses ethnies cohabitent sur ce territoire : Amérindiens,

Marrons, Créoles, Européens, Chinois, Pakistanais, Hindous. La langue officielle est le hollandais, vestige de la colonisation, mais le *Sranan-tongo* est très usité.

Au cours des années 80, les conflits armés dans le pays, responsables d'une destruction importante des infrastructures et d'une paupérisation des populations ont conduit à une augmentation du nombre de cas de malaria. Au début des années 90, le phénomène s'est amplifié, parallèlement à l'exploitation de l'or, qui a favorisé la création de sites favorables à la nidification des anophèles, ainsi qu'un brassage des populations, notamment en provenance du Brésil voisin (8). Le long du littoral, la transmission de la parasitose est faible, mais on estime à 150 000 le nombre de Surinamiens vivant en zone impaludée. Les zones à haut risque de transmission peuvent être séparées en deux : une grande partie le long de la frontière avec la Guyane Française, sur le fleuve Maroni (*Marowijne river*) et dans le sud, où les rizières et l'orpaillage sont présents, l'autre partie étant centrée sur le lac Brokopondo (figure 3).

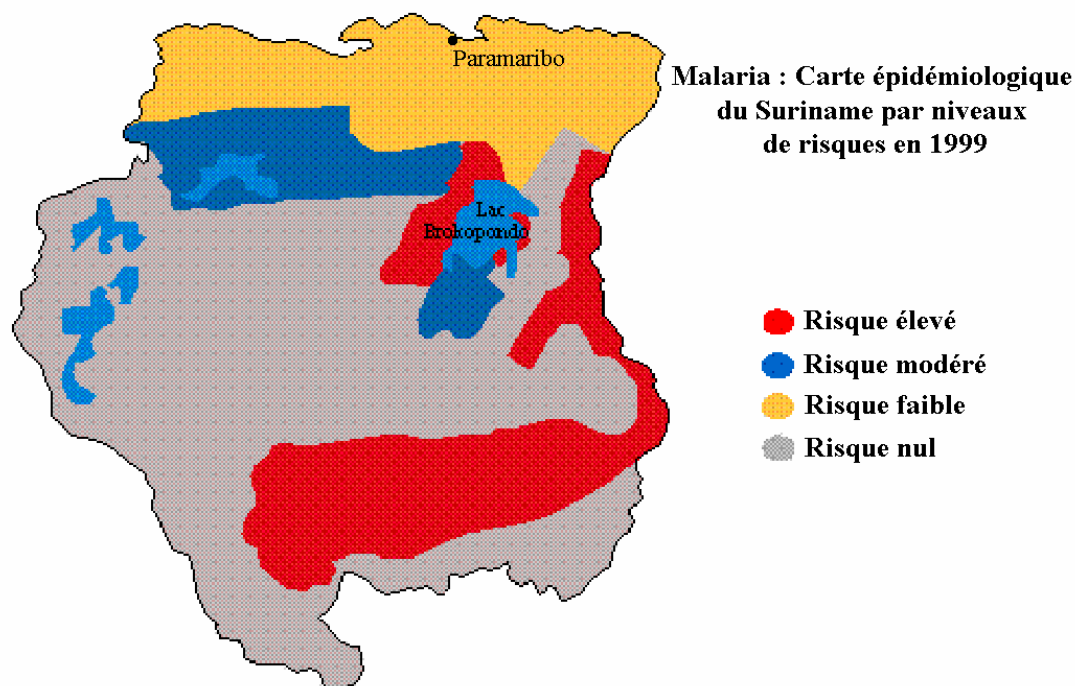


Figure 3. Répartition du paludisme au Suriname (d'après PAHO, 2000 (8)).

IV. Matériel et méthodes

Enquête ethnobotanique

Afin de collecter des informations sur l'utilisation et l'origine des *Bitter-cups*, une enquête de terrain a été menée à Paramaribo, capitale administrative du Suriname, et dans les environs. A Paramaribo, la vente de *Bitter-cups* se faisant principalement sur les deux marchés longeant le fleuve, nous nous sommes donc concentrés sur ces lieux. Le "Central Markt" sur le Waterkant, est un marché cosmopolite et essentiellement alimentaire. Le "Middags Markt", également sur le Waterkant, est plus fréquenté par les ethnies marronnes et essentiellement les Saramaka. On y trouve principalement des objets artisanaux, rituels et des plantes médicinales.

Les questions posées lors de l'enquête ont été les suivantes :

- De quelle ethnie provenez-vous ?
- De quelle(s) plante(s) (nom vernaculaire) proviennent les *Bitter-cups* ?
- De quelle(s) plante(s) (binôme latin ou démonstration d'un échantillon) proviennent les *Bitter-cups* ?
- Pour quelle(s) pathologie(s) sont-ils utilisés ?
- Comment sont-ils utilisés ?

Au total, treize personnes ont été interrogées ; de plus, nous les avons invitées à parler librement sur le sujet.

Analyse anatomique

Dans le but de déterminer si le bois utilisé dans la fabrication des gobelets appartient bien à l'espèce *Quassia amara*, nous avons comparé l'anatomie de plusieurs types d'échantillons :

- Morceaux de bois issus des pieds des gobelets, sur lesquels seule la section transversale a été étudiée.
- Morceaux de bois fournis par le tailleur de bois, afin de vérifier que celui-ci nous a donné le bois correspondant au gobelet, sur lequel nous avons pratiqué des coupes radiales, tangentielles et transversales.
- Echantillon de bois identifié comme étant *Quassia amara* L., sur lequel nous avons pratiqué des coupes radiales, tangentielles et transversales.

L'échantillon témoin de *Q. amara* a été récolté sur le sentier de l'habitation Vidal, à Rémire-Montjoly (Guyane française), et a été déposé à l'Herbier de Cayenne (CAY.) sous le numéro GO 1 (annexe 2).

Les observations anatomiques ont été effectuées avec une loupe binoculaire à des grossissements variant de x6 à x200. Une lame de rasoir est alors utilisée afin de rafraîchir la surface de la pièce de bois. Des observations à plus forts grossissements (x200 à x1000) ont été menées. Des sections transversales (15 µm d'épaisseur) ont été obtenues grâce à un microtome à glissière, puis observées au microscope après coloration à la safranine.

Plusieurs paramètres anatomiques qualitatifs et quantitatifs ont été étudiés :

- Distribution des vaisseaux, rayons ligneux et parenchyme axial,
- Fréquence des vaisseaux,
- Dimension des éléments anatomiques,
- Taille des ponctuations de la paroi cellulaire.

Les mesures sont effectuées à l'aide d'une lentille graduée insérée dans l'oculaire du microscope.

Analyse chromatographique

a. Obtention des extraits et macérats

Les extraits de bois ont été obtenus par macération dans l'eau pendant une nuit (12 heures). Les macérats de gobelets ont été réalisés en suivant le protocole traditionnel qui consiste à remplir les gobelets avec le liquide souhaité (eau ou rhum), à laisser macérer pendant une nuit (12 heures), puis à récupérer le liquide.

Un solvant à large spectre d'extraction comme l'acétate d'éthyle risquerait d'épuiser les gobelets ou de modifier sélectivement leur composition chimique, et de nuire ainsi à l'analyse de leur activité biologique. Une macération dans l'eau permet de rester dans le cadre de l'utilisation traditionnelle la plus répandue.

b. Evaluation du poids de matière sèche des macérats

Le poids de matière sèche des macérats est évalué en prélevant 1 ml dans un tube Eppendorf de 1,5 ml taré, mis à évaporer dans une étuve à 60°C, et repesé une fois sec.

c. CLHP analytique

Des Chromatographies Liquides Haute Performance (CLHP) sont conduites en phase inverse avec un dispositif composé d'une pompe W600 et d'un détecteur à barrette de diodes W2996 (Waters®). La colonne analytique est une RP C₁₈ Discovery® (15 cm x 4,6 mm, 5 µm, Supelco®). Après plusieurs essais, le mélange de solvants retenu est composé d'eau/acétonitrile 70/30 et la chromatographie dure 15 minutes à 1 ml/min en mode isocratique, car cela permet une meilleure séparation tout en diminuant les temps d'équilibration. L'injection des macérats se fait en phase aqueuse, et les fractions collectées en CLHP semi-préparative sont réinjectées dans l'acétonitrile après évaporation de l'éluant. L'observation se fait à 256 nm, maximum d'absorption des quassinoides (9). Toutes les injections ont été faites en double.

d. CLHP semi-préparative

La séparation et le fractionnement des composés a été effectuée sur le même système CLHP, avec une colonne RP C₁₈ Discovery® (25 cm x 21,2 mm, 5 µm, Supelco®). La phase mobile (mode isocratique, eau/acétonitrile 70/30) a un débit de 15 ml/min. L'injection du macérat se fait directement en phase aqueuse. L'observation se fait également à 256 nm et les fractions sont collectées dans des ballons tarés, groupées, puis évaporées à sec ($\leq 37^{\circ}\text{C}$) grâce à un évaporateur rotatif (Laborota 4000, Heidolph®) sous vide (pompe à membrane Rotavac Heidolph®). Le résidu est repris dans environ 1 ml d'acétonitrile (HPLC, *isocratic grade*), et une aliquote est injectée en CLHP en mode analytique. Le reste est mis dans un pilulier taré et évaporé à sec dans les mêmes conditions que précédemment afin d'être testé *in vitro*.

e. Extraction du bois par un solvant organique

Afin d'optimiser l'extraction, deux méthodes semblables ont été testées. Dans l'une, 200 grammes de poudre de bois de *Q. amara* ont été mis à macérer, avec agitation, pendant une nuit, dans 1,5 litres d'eau froide (méthode 1). Dans l'autre méthode (méthode 2), la même quantité d'eau a été portée à ébullition avant d'être ajoutée à la poudre de bois, afin de faciliter l'extraction. Ces deux solutions aqueuses (appelées SA1 et SA2) ont été filtrées puis extraites avec 2 x 250 ml de dichlorométhane (qualité extraction). Les extraits obtenus sont appelés SD1 et SD2. Les fractions aqueuses après extraction (SA'1 et SA'2) ont été suivies afin d'évaluer la qualité de l'extraction.

Essais biologiques

a. Matériel de départ

La souche colombienne chloroquino-résistante FCB1 de *Plasmodium falciparum* (10) a été fournie par le Dr. Grellier du Muséum National d'Histoire Naturelle à Paris.

b. Echantillons

Un ml d'échantillon préparé comme décrit précédemment est évaporé à sec sous pression réduite à 37°C, puis repris dans 1 ml de RPMI. 50 µl de cette solution sont prélevés pour les essais biologiques.

c. Culture

Les formes érythrocytaires du cycle biologique de *P. falciparum* sont maintenues en culture grâce au protocole décrit par Trager et Jensen (1976) (10). *P. falciparum* est cultivé dans du milieu RPMI 1640 (Sigma®) avec 10 mM de glucose et 25 mM de bicarbonate de sodium, supplémenté de 10 % de sérum humain (Marcopharma®) décomplémenté, et dans un environnement à 37°C et 5 % de CO₂. Le milieu est changé quotidiennement et l'hématocrite maintenu à 10 % avec des globules rouges sains. La parasitémie, qui ne doit pas excéder 5 %, est contrôlée quotidiennement à l'aide d'un frottis coloré au Giemsa Hematocolor (Merck®).

d. Test de chimiosensibilité sur *Plasmodium falciparum*

Le test de microdilution mis au point par Desjardin *et al.* (1979) (11) et modifié par Le Bras et Deloron (1983) (12) a été utilisé. Il permet de déterminer la concentration d'un composé testé pour laquelle on observe 50 % d'inhibition de la croissance parasitaire (IC₅₀) par rapport à un contrôle sans drogue. Le test consiste en la mise en culture des parasites pendant 42 heures en présence de différentes concentrations d'un composé à tester. Celui-ci s'effectue dans un milieu contenant de l'hypoxanthine tritiée, molécule-précurseur de la thymidine. La radioactivité incorporée est ensuite déterminée, donnant une mesure de la vitalité des parasites. En pratique, des dilutions sériées au demi de composés à tester sont déposées (50 µl) dans 94 des 96 puits d'une microplaque (les deux puits restants servant de contrôles négatifs). 200 µl de culture parasitaire sont ensuite déposés dans chaque puit (1 % de parasitémie ; 2,5 % d'hématocrite ; 1,44 µCi/ml d'hypoxanthine tritiée (Amersham®)). Le test est répété sur deux séries de puits pour chaque extrait. La plaque est incubée pendant 42 h

à 37°C et 5 % de CO₂. A la fin de l'incubation, la plaque est congelée-décongelée afin de lyser les globules rouges et l'ADN parasite est collecté sur un filtre en fibre de verre. La radioactivité, inversement proportionnelle à l'efficacité du remède, est évaluée à l'aide d'un compteur à scintillation liquide (modèle MicroBeta[®] Trilux ; Wallac 1450). L'IC₅₀ est ensuite déterminée à l'aide d'un programme log/Probit.

L'activité des produits est classée selon le barème suivant (13) :

- si l'IC₅₀ est $\leq$ à 5 µg/ml, l'activité antipaludique est considérée comme performante ;
- si l'IC₅₀ est $\leq$ à 10 µg/ml, l'activité antipaludique est considérée comme bonne ;
- si l'IC₅₀ est $\geq$ à 11 µg/ml, le produit est considéré comme inactif.

La chloroquine (Sigma-Aldrich[®]) a comme IC₅₀ sur FCB1 0.06 µg/ml.

V. Résultats et discussions

Echantillons collectés

A Paramaribo, le marché du midi (*Middags Markt*, photo 1), bordant le fleuve Suriname, est le lieu où les Saramaka vivant en ville peuvent se procurer les produits qu'ils consomment au quotidien. Remèdes traditionnels, objets manufacturés, mais également objets magiques, côtoient des denrées alimentaires propres à ce groupe ethnique.

Les échantillons sont de plusieurs natures :

- Les *Bitter-cups*, appelés *Kwasi-bita beker* et vendus sur le marché de Paramaribo,
- Des morceaux de bois (*Kwasi-bita stoh*), vendus sur les mêmes étals et censés appartenir à la même espèce que les gobelets.
- Des chutes de bois, résultant de la confection des *Bitter-cups* et fournis par un graveur Saramaka.

Les *Bitter-cups* sont de petits objets en bois blanc / jaune clair, de dimensions variables (de 5 cm de diamètre et 15 cm de haut pour le plus grand spécimen, à 3,5 cm de diamètre et 8 cm de haut pour le plus petit). Ils sont taillés dans le sens longitudinal du bois, l'axe du tronc étant confondu avec l'axe du gobelet. Leur forme est variable : parfois récipient droit, verre à pied, ou encore avec anse et couvercle. Les ornements sont également assez diverses, mais elles restent typiques de l'art marron (14). Les morceaux de bois, de couleur identique, sont vendus sur les mêmes stands et destinés aux mêmes utilisations que les gobelets, une fois écorcés et débités en copeaux.



Photo 1. *Middags Markt*, étal proposant des *Bitter-cups*.

Sur ce marché seront achetés les lots A (photo 2) et B (photo 3). Les jours où nous avons enquêté, nous avons pu comptabiliser entre 5 et 8 stands vendant des *Bitter-cups*. Il est intéressant de noter (photo 1) le diamètre croissant des gobelets. Nous pourrions en déduire que le lot provient d'un seul et même pied végétal, dont le diamètre conditionne le diamètre des gobelets, celui-ci diminuant au fur et à mesure que l'on s'élève dans l'arbrisseau. La question a donc été posée au vendeur, mais, bien que sa réponse fût affirmative, nous considérerons qu'il faut la prendre avec circonspection, les vendeurs ne maîtrisant pas tous les éléments de la chaîne de commercialisation.



Photo 2. Lot A (échelle 1/3).



Photo 3. Lot B (échelle 1/3).

Sur le marché central (*Central Markt*), qui est plus cosmopolite, quelques vendeurs proposent les mêmes produits que sur le *Middags Markt*. Quel que soit le jour, ils ne sont jamais plus de

3 ou 4. Le lot D (photo 4) provient de l'un d'eux. Dans les deux marchés, chaque étal ne présente guère plus d'une dizaine de gobelets, généralement 5 ou 6. Enfin, le dernier lot (photo 5) provient de Sandygron, village Saramaka situé à une centaine de kilomètres au Sud-ouest de Paramaribo, sur le fleuve Saramaka. Acheté directement au tailleur de bois du village, l'unique gobelet est accompagné de copeaux de bois directement issus de la fabrication de celui-ci.



Photo 4. Lot D (échelle 1/3).



Photo 5. Lot C (échelle 1/3).

Enquête ethnobotanique

Toute étude ethnopharmacologique repose sur des indications obtenues auprès d'informateurs. Parmi toutes les personnes qui nous ont répondu, Stanny Handigman

et Benito Oosterwolde (photo 6) ont été particulièrement disponibles et patients.

Photo 6. Stanny Handigman et Benito Oosterwolde consultant des notes de terrain.



Les résultats de l'enquête sont consignés dans le tableau 1.

Tableau 1. Résultats de l'enquête de terrain.

Personne	Rôle/métier	Groupe ethnique	Nom vernaculaire	Nom scientifique	Indications thérapeutiques
1	Vendeur Middags Markt	Saramaka	Kwasi-bita		T, D
2	Vendeur Middags Markt	Saramaka	Kwasi-bita		T, D, AM
3	Vendeur Middags Markt	Saramaka	Kwasi-bita		T, D, AM
4	Vendeur Middags Markt	Saramaka	Kwasi-bita		T, D, F
5	Informateur A	Européen	Kwasi-bita	<i>Q. amara</i>	T, D, AM, F
6	Informateur B	Saramaka	Kwasi-bita	<i>Q. amara</i>	T, AM, F
7	Vendeur Central Markt	Saramaka	Kwasi-bita		T, D
8	Vendeur Central Markt	Saramaka	Kwasi-bita		T, D
9	Tailleur de bois A	Saramaka	Kwasi-bita	Arbre fleurs jaunes	T, D, F
10	Tailleur de bois A	Saramaka	Kwasi-bita	Arbre fleurs jaunes	T, D, F
11	Tradipraticien	Saramaka	Kwasi-bita	Arbre fleurs jaunes	T, D, F
12	Non renseigné	Saramaka	Kwasi-bita	<i>Q. amara</i>	T, D, AM
13	Non renseigné	Saramaka	Kwasi-bita	<i>Q. amara</i>	T, D

(T : tonique ; D : dépuratif ; F : fébrifuge ; AM : antimalarique).

a. Représentation ethnique

Parmi les personnes interrogées, la quasi-totalité est Saramaka, gens qui possédaient des connaissances sur les gobelets amers. Nous avons donc affaire aux vendeurs Saramaka des marchés, aux gens de Sandygron, village mono-ethnique, ou encore à des personnes issues de cette communauté présente sur Paramaribo. Si cela peut constituer un biais dans une étude globale, il devient négligeable dans le cadre de cette étude sur l'utilisation de ces remèdes par les Marrons du Suriname.

b. Identification botanique

La détermination de l'essence utilisée pour la fabrication des gobelets a été une des préoccupations principales. *Quassia amara* est réputée être à l'origine de cet artisanat, mais les avis divergent au sein des chercheurs et botanistes consultés en Guyane ou au Suriname en raison du diamètre des *Q. amara* jugé trop faible pour le façonnement d'un gobelet. Lors de l'enquête, nous avons néanmoins pu constater *de visu* que *Q. amara* peut atteindre jusqu'à 8 cm de diamètre. Dans le tableau 1, nous observons que si la dénomination vernaculaire en *Sranan-tongo* est identique, la description varie, *Q. amara* étant un arbrisseau à fleurs rouges, il ne peut s'agir de la plante décrite par les personnes 9, 10 et 11. Ces personnes, des Saramaka de Sandygron, n'ont pas pu (ou pas voulu) nous montrer la plante en question. Deux hypothèses se présentent alors : soit nous sommes en présence de deux plantes différentes connues sous le même nom vernaculaire (cas de figure fréquent en ethnobotanique), soit les personnes se trompent, ou essayent de nous égarer. Cette méfiance à l'égard d'Occidentaux "curieux" est relativement fréquente (6), d'où l'intérêt de procéder à une analyse rigoureuse des échantillons.

c. Indications thérapeutiques

Une des difficultés est ici l'interprétation des indications thérapeutiques, la sémiologie des Marrons n'étant pas identique à celle de notre vision occidentale de la médecine. En effet, les termes employés, subjectivement modifiés par le traducteur, ne désignent pas toujours ce que l'on peut y voir. Prenons pour exemple la notion de froid : si la logique occidentale applique à celle-ci un rapport direct avec le climat et ses rudesses à l'origine de pathologies telles que les rhumes, les Marrons y voient plutôt une entité qui peut pénétrer de façon dynamique dans le corps, à l'origine de troubles variés, allant de douleurs diffuses et généralisées à de simples ballonnements ou au rhume dans son acception occidentale. Si l'on "attrape froid" en Occident, chez les Marrons c'est "le froid qui vous

attrape" (5). Les indications thérapeutiques données dans le tableau 1 sont donc des interprétations personnelles de la symptomatologie marronne.

Ces indications sont reportées ici dans l'ordre de priorité donné par la personne interrogée. Tous les interlocuteurs nous ont présenté les *Bitter-cups* comme un remède adapté aux faiblesses passagères, asthénie, ou baisse du moral, que nous avons traduit par "tonique".

En deuxième indication, nous avons réuni sous le terme générique de "dépuratif" des propriétés qui se traduisent par une fonction d'élimination et de purification, tant au niveau du foie, de l'estomac et du ventre en général (excès de nourriture, froid, gaz), qu'au niveau du sang.

Enfin, les *Bitter-cups* sont considérés par certains comme "fébrifuges", ou "antimalariques". C'est ici l'indication qui nous intéressera, dans le cadre de la validation de l'activité antipaludique. Comme précédemment, la différence entre fébrifuge et antimalarique peut être à l'origine d'une confusion, mais cela reste difficile à évaluer dans le cadre restreint de cette étude (le questionnaire ne portant pas, entre autres, sur les définitions des pathologies).

d. Méthode de préparation, voie d'administration

Le mode de préparation relevé est assez uniforme. Il s'agit d'une macération : un liquide est laissé toute une nuit dans le gobelet avant d'être bu le matin à jeun, si possible d'une traite. Pour un usage "dépuratif" ou "tonique", le remède est pris de façon ponctuelle. Pour un usage "fébrifuge" ou "antipaludique", il s'agit d'une cure de plusieurs jours. La durée du traitement ne doit cependant pas excéder plus ou moins dix jours selon les personnes interrogées.

Un point intéressant tient dans la nature du liquide utilisé pour remplir le *Bitter-cup*. De l'avis général, il peut s'agir aussi bien d'eau que de rhum, sans que nous puissions véritablement cerner quel facteur oriente le choix de l'un ou de l'autre. Selon Fleury, spécialiste des cultures marronnes (com. pers., 2006), il est fort probable que les hommes Saramaka privilégient le rhum, quand les femmes préféreront remplir leur gobelet avec de l'eau.

Ajoutons que le *Bitter-cup* est réutilisé jusqu'à ce qu'il perde sa saveur amère. Pour Sauvain (6), les Saramaka considèrent que les remèdes contre les maux de ventre sont d'autant plus puissants qu'ils sont amers, ceci expliquant le désintérêt pour les gobelets dès lors qu'ils ont perdu cette amertume.

e. Discussion

Malgré le nombre restreint de sujets interrogés, cette étude permet de cerner les usages des *Bitter-cups* chez les Saramaka. Si les utilisations comme "tonique" et "dépuratif" sont les premières citées, l'indication "antipaludique" justifie un approfondissement de cette activité. De plus, si le *Kwasi-bita* est connu pour être *Q. amara*, les éléments de l'enquête peuvent nous faire douter, c'est ce qui motivera l'analyse anatomique de ces gobelets.

Analyse anatomique des échantillons

L'anatomie va permettre de vérifier que les bois et les gobelets proviennent de *Q. amara* et d'exclure d'autres espèces potentielles, notamment de la famille des *Simaroubaceae*, réputée comporter plusieurs autres espèces amères.

a. Observation à la loupe binoculaire

L'essai consiste en une détermination des structures anatomiques des bois (A, B, C, D), des gobelets (A1, A2, B1, B2, C, D1, D2, D3, D4) et d'un témoin *Q. amara* botaniquement identifié à l'herbier de Cayenne. Les structures observées sur les cinq échantillons sont très semblables (photos 7 à 12). Tout d'abord, à l'échelle macroscopique, le bois est blanc/jaune et tendre (gravité spécifique comprise entre 500 et 620 kg/m³). Il libère une amertume soutenue quand on l'effleure avec la langue. Au niveau microscopique, on observe un certain nombre d'éléments caractéristiques :

- Le diamètre des vaisseaux est de 70 à 100 µm.
- Les vaisseaux sont solitaires ou accolés radialement ou tangentiellement par 2 ou 4.
- Le nombre de vaisseaux varie de 10 à 20 par mm².
- Les perforations des éléments de vaisseau sont simples.
- Les éléments des vaisseaux font entre 150 et 380 µm de longueur.
- Les ponctuations intervasculaires ont environ 3 µm de diamètre.
- Les rayons ligneux sont unisériés et de structure relativement homogène.
- Le parenchyme est légèrement aliforme ainsi que terminal.

Ces observations sont cohérentes avec la description de *Q. amara* de l'Atlas des bois d'Amazonie et des régions voisines (15). Le diamètre des vaisseaux est néanmoins légèrement supérieur sur les bois et les gobelets aux valeurs observées sur le témoin et aux données de l'ouvrage (50 à 60 µm). Deux explications sont possibles : un effet "provenance" (légères variations climatiques et pédologiques entre le Suriname et la Guyane Française), ainsi que le fait que Détienne et Jacquet aient basé leur description sur un seul échantillon de *Q. amara*, ce qui ne rend pas compte d'une éventuelle plasticité entre individus.

Néanmoins, si l'on postule que l'on a affaire à une *Simaroubaceae*, on ne peut guère se tromper. En effet, le genre *Picramnia* comporte des rayons ligneux uni et multisériés, ce qui n'est pas observé ici ; le genre *Simaba* possède des vaisseaux peu nombreux d'environ 150 à 200 µm de diamètre ; enfin, le genre *Simarouba* possède également de très gros

vaisseaux (140-180 μm pour *S. versicolor*, 200-300 μm pour *S. amara*) et des ponctuations vasculaires de l'ordre de 7 à 10 μm . Il est donc presque acquis que les pièces achetées au marché de Paramaribo et à Sandygron correspondent à *Q. amara*.

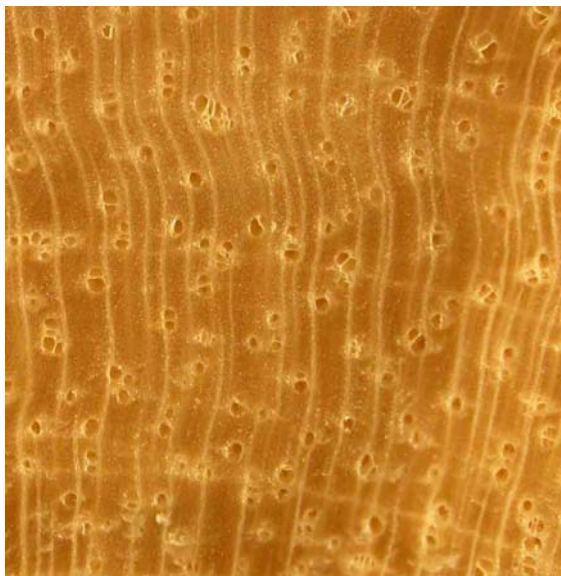


Photo 7. Bois A, coupe transversale.

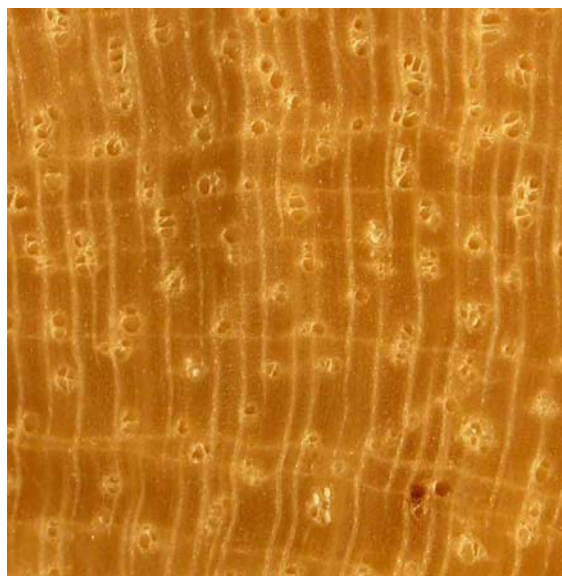


Photo 8. Bois B, coupe transversale.



Photo 9. Bois C, coupe transversale.

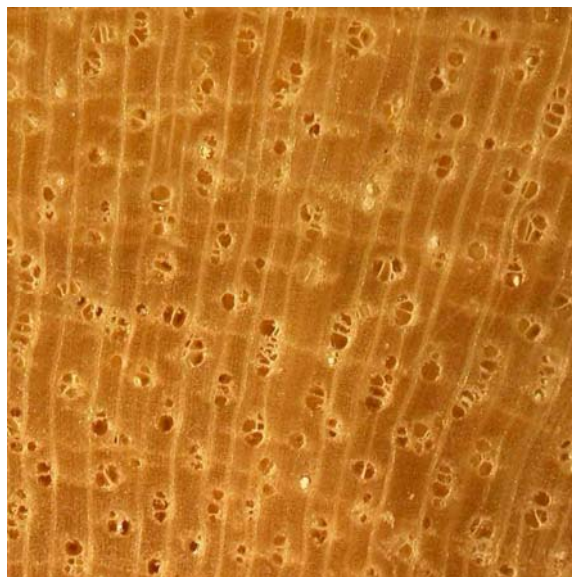


Photo 10. Bois D, coupe transversale.



Photo 11. Témoin *Quassia amara*, coupe transversale.



Photo 12. Bitter-cup D1, coupe transversale.

La différence de coloration de la photo 12 est due à des différences d'éclairage lors de la prise de vue.

Seul le gobelet D1 a été photographié, car les gobelets doivent être sciés pour passer sous l'objectif ce qui est préjudiciable pour la suite des expérimentations.

b. Observation microscopique

Tous les échantillons n'ont pas pu être étudiés selon cette méthode relativement longue. Afin toutefois de prétendre à une certaine objectivité, des coupes histologiques du témoin et de l'un des gobelets (D1) ont été effectuées afin d'observer et d'illustrer en détail la structure anatomique (photos 13 à 16). La loupe binoculaire offrant un grossissement suffisant, cela nous dispense de faire subir le même traitement à tous les échantillons.

Entre les deux coupes transversales (photos 13 et 14), et les deux coupes longitudinales (photos 15 et 16) les similitudes sont frappantes. Les critères anatomiques décrits précédemment nous permettent de postuler, une fois encore, que les gobelets sont issus de *Q. amara*.

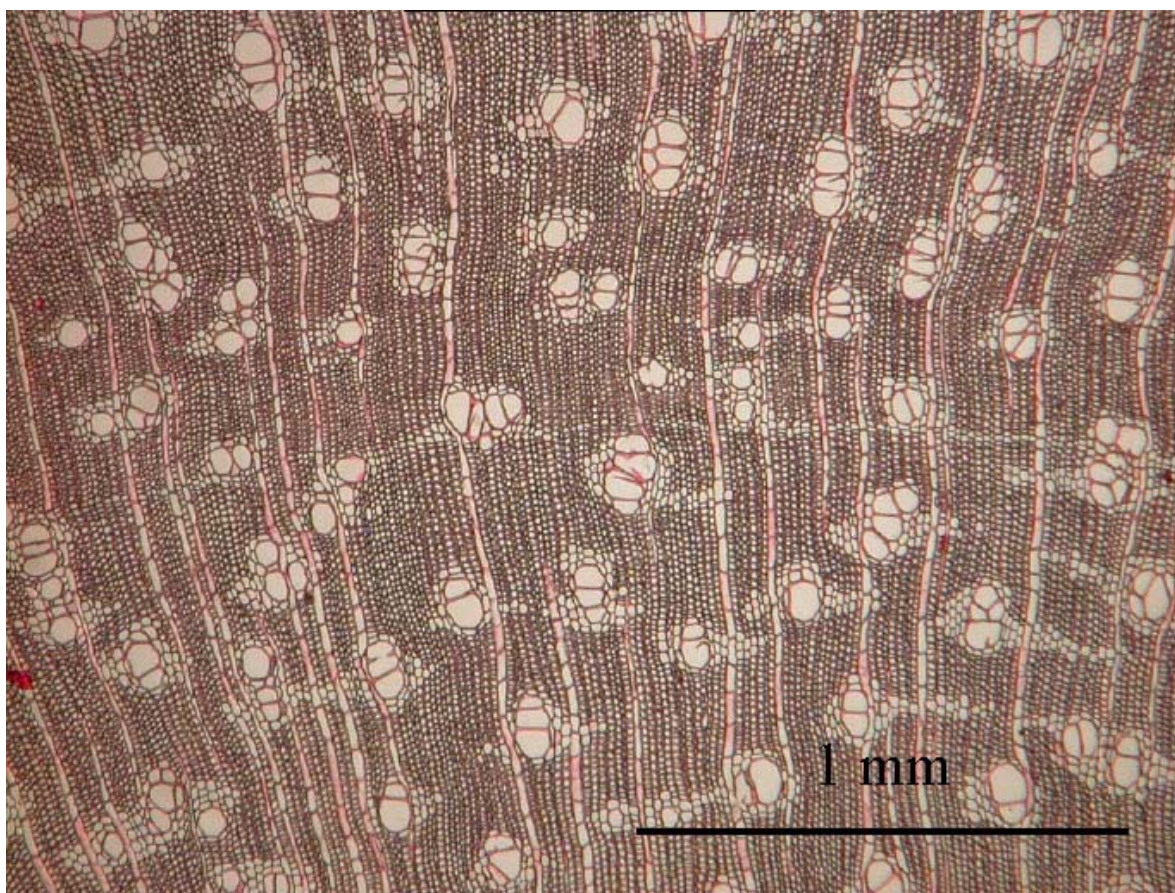


Photo 13. Coupe transversale du bois de *Quassia amara*.

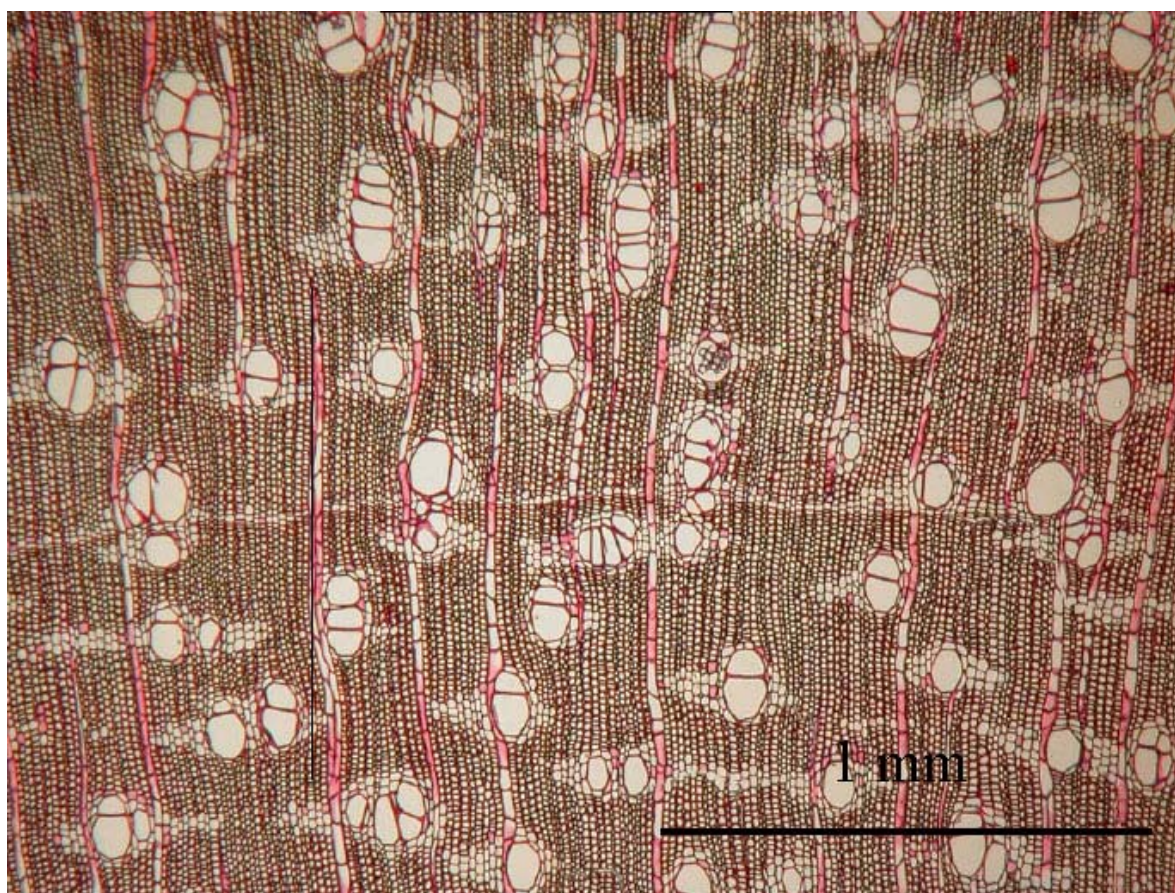


Photo 14. Coupe transversale du *Bitter-cup* D1.

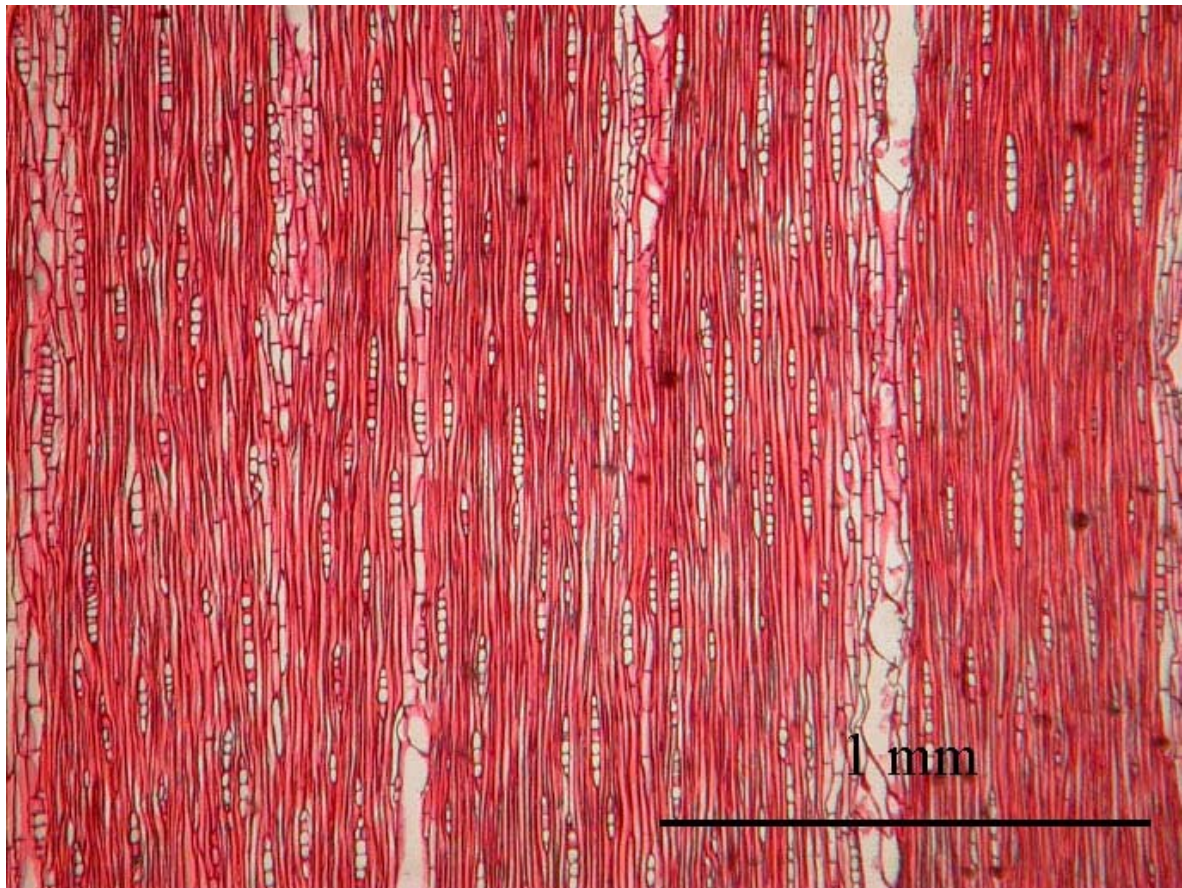


Photo 15. Coupe longitudinale du bois de *Quassia amara*.

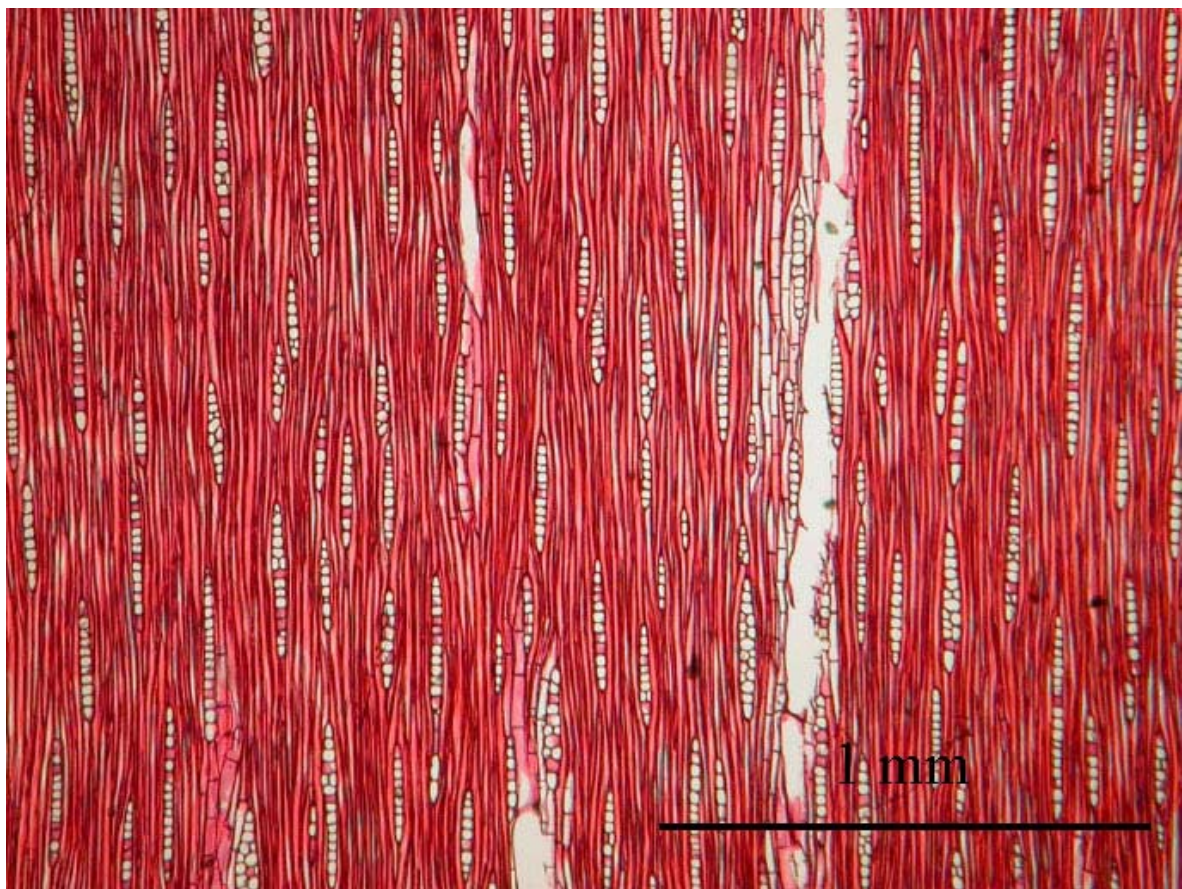


Photo 16. Coupe longitudinale du *Bitter-cup* D1.

c. Discussion

Les critères anatomiques observés laissent à penser que les quatre bois et les gobelets correspondent à *Q. amara*. Les légères différences présentes peuvent être attribuées au milieu, source de variations.

Analyse CLHP et établissement de signatures chimiques

Par la structure anatomique, les pièces de bois ainsi que les *Bitter-cups* proviendraient de la même espèce. Dans le but d'établir des signatures chimiques, la CLHP va permettre de le confirmer tout en mettant en évidence d'éventuelles différences phytochimiques.

a. Témoin *Q. amara*

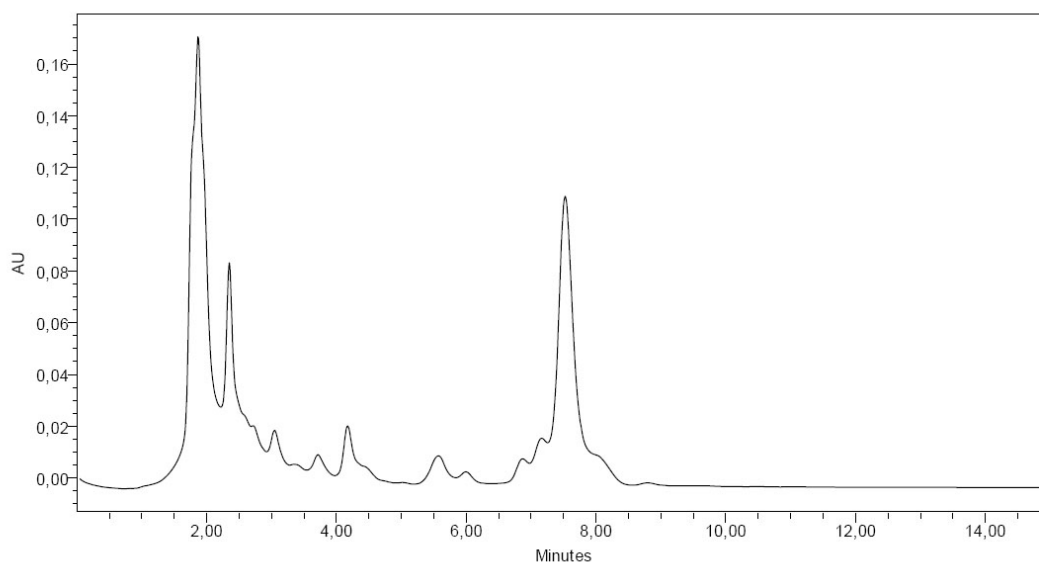


Figure 4. Chromatogramme du macérat aqueux de *Quassia amara* L.

On observe sur la figure 4 un premier groupe de pics entre 1 et 3 minutes, puis une petite série de pics, entre 4 et 6 min, et enfin un pic important à 7,52 min, dont le maximum d'absorption, à 256 nm, laisse supposer qu'il s'agit d'un quassinoïde, vraisemblablement la quassine. Aucun produit n'est élué après dix minutes.

b. Bois

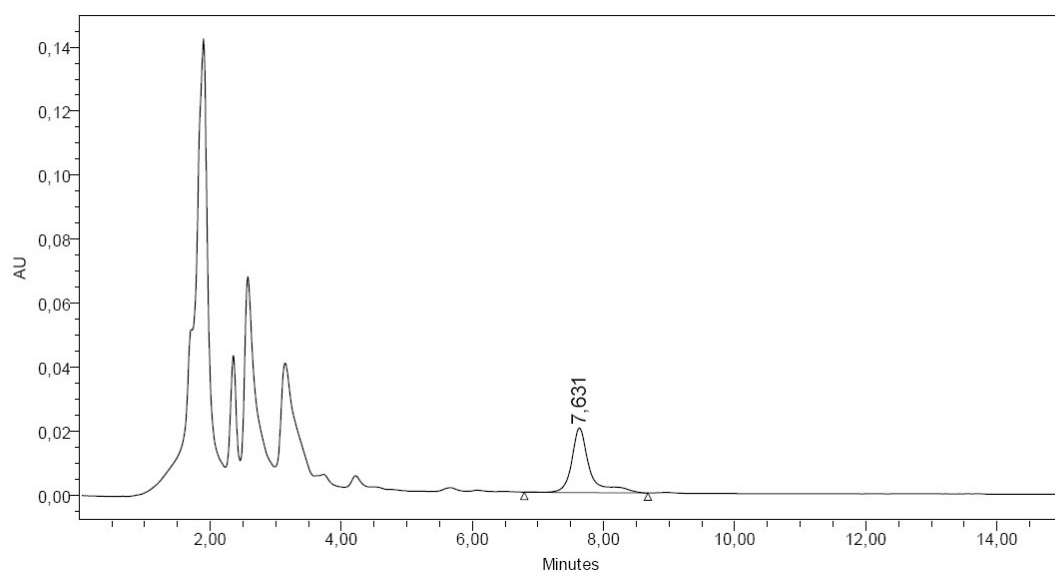


Figure 5.a. Chromatogramme du macérat aqueux du bois A.

Le bois A (figure 5.a) diffère du témoin au niveau du premier groupe de pics, où les produits sortant entre 2,5 et 4 min sont en quantité plus importante. Cependant, entre 4 et 6 minutes, même si leur concentration est assez faible, on note deux petits épaulements qui pourraient correspondre à ceux observés pour le témoin (figure 4). De même, on retrouve à 7,63 min la quassine, bien qu'en concentration moindre, et son épaulement. Cet échantillon peut donc tout à fait correspondre au témoin. Ces plantes ayant poussé à plus de 450 kilomètres de distance, et n'étant pas du même âge, il est raisonnable d'observer des différences dans la composition chimique, notamment au niveau des concentrations des produits.

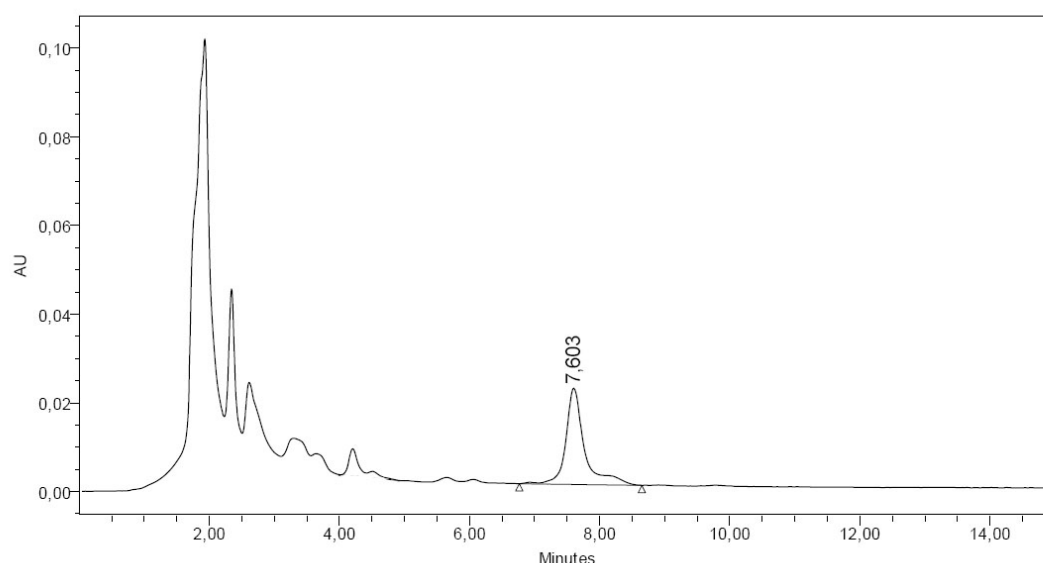


Figure 5.b. Chromatogramme du macérat aqueux du bois B.

Le bois B (figure 5.b) présente des caractéristiques plus semblables au témoin que le bois A.

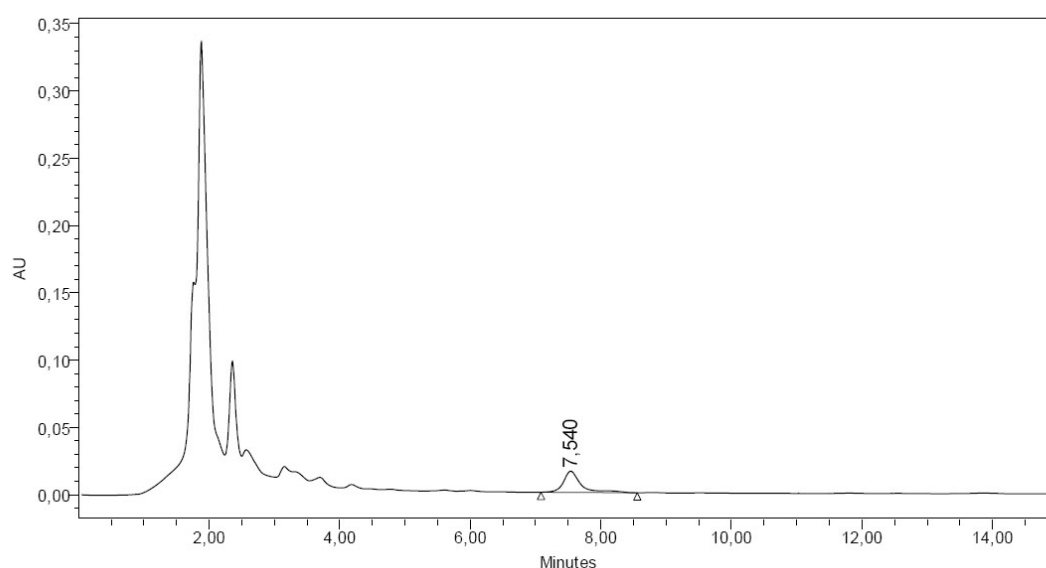


Figure 5.c. Chromatogramme du macérat aqueux du bois C.

Le bois C (figure 5.c) présente également les mêmes caractéristiques que le précédent. Il est intéressant de noter qu'il correspond aux copeaux issus de la taille du gobelet de Sandygron, censé provenir d'un grand arbre à fleurs jaunes !

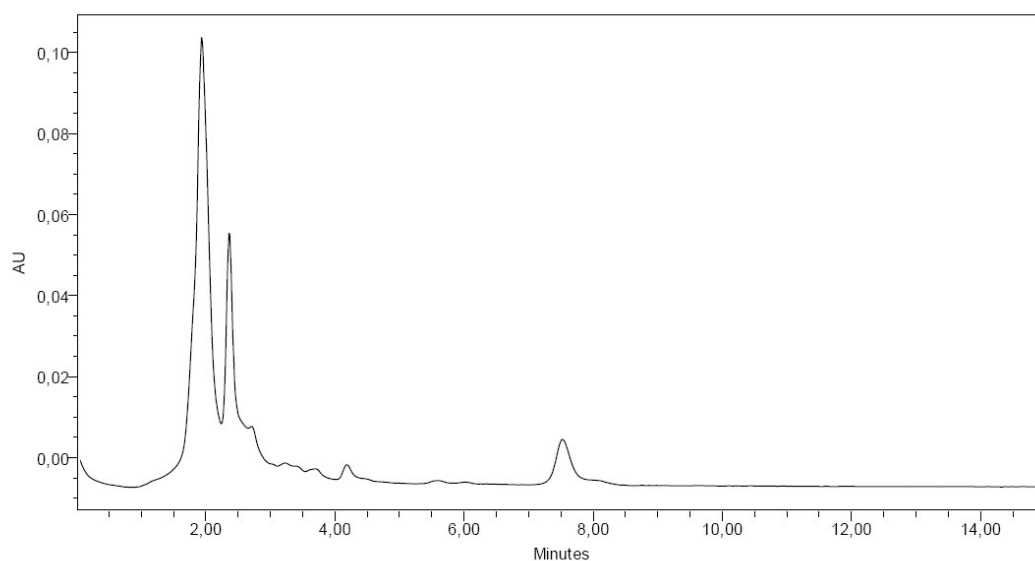


Figure 5.d. Chromatogramme du macérat aqueux du bois D.

Encore une fois, les éléments caractéristiques de *Q. amara* se retrouvent sur le chromatogramme CLHP du bois D (figure 5.d), illustrant la similarité entre les bûchettes et le témoin.

c. Gobelets

Nous avons par la suite réalisé les chromatogrammes des macérats des gobelets amers.

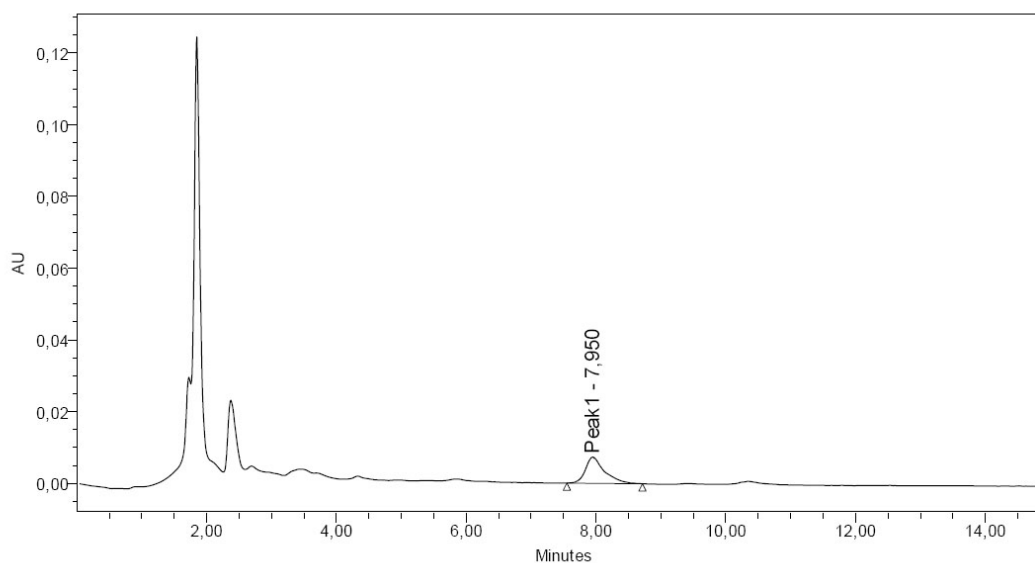


Figure 6.a. Chromatogramme du macérat aqueux du gobelet A1.

Le chromatogramme CLHP du macérat aqueux du gobelet A1 (figure 6.a), est assez similaire aux chromatogrammes précédents. Le pic à 7,95 min est assimilable à la quassine (composé qui sortait précédemment vers 7,6 min) car leurs spectres UV sont identiques. Le glissement du pic vers la droite peut être dû à de nombreux facteurs, dont le fait que les chromatogrammes ont été réalisés sur plusieurs jours ou un encrassement de la colonne.

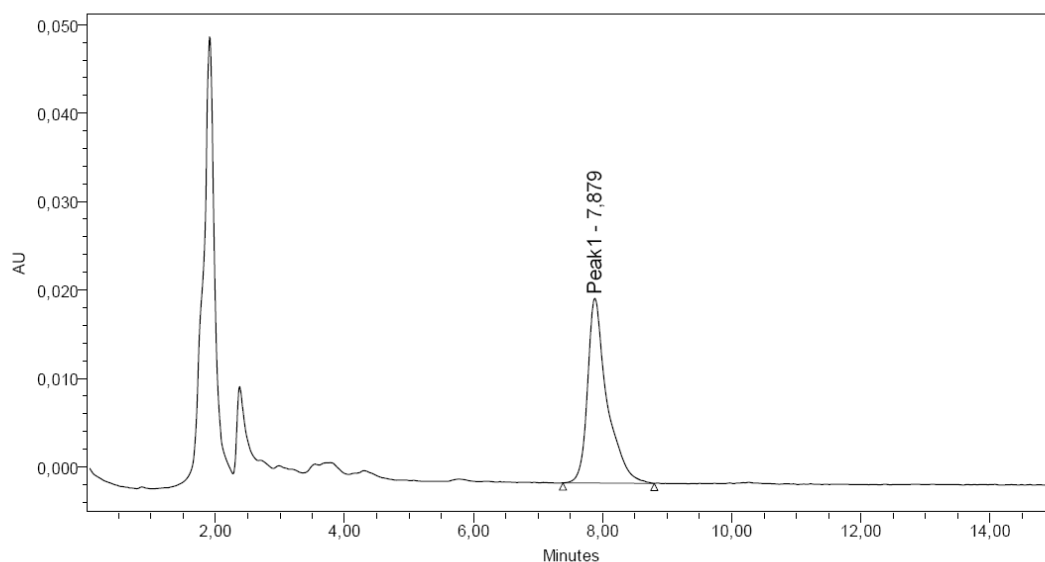


Figure 6.b. Chromatogramme du macérat aqueux du gobelet A2.

L'allure générale du chromatogramme CLHP du macérat aqueux du gobelet A2 (figure 6.b) est bien celle attendue. On note toutefois que la surface du pic de la quassine est ici relativement importante.

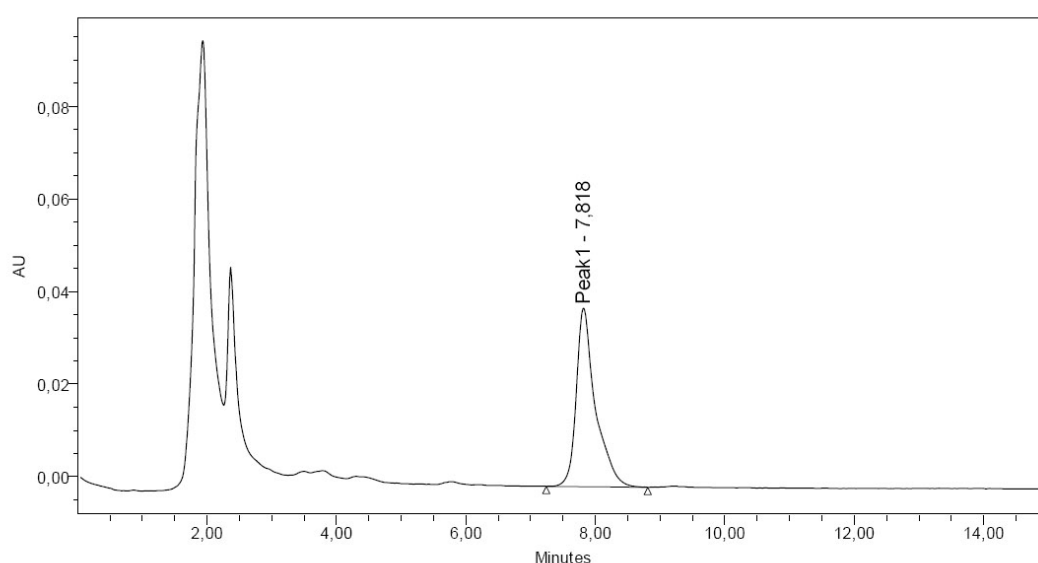


Figure 7. Chromatogramme du macérat aqueux du gobelet B1.

Les deux chromatogrammes CLHP du lot B présentant globalement le même profil, seul celui du gobelet B1 est reporté (figure 7).

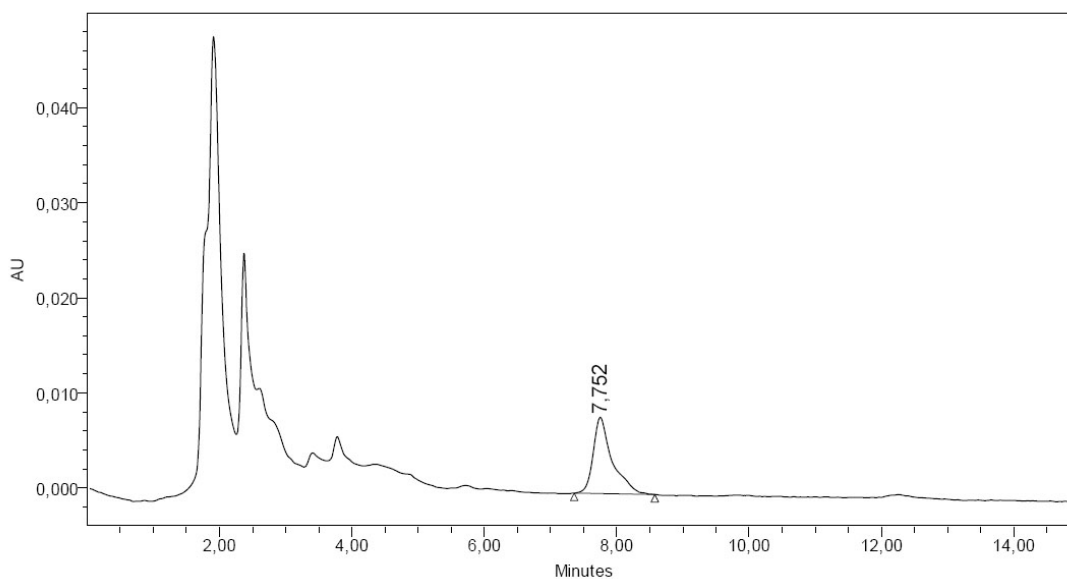


Figure 8. Chromatogramme du macérat aqueux du gobelet C.

Le gobelet amer C, provenant de Sandygron, et soi-disant façonné à partir d'un grand arbre aux fleurs jaune, à un profil similaire au bois C et au témoin. Le chromatogramme (figure 8) permet de mettre en doute la bonne fois du tailleur quant à l'origine botanique.

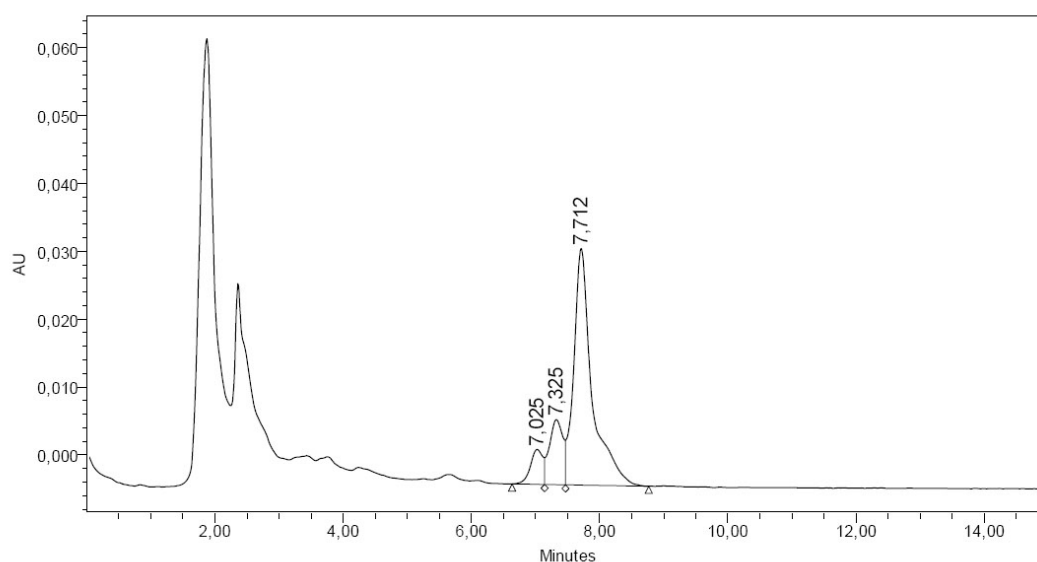


Figure 9. Chromatogramme du macérat aqueux du gobelet D1.

Le chromatogramme CLHP du macérat aqueux du gobelet D1 (figure 9), est légèrement différent des précédents par la présence de deux pics précédant la quassine (7,02

et 7,32 min). Néanmoins, ces deux pics se retrouvent chez le témoin (figure 4). Une nouvelle fois, on peut difficilement contredire l'hypothèse d'une même espèce botanique à l'origine des *Bitter-cups*. Les données apportées par ces différents chromatogrammes CLHP semblent suffisantes, c'est volontairement que les chromatogrammes des gobelets suivants n'ont pas été ajoutés ici, ceux-ci étant similaires aux présents.

d. Témoin négatif *Simarouba amara*

Afin d'avoir un élément de comparaison, et pour parachever cette étude sur l'origine du bois, il était nécessaire d'utiliser un témoin négatif. Nous avons donc choisi de tester *Simarouba amara* Aublet. Cette *Simaroubaceae* est souvent employée par les Saramaka en artisanat traditionnel, notamment pour la confection de petits objets décoratifs (14). De couleur blanc crème, son bois est également peu dense. De par sa grande taille (20 m en moyenne), son diamètre pouvant atteindre 50 cm et ses inflorescences jaune verdâtre, il pouvait s'agir de la plante évoquée par les tailleurs de bois et le guérisseur de Sandygron, d'autant que son bois possède une amertume prononcée (16).

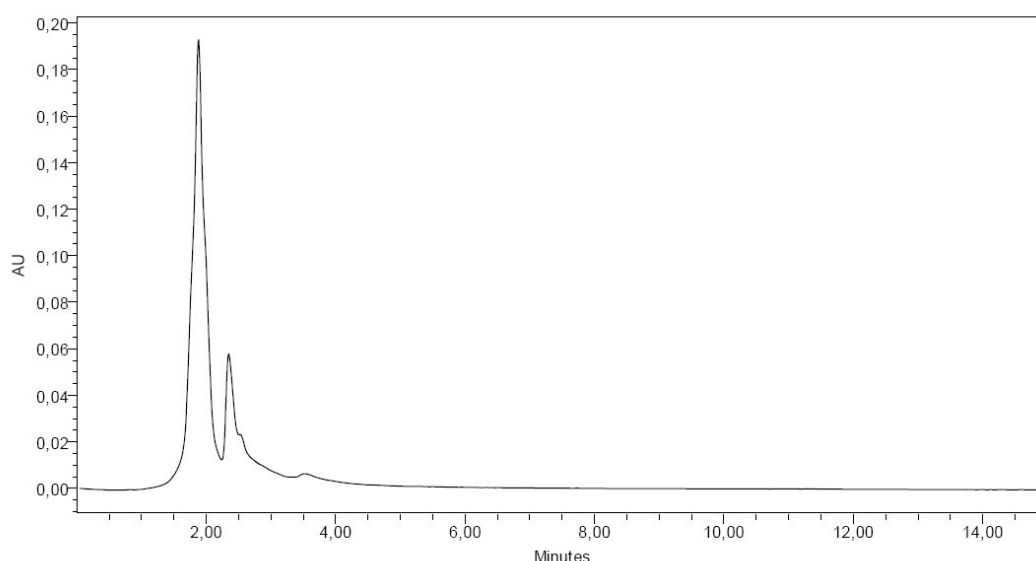


Figure 10. Chromatogramme du macérat aqueux de *Simarouba amara* Aublet.

Le profil chromatographique CLHP du macérat aqueux de *S. amara* (figure 10) présente aussi un groupe de pics entre 1 et 3 minutes, ce qui n'est pas étonnant du fait de la proximité taxonomique des deux espèces. On note cependant l'absence du composé sortant vers 7,6 minutes supposé être la quassine, absente de *S. amara* (17).

e. Discussion

Les signatures chromatographiques par CLHP permettent de confirmer l'hypothèse de départ. La similarité des profils, sur lesquels on voit clairement des éléments communs (notamment un composé supposé être la quassine), associée à l'analyse anatomique rend difficile toute autre interprétation. Le témoin négatif, s'il possède une relative homologie avec les autres échantillons, ne présente pas tous les éléments caractéristiques. Il aurait également été intéressant de tester *Picrasma excelsa* (Swartz) Planch., notoirement confondu avec *Q. amara* lors des exportations en Europe, et qui aurait été signalé sur le bouclier des Guyanes (18). On peut donc conclure que les *Bitter-cups* et les pièces de bois vendus sur les marchés de Paramaribo, ainsi que ceux que l'on trouve plus à l'intérieur du pays, proviennent de *Q. amara*.

Essais biologiques

Face au problème de santé publique posé par le paludisme sur tout le plateau des Guyanes, et puisque les feuilles de *Q. amara* sont connues pour leurs propriétés antimalariques (19), nous avons choisi d'étudier l'activité antipaludique potentielle de ces *Bitter-cups*.

a. Test de la macération aqueuse

Le tableau 2 présente la teneur en matière sèche et l'IC₅₀ sur le test de chimiosensibilité de *P. falciparum* FCB1 du liquide collecté après macération.

Tableau 2. Teneur en matière sèche des macérats et IC 50 sur *Plasmodium. falciparum* FCB1 des différents gobelets après macération aqueuse.

Gobelet	A1	A2	B2	C	D1	D2
Teneur en matière sèche (mg/ml)	0,3	0,2	0,3	0,6	1,5	0,4
IC ₅₀ (µg/ml)	≥30	≥20	≥30	≥60	≥150	≥40

Le gobelet B1 s'est fendu, ne permettant pas la mesure de matière sèche, les gobelets D3 et D4 n'ont pas été testés. Aucune des préparations n'a montré d'activité antimalarique.

b. Test de la macération alcoolique

Le test a été conduit sur un seul *Bitter-cup* (B2), car les gobelets alors disponibles ont malheureusement fait les frais du climat (moisissures, éclatement...). La teneur en matière sèche du macérat alcoolique après évaporation est ici de 0,5 mg, ce qui nous

donne une IC₅₀ de 25 µg/ml, ce qui correspond à une molécule (ici un mélange) inactive au regard des produits utilisés en traitement.

c. Discussion

Les boissons tirées des *Bitter-cups* ne présentent pas d'activité antipaludique. Cela explique, d'une certaine manière, le fait que l'indication majeure de ces objets est stomachique avant d'être antimalarique. Cependant, il se pourrait aussi que l'activité antimalarique des macérats ne soit pas révélée par le test biologique utilisé. En effet, certaines molécules ont besoin d'être métabolisées pour devenir antimalariques. C'est le cas du proguanil inactif qui le devient lorsqu'il est transformé dans l'organisme en cycloguanil (20). De plus, la littérature fait état de l'utilisation de *Q. amara* comme remède traditionnel antipaludique (19, 21) mais, dans ces références, les organes utilisés sont les feuilles (en décoction dans l'eau).

Revue bibliographique : métabolites secondaires du bois de *Q. amara*

S'il est maintenant pratiquement certain que les gobelets sont issus de *Q. amara*, une revue de la littérature s'impose avant de continuer le fractionnement phytochimique. Dans le cas présent, seuls les métabolites secondaires du bois seront ciblés, afin d'anticiper les résultats que nous pourrions obtenir par fractionnement.

Nous avons relevé à travers la littérature 33 métabolites secondaires appartenant à trois familles chimiques : 9 alcaloïdes indoliques (tableau 3), 22 triterpènes (tableau 4) et 2 stéroïdes, la β -sitosténone et le β -sitostérol (22) (formules en annexe 3, tiré à part).

Tableau 3. Alcaloïdes indoliques reportés dans le bois de *Quassia amara*.

Molécules	Références
5-hydroxy-4-méthoxy-3-méthyl-canthin-2,6-dione	Barbetti <i>et al.</i> , 1990 (23)
3-méthyl-canthin-5,6-dione	Barbetti <i>et al.</i> , 1990 (23)
2-méthoxy-canthin-6-one	Njar <i>et al.</i> , 1993 (24), 1995 (25) Raji et Bolarinwa, 1997 (26)
5-hydroxy-4-méthoxy-canthin-6-one	Grandolini <i>et al.</i> , 1987 (27) Barbetti <i>et al.</i> , 1990 (23)
3-N-oxide-5-hydroxy-4-méthoxy-canthin-6-one	Barbetti <i>et al.</i> , 1990 (23)
1-méthoxy-carbonyl- β -carboline	Barbetti <i>et al.</i> , 1987 (28)
1-vinyl-4,8-diméthoxy- β -carboline	Barbetti <i>et al.</i> , 1987 (28)

Tableau 4. Triterpènes reportés dans le bois de *Quassia amara*.

Molécules	Références
Nigakilactone A	Dou <i>et al.</i> , 1996 (29)
Paraïne	Barbetti <i>et al.</i> , 1993 (30)
11-acétyl-paraïne	Barbetti <i>et al.</i> , 1993 (30)
11- α -acétyl-paraïne	Barbetti <i>et al.</i> , 1993 (30)
12- α -hydroxy-13,18-déhydro-paraïne	Barbetti <i>et al.</i> , 1993 (30)
Iso-paraïne	Grandolini <i>et al.</i> , 1987 (27) Barbetti <i>et al.</i> , 1993 (30)
Quassialactol	Dou <i>et al.</i> , 1996 (29)
Quassimarine	Kupchan et Streelman, 1976 (31)
Quassine	Clark, 1937 (32) Lavie <i>et al.</i> , 1963 (22) Nestler <i>et al.</i> , 1980 (33) Robins <i>et al.</i> , 1984a (34) et b (35) Grandolini <i>et al.</i> , 1987 (27) Scragg <i>et al.</i> , 1990 (36) Njar <i>et al.</i> , 1993 (24), 1995 (25) Dou <i>et al.</i> , 1996 (29) Raji et Bolarinwa, 1997 (26)

1- α -méthoxy-quassine	Barbetti <i>et al.</i> , 1993 (30)
12-hydroxy-quassine	Robins <i>et al.</i> , 1984 a (34)
14,15-déhydro-quassine	Robins <i>et al.</i> , 1984 a (34)
18-hydroxy-quassine	Robins <i>et al.</i> , 1984 a (34) et b (35) Dou <i>et al.</i> , 1996 (29)
Isoquassine	Clark, 1937 (32) Lavie <i>et al.</i> , 1963 (22) Nestler <i>et al.</i> , 1980 (33) Tateo et Redaelli, 1980 (37) Grandolini <i>et al.</i> , 1987 (27) Dou <i>et al.</i> , 1996 (29)
11-dihydro-12-nor-néoquassine	Grandolini <i>et al.</i> , 1987 (27) Barbetti <i>et al.</i> , 1993 (30)
16- α -méthoxy-néoquassine	Barbetti <i>et al.</i> , 1993 (30)
16- α -néoquassine	Robins <i>et al.</i> , 1984 a (34)
16- β -néoquassine	Robins <i>et al.</i> , 1984 a (34)
Néoquassine	Robins <i>et al.</i> , 1984 a (34) Barbetti <i>et al.</i> , 1993 (30)
Quassinol	Casinovi <i>et al.</i> , 1969 (38)
Quassol	Duke, 1992 (39)
Simalikalactone D	Kupchan et Streelman, 1976 (31)

Revue bibliographique : activités des extraits de *Quassia amara*

Envisageons les activités d'extraits des différents organes. Les activités antiparasitaires en général et anti-protozoaires en particulier vont dans le sens d'une activité sur *Plasmodium*.

a. Activité antipaludique

En 1999, Ajaiyeoba *et al.* (40) ont testé un extrait hexanique et un extrait méthanolique de feuilles séchées ainsi qu'un extrait méthanolique de bois *in vivo* sur des souris infestées par *Plasmodium berghei berghei*. L'extrait hexanique s'est avéré actif par voie orale à 100 mg/kg et l'extrait méthanolique de feuilles à 200 mg/kg. L'extrait méthanolique de bois apparaît par contre peu actif.

En 2005, Bertani *et al.* (19) ont évalué l'activité de nombreux remèdes amazoniens utilisés en thérapeutique traditionnelle contre *Plasmodium*. Une infusion de feuilles et une décoction de bois de *Q. amara* ont été testées *in vitro* sur *P. falciparum* W2 et les IC₅₀ sont respectivement de 8,9 et 4,4 μ g/ml. L'infusion de feuilles a de plus été testée *in vivo* sur *P. yoelii*, et par le biais d'un test inhibant la biominéralisation de la ferriprotoporphyrine III. Le pourcentage d'inhibition de la croissance parasitaire *in vivo* est de 62 % à 90 mg/kg/jour.

L'IC₅₀ obtenue pour l'infusion de feuilles avec le test inhibant la biominéralisation de la ferriprotoporphyrine III est de 5 µg/ml.

b. Activité antiulcéreuse

L'activité antiulcéreuse s'apparente à l'indication thérapeutique citée en première place lors de notre enquête de terrain.

Badilla *et al.* (1998) (41) ont expérimenté *in vivo* l'activité d'un extrait aqueux de bois sur la sphère gastro-intestinale. Des souris traitées à 500 et 1000 mg/kg par voie orale ont montré une augmentation du transit intestinal. Les doses de 500 et 1000 mg/kg se sont montrées préventives face à des ulcères induits par l'indométacine ou l'éthanol sur des rats. On observe à partir de 1000 mg/kg une réduction de l'acidité gastrique et de l'activité peptique, et à partir de 1500 mg/kg une augmentation de la production de groupements sulfhydryl non protéiques.

Toma *et al.* (2002) (42) ont testé quatre extraits d'écorce (hexane, dichlorométhane, éthanol 100 % et éthanol 70 %) sur des souris. Ces extraits sont actifs à 100 mg/kg *per os* dans l'ulcère gastrique induit par l'indométacine/bétanéchol. Ils sont également efficaces (100 mg/kg) dans la prévention d'ulcères induits par des contraintes hypothermiques.

c. Activité anti-poux

Jensen *et al.* (1978) (43) ont démontré l'activité d'un traitement à base de teinture (extrait éthanolique de feuilles) sur 454 patients infestés par des poux de tête. Deux applications espacées d'une semaine ont été suffisantes dans leur étude.

En 1991, Ninci (44) a également confirmé les effets prophylactiques et thérapeutiques d'extraits éthanoliques dans la pédiculose humaine, les essais ayant été effectués sur 148 enfants scolarisés en Argentine.

d. Activité anti-rétrovirale

Abdel Malek *et al.* (1996) (45) ont démontré une activité anti-rétrovirale d'un extrait aqueux d'écorce par des tests *in vitro* de protection des cellules lymphoblastoïdes-T MT 2.

e. Activité anti-fertilité

Raji et Bolarinwa (1997) (26) font état, après traitement par voie orale (100 mg/kg/jour pendant huit semaines) avec un extrait méthanolique de bois, d'une diminution réversible de la fertilité des rats. Cette diminution s'exprime par une baisse pondérale des testicules, épидидymes et vésicules séminales, et par l'augmentation de la glande pituitaire antérieure. De même, ils ont observé une diminution du nombre de spermatozoïdes, ainsi que des taux de testostérone, d'hormone lutéïnisante (LH) et de folliculostimuline (FSH) dans le sang.

f. Activité anti-appétante pour les insectes phytophages

Bien que cette activité n'intéresse pas à proprement parler la pharmacologie humaine, elle présente un intérêt pharmaceutique certain, tant du point de vue phytosanitaire que pour la répulsion de parasites ou de leurs hôtes. Mancebo *et al.* (2000) (46) ont testé l'activité anti-appétante d'extraits méthanoliques de bois et de feuilles sur *Hypsipyla grandella*. C'est pour le bois que la répulsion est la plus importante (à partir de 0,32 % d'extrait en solution), mais elle est tout de même présente pour l'extrait de feuilles (à partir de 3,16 % d'extrait en solution).

g. Activités antibactériennes et antifongiques

A 5 mg/ml, des extraits méthanoliques et hexaniques de feuilles et de bois ont inhibé la croissance d'*Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus niger* par rapport aux témoins (47). L'extrait méthanolique de feuilles est le plus efficace sur six bactéries et cinq champignons pathogènes chez l'homme, aussi bien par diffusion sur disque d'agar que par dilution dans un milieu liquide.

h. Activités analgésiques et anti-inflammatoires

Toma *et al.* (2003) (48) ont préparé des extraits d'écorce avec l'hexane, le dichlorométhane, l'éthanol 70 % et l'éthanol 100 %. *In vivo* sur des souris mâles par voie orale, ces extraits ne montrent pas d'activité notable. Par voie intrapéritonéale, mode d'administration non traditionnel, l'extrait hexanique présente néanmoins des effets positifs, notamment sur l'œdème induit par des carraghénanes, sur le test de la plaque chauffante et sur la douleur induite par l'acide acétique. Ces auteurs analysent ces propriétés comme sédatives musculaires et relaxantes ou psychomimétiques.

Revue bibliographique : propriétés de molécules du bois de *Q. amara*

Trois molécules extraites de *Q. amara* ou présentes chez cette espèce ont fait l'objet de tests. La plus citée est la simalikalactone D (SKD), suivie de la quassine, puis de la quassimarine.

a. Activités de la simalikalactone D

a.1. Activité anti-parasitaire

Trager et Polonsky (49) ont relevé dès 1981 sur une souche chloroquino-résistante une activité anti-paludique de 5 ng/ml pour la SKD.

En 1986, O'Neill *et al.* (50) ont testé *in vitro* 14 quassinoïdes, notamment sur la souche Thailand-K1 chloroquino-résistante de *Plasmodium falciparum*. L'IC₅₀ obtenue pour la SKD est de 0,9 ng/ml.

En 1993, Cabral *et al.* (51) ont isolé la SKD à partir d'une autre *Simaroubaceae*, *Simaba guianensis*. L'IC₅₀ a été calculée pour deux souches de *Plasmodium* : ils obtiennent 1,6 ng/ml sur la souche Indochina-W2 chloroquino-résistante et 1,5 ng/ml sur la souche Sierra Leone-D6 méfloquino-résistante.

Bertani *et al.* (2006) (52) ont obtenu des résultats positifs tant *in vitro* qu'*in vivo*. *In vitro*, l'IC₅₀ est de 10 nM sur la souche chloroquino-résistante colombienne FcB1. *In vivo*, la SKD diminue la parasitémie de 50 % pour 3,7 mg/kg/jour par voie orale sur *Plasmodium yoelii yoelii*.

La SKD a aussi un effet sur d'autres parasites. Elle est active (53) sur *Entamoeba histolytica* HM-1 IMSS avec une IC₅₀ de 47 ng/ml. Avec d'autres quassinoïdes, elle a une action importante et durable sur les promastigotes de *Leishmania donovani* (54).

a.2. Activité anticancéreuse et cytotoxique

Xu *et al.* (2000) (55) ont testé la SKD, ainsi que d'autres quassinoïdes sur un certain nombre de lignées de cellules cancéreuses, dont KB (carcinome épidermoïde du nasopharynx), A-549 (carcinome du poumon), HCT-8 (carcinome iléocecal), CAKI-1 (cancer du rein), MCF-7 (cancer du sein) et SK-MEL-2 (mélanome). Les DE₅₀ pour la SKD sont respectivement de 0,018, 0,04, 0,013, 0,26, 0,014 et 0,13 µg/ml.

Apers *et al.* (2002) (56) ont isolé à partir de *Q. africana* deux quassinoïdes également présents chez *Q. amara*, la quassine et la simalikalactone D. Dans le cadre d'un test d'activité

anti-virale, ils ont mesuré la cytotoxicité de la SKD et observé sur des cellules VERO une cytotoxicité à partir de 5 µg/ml.

a.3. Activités antivirale et anti-rétrovirale de la SKD

Toujours chez Apers *et al.* (2002) (56), la SKD n'a pas donné de résultat sur Coxsackie B2 virus (COX B2), Measles (Edmonston A), contrairement aux virus Herpes simplex virus type 1 (HSV 1), Poliomyelitis 1 (POLIO 1), Semliki forest (SF L 10) et Vesicular stomatitis virus (VSV). Pour HSV 1, à 1 à 2 µg/ml, le facteur de réduction (RF) est supérieur ou égal à 10^4 et à 0,2 µg/ml, il est de 10^2 ; pour POLIO, à 1 à 2 µg/ml, le RF est de 10^4 ; pour SF L 10, à 2 µg/ml, le RF est de 10^2 ; enfin pour VSV, à 2 µg/ml, le RF est de 10^4 et à 0,2 µg/ml, de 10^2 . La SKD a aussi été testée sur le virus de l'immunodéficience humaine (HIV IIIB), mais la cytotoxicité élevée ne permet pas d'obtenir une information fiable.

b. Activités de la quassine

La quassine, chef de file des quassinoïdes, montre peu de propriétés antiparasitaires malgré son amertume très marquée. Ainsi, Wright *et al.* (1988) (17) ont démontré son inefficacité contre *P. falciparum* et *Entamoeba histolytica*. Apers *et al.* (2002) (56) n'ont pas trouvé d'effet sur les souches virales citées plus haut, ainsi que sur l'HIV. Ces auteurs font état d'une faible cytotoxicité de la quassine, de 134 µg/ml. Toutefois, une activité larvicide (57) sur *Culex quinquefasciatus* a été relevée à la concentration de 6 ppm en solution aqueuse, ce qui pourrait avoir un intérêt indirect dans la lutte antipaludique.

Raji et Bolarinwa (1997) (26) ont mis en évidence une activité sur l'appareil reproducteur pour l'extrait méthanolique, et, dans le même article, ils ont isolé la quassine comme molécule à l'origine des effets. À 0,1, 1 et 2 mg/kg, celle-ci entraîne une diminution de la fertilité des rats. Cet effet a été mesuré sur les mêmes paramètres (baisse pondérale des testicules, épидидymes et vésicules séminales, augmentation de la glande pituitaire antérieure, diminution du nombre de spermatozoïdes, des taux de testostérone, d'hormone lutéinisante (LH) et de folliculostimuline (FSH) dans le sang). Un autre article publié par Njar *et al.* en 1995 (25) relate également ces travaux et les mêmes résultats.

c. Activité anti-tumorale de la quassamarine

Kupchan et Streelman (1976) (31) ont isolé, à partir de suc de *Q. amara*, la quassamarine et lui ont trouvé une forte activité anti-tumorale et une cytotoxicité peu élevée

(rapport « inhibition tumorale / cytotoxicité » compris entre 165 et 175 pour des doses allant de 1 à 4 mg/kg) sur des cellules de type PS. L'inhibition tumorale est encore significative à 50 µg/kg (rapport « inhibition tumorale / cytotoxicité » supérieur à 125). La quassimarine présente une cytotoxicité (DE₅₀) sur les cellules KB entre 10⁻² et 10⁻³ µg/ml.

Dans le même domaine, Xu *et al.* (2000) (55), parallèlement à la SKD, ont testé la quassimarine sur des souches variées de cellules tumorales, obtenant les DE₅₀ suivantes : KB, 0,06 µg/ml ; A-549, 0,03 µg/ml ; HCT-8, 0,012 µg/ml ; CAKI-1, 0,05 µg/ml ; MCF-7, 0,006 µg/ml et SK-MEL-2, 0,05 µg/ml.

Fractionnement bioguidé

Dans un chapitre précédent, nous n'avons pas mis en évidence d'activité antipaludique, mais Ajaiyeoba *et al.* (1999) (40) et Bertani *et al.* (2006) (52) ont trouvé une activité antimalarique *in vivo* intéressante pour les feuilles de *Q. amara*. Ces données (notons que les organes traités sont différents) nous ont poussé à essayer de fractionner le macérat aqueux afin d'étudier l'effet sur *Plasmodium*.

a. CLHP semi-préparative

Pour des raisons de qualité du signal, 5,5 ml du macérat du *Bitter-cup* A1 sont injectés en 5 fois (1,1 ; 1,1 ; 1,1 ; 1,3 ; 0,9 ml). La tête et la queue d'élution n'ont pas été collectées en l'absence apparente de composés à 256 nm.

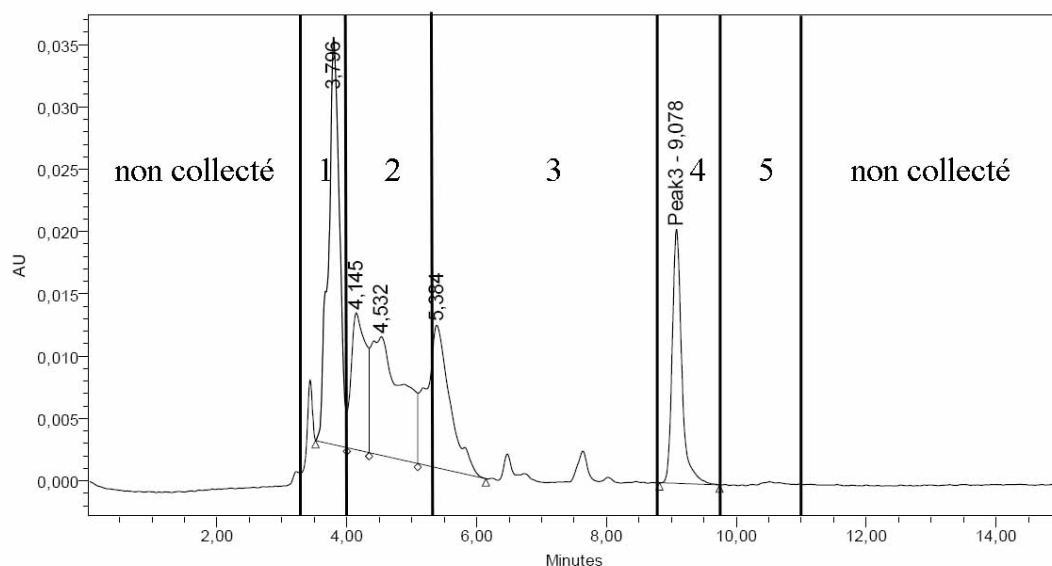


Figure 11. CLHP préparative de A1, avec délimitation des 5 fractions sur le chromatogramme.

L'éluat est récolté en 5 fractions (figure 11) réparties comme suit:

- Fraction 1 : de 3,3 à 4 min.
- Fraction 2 : de 4 à 5,3 min.
- Fraction 3 : de 5,3 à 8,8 min.
- Fraction 4 : de 8,8 à 9,7 min.
- Fraction 5 : de 9,7 à 11 min.

b. Essais biologiques

Tableau 5. Teneur en matière sèche et IC₅₀ des fractions collectées après CLHP semi-préparative de A1.

Fractions	F1	F2	F3	F4	F5
Teneur en matière sèche du pillulier (mg/ml)	4,9	0,5	0,1	≈ 0	≈ 0
IC ₅₀ (μg/ml)	≥490	≤6,25	≤1,25		

On obtient donc (tableau 3) des IC₅₀ performantes pour F2 et F3. Bien que les IC₅₀ de F4 et F5 ne soient pas calculables en raison de la faible teneur en matière sèche, F4 est visiblement efficace (à la cinquième dilution) et F5 est visiblement inactive (les activités sont répertoriées dans le tableau de l'annexe 4).

c. Discussion

Un composé ayant une masse inférieure au seuil de précision de la balance et une bonne activité peut légitimement être considéré comme performant. A l'inverse, pour un composé de masse inférieure à ce même seuil et sans activité, aucune conclusion n'est possible. Ce travail permet de postuler que certaines substances retrouvées dans les gobelets présentent une activité marquée sur *Plasmodium*, mais elles sont masquées par des composés inactifs en quantité non négligeable (F1+F5 = 0,0264 g ; F2+F3+F4 = 0,0267 g).

Si ce fractionnement ne permet pas, de par les quantités obtenues, d'envisager l'isolement de composés purs, il donne cependant un espoir quant aux potentialités du bois de *Quassia* en tant qu'antimalarique (très bonnes activités des fractions 2, 3 et éventuellement 4). Il serait maintenant judicieux de travailler sur de plus grandes quantités de matière afin de séparer les molécules responsables de l'activité. De plus, une extraction par un solvant organique adapté au macérat permettrait éventuellement de concentrer ces molécules, ou de débarrasser l'extrait des molécules inactives.

Extraction et optimisation du fractionnement

Nous avons vu précédemment l'opportunité de procéder à une extraction par des solvants de polarités différentes sur des quantités importantes de matière. C'est ce que nous avons développé dans le paragraphe suivant, en établissant un protocole qui permet de rester dans des conditions aussi proches que possible des conditions traditionnelles d'utilisation.

a. Extraction par un solvant organique

Tableau 6. Activités sur *P. falciparum* FCB1 *in vitro* des différentes solutions.

Solution	SA1	SD1	SA'1	SA2	SD2	SA'2
Activité (IC ₅₀ µg/ml)	5	2,5	≥10		2,5	≥10

Le tableau 6 indique une activité dans la phase aqueuse avant extraction (5 µg/ml) qui n'est pas retrouvée après extraction (≥10 µg/ml). L'utilisation de dichlorométhane semble donc appropriée pour extraire les éventuels composés actifs du bois de *Q. amara*.

b. CLHP semi-préparative

Les fractions dichlorométhaniques obtenues après l'extraction de 3 x 200 g de poudre de bois ont été réunies puis concentrées par évaporation sous pression réduite et purifiées par CLHP semi-préparative selon le protocole précédemment décrit. Le temps d'élution, ici, a été allongé à 25 minutes afin de collecter l'ensemble des substances présentes dans l'extrait.

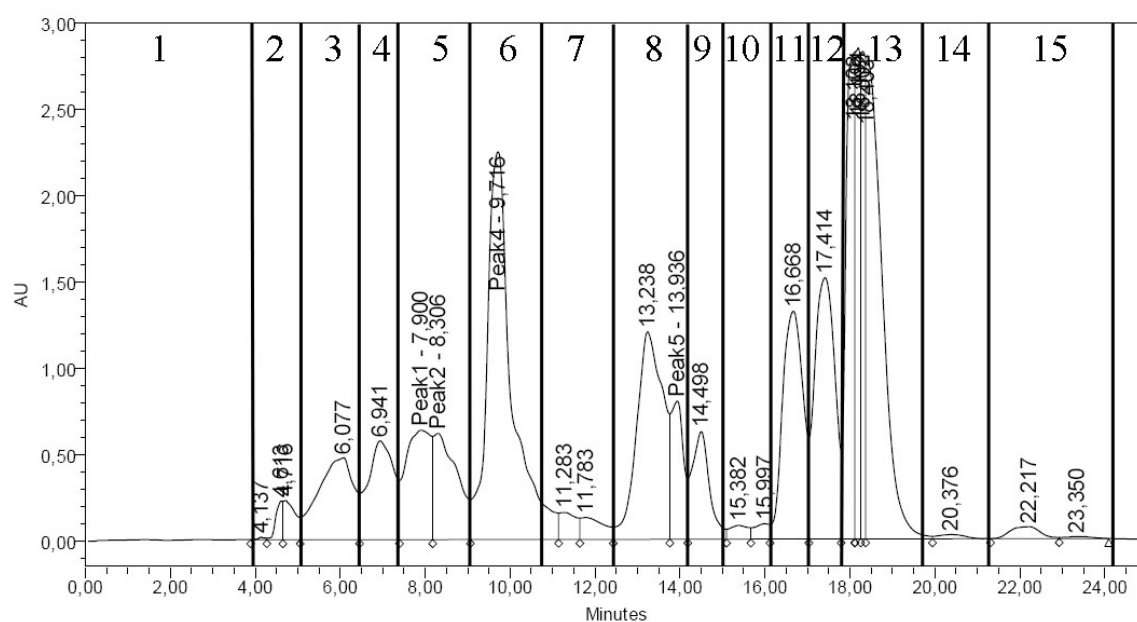


Figure 12. CLHP préparative de l'extrait dichlorométhanique et illustration du fractionnement sur le chromatogramme.

L'éluat est recueilli en 15 fractions réparties comme suit (tableau 7) :

Tableau 7. Répartition des fractions collectées après CLHP semi-préparative de l'extrait dichlorométhanique.

Fraction	minutes	Fraction	minutes
1	0 à 3,9	9	14,2 à 15
2	3,9 à 5,1	10	15 à 16,2
3	5,1 à 6,4	11	16,2 à 17
4	6,4 à 7,3	12	17 à 17,8
5	7,3 à 9,1	13	17,8 à 19,7
6	9,1 à 10,7	14	19,7 à 21,3
7	10,7 à 12,4	15	21,3 à 24,2
8	12,4 à 14,2		

Le reste n'a pas été recueilli. Après réinjection en mode analytique (temps d'élution de 15 minutes), voici les chromatogrammes obtenus :

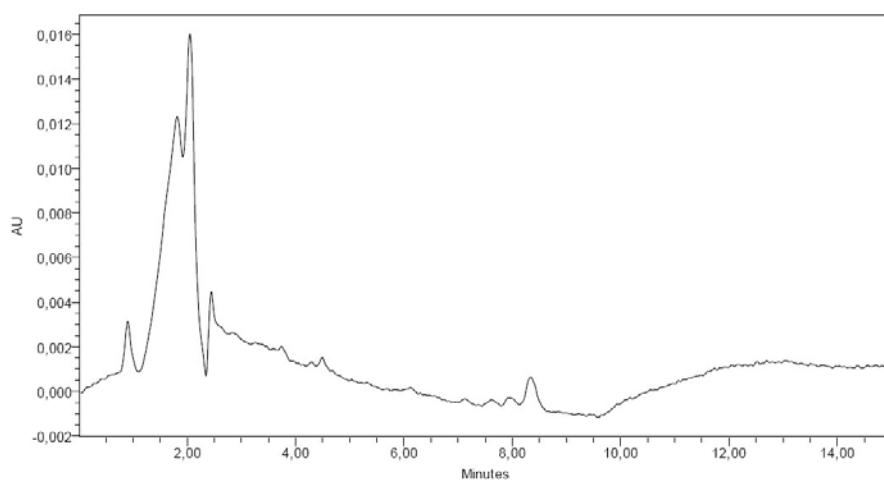


Figure 13 a. Chromatogramme de la fraction 1.

La fraction 1 présente un groupe de pics correspondant vraisemblablement aux pics du solvant (maximum d'absorption inférieur à 210 nm).

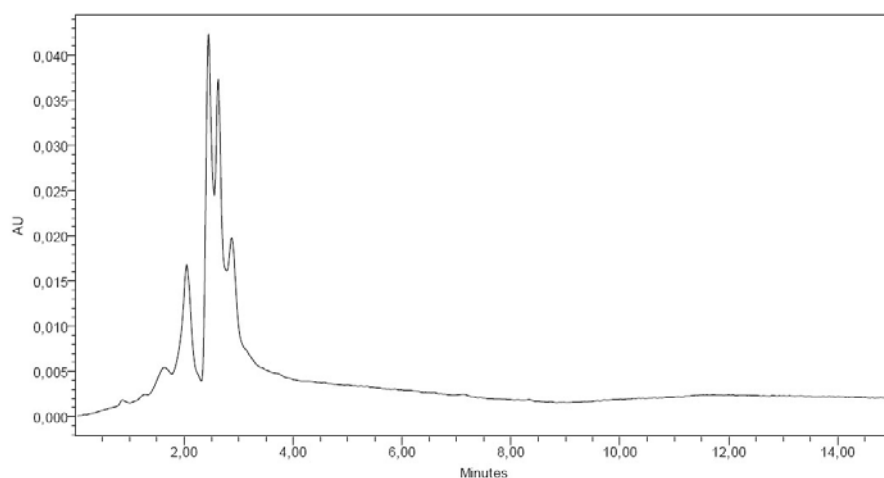


Figure 13 b. Chromatogramme de la fraction 2.

Pour la fraction 2, le maximum d'absorption des pics est encore inférieur à 210 nm.

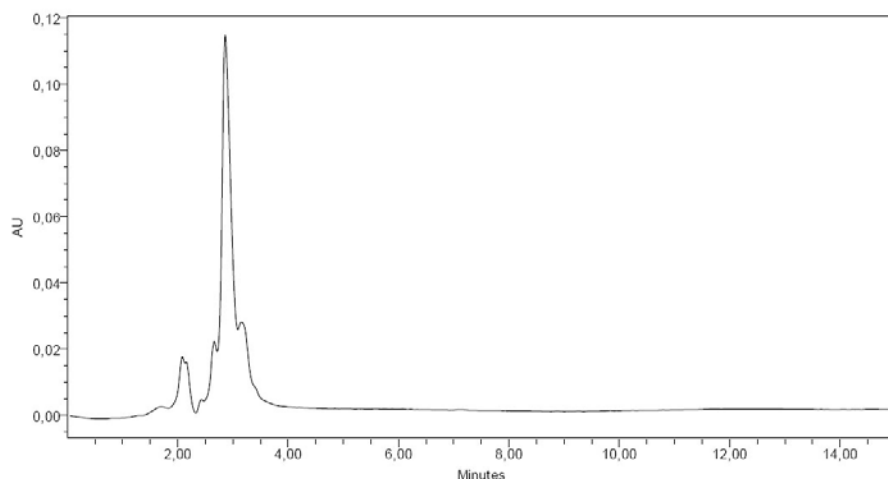


Figure 13 c. Chromatogramme de la fraction 3.

Le pic majoritaire de la fraction 3 a un temps de rétention de 3 minutes et un maximum d'absorption à 254,7 nm, très voisin de celui de bon nombre de quassinoïdes.

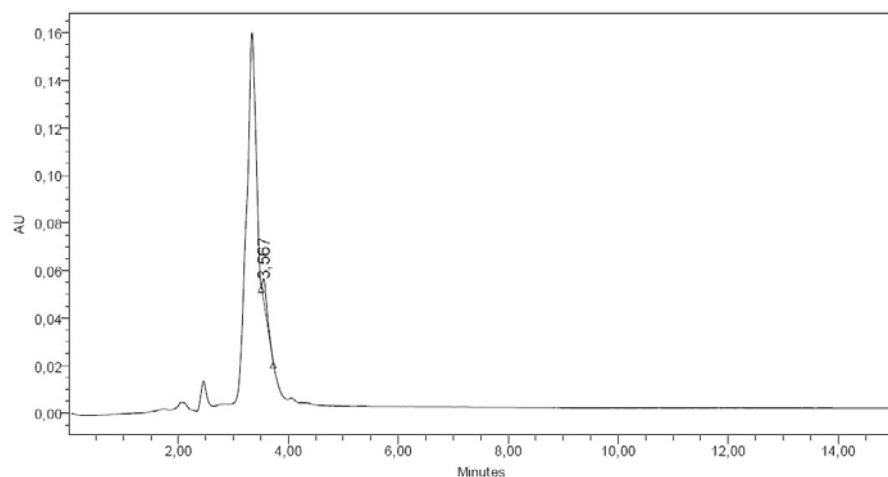


Figure 13 d. Chromatogramme de la fraction 4.

Dans la fraction 4, on note la présence d'un composé relativement pur, à 3,57 minutes, dont le maximum d'absorption se situe à 253,5 nm.

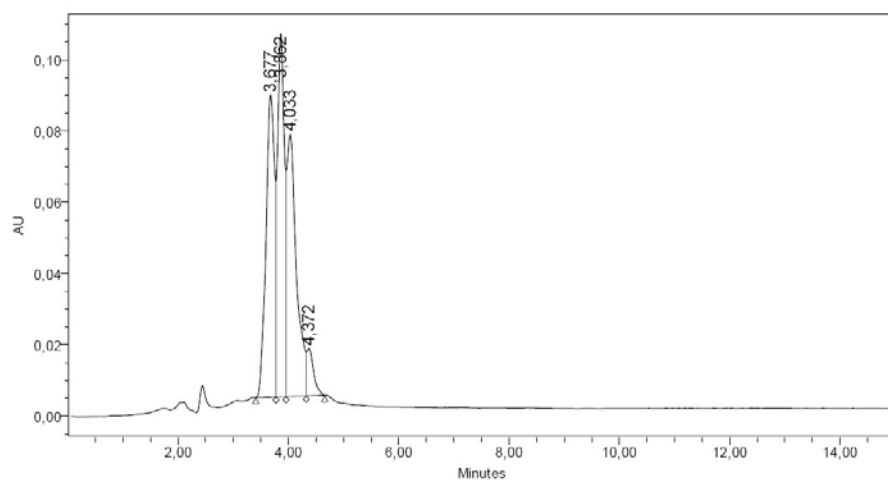


Figure13 e. Chromatogramme de la fraction 5.

La fraction 5 présente un ensemble de pics peu distincts. Les deux premiers pics importants ont des maximums d'absorptions non compris dans la gamme du détecteur, et le troisième (4,02 minutes) possède un maximum d'absorption à 266,5 nm.

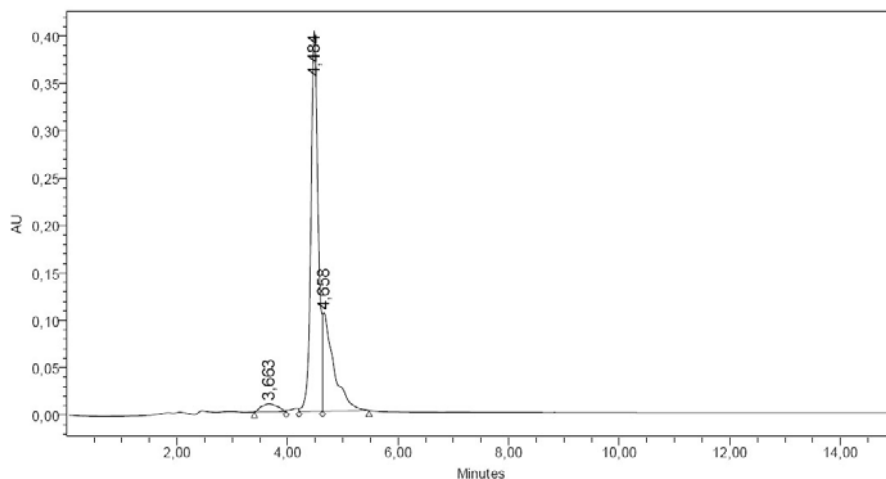


Figure 13 f. Chromatogramme de la fraction 6.

La fraction 6 possède un produit relativement isolé ayant pour maximum d'absorption 253,5 nm.

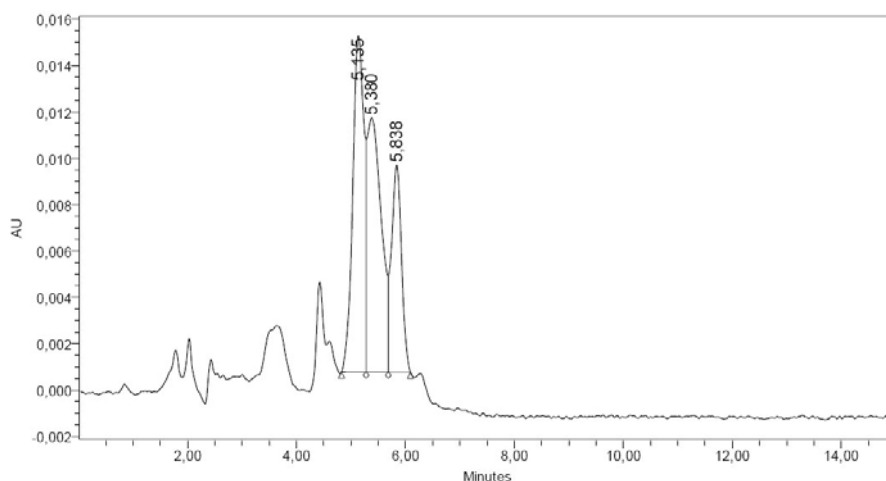


Figure 13 g. Chromatogramme de la fraction 7.

La fraction 7 a une ligne de base peu nette probablement en raison de la faible concentration des composés. Les maximums d'absorption des trois derniers pics relevés sont respectivement à 267,7, 268,9 et 271,3 nm.

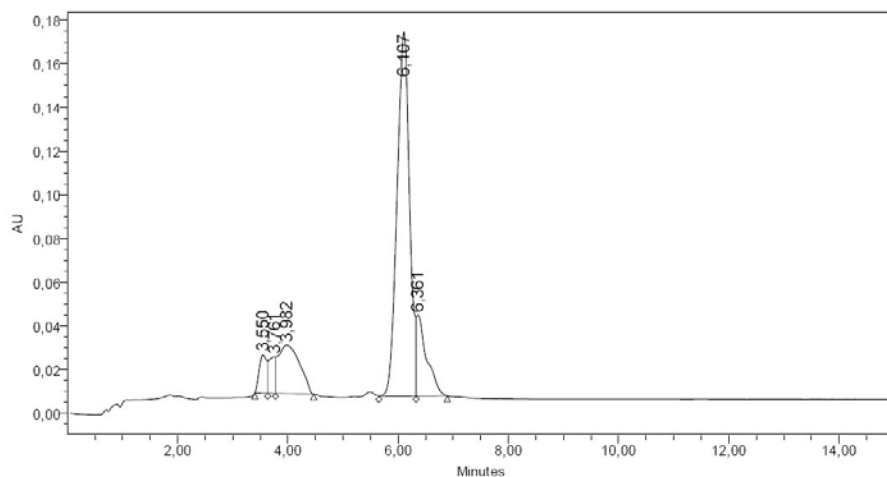


Figure 13 h. Chromatogramme de la fraction 8.

La séparation est assez moyenne pour la fraction 8. Le maximum d'absorption du pic à 6,11 minutes est à 271,3 nm, et celui de son épaulement à 254,7 nm.

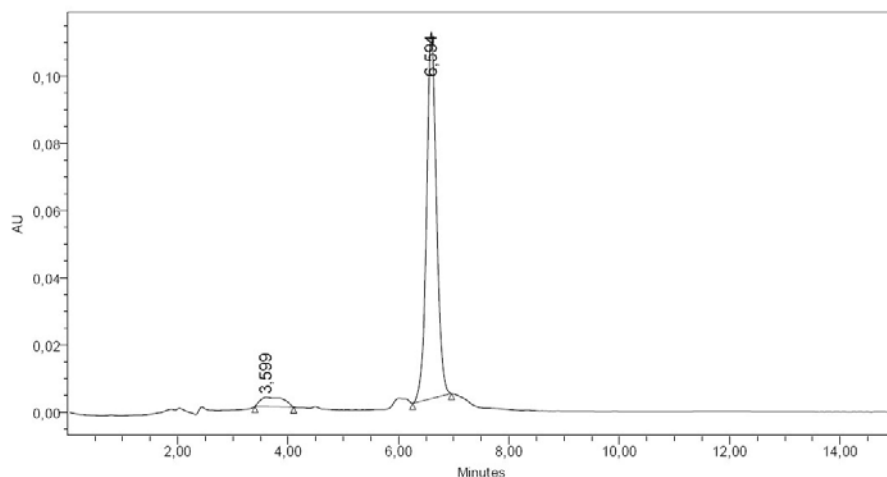


Figure 13 i. Chromatogramme de la fraction 9.

La fraction 9 donne un composé relativement bien isolé. Son maximum d'absorption se situe à 253,5 nm.

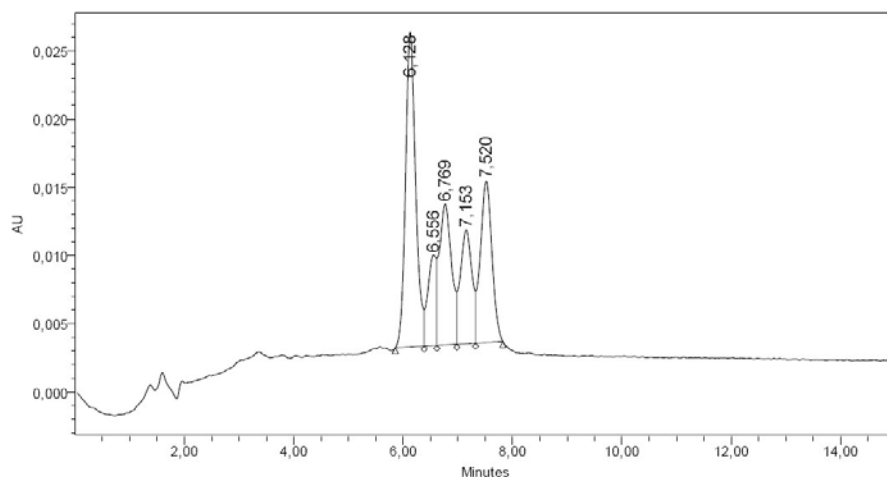


Figure 13 j. Chromatogramme de la fraction 10.

La fraction 10 montre un ensemble de pics très rapprochés, qui présentent tous un maximum d'absorption à 253,5 nm à l'exception du troisième (à 6,77 minutes, 263 nm).

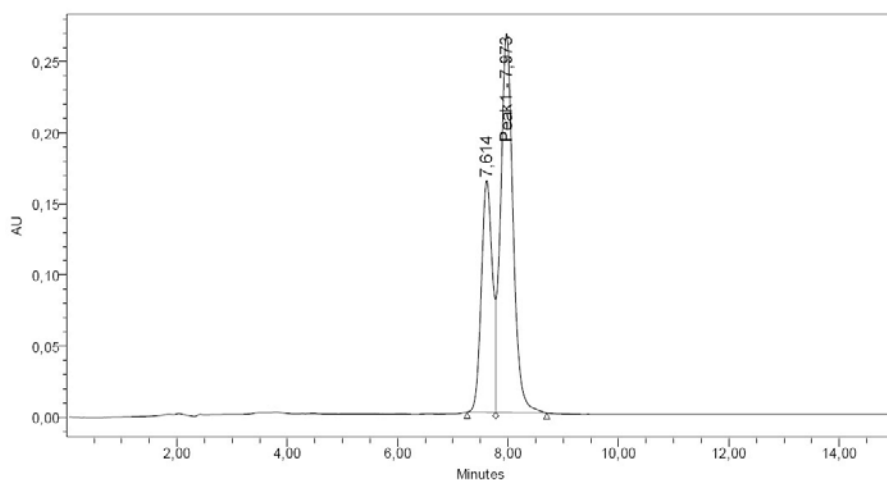


Figure 13 k. Chromatogramme de la fraction 11.

La fraction 11 a deux pics à 7,61 et 7,97 minutes dont les maximums d'absorption sont respectivement à 257,1 et 256,9 nm.

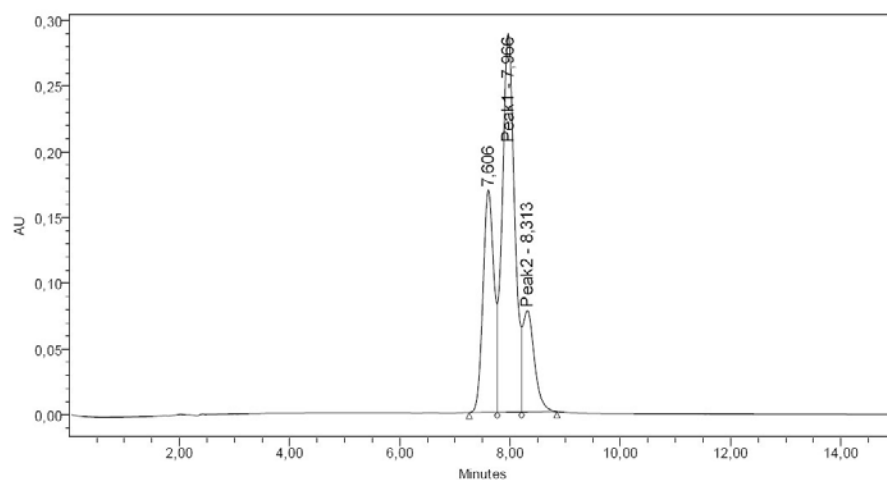


Figure 13 l. Chromatogramme de la fraction 12.

La fraction 12 donne trois pics dont les deux premiers (7,61 minutes et 257,1 nm ; 7,97 minutes et 255,9 nm) semblent identiques à ceux de la fraction 11. Le troisième pic (8,31 minutes) a un maximum d'absorption à 255,9 nm.

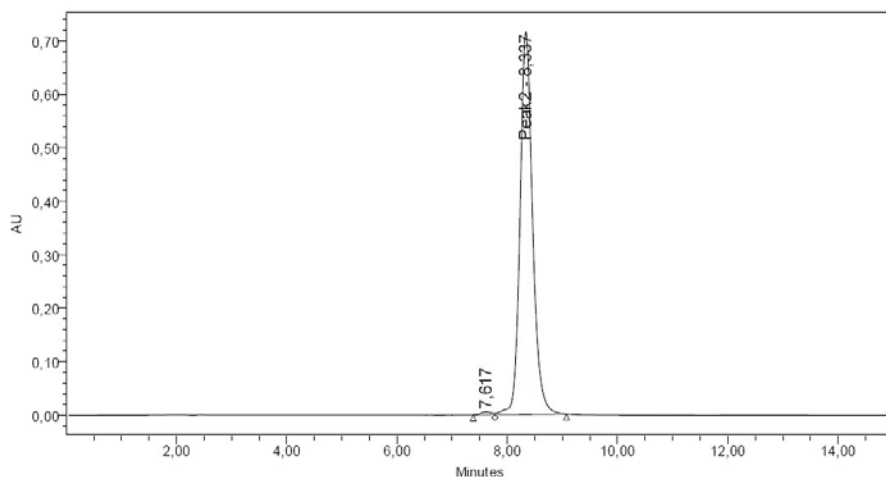


Figure 13 m. Chromatogramme de la fraction 13.

On relève dans la fraction 13 un pic fortement majoritaire (255,9 nm) probablement identique au troisième pic de la fraction 12, qui correspondrait à l'ensemble de pics qui sature vers 18 minutes sur la figure 12, et que nous avons associé précédemment à la quassine.

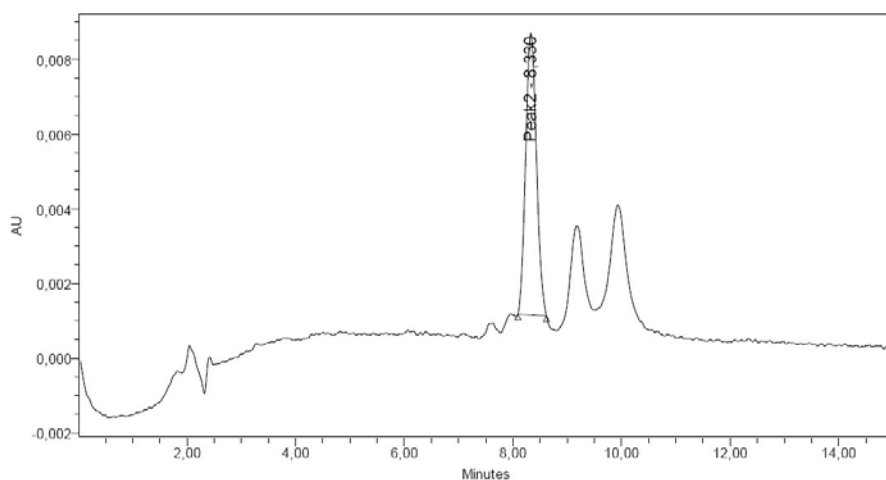


Figure 13 n. Chromatogramme de la fraction 14.

Le premier pic de surface notable de la fraction 14 nous semble être encore le pic majoritaire de la fraction 13 (255,9 nm). Les deux autres pics, à 9,18 et 9,92 minutes, ont pour maximums d'absorption respectifs 253,5 et 246,4 nm.

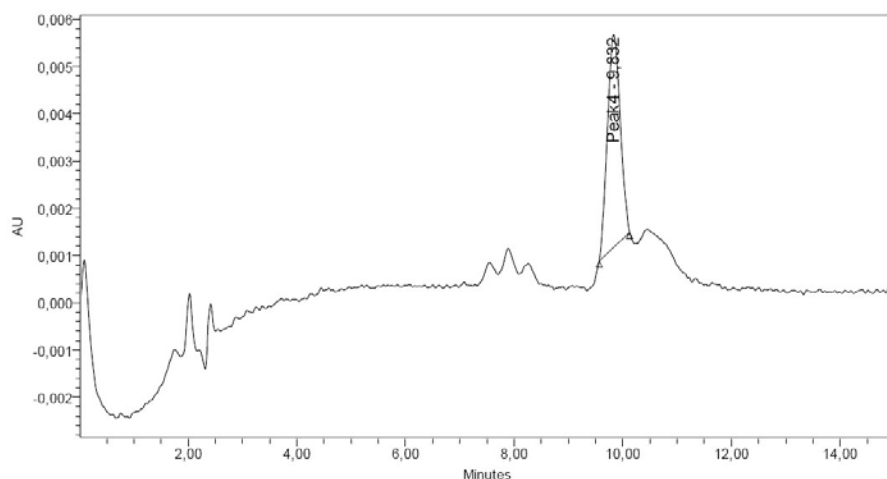


Figure 13 o. Chromatogramme de la fraction 15.

La dernière fraction collectée a un pic majoritaire de faible amplitude à 9,83 minutes et dont le maximum d'absorption est à 245,1 nm, ce qui le rapproche fortement du dernier pic de la fraction 14.

c. Essais biologiques

Tableau 8. IC₅₀ des 15 fractions de l'extrait dichlorométhanique de bois de *Quassia amara*.

Fraction	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Activité (µg/ml)		Ø	10	Ø	0,33	Ø	10	Ø	10	10	Ø	0,33	0,33	<0,45	<0,62

Ø : pas d'activité

d. Discussion

D'après l'échelle établie par Rasoanaivo *et al.* (2004) (13), on considère comme inactives les molécules dont l'IC₅₀ est supérieure à 11 µg/ml. Pour être encore plus restrictifs, nous ne considérerons que les fractions présentant une IC₅₀ ≤ 5 µg/ml. La fraction 1 est active, mais le poids de substance est trop faible pour donner lieu à un calcul de concentration. La fraction 5 présente un intérêt du point de vue biologique, mais les composés qu'elle renferme ne sont probablement pas des quassinoïdes, et qui plus est, ils ont l'air délicats à séparer vu leurs sorties proches. Les quatre dernières fractions semblent plus faciles à analyser. En effet, la fraction 11 étant inactive, cela permet d'avancer l'hypothèse que c'est le troisième pic de la fraction 12 qui est responsable de l'activité. Ce composé se retrouve également sur les chromatogrammes des fractions 13 et 14, actives également. De même, le composé majoritaire de la fraction 15 semble présenter une bonne activité, et il est présent dans la fraction 14 également. Le problème majeur tient au fait que des traces de substances peuvent être responsables d'activités biologiques importantes. On peut ainsi imaginer que les

activités des fractions 12 à 15 ne soient liées en fait qu'à un seul composé, mais présent à l'état de trace ou masqué dans les fractions antérieures ou postérieures. On notera également que, d'après Wright *et al.* (1988) (17), la quassine n'est pas active sur le *plasmodium*. Si l'on suppose que le pic isolé en fraction 13 est de la quassine (quassinoïde majoritaire de *Q. amara*, maximum d'absorption de 256 nm), cela laisse penser que l'activité est le fait de l'une des deux dernières molécules isolées dans la fraction 14. L'idéal aurait été de purifier encore ces molécules afin de les faire analyser en résonance magnétique nucléaire et en spectrométrie de masse, mais nous n'en avons malheureusement pas eu le temps. Néanmoins, Bertani *et al.* (2006) (52) ont isolé des feuilles de *Q. amara* un quassinoïde responsable de l'activité antipaludique de celles-ci, la simalikalactone D, dont le maximum d'absorption est de 245 nm. Malgré l'absence d'analyses complémentaires, il y a de fortes probabilités que le composé majoritaire de la fraction 15 soit identique.

VI. Conclusion générale, discussion et perspectives

Cette étude sur un remède Saramaka, le *Kwasi bita beker*, illustre à bien des points de vue les problématiques de l'ethnobotanique. Sémantique de la maladie, pratiques de soins, taxonomie botanique sont autant de domaines où le chercheur doit renoncer à ses a priori culturels pour essayer de comprendre, dans leur globalité, les utilisations des remèdes étudiés. Si le constat d'une connaissance empirique nous a conduit à nous intéresser à ces gobelets amers, l'obtention d'une information scientifiquement fiable, précise et rigoureuse n'est pas chose aisée.

Grâce à des techniques variées et performantes (CLHP, observations microscopiques), nous avons pu établir pour la première fois de façon irréfutable que les gobelets du Suriname provenaient bien du bois de *Quassia amara* L. L'usage contre le paludisme de ce remède est loin d'être confirmé, de par la faiblesse des résultats biologiques, tant avec du rhum qu'avec de l'eau. Ce travail a d'ailleurs donné lieu à un article (58) dans *The Journal of Ethnopharmacology*. Au-delà, il pourrait être intéressant d'essayer de tester le remède sur d'autres stades parasitaires, notamment le stade hépatique, et ce afin de mettre en évidence une éventuelle activité préventive. De même, la notion d'antimalarique peut avoir été confondue avec fébrifuge, ce qui aurait pu être exploré par d'autres tests. Enfin, les pistes ouvertes par le fractionnement bioguidé, notamment au vu de l'activité de certaines fractions de l'extrait dichlorométhanique, pourraient être approfondies par une étude phytochimique plus poussée, afin de qualifier et de quantifier les composants présents dans l'extrait, et, de là, dans le liquide lors de son absorption.

Références bibliographiques

- 1) **Vignerot, M., Deparis, X., Deharo, E., Bourdy, G.**, 2005. Antimalarial remedies in French Guiana: A knowledge attitudes and practices study. *J. Ethnopharmacol.*, 98, 351-360.
- 2) **Anonymous**, 1911. The British pharmaceutical codex, 1911 : an imperial dispensatory for the use of medical practitioners and pharmacists. Pharmaceutical Society of Great Britain (Ed.), London, 764 p.
- 3) **Price, R., Price, S.**, 2004. Les Marrons. Vents d'ailleurs (Ed.), La Roque d'Anthéron, 127 p.
- 4) **Stedman, J. G.**, 1989. Capitaine au Suriname, une campagne de cinq ans contre les esclaves révoltés. Sylvie messinger - Les pas de Mercure (Ed.), Paris, 343 p. Première édition 1800.
- 5) **Fleury, M.**, 1991. "Busi-Nenge": Les hommes-forêt, essai d'ethnobotanique chez les Aluku (Boni) en Guyane française. Thèse Univ. Paris 6, 357 p.
- 6) **Sauvain, M.**, 1989. Etudes de plantes antiparasitaires du plateau des Guyanes en Amazonie : antipaludiques et antileishmaniens. Thèse Univ. Paris-Sud, 209 p.
- 7) **Carme, B.**, 2005. Substantial increase of malaria in inland areas of eastern French Guiana. *Trop. Med. Int. Health*, 10 (2), 154-159.
- 8) **PAHO**, 2000. The *Roll back malaria initiative* in the rainforest region of South-America, Cartagena, Colombia, 44 p.
- 9) **Vitanyi, G., Bihatsi-Karsai, E., Lefler, J., Lelik, L.**, 1997. Application of high performance liquid chromatography/mass spectrometry with thermospray ionization to the detection of quassinoids extracted from *Quassia amara* L. *Rapid Comm. Mass Spectr.*, 11, 691-693.
- 10) **Trager, W., Jensen, J. B.**, 1976. Human malaria in continuous culture. *Science*, 193, 673-675.
- 11) **Desjardins, R. E., Canfield, C. J., Haynes, J. D., Chulay, J. D.**, 1979. Quantitative assessment of antimalarial activity *in vitro* by semiautomated microdilution technique. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 16, 710-718.
- 12) **Le Bras, J., Deloron, P.**, 1983. *In vitro* study of drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*: evaluation of a new semi-micro test. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 32, 447-451.
- 13) **Rasoanaivo, P., Deharo, E., Ratsimamanga-Urverg, S., Frappier, F.**, 2004. Guidelines for the evaluation of the non-clinical efficacy of traditional antimalarials. In: M. Wilcox, G. Bodeker, Ph. Rasoanaivo (Ed.), *Traditional Medicinal Plants and Malaria.*, 255-270.
- 14) **Price, S., Price, R.**, 2005. Les arts des Marrons. Vents d'ailleurs (Ed.), La Roque d'Anthéron, 256 p.
- 15) **Détienne, P., Jacquet, P.**, 1983. Atlas d'identification des bois de l'Amazonie et des régions voisines. Centre technique forestier tropical (Ed.), Nogent-sur-Marne, 640 p.
- 16) **Office National des Forêts**, 2004. Guide de reconnaissance des arbres de Guyane - 120 essences décrites. ONF (Ed.), Guyane, 374 p.
- 17) **Wright, C. W., O'Neill, M. J., Phillipson, J. D., Warhurst, D. C.**, 1988. Use of microdilution to assess *in vitro* antiamebic activities of *Brucea javanica* fruits, *Simarouba amara* stem, and a number of quassinoids. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 32 (11), 1725-1729.

- 18) **Boggan, J., Funk, V., Kelloff, C., Hoff, M., Cremers, G., Feuillet, C.**, 1997. Checklist of the plants of the guianas (Guyana, Suriname, French Guiana). Smithsonian Institution (Ed.), Washington, 245 p.
- 19) **Bertani, S., Bourdy, G., Landau, I., Robinson, J. C., Esterre, P., Deharo, E.**, 2005. Evaluation of French Guiana traditional antimalarial remedies. *J. Ethnopharmacol.*, 98, 45-54.
- 20) **Fidock, D. A., Nomura, T., Wellems, T. E.**, 1998. Cycloguanil and its parent compound proguanil demonstrate distinct activities against *Plasmodium falciparum* malaria parasites transformed with human dihydrofolate reductase. *Mol. Pharmacol.*, 54 (6), 1140-1147.
- 21) **Grenand, P., Moretti, C., Jacquemin, H., Prévost, M. F.**, 2004. Pharmacopées traditionnelles en Guyane. IRD (Ed.), Paris, 816 p.
- 22) **Lavie, D., Kaye, I. A.**, 1963. Isolation of beta-sitostenone from *Quassia amara*. *J. Chem. Soc.* 1963, 5001.
- 23) **Barbetti, P., Grandolini, G., Fardella, G., Chiappini, I., Mastalia, A.**, 1990. New canthin-6-one alkaloids from *Quassia amara*. *Planta Med.*, 56 (2), 216-217.
- 24) **Njar, V. C., Alao, T. O., Okogun, J. I., Holland, H. L.**, 1993. 2-methoxycanthin-6-one: a new alkaloid from the stem wood of *Quassia amara*. *Planta Med.*, 59 (3), 259-261.
- 25) **Njar, V. C., Alao, T. O., Okogun, J. I., Raji, Y., Bolarinwa, A. F., Nduka, E. U.**, 1995. Antifertility activity of *Quassia amara*: quassin inhibits the steroidogenesis in rat Leydig cells *in vitro*. *Planta Med.*, 61 (2), 180-182.
- 26) **Raji, Y., Bolarinwa, A. F.**, 1997. Antifertility activity of *Quassia amara* in male rats – *in vivo* study. *Life Sci.*, 61 (11), 1067-1074.
- 27) **Grandolini, G., Casinovi, C. G., Barbetti, P., Fardella, G.**, 1987. A new neoquassin derivative from *Quassia amara*. *Phytochemistry*, 26 (11), 3085-3087.
- 28) **Barbetti, P., Grandolini, G., Fardella, G., Chiappini, I.**, 1987. Indole alkaloids from *Quassia amara*. *Planta Med.*, 53 (3), 289-290.
- 29) **Dou, J., Khan, I. A., McChesney, J. D., Burandt, C. L.**, 1996. Qualitative and quantitative high performance liquid chromatographic analysis of quassinoids in Simaroubaceae plants. *Phytochem. Anal.*, 7, 192-200.
- 30) **Barbetti, P., Grandolini, G., Fardella, G., Chiappini, I.**, 1993. Quassinoids from *Quassia amara*. *Phytochemistry*, 32 (4), 1007-1013.
- 31) **Kupchan, S. M., Streelman, D. R.**, 1976. Quassimarin, a new antileukemic quassinoid from *Quassia amara*. *J. Org. Chem.*, 41 (21), 3481-3482.
- 32) **Clark, E. P.**, 1937. Quassin. II. Neoquassin. *J. Am. Chem. Soc.*, 59 (227), 2511.
- 33) **Nestler, T., Tittel, G., Wagner, H.**, 1980. Quantitative estimation of bitter-quassinoides of *Quassia amara* and *Picrasma excelsa*. *Planta Med.*, 38, 204-213.
- 34) **Robins, R. J., Morgan, M. R. A., Rhodes, J. C., Furze, J. M.**, 1984. Determination of quassin in picogram quantities by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Phytochemistry*, 23 (5), 1119-1123.

- 35) Robins, R. J., Rhodes, J. C., 1984. High-performance liquid chromatographic methods for the analysis and purification of quassinoids from *Quassia amara* L. *J. Chromatogr.*, 283 (1), 436-440.
- 36) Scragg, A. H., Ashton, S., Steward, R. D., Allan, E. J., 1990. Growth and quassin accumulation by cultures of *Quassia amara*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 23 (3), 165-169.
- 37) Tateo, F., Redaelli, V., 1980. Quassinoids in bitter simaroubaceae extracts, quantitative HPLC determination. *Riv. Soc. Ital. Sci. Aliment.*, 9, 427-430.
- 38) Casinovi, C. G., Grandolini, G., Marini-Bettolo, G. B., Bellavita, V., 1969. Structure of quassinol. *Ann. Chim. (Roma)*, 59, 230-249.
- 39) Duke, J. A., 1992. Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants. CRC Press (Ed.), Boca Raton, 654 p.
- 40) Ajaiyeoba, E. O., Abalogu, U. I., Krebs, H. C., Oduola, A. M. J., 1999. *In vivo* antimalarial activities of *Quassia amara* and *Quassia undulata* plant extracts in mice. *J. Ethnopharmacol.*, 67 (3), 321-325.
- 41) Badilla, B., Miranda, T., Mora, G., Vargas, K., 1998. Actividad gastrointestinal del extracto acuoso bruto de *Quassia amara* (Simarubaceae). *Rev. Biol. Trop.*, 46 (2), 203-210.
- 42) Toma, W., Gracioso, J. S., Andrade, F. D. P., Hiruma-Lima, C. A., Vilegas, W., Souza Brito, A. R. M., 2002. Antiulcerogenic activity of four extracts obtained from the bark wood of *Quassia amara* L. (Simarubaceae). *Biol. Pharm. Bull.*, 25 (9), 1151-1155.
- 43) Jensen, O., Nielsen, A. O., Bjerregaard, P., 1978. *Pediculosis capitis* treated with *Quassia* tincture. *Acta Derm. Venereol.*, 58 (6), 557-559.
- 44) Ninci, M. E., 1991. Prophylaxis and treatment of *pediculosis* with *Quassia amara*. *Rev. Fac. Cienc. Med. Univ. Nac. Cordoba*, 49 (2), 27-31.
- 45) Abdel-Malek, S., Bastien, J. W., Mahler, W. F., Jia, Q., Reinecke, M. G., Robinson, E. Jr., Shu, Y., 1996. Drug leads from the Kallawaya herbalists of Bolivia. 1. Background, rationale, protocol and anti-HIV activity. *J. Ethnopharmacol.*, 50, 157-166.
- 46) Mancebo, F., Hilje, L., Mora, G. A., Salazar, R., 2000. Antifeedant activity of *Quassia amara* (Simarubaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) Larvae. *Crop Protect.*, 19, 301-305.
- 47) Ajaiyeoba, E. O., Krebs, H. C., 2003. Antibacterial and antifungal activities of *Quassia undulata* and *Quassia amara* extracts *in vitro*. *Afr. J. Med. Med. Sci.*, 32 (4), 353-356.
- 48) Toma, W., Gracioso, J. S., Hiruma-Lima, C. A., Andrade, F. D. P., Vilegas, W., Souza Brito, A. R. M., 2003. Evaluation of the analgesic and antiedematogenic activities of *Quassia amara* bark extract. *J. Ethnopharmacol.*, 85, 19-23.
- 49) Trager, W., Polonsky, J., 1981. Antimalarial activity of quassinoids against chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* *in vitro*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 30 (3), 531-537.
- 50) O'Neill, M. J., Bray, D. H., Boardman, P., Phillipson, J. D., Warhurst, D. C., Peters, W., Suffness, M., 1986. Plants as sources of antimalarial drugs: *in vitro* antimalarial activities of some quassinoids. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 30 (1), 101-104.

- 51) Cabral, J. A., McChesney, J. D., Milhous, W. K., 1993. A new antimalarial quassinoid from *Simaba guianensis*. *J. Nat. Prod.*, 56 (11), 1954-1961.
- 52) Bertani, S., Houël, E., Stien, D., Chevolot, L., Jullian, V., Garavito, G., Bourdy, G., Deharo, E., 2006. Simalikalactone D is responsible for the antimalarial properties of an Amazonian traditional remedy made with *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). *J. Ethnopharmacol.*, 108 (1), 155-157.
- 53) Gillin, F. D., Reiner, D. S., Suffness, M., 1982. Bruceantin, a potent amoebicide from a plant, *Brucea antidysenterica*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 22, 342-345.
- 54) Robert-Gero, M., Bachrach, U., Subodh, B., Polonsky, J., 1985. Inhibition *in vitro* of the growth of *Leishmania donovani* promastigotes by quassinoids. *C. R. Acad. Sci., Sér. 2*, 300 (16), 803-806.
- 55) Xu, Z., Chang, F. R., Wang, H. K., Kashiwada, Y., McPhail, A. T., Bastow, K. F., Tachibana, Y., Cosentino, M., Lee, K. H., 2000. Anti-HIV agents 45 and antitumor agents 205. Two new sesquiterpenes, leitneridanins A and B, and the cytotoxic and anti-HIV principles from *Leitneria floridana*. *J. Nat. Prod.*, 63, 1712-1715.
- 56) Apers, S., Cimanga, K., Van den Berghe, D., Van Meenen, E., Longanga, A. O., Foriers, A., Vlietinck, A., Pieters, L., 2002. Antiviral activity of simalikalactone D, a quassinoid from *Quassia africana*. *Planta Med.*, 68, 20-24.
- 57) Evans, D. A., Raj, R. K., 1991. Larvicidal efficacy of Quassin against *Culex quinquefasciatus*. *Indian J. Med. Res.*, 93, 324-327.
- 58) Odonne, G., Bourdy, G., Beauchêne, J., Houël, E., Stien, D., Chevolot, L., Deharo, E., 2006. From tonic-cups to bitter-cups: *Kwasi bita beker* from Suriname. Determination, past and present use of an ancient galenic artefact. *J. Ethnopharmacol.*, accepted, 10.1016/j.jep.2006.09.045.

Communication personnelle :

Fleury, M., 2006.

Sites internet :

<http://www.bednet.org/>

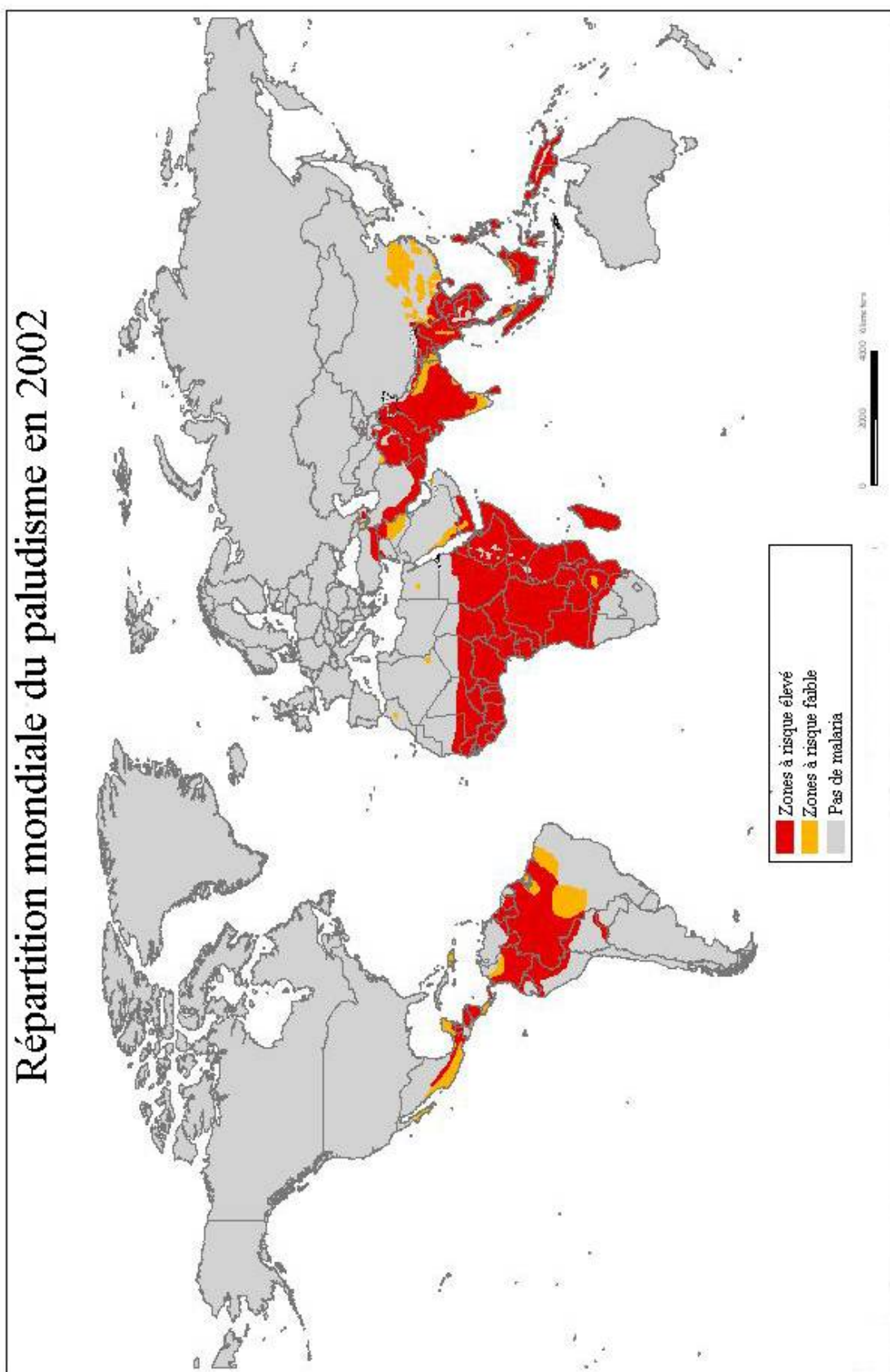
<http://www.pasteur.fr/actu/presse/documentation/index.html>

<http://www.paho.org/English/HCP/HCT/MAL/cartagena.htm>

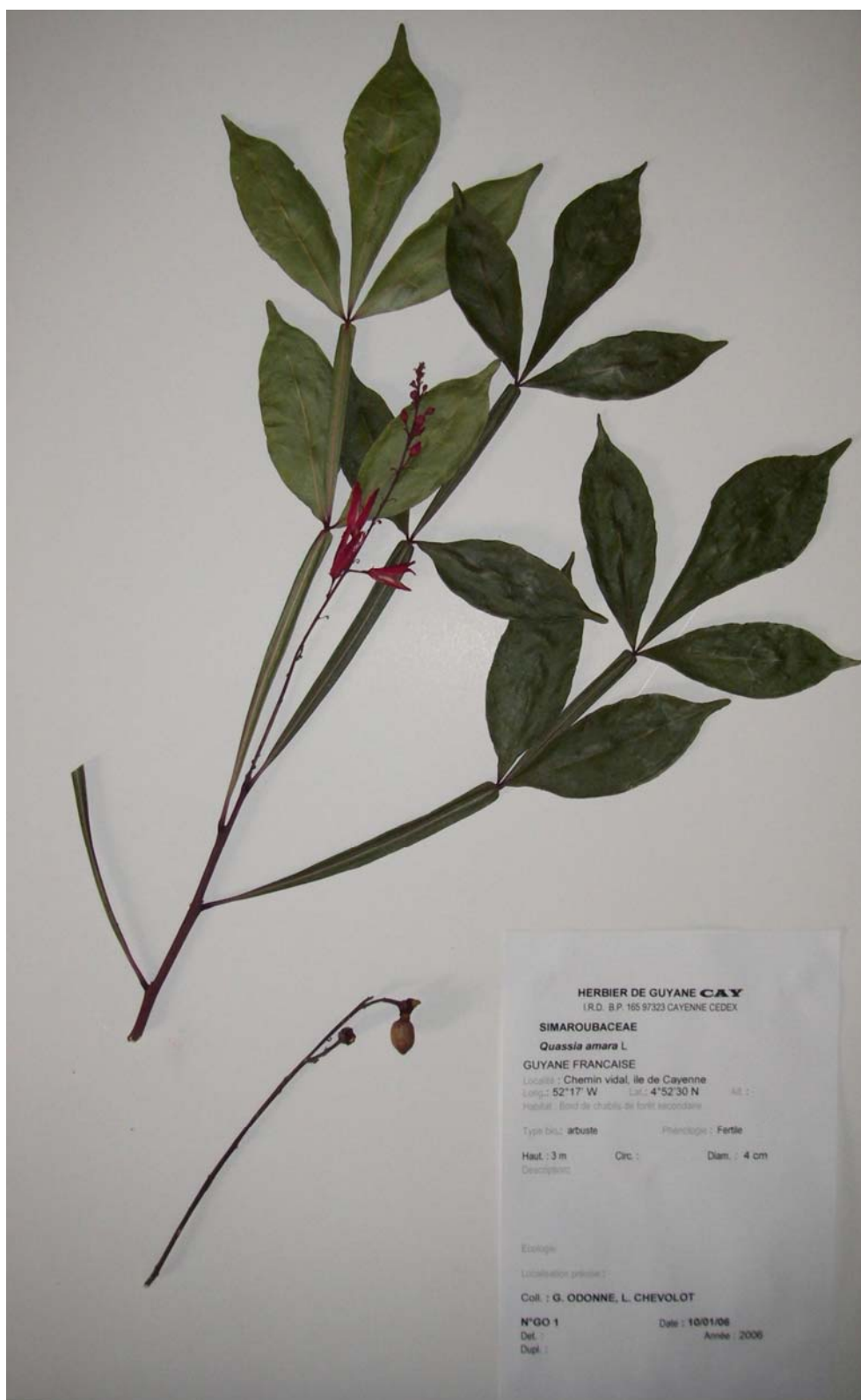
http://www.well.ox.ac.uk/ich/images/malaria_2002.jpg

<http://www2.ncid.cdc.gov/travel/yb/utls/ybGet.asp?section=dis&obj=index.htm&cssNav=browseyb>

<http://www.who.int/>



Annexe 1. Carte de la répartition du paludisme dans le monde en 2002 (d'après WHO, 2002).



Annexe 2. Planche d'herbier de *Quassia amara* GO 1, CAY.

Annexe 4. Activité (cpm) des fractions extraites du macérat aqueux de *Q. amara*. (m = moyenne ; ETc = écart type, n = 2). En vert : cellules où la concentration est supérieure à l'IC₅₀.

F1		m F1	Etc F1	F2		m F2	Etc F2	F3		m F3	Etc F3
10766	12306	11536	770	456	433	445	12	343	341	342	1
14477	15923	15200	723	734	778	756	22	371	316	344	27,5
16559	12146	14353	2207	1695	1716	1706	11	587	572	580	7,5
16429	14131	15280	1149	3199	2328	2764	436	1386	1009	1198	188,5
F4		m F4	Etc F4	F5		m F5	Etc F5	Témoins		m	ETc
446	502	474	28	7347	8867	8107	760	11326	12353	11840	513,5
617	583	600	17	8712	11836	10274	1562				
1292	1334	1313	21	8939	8923	8931	8				
4171	3322	3747	425								