



Mémoire / Full paper

## Étude chimique et de l'activité antibactérienne des distillats de quelques variétés de mangue de Guinée

Yango Keita <sup>a,\*</sup>, Oumar Koné <sup>a</sup>, Abdoul Karim Ly <sup>a</sup>, Vesa Häkkinen <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire de synthèse organique, département de génie chimique, université de Conakry, BP 1147, Conakry, Guinée

<sup>b</sup> Finnish Institute for Verification of the Chemical Weapons Convention, université d'Helsinki, P.O. Box 55, FIN-00014 Helsinki, Finlande

Reçu le 10 octobre 2003 ; accepté le 12 décembre 2003

Disponible sur internet le 15 septembre 2004

### Résumé

Dans le cadre de la valorisation des produits locaux entreprise par notre équipe de recherche depuis plusieurs années, nous développons une idée originale de transformation biotechnologique de fruits et tubercules de la république de Guinée. Parmi les extraits obtenus, le distillat de mangue a donné des effets bienfaisants chez les consommateurs locaux et étrangers. Pour mieux comprendre ce phénomène nous avons effectué une étude chimique et biologique du distillat. Les tests *in vitro* de son activité anti-bactérienne ont été réalisés sur des souches de bactéries bien choisies. Ainsi, les distillats obtenus à partir de différentes variétés de mangues récoltés dans les quatre régions naturelles de la Guinée se sont révélés actifs sur différents agents entéropathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*). Les tests *in vivo* de l'extrait de mangue (concentration 40–10 %) réalisés chez 30 personnes volontaires souffrant de troubles gastro-intestinaux ont mis en évidence un effet certain. Chez la plupart des personnes soumises au test, les troubles gastro-intestinaux ne sont pas survenus ou ont diminué considérablement ; la diarrhée s'est arrêtée après une prise maximale de trois doses de 10 ml de l'extrait. Avec l'analyse par chromatographie en phase gazeuse combinée à la spectrométrie de masse, on a pu identifier et quantifier différents alcools additionnels, des dérivés d'huiles essentielles, tels que le 3-carène, le patchoulane, l'aldéhyde octadécénylique et l'ester méthylique de l'acide 4,6,10,14-tétraméthylpentadécanoïque. Cette étude montre qu'on peut utiliser les extraits de mangues comme médicament dans le traitement des maladies d'origine bactérienne. **Pour citer cet article : Y. Keita et al., C. R. Chimie 7 (2004).**

© 2004 Académie des sciences. Publié par Elsevier SAS. Tous droits réservés.

### Abstract

**Chemical- and antibacterial-activity studies of some Guinean mango varieties' distillates.** In our project to promote the production of herbal medicine, we distilled different fruits from Guinean plants and found that the distillate of mango fruit as beverage was very helpful to care gastrointestinal troubles. To elucidate this effect, we tested the antibacterial activities of the distillates of different Guinean mango varieties using the agar-cup method and a diffusion method and found that the distillates are bacteriostatic against several enteropathogens such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. We found a difference in the activities depending on the varieties of mango. The *in vivo* study showed that the distillate was very beneficial to 30 volunteers (17 males, 13 females) suffering from gastrointestinal troubles. Using GC and GC-MS (EI), we found different

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [yangokei@yahoo.fr](mailto:yangokei@yahoo.fr) (Y. Keita).

additional alcohols and derivatives of essential oils, like 3-carene, patchoulane, octadecenyl aldehyde, and 4,6,10,14-tetramethyl pentadecanoic acid methyl ester. The extract, used as beverage, was also non-toxic and non-irritant to people after they had drunk more than 200 ml. The study suggests also that the distillate of mango fruit may be an important, inexpensive and accessible clinical agent for gastrointestinal problems of microbial origin. **To cite this article:** Y. Keita et al., C. R. Chimie 7 (2004).

© 2004 Académie des sciences. Publié par Elsevier SAS. Tous droits réservés.

**Mots clés :** *Mangifera indica* ; Distillat ; Troubles gastro-intestinaux ; Diarrhée ; Activité antibactérienne ; Huiles essentielles

**Keywords:** *Mangifera indica*; Distillate; Guinean mango varieties; Diarrhoea; Essential oil; Anti-microbial activity

## 1. Introduction

En Afrique, la médecine traditionnelle constitue le support fondamental pour la pratique de la médecine dans les zones rurales. L'usage d'extraits de plantes contenant des constituants bio-actifs est devenu une approche très importante dans la médecine préventive, recommandée d'ailleurs par l'OMS. Plus de 6000 antibiotiques d'origine végétale ont été découverts [1]. Nous avons obtenu, de différentes sources, des informations concernant l'efficacité de certaines plantes africaines dans le traitement des maladies liées au VIH. Des maladies typiques du VIH sont par exemple la diarrhée ou la dysenterie. Ces mêmes maladies se rencontrent aussi chez les touristes ou les enfants sensibles aux troubles gastro-intestinaux. Les feuilles du manguier (*Mangifera indica* L, Anacardiaceae) sont utilisées traditionnellement dans le traitement des diarrhées et dysenteries en Afrique [2,3]. Mais les constituants des feuilles que sont les tanins sont reconnus dans la littérature pour leur toxicité [4]. Des constituants de la sève des fruits seraient la cause des dommages entraînés sur la peau [5]. En 1999, Saby et al. ont caractérisé les constituants aromatiques de la sève de plusieurs variétés de mangue en Inde [6]. Le fruit mur de mangue est utilisé quotidiennement comme laxatif et son apport en enzyme et vitamine et sels minéraux est bien décrit. On peut affirmer qu'il n'est pas toxique. Dans le cadre de notre projet visant à valoriser nos plantes par une production locale des matières à valeur ajoutée, nous avons entrepris la distillation de plusieurs fruits de Guinée pour obtenir de l'alcool consommable ou de l'alcool médical [7–9]. Des clients nous ont rapporté que l'alcool de mangue avait un effet particulièrement positif sur les troubles gastro-intestinaux.

Le but de la présente étude est de faire une évaluation chimique en utilisant les méthodes chromatographiques pour quantifier les différents alcools et de vérifier l'effet anti-bactérien du distillat sur des souches bien choisies. L'étude in vivo fera la corrélation entre l'activité constatée chez les volontaires et l'effet bactériostatique sur des souches de bactéries.

## 2. Résultats et discussions

Le distillat obtenu est un liquide incolore mobile, avec une odeur ou un arôme caractéristique selon la variété de mangue, contenant  $5,67 \text{ g l}^{-1}$  d'extrait. Le rendement en alcool dépend de la variété de mangue et se situe entre 3 et 5 l d'alcool pur pour 100 kg de moût fermenté. Le distillat de concentration (60–70 %) est d'alcool miscible à l'eau, au chloroforme, à l'éther et à l'acétone, et présentait une quantité d'acides titrables de  $330 \text{ mg l}^{-1}$ . Le résultat de l'analyse spéciale en phase gazeuse sur la colonne *Headspace capillary column* est présenté dans le **Tableau 1**, alors que le chromatogramme de l'analyse en phase gazeuse combinée à la spectrométrie de masse est donné sur la **Fig. 1**. L'étude de la partie contenant les huiles essentielles indique la présence des substances suivantes : 3-carene, CAS: 13466-78-9, alcool isopentyle CAS:123-51-3 ; ester méthylique de l'acide 4,6,10,14-tétraméthylpentadécanoïque CAS:56554-31-5, aldéhyde octadécénylique, CAS:5090-41-5, 1H-3a,7-méthanoazulène, CAS: 19078-35-4. Comme indiqué dans le **Tableau 1**, nous n'avons pas trouvé de dérivés phénoliques tels que le catéchol ou le résicinol en utilisant deux méthodes d'analyse, à savoir la chromatographie sur couche mince et la chromatographie en phase gazeuse. En revanche, en accord avec l'analyse qualitative, nous avons identifié des alcools supérieurs ainsi que des aldéhydes et des esters.

Tableau 1

Résultats de l'analyse chromatographique de l'extrait de mangue sur colonne capillaire *Head Space Capillary column*

Composés	Quantité (mg l <sup>-1</sup> )
Acétaldéhyde	331
Formiate d'éthyle	0
Acétate d'éthyle	1594
Méthanol	9938
Butanol-2	8
Propanol-1	581
Alcool <i>iso</i> -butylique	1250
Butanol-1	81
Alcool <i>iso</i> -amylique	3313
Alcool pentylique	22
Alcool hexylique	39

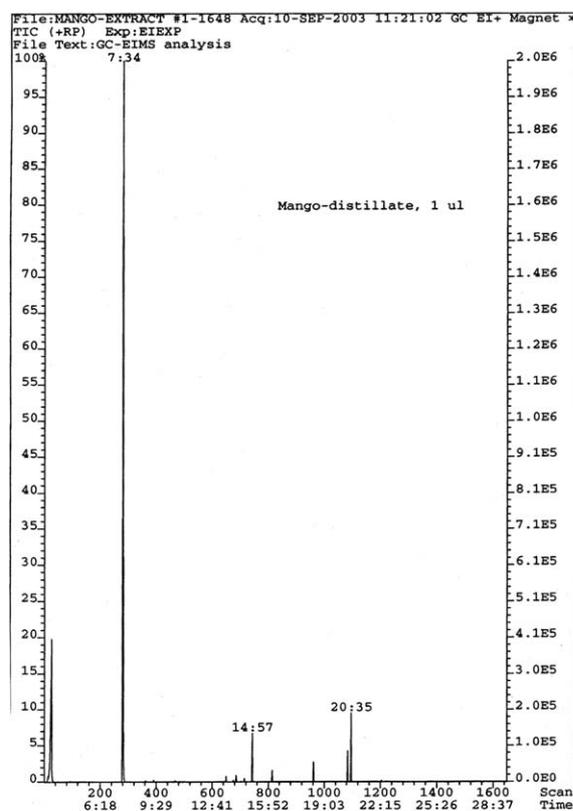


Fig. 1. Chromatogramme de l'analyse du distillat de mangue : partie des huiles essentielles.

Les activités antibactériennes du distillat du fruit des différentes variétés de mangue de Guinée (Fouta, Dist. 1 : Seni Dest 2, Kent dist 3, Kent Retard Dist. 4) ont été déterminées. Avec les solutions de 1 à 0,1  $\mu$ l du distillat, la formation des colonies était inhibée après

une inoculation de 80 colonies (Tableau 2 et Fig. 2). Le distillat était bactériostatique pour les deux types de bactéries (gram- et gram+) dans une gamme de concentrations allant de 1 à 0,05 mg ml<sup>-1</sup>. Le premier extrait de la mangue locale Fouta (Dist. 1) avait une activité plus marquée pour la souche de bactérie *E. coli* que le *Staphylococcus aureus* (Table 2). L'ajout de sel de sodium augmente l'effet antibactérien. Les résultats sont donnés dans les Tableaux 2 et 3 ainsi que dans les Figs. 2 et 3.

Le test *in vivo*, qui est une expérience d'orientation, a été réalisé sur des volontaires étrangers qui ont ingéré le distillat comme prévention après avoir consommé des aliments ou bu de l'eau. Ils n'ont pas présenté des troubles gastro-intestinaux (expérience 1). Pour des gens qui ont développé une diarrhée après l'alimentation, celle-ci pouvait être stoppée après la prise maximale de trois fois 5 à 10 ml du distillat mélangé à de l'eau chaude (expérience 2 ; données non présentées dans ce travail).

Les feuilles et les écorces du manguier sont connues pour leur effet sur la diarrhée et la dysenterie en Afrique [2,3]. Les tanins seraient les substances actives pour cet effet [2].

Dans cette étude nous avons utilisé le distillat de mangue que nous avons déjà mis sur le marché depuis 1997 comme alcool de bouche reconnu par les Autorités comme non toxique. Nos analyses nous ont permis d'identifier, à côté de l'éthanol, différents autres alcools, des esters, mais aussi des aldéhydes. Cependant, le pourcentage de ces constituants est beaucoup plus bas que les normes internationales recommandées pour les alcool de boisson [10]. Nous avons trouvé en outre que ce distillat présentait un effet antibactérien certain sur les deux types de souches bactériennes (gram- et gram+) (voir Tableaux 2 et 3 et Figs. 2 et 3). Cependant, l'extrait de la mangue locale (Dist. 1) avait une activité plus marquée sur la souche de la bactérie gram- (*E. coli*) par rapport aux variétés de mangue améliorées, qui ont en revanche un rendement plus élevé en alcool [9].

L'effet antibactérien trouvé est en relation avec l'observation que nous avons faite sur les touristes ou les enfants sensibles aux entéropathogènes et que nous avons publiée auparavant [7–9]. Une différence de constituants entre quatre variétés de mangues en Inde a été décrite récemment [11]. Les résultats sur les variétés de mangues guinéennes sont en conformité avec cette dernière publication.

Tableau 2

Activités anti-bactérienne mesurée des microorganismes gram+ et gram– par la méthode de diffusion sur disque

Microorganisme	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsella pneumoniae</i>
Dist. 1	19	18	22	19
Dist. 2	20	17	15	16
Dist. 3	10	17	15	17
Dist. 4 <sup>a</sup>	18	16	16	14
70 % EtOH	15	15	15	15
Augmentin <sup>b</sup>	—	—	20	—
Chloramphenicol <sup>b</sup>	—	—	30	—

\* Les distillats I, II et III et IV sont issus de différentes variétés de mangue (Fouta seni, Kent et Kent retard).

\*\* Les valeurs sont des moyennes sur au moins trois expériences. La concentration minimale inhibitrice est de 0,05 mg ml<sup>-1</sup>.<sup>a</sup> Extrait des noix de mangues avec l'eau suivie de l'acétate d'éthyle donnait les mêmes résultats que le Kent retard.<sup>b</sup> Antibiotiques standards.

Tableau 3

Activités antibactériennes du distillat de mangue (méthode de dilution)

Concentration du distillat	Nutriment	Nombre de colonies	Microorganisme
1	–	0	<i>Escherichia coli</i>
1	–	0	<i>Staphylococcus aureus</i>
0,1	–	0	<i>Escherichia coli</i>
0,1	–	0	<i>Staphylococcus aureus</i>
0,05	–	16	<i>Escherichia coli</i>
0,05	+	> 200	<i>Staphylococcus aureus</i>
0,025	+	> 200	<i>Escherichia coli</i>
0,025	+	> 200	<i>Staphylococcus aureus</i>

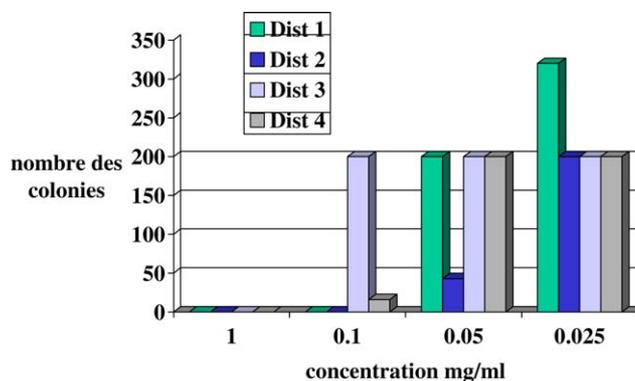
Les valeurs constituent une moyenne de trois expériences et la concentration minimale d'inhibition est de 0,05 mg ml<sup>-1</sup>.

Fig. 2. Effet du distillat de fruits de mangue sur le développement des bactéries.

Arrêter ou réduire une diarrhée ou une dysenterie chez un patient à l'aide de distillat de mangue indique l'arrêt de la pénétration et de la prolifération de l'agent pathogène dans l'épithélium intestinal ou la muqueuse. Cet effet est très surprenant, car on utilise habituellement la mangue comme agent laxatif. Nous montrons donc qu'à partir d'un agent laxatif, qui est la mangue mûre, on peut produire un agent anti-diarrhéique.

L'affirmation de certains tradipraticiens selon laquelle les extraits de mangue peuvent servir au traite-

ment des maladies liées au VIH-sida peut être corrélée à cet effet des extraits contre les entéropathogènes.

Notre travail ouvre la voie à l'utilisation de la mangue, pas seulement comme fruit de consommation, mais aussi comme source de matières premières pour d'autres produits à usage multiple [7–9]. Avec la valorisation de la mangue, nous résolvons un problème aussi bien de santé publique qu'environnemental, car les mangues pourries constituent, avec les noix, un problème environnemental en Guinée.

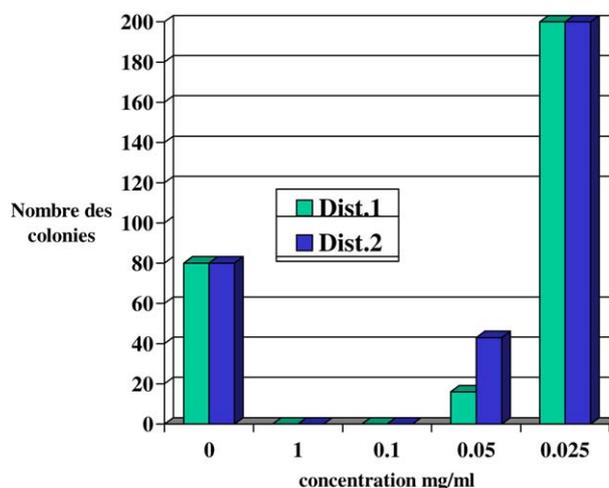


Fig. 3. Effet inhibiteur du distillat de mangue sur le développement des bactéries. Inoculum : 80 colonies.

### 3. Partie expérimentale

#### 3.1. Plantes

Les variétés Seni et Fouta, qui se rencontrent dans différentes parties de la Guinée, ont été collectées à Dalaba et à Kindia. Les variétés Kent et Kent Retard ont été récoltées à Kindia et Conakry.

#### 3.2. Préparation du distillat

Le distillat est obtenu en plaçant les différents fruits dans un distillateur à vapeur de 150 l. À partir de 200 kg de fruits, la pulpe et 5 % de noix sont malaxés et mis dans un ballon de fermentation pendant deux semaines. Le rendement après distillation se situait entre 3 et 5 l d'alcool pur pour 100 kg de mélange.

Les produits chimiques et les solvants ont été obtenus auprès des sociétés Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) et Aldrich ; les ferments Ufaferm CM et Pectinex ont été respectivement obtenus auprès de Danstar Ferment AG (Zug, Suisse) et de Novo Nordsisk Ferment AG (Ditingen, Suisse).

La chromatographie en phase gazeuse a été réalisée à l'aide d'un appareil Hewlett-Packard sur une colonne capillaire de 50 × 0,25 m dans un laboratoire allemand spécialisé dans les produits alimentaires. La combinaison chromatographie phase gazeuse/spectroscopie de masse (GC-MS(EI)) a été mise en œuvre avec un appareil VG Autospec (MS) Hewlett-Packard 5890 Series II (GC) et une colonne capillaire de 30 m × 0,25 mm.

Les microorganismes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*) ont été obtenus et préservés par la section de microbiologie de l'université de Conakry.

#### 3.3. Milieu et conditions de culture

Le milieu de culture a été obtenu à partir de 3,9 g d'extrait de bœuf mélangé avec 5,0 g de peptone et 2 % d'agar-agar (Biofit®) dans un litre d'eau distillée à pH 7. Dans le cadre de cette étude, nous avons réalisé une culture de 24 h avec une incubation à 37 °C. Dans les deux méthodes, la densité de l'inoculum de la suspension bactérienne était standardisée à  $3 \times 10^6$  organismes  $\text{ml}^{-1}$ . L'agar-agar nutriment contenait 1 % d'inoculum et tous les essais ont été répétés au moins trois fois. Les méthodes de dilution et la méthode de diffusion sur disque ont été utilisées pour cette étude.

#### 3.4. Étude in vivo

##### 3.4.1. Volontaires

Trente volontaires au total ont participé à l'étude, après avoir pris connaissance des propriétés de l'extrait et du but de l'étude.

##### 3.4.2. Expérience 1

Dix volontaires (cinq hommes et cinq femmes de 15 à 65 ayant présenté des troubles gastro-intestinaux lors de leur premier séjour en Guinée) ont été divisés en deux groupes. Le premier groupe (quatre personnes) a

accepté de prendre l'extrait comme préventif après avoir consommé des aliments.

Les six personnes composant le deuxième groupe, n'ayant pas ingéré la prévention, ont eu la diarrhée ; elles ont accepté de prendre l'extrait en moyenne deux fois, avec une dose de 10 ml d'extrait, mélangée à de l'eau chaude. Les patients étaient contrôlés directement 3 h après la consommation (le groupe n'était constitué que de médecins).

#### 3.4.3. *Expérience 2*

20 volontaires (12 de sexe masculin et 8 de sexe féminin), âgés de 12 à 24 ans, ayant présenté une diarrhée ou des douleurs stomacales suivies de diarrhée ou de dysenterie après une fête de village ont accepté de prendre l'extrait. La réaction des patients a été suivie toutes les trois heures pendant la première journée et chaque matin au cours des trois jours qui ont suivi.

#### Références

- [1] S. Omura, *Microbiol. Rev.* 50 (1986) 259.
- [2] J.-L. Pousset, *Plantes médicinales africaines utilisation pratiques*, Ellipses, Paris, 1989.
- [3] H.M. Hirt, B. M'Pia, *La médecine naturelle en Afrique : comment se soigner avec des plantes tropicales, comment fabriquer des médicaments et des produits cosmétiques soi-même ; avec des expériences faites au Zaïre*, Éditions du Centre de vulgarisation agricole, Kinshasa, Zaïre, 1996, 118 p.
- [4] B. Kruse, *DED Traditionelle Medizin & Heilpflanzen*, 1996, Allemagne.
- [5] B.R. Loveys, S.P. Robinson, J.J. Brophy, E.K. Chacko, *Aust. J. Plant Physiol.* 19 (1992) 449.
- [6] J.K. Saby, L. Jagan Mohan Rao, S.G. Bhat, U.J.S. Prasada Rao, *Phytochemistry* 52 (1999) 891.
- [7] Y. Keita, in: 8<sup>es</sup> Journées annuelles Soachim, Burkina Faso, 2002, p. 16.
- [8] Y. Keita, *Recueil des travaux scientifiques*, Soachim, 2000, p. 83.
- [9] K. Yango, J.B. Roger, *Phytopharmaka phytotherapie*, Abstract Book, Berlin, 2002, p. 74.
- [10] H. Tanner, H.R. Brunner, *Obstbrennerei heute. Ein Leitfaden für Kleinbrenner*. 4. Neubearbeitete und erweiterte Auflage, Verlag Heller Schwäbisch Hall, 1995.
- [11] J.K. Saby, S.G. Bat, U.S.J. Prasazda Rao, *Phytochemistry* 62 (2003) 13.