

MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE,  
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI  
**Un Peuple – Un But – Une Foi**



\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE BAMAKO

\*\*\*\*\*

## *Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie*

Année universitaire: 2008-2009

N°...



### TITRE :

## **CONTROLE DE QUALITE ET FORMULATION GALENIQUE (SIROP) DE LA PULPE DE FRUIT DE *Tamarindus indica* Linn (*Caesalpinaceae*)**

### **THESE**

Présentée et soutenue publiquement le 30/03/09 devant la Faculté de Médecine, de  
Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par Monsieur : **MAMADOU LAMINE DIARRASSOUBA**

Pour obtenir le grade de DOCTEUR en **PHARMACIE** (Diplôme d'Etat)

### JURY :

Président : **Professeur Alou KEITA**

Membres : **Docteur Sergio GIANI**

Co-directeur : **Docteur Yaya KANE**

Directeur : **Professeur Drissa DIALLO**

Cette thèse a bénéficié de l'appui financier et technique du projet DADOBAT (Union  
Européenne)

**FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE**  
**ANNEE UNIVERSITAIRE 2008-2009**
**ADMINISTRATION****DOYEN**: ANATOLE TOUNKARA – PROFESSEUR**1<sup>er</sup> ASSESSEUR**: DRISSA DIALLO – MAÎTRE DE CONFERENCE AGREGÉ**2<sup>ème</sup> ASSESSEUR**: SEKOU SIDIBE – MAÎTRE DE CONFERENCES**SECRETARE PRINCIPAL**: YENIMEGUE ALBERT DEMBELE – PROFESSEUR**AGENT COMPTABLE**: MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL- CONTROLEUR DES FINANCES**PROFESSEURS HONORAIRES**

Mr Alou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie – Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-entérologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Sinè BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine interne
Mr Boukassoum HAIDARA	Législation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique

**LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE**  
**D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES**
**1. PROFESSEURS**

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie Traumatologie
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	ORL
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie viscérale
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale <b>Chef de D.E.R.</b>
Mr Abdoul Kader TRAORE dit DIOP	Chirurgie Générale

**2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES**

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Sadio YENA	Chirurgie thoracique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie-Reanimation
Mr Zimogo Z SANOGO	Chirurgie Générale

**3. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sekou SIDIBE	Orthopédie-Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Reanimation
Mr Tieman COULIBALY	Orthopédie-Traumatologie
Mme TRAORE J THOMAS	Ophthalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Nouhoum ONGOÏBA	Anatomie & Chirurgie Générale

**4. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Issa DIARRA	Gynéco-Obstétrique
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL
Mme Djeneba DOUMBIA	Anesthésie Réanimation
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Adama SANGARE	Orthopédie- Traumatologie
Mr Sanoussi BAMANI	Ophthalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophthalmologie
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie - Traumatologie
Mr Lamine TRAORE	Ophthalmologie
Mr Mady MAKALOU	Orthopédie-Traumatologie
Mr Aly TEMBELY	Urologie
Mr Niani MOUNKORO	Gynécologie/ Obstétrique
Mr Tiémoko D. COULIBALY	Odontologie
Mr Souleymane TOGORA	Odontologie
Mr Mohamed KEITA	ORL
Mr Boureima MAIGA	Gynéco-Obstétrique
Mr Youssouf SOW	Chirurgie Générale
Mr Djibo Mahamane DIANGO	Anesthésie-réanimation
Mr Moustapha TOURE	Gynécologie

**D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES****1. PROFESSEURS**

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie-Mycologie
Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdourahamane S. MAÏGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie

**2. MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES**

Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie – Virologie
Mr Amagana DOLO	Parasitologie – Mycologie <b>Chef de D.E.R.</b>
Mr Mahamadou A THERA	Parasitologie – Mycologie

**3. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F. M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie – Biologie Animale
Mr Ibrahim I. MAÏGA	Bactériologie – Virologie

**4. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Lassana DOUMBIA	Chimie Organique
Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie/ Virologie
Mr Cheick Bougadari TRAORE	Anatomie pathologie
Mr Guimogo DOLO	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Mouctar DIALLO	Biologie/ Parasitologie
Mr Abdoulaye TOURE	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Boubacar TRAORE	Parasitologie - Mycologie

**5. ASSISTANTS**

Mr Mangara M. BAGAYOKO	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Djbril SANGARE	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie
Mr Mamadou BA	Biologie, Parasitologie Entomologie Médicale
Mr Moussa FANE	Parasitologie /Entomologie

**D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES****1. PROFESSEURS**

Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAÏGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie- <b>Chef de D.E.R.</b>
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-entérologie-Hépatologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Léprologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie

**2. MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES**

Mr Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mr Daouda K. MINTA	Maladies infectieuses
Mme Mariam SYLLA	Pédiatrie

**3. MAITRES DE CONFERENCEES**

Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Sahare FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie
Mr Soungalo Dao	Maladies infectieuses

**4- MAITRES ASSISTANTS**

Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme DIARRA Assétou SOUCKO	Médecine interne
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie
Mr Mahamadou TOURE	Radiologie
Mr Idrissa A. CISSE	Dermatologie
Mr Mamadou B. DIARRA	Cardiologie
Mr Anselme KONATE	Hépatogastro-entérologie
Mr Moussa T. DIARRA	Hépatogastro-entérologie
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie
Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie

**D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES****1. PROFESSEUR**

Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique <b>Chef de D.E.R</b>
Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie

**2. MAITRES DE CONFERENCEES AGREGES**

Mr Drissa DIALLO	Pharmacognosie
Mme Rokia SANOGO	Pharmacognosie

**3. MAITRES DE CONFERENCE**

Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Benoît Yaranga KOUMARE	Chimie analytique
Mr Ababacar I. MAÏGA	Toxicologie

**4. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Yaya KANE	Galénique
Mr Saibou MAIGA	Législation
Mr Ousmane KOITA	Parasitologie Moléculaire
Mr Yaya COULIBALY	Législation
Mr Loséni BENGALY	Pharmacie Hospitalière
Mr Sékou BAH	Pharmacologie

**D.E.R. SANTE PUBLIQUE****1. PROFESSEUR**

Mr Sanoussi KONATE	Santé Publique
--------------------	----------------

**2. MAÎTRE DE CONFERENCES AGREGES**

Mr Moussa A. MAÏGA	Santé Publique
--------------------	----------------

**3. MAITRE DE CONFERENCES**

Mr Mamadou Souncalo TRAORE	Santé Publique
Mr Massambou SACKO	Santé Publique
Mr Samba DIOP	Anthropologie Médicale
Mr Seydou DOUMBIA	Epidémiologie
Mr Alassane A. DICKO	Santé Publique

**4. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Adama DIAWARA	Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO	Santé Publique
Mr Akory AG IKNANE	Santé Publique
Mr Hammadoun Aly SANGO	Santé Publique

**5. ASSISTANTS**

Mr Oumar THIERO	Biostatistique
Mr Seydou DIARRA	Anthropologie Médicale

**CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES**

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAÏGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Lassine SIDIBE	Chimie Organique

**ENSEIGNANTS EN MISSION**

Pr. Doudou BA	Bromatologie
Pr. Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr. Mounirou CISS	Hydrologie
Pr Amadou Papa DIOP	Biochimie.
Pr. Lamine GAYE	Physiologie

## SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX .....	ix
LISTE DES FIGURES .....	x
DEDICACES.....	A
REMERCIEMENTS .....	D
HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY.....	E
SIGLES ET ABREVIATIONS.....	G
INTRODUCTION .....	1
MOTIVATIONS.....	2
OBJECTIFS.....	2
PARTIE 1: TRAVAUX ANTERIEURS.....	3
1- Introduction .....	4
2- Description botanique .....	4
3- Cycle végétatif .....	6
4- Usages traditionnels .....	6
5- Phytochimie .....	8
6- Actions pharmacologiques.....	11
7- Contrôle de qualité du fruit.....	12
8- Rappel sur le sirop .....	14
8-1 Définition du sirop.....	14
8-2 Méthodes de préparation de sirops simples.....	15
8-3 Sirops médicamenteux.....	15
8-4 Exemple d'additif : gomme arabique .....	15
8-5 Contrôles de qualité du sirop.....	16
9- Constipation.....	17
PARTIE 2: TRAVAUX PERSONNELS .....	22
1- Lieux d'étude .....	23
2- Matériel végétal .....	23
3- Caractères organoleptiques et macroscopiques.....	25
4- Etude microscopique .....	25
5- Détermination de la charge microbienne ( <i>E. coli</i> ; <i>Salmonella typhi</i> ).....	25
6- Etudes phytochimiques.....	27
7- Formulation du sirop .....	46

8- Contrôle de Qualité .....	47
PARTIE 3: RESULTATS .....	50
1- Caractères organoleptiques et macroscopiques .....	51
2- Microscopie.....	52
3- Charge microbienne sur le fruit.....	54
4- Réactions de caractérisation.....	55
5- Extraits.....	56
6- Tableau récapitulatif de certains dosages.....	56
7- Cendres .....	57
8- Dosage de certains minéraux .....	57
9- Détermination de la composition en monosaccharides des polysaccharides .....	58
10- Sirop .....	66
COMMENTAIRES ET DISCUSSION .....	69
CONCLUSION.....	73
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE .....	75
ANNEXES .....	79
FICHE SIGNALITIQUE.....	83
RESUME .....	83

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Provenance et date de récoltes des différents échantillons.....	25
Tableau II: Corps étrangers et leurs pourcentages dans les échantillons de fruit. ....	51
Tableau III: Les résultats des réactions en tube à partir du fruit du tamarin .....	55
Tableau IV: Rendement des macérés aqueux et éthanolique.....	56
Tableau V: Dosage des substances extractibles par l'éther et la teneur en eau .....	56
Tableau VI: Pourcentages de centre total ; chlorhydrique et sulfurique à partir des extraits aqueux à 20% .....	57
Tableau VII: Pourcentages de cendres à partir des extraits éthanoliques à 20%.....	57
Tableau VIII: Teneur en éléments minéraux sur 100g d'extraits .....	57
Tableau IX: Composition en monosaccharides des polysaccharides de <i>T. indica</i> .....	59
Tableau X: Rf et coloration des taches de <i>T.indica</i> récoltés des extraits aqueux et éthanoliques de Koutiala dans le système Butanol-Acide acétique-Eau (BAW) (60 :15 :25).....	60
Tableau XI: Résultats de la CCM des extraits aqueux et éthanoliques de Sorobougou dans le système Butanol-Acide acétique- Eau (BAW) (60 :15 :25).....	62
Tableau XII: Résultats de la CCM des extraits aqueux et éthanoliques de Bakaribougou dans le système Butanol-Acide acétique Eau BAW (60 :15 :25) .....	64
Tableau XIII: Résultats de la CCM des extraits aqueux et éthanoliques de Mandoli dans le système Butanol-Acide acétique-Eau (BAW) (60 :15 :25).....	65

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Photo d'un jeune tamarinier.....	5
Figure 2: Photo d'un tronc de tamarinier.....	5
Figure 3: Structures chimiques de quelques constituants de <i>Tamarindus indica</i> . ....	9
Figure 4: Photo de fruit du tamarinier (IER) .....	9
Figure 5: Photo de graines de <i>T. indica</i> (DMT) .....	10
Figure 6: Photo de fruits non décortiqué <i>T. indica</i> (DMT).....	24
Figure 7: Photo de fruits décortiqués de <i>T. indica</i> (DMT).....	24
Figure 8: Schéma d'extraction par macération à l'eau des fruits de <i>Tamarindus indica</i> .....	34
Figure 9: Schéma d'extraction par macération éthanolique des fruits de <i>Tamarindus indica</i> ....	35
Figure 10: Photo de l'appareil permettant le dosage des ions Sodium et Potassium (INRSP) .	41
Figure 11: Photo de l'appareil permettant le dosage du fer et du calcium (INRSP).....	42
Figure 12: Réaction de Méthanolysation (Chambers et Clamp.1971) .....	43
Figure 13: Schéma de la formation des dérivés du TMS (Chambres et Clamp, 1971).....	44
Figure 14: Echantillon : Koutiala .....	52
Figure 15: Echantillon de Sorobougou.....	52
Figure 16: Echantillon de Bakaribougou .....	53
Figure 17: Echantillon de Mandoli .....	53
Figure 18: Chromatogramme de l'extrait aqueux de la pulpe de fruit <i>Tamarindus indica</i> .....	58
Figure 19: Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques révélé avec le DDPH .....	61
Figure 20: Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques révélé avec le $AlCl_3$ .....	62
Figure 21: Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques révélé avec Godin.....	63
Figure 22: Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques révélé avec le DDPH .....	63
Figure 23: Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques révélé avec Godin.....	66
Figure 24: Photo des différents sirops élaborés.....	66
Figure 25: Couleur du sirop .....	68

## DEDICACES

### **A DIEU LE TOUT PUISSANT**

« Au nom d'Allah, le tout miséricordieux, le très miséricordieux »

Dis : je cherche protection auprès de vous du seigneur des Hommes.

Le souverain des Hommes

Dieu des Hommes.

Contre le mal du mauvais conseiller furtif,

Qui souffle le mal dans les poitrines des Hommes

Qu'il soit djinn, ou un être humain

(Sourate 114 du saint coran)

Nous te rendons infiniment grâce Allah ; de ce que tu nous as accordé tout au long de ces années écoulées, la force, le courage et la santé nécessaire pour accomplir ce travail.

### **A MA GRAND MERE**

Barfa, merci, merci pour ta présence ; ton amour et ton soutien. Merci d'avoir toujours répondu présent pour moi. Que de sacrifices tu as dû consentir pour mes études, pour que je sois celui que je suis aujourd'hui. Ce travail, Barfa est le fruit de tes efforts, de ton soutien et de ton amour. Puisse tu en être fière aussi modeste soit il car c'est en pensant à toi que je l'ai réalisé. Reçois ici, l'expression de tout mon amour et de ma profonde reconnaissance.

Je ne t'échangerai pour rien au monde grand mère.

### **A MON PERE :**

Mon guide et mon repère, tu as su me donner tout ce qu'un enfant pourrait espérer d'un père : l'amour, l'éducation, dans les principes de Dieu tu as œuvré à chaque moment de ton existence pour que nous ne manquions de rien et tu as réussi. Je demande à Allah de me donner la force de vouer mon existence à te servir.

Ce travail est aussi le tien. Merci Baba

### **A MA MERE :**

Ce jour est spécial pour moi et plus encore pour toi maman parce que plus que moi, tu le mérites. Tu as été pour nous ce que veux vraiment dire une mère, rôle que tu as su si bien jouer car en aucun moment nous ne manquions d'amour, d'affection ou d'attention. Tu t'es

battue nuit et jour pour nous offrir le meilleur. Ce travail est le fruit de tant d'année de sacrifices. Il t'est entièrement dédié. Maman, je prie Dieu pour que tant d'autres de tes souhaits se réalisent, et plus que tout qu'il te garde longtemps afin que je puisse te témoigner tout mon amour et ma gratitude. Je t'aime maman.

### **A MES TROIS MAMAN\$**

Il n'existe pas de mots pour exprimer mes sentiments. Je vous dédie ce travail qui est la récompense de vos prières et de vos sacrifices. Si j'ai pu réussir aujourd'hui c'est grâce à vos encouragements. Que Dieu vous garde mes chères mères.

### **A MES AINES**

Si chère à mon coeur, vous m'avez toujours soutenu pendant les moments difficiles. Vous êtes les grands frères que tout un chacun aimerait avoir dévoué à vos frères et sœurs. Les mots me manquent pour vous exprimer combien de fois je vous porte dans mon cœur. Qu'Allah vous protège et protège vos familles respectives et qu'il vous élève au rang de ses élus. Amen

### **A MON PETIT FRERE ISSIAKA**

Le courage, l'amour du travail bien fait sont des valeurs que tu n'as cessé d'incarner. J'avoue que tu es une de mes sources d'inspiration. Face dieu que tes souhaits se réalisent. Je serai toujours là pour toi. Porte toi bien. Je t'aime frère.

### **A MES PETITS FRERES ET SOEURS.**

Que dieu vous éloigne des cruautés de la vie.

Surtout faites mieux que moi.

Vous êtes ma raison d'être.

### **A MES ONCLES ET TANTES,**

Je vous remercie pour votre attention et tout l'amour que vous me portez. Ce travail est aussi le votre.

### **A MES COUSINS ET COUSINES**

Avec vous, j'ai partagé beaucoup de bons moments. Merci à tous.

**A MES NEVEUX ET NIECES**

Qu'Allah vous accorde le bonheur dans la paix, la prospérité, le respect des valeurs humaines et morales. Amen

**A MA TUTRICE ADJO**

Merci de m'avoir apporté ton aide et ton soutien pendant toutes ces années. .

**A MON AMI ET FRERE HAMED DAHAFOLO KONE**

Merci pour tout frère.

**A MON PARTENAIRE :**

Source d'inspiration et de motivation, tu as été pour moi un soutien inestimable ; merci pour tout et bonne chance pour ta nouvelle vie.

**A LA PREMIERE PROMOTION NUMERUS CLAUSUS**

**A LA COMMUNAUTE IVOIRIENNE AU MALI**

Grâce à toi, j'ai pu surmonter la nostalgie

**A MES DEFUNS GRANDS PARENTS**

Je ne vous ai pas connus, mais vous avez occupé une place importante dans mon cœur.  
Que la terre vous soit légère.

## REMERCIEMENTS

Au Mali et à son peuple

Au projet « Domestication et Développement du Baobab et du Tamarinier » pour l'appui technique et financier.

A l'université d'OSLO pour son soutien dans la réalisation de cette thèse.

A l'UMPP pour nous avoir permis de faire des stages dans leurs locaux.

Au professeur Drissa DIALLO pour votre patience, l'enseignement de qualité dont vous nous avez fait preuve tout au long de ce travail.

Au professeur Rokia SANOGO, femme dynamique et exceptionnelle.

Au Docteur TOGOLA, votre abord facile me fascine.

A madame Tapa et Monsieur Fagnan SANOGO

A tout le personnel du DMT de l'INRSP

A tout les enseignants de la FMPOS.

A Mme Aminata de la biochimie

Au Dr Seydou DIARRA et à tout le personnel de la bactériologie

A tout le personnel de l'INRSP

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à ce travail.

## HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

A notre maître et président du jury ; Pr Alou Keita  
Maître de conférence chargé des cours de galénique  
Directeur de l'Usine Malienne de Produit Pharmaceutique

Honorable maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations. L'intégrité, l'assiduité, le courage, le sens élevé de la responsabilité, le souci du travail bien fait sont des qualités que vous incarnez. Vous avez cultivé en nous l'esprit de justice, de vérité, du travail bien fait et du respect de la vie humaine. Au-delà du maître vous étiez un père par vos conseils qui n'ont jamais cessé de nous éclairer. Nous vous souhaitons longue et heureuse vie. Veuillez accepter, honorable maître, l'expression de notre plus haute considération.

### **A NOTRE MAITRE ET JUGE**

Dr Sergio Giani Pharmacien, Promoteur et Chargé des Programmes de l'Ong Aide au Développement de la Médecine Traditionnelle (AIDEMET).

Cher maître,

La spontanéité avec laquelle vous avez accepté d'être parmi nos juges, malgré vos multiples occupations, nous est allée droit au cœur.

Nous sommes très honorés de vous compter dans ce jury et de pouvoir bénéficier de votre apport pour l'amélioration de ce travail. Votre humanisme, votre simplicité nous a frappé dès les premiers instants. Permettez moi, cher maître, de vous réitérer l'expression de notre reconnaissance, de notre admiration et de notre attachement.

**A NOTRE MAITRE ET JUGE**

Dr Yaya Kané

Ancien directeur adjoint de l'Usine Malienne de Produit Pharmaceutique (UMPP)

Maître assistant, chargé de cour de galénique à la FMPOS

Cher maître,

Cher maître; que Pourrais je vous dire que vous ne savez déjà ;

Votre abord facile, votre esprit critique, votre objectivité et la spontanéité avec laquelle vous avez accepté d'être parmi nos juges ont largement contribué à renforcer la qualité de notre travail. Ce qui nous honore et nous permet d'apprécier la grandeur de votre personnalité.

Permettez nous, cher maître, de vous exprimer nos sincères remerciements et nos sentiments respectueux. Soyez rassuré, cher maître, de notre profonde reconnaissance.

**A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE**

Pr. Drissa Diallo

Maître de conférence agrégé en pharmacognosie;

Responsable des cours de pharmacognosie et de phytothérapie à la Faculté de Médecine ; de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie (FMPOS) ;

Chef du Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut Nationale de Recherche en Santé Publique (INRSP) ;

Premier assesseur de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Honorable maître ;

Transmettre son savoir et sa connaissance est un acte de foi, de devoir sacré, de valeur inestimable.

En vous, nous avons trouvé la rigueur dans le travail, l'amour du travail bien fait et le sens élevé du devoir.

Cher maître, vous n'avez ménagé ni votre temps ; ni votre patience dans la rédaction de cette thèse. Ce travail est le fruit de votre volonté; de votre disponibilité et surtout de votre savoir faire. Votre caractère sociable fait de vous un homme de classe exceptionnelle. Toujours à l'écoute et à l'attention des autres. Les mots me manque pour vous remercier de votre encadrement et de votre formation afin de faire de nous de bons Pharmaciens. Cher maître comptez sur ma disponibilité et ma profonde gratitude, Merci infiniment.

## SIGLES ET ABREVIATIONS

<b>AcOEt</b>	: acétate d'éthyle
<b>AIDEMET</b>	: Aide au Développement de la Médecine Traditionnelle
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	: trichlorure d'aluminium
<b>BAW</b>	: butanol-acetic acid-water
<b>BCP</b>	: Bromo Crésol Pourpre
<b>CCM</b>	: Chromatographie sur Couche Mince
<b>Cm</b>	: Centimètre
<b>Cm<sup>2</sup></b>	: Centimètre carré
<b>CPG</b>	: Chromatographie en Phase Gazeuse
<b>DADOBAT</b>	: Domestication et Développement du Baobab et du Tamarin
<b>DMT</b>	: Département Médecine Traditionnelle
<b>EtOH</b>	: Ethanol
<b>FMPOS</b>	: Faculté de Médecine, de Pharmacie et d' Odonto-Stomatologie
<b>FPAQ</b>	: Fédération des producteurs acéricoles du Québec
<b>ICUC</b>	: International Center for Underutilised Crops
<b>IER</b>	: Institut d'Economie Rurale
<b>INRS</b>	: Institut National de Recherches en Santé Publique
<b>MA</b>	: Méthode Azéotropique
<b>MeOH</b>	: Méthanol
<b>Meq</b>	: Milliéquivalent
<b>MP</b>	: Méthode Pondérale
<b>min</b>	: Minute
<b>Mm</b>	: Millimètre
<b>MTA</b>	: Médicaments Traditionnels Améliorés
<b>Nm</b>	: Nanomètre
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>Ong</b>	: Organisation non gouvernementale
<b>OUA</b>	: Organisation de l'Unité Africaine
<b>pH</b>	: Potentiel d'hydrogène
<b>Ppm</b>	: Partie pour million
<b>Rf</b>	: Facteur de rétention (rapport frontal)
<b>SS</b>	: <i>Salmonelle shigelle</i>
<b>UMPP</b>	: Usine Malienne de Produit Pharmaceutique
<b>UV</b>	: Ultra Violet
<b>° C</b>	: Degré celcius
<b>±</b>	: plus ou moins
<b>%</b>	: Pourcentage
<b>µg</b>	: Microgramme
<b>µ</b>	: Micro
<b>µl</b>	: microlitre

## INTRODUCTION

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80% des populations rurales vivant dans les pays en développement sont tributaires de la médecine traditionnelle pour leurs besoins en soins de santé. La flore africaine étant très riche en espèces médicinales.

Les plantes médicinales constituent donc une alternative idéale aux médicaments de synthèses ou spécialités trop chers à fabriquer ou à acheter pour les pays en développement. Aujourd'hui, au Mali, en collaboration avec les tradithérapeutes le Département Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) réalise des études ethnobotanique, phytochimique et pharmacologique en vue de l'élaboration et de mise sur le marché des Médicaments Traditionnels Améliorés (MTA).

Dans le cadre de notre travail, nous avons étudié le tamarinier, plus précisément les fruits qui sont utilisés traditionnellement contre la constipation (Pathologie fréquente au Mali). *Tamarindus indica*, de la famille des *caesalpinaceae* ou *leguminosae* (Burkill, 1985), est une plante originaire d'Afrique tropicale d'où il s'est répandu dans toutes les autres régions d'Afrique, en Asie et en Amérique du Sud (Kheraro et Adams, 1974). Cette plante dotée de propriété diurétique et laxative est aussi prisée pour son jus rafraîchissant. Au vu de ses activités pharmacologiques importantes et de l'engouement de la population pour le jus, le tamarin pourrait être une source importante de revenu. Il serait donc très utile d'élaborer une forme galénique médicamenteuse utilisable par tous notamment le sirop. Tout en tenant compte de l'aspect coût efficacité.

Dans notre travail nous allons faire un certain nombre de rappels sur la plante ; le sirop et les contrôles de qualité du sirop.

Dans la partie expérimentale, nous allons mener le contrôle de qualité de la pulpe du fruit, formuler un sirop médicamenteux et procéder au contrôle de qualité de ce sirop.

L'étude a été menée en collaboration entre le DMT et l'IER, dans le cadre du projet DADOBAT, financé par l'Union Européenne (INCO-CT-2006-032217-DADOBAT). Elle a eu le support de Aidemet Ong, dans le cadre d'un contrat avec l'université de Gent (Belgique).

## MOTIVATIONS

Ce travail a été motivé par :

- La valorisation et la promotion des plantes médicinales du Mali et d'Afrique
- La volonté de confirmer ou d'infirmer les usages traditionnels
- L'existence au niveau du DMT de peu de travaux sur la pulpe du tamarin ;
- Le souci d'élaborer des sirops laxatifs accessibles aux populations contrairement aux médicaments de synthèses.

## OBJECTIFS

- Objectif général

Contrôler la qualité et effectuer une formulation galénique de la pulpe de fruit de *Tamarindus indica*.

- Objectifs spécifiques
  - Déterminer les caractéristiques macroscopiques du fruit de *Tamarindus indica* ;
  - Identifier les éléments anatomiques du fruit de *Tamarindus indica* par la microscopie
  - Identifier les éléments chimiques de la pulpe du fruit de *Tamarindus indica*
  - Déterminer la charge microbienne de la matière première.
  - Réaliser une forme sirop à partir de la pulpe du fruit de *Tamarindus indica*
  - Décrire les éléments de contrôle de qualité du sirop fabriqué :
    - densité ;
    - stabilité ;
    - limpidité ;
    - charge microbienne (Recherche de *Escherichia coli* et de *Salmonella typhi*).

## **PARTIE 1: TRAVAUX ANTERIEURS**

---

Nous avons passé en revue la littérature pour établir une monographie de la plante.

## 1- Introduction

*Tamarindus indica* vient de l'expression arabe « tamar hendi » qui signifie datte de l'Inde, malgré cette étymologie force est de reconnaître que le tamarinier est une plante originaire d'Afrique tropicale (Kerharo et Adams, 1974). Plusieurs parties de la plante sont utilisées à des fins alimentaires ou médicamenteuses (ICUC ; 2001).

Dans cette monographie nous allons passer en revue les caractéristiques botaniques ; chimiques ; les utilisations traditionnelles, et les activités pharmacologiques de la plante.

En plus, nous allons énumérer les différentes techniques de fabrication du sirop et les contrôles de qualité s'y rapportant.

## 2- Description botanique

Le tamarinier est une plante qui peut atteindre au maximum 25m et une couronne de 12m de diamètre (ICUC ; 2001) avec des troncs massifs courts et des branches tombantes. (Figure N°1)

L'écorce est crevassée « en peau de crocodile » (Boullard ; 2001) (Figure N°2).

Les feuilles sont paripennées. Les fleurs sont jaunâtres à brun pâle nervées de rouge (au niveau des pétales). La gousse légèrement aplatie, bosselés au niveau des graines. La pulpe entoure 8 à 10 graines (Lavergne et Vera, 1989).



Figure 1: **Photo d'un jeune tamarinier**



Figure 2: **Photo d'un tronc de tamarinier**

### 3- Cycle végétatif

Le feuillage est tardif en février, les fleurs apparaissent en mars, avril, les fruits d'avril à juillet (Malgras, 1992).

### 4- Usages traditionnels

#### **Mali :**

Bronchite : le décocté d'écorce de tronc est utilisé en fumigation, en bain, en breuvage et en massage matin et soir.

Constipation : boire le macéré obtenu avec de vieux fruits.

Entorse, foulure, luxation : le résidu du décocté de feuilles sert de massage deux fois par jour.

Maux de dents : lorsqu'une dent est arrachée, la gomme est placée dans la cavité ; pour les caries également la gomme est utilisée

Rhume : le décocté de feuilles fraîches est utilisé en fumigation, inhaler les vapeurs qui se dégagent de la préparation encore chaude (Arama; 1981)

Les différents usages ci-après proviennent de (Kokwaro, 1993).

**Brésil :** le décocté de fruit sec est administré oralement pour soulager la fièvre.

**Iles Canaries :** le fruit sec par voie orale est cholérétique.

**Chine :** le fruit frais est utilisé en alimentation.

**Colombie :** l'extrait aqueux concentré du fruit sec est utilisé oralement pour l'avortement.

**République Dominicaine :** l'extrait aqueux de la feuille sèche est utilisé oralement dans le traitement de la douleur hépatique.

**Fidji :** la pulpe du fruit sec est utilisée dans les douleurs de la gorge et en cas de diarrhée.

La feuille sèche dans un cataplasme avec l'huile de moutard est appliquée sur les entorses. Pour les troubles des yeux, les feuilles trempées dans l'eau sont appliquées comme cataplasme.

Infusion de l'écorce sèche, du fruit et des feuilles est pris oralement contre les hémorroïdes.

Infusion du fruit sec est utilisée pour provoquer le vomissement.

**Guatemala** : Le décocté du fruit sec est administré oralement comme un sudorifique, fébrifuge dû aux infections de la voie urinaire et aux infections de la peau et des muqueuses, extérieurement pour les éruptions cutanées.

**Guinée** : L'extrait liquide de l'écorce est administrée oralement à la femme après l'accouchement, et est associé à l'écorce de *Azelia africana* comme remède des troubles durant la grossesse.

**Inde** : L'écorce externe est utilisée comme astringent, oralement est utilisé pour ses activités tonifiantes et fébrifuges. La cendre obtenue par chauffage de l'écorce avec le sel dans une marmite en terre est mélangée avec de l'eau et est prise oralement contre les coliques, les indigestions, comme gargarisme pour la douleur des gorges et comme bain de bouche.

Le jus de fruit de *Tamarindus indica*, mélangé avec le latex de *Calotropis gigantea* est pris oralement pour soulager les douleurs menstruelles.

Le décocté des feuilles sèches est utilisé oralement comme anti-inflammatoire parties enflées, et les inflammations urinaires.

Le jus tiré de la feuille est pris oralement pour traiter les encéphalites. Quatre gouttes du jus de feuille de tamarinier mélangées à trois gouttes de latex de *Calotropis gigantea* sont prises une fois par jour pendant 8 jours.

Pour les arthrites rhumatismales, le jus de feuille et le latex de *Calotropis gigantea*, le lait de chèvre et l'huile de sésame sont appliqués extérieurement.

A l'ouest indien, la pulpe du fruit est utilisée oralement comme laxatif.

**Indonésie** : l'eau extraite du fruit est prise oralement comme avortif.

**Côte d'Ivoire** : le concentré liquide extrait de la feuille et de la racine pris oralement permet de traiter la maladie du sommeil (trypanosomiase).

**Madagascar** : le concentré liquide extrait du tronc de l'écorce est pris oralement contre les aménorrhées.

**Malaisie** : le concentré liquide extrait des racines et mélangé avec plusieurs autres plantes est pris oralement contre l'aménorrhée.

**Sénégal** : le concentré de l'écorce de tige sèche est utilisé extérieurement comme cicatrisant.

**Soudan** : la pulpe du fruit sec est prise oralement comme purgatif pour le paludisme et les infections bactériennes.

**Tanzanie** : Le décocté de feuille sèche est pris oralement dans le traitement du paludisme. La décoction de l'extrait concentré de l'écorce sèche et de la tige sèche de *Tamarindus indica* et *Stereospermum kunthianum* est utilisé dans le traitement de la lèpre.

Le décocté est pris oralement contre les douleurs abdominales et la dysenterie.

Le jus de feuille fraîche est pris dans le cas des diarrhées.

**Thaïlande** : l'extrait concentré de la pulpe de fruit sec est utilisé oralement comme expectorant.

Le concentré de feuille sèche est utilisé oralement comme un cathartique.

Le concentré de la graine sèche est utilisé oralement comme antihelminthique.

## 5- Phytochimie

### ➤ Fruit

Le fruit du Tamarinier contient :

8 à 10% d'acide tartrique :

Protéine environ 3% ;

2 à 6.25% de matière pectique et de fibres (Fortin, et coll, 1997).

Les sucres invertis (30 à 40%) sont les constituants les plus importants de la pulpe (70% glucose et 30% fructose) (Kerharo et Adams, 1974).

	Calcium 170mg/100g
Minéraux : 2,9 pour cent	Phosphore 110mg/100g (Damodaran et Rangachari, 1946)
	Faible quantité de fer (ICUC ; 2001)

Riboflavine 0.07mg/100g

Vitamine: Niacine 0.7mg/100g

Vitamine C 3.0mg/100 (Damodaran et Rangachari, 1946).

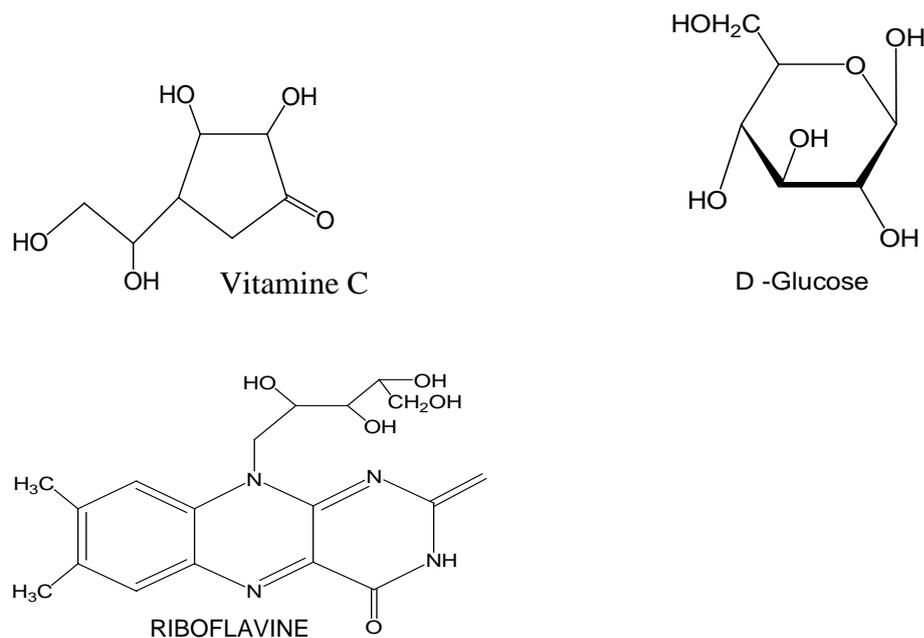


Figure 3: Structures chimiques de quelques constituants de *Tamarindus indica*.



Figure 4: Photo de fruit du tamarinier (IER)

➤ **Graine :**

La graine représente 35% du fruit entier

L'amande renferme :

- protéine 7% ;
- Fibre brute ;
- Hydrate de carbone non fibreux 65% ;

Les lipides sont constitués par :

- les glycérides des acides linoléique (41 ; 34%) ;
- oléique (38%) ;
- behenique (6.86%) ;
- palmique (6.19%) ;
- arachidique (4.42%) ; et stéarique (2.63%).

Les hydrates de carbones sont constitués de pectine.

Laumas et Seshadri ont mis en évidence dans le testa une leucoanthocyanidine (Kerharo et Adams, 1974).



Figure 5: Photo de graines de *T..indica* (DMT)

➤ **Feuille :**

Deux triterpernes ont été trouvés : lupanone, lupéol

L'espèce ouest africain a été analysée et on a trouvé dans le matériel sec les pourcentages suivants : cellulose 18.8% ; lipides 3.50 ; glucide 56.20 ; protide 14.10; cendre 7.40; calcium 2.30mg/100g (Imam, coll, 2007).

➤ **Ecorce :**

La présence d'un protoanthocyanidine (C<sub>45</sub>H<sub>38</sub>O<sub>16</sub>) dans l'écorce et le bois de cœur a été rapporté par Bhatia et Al en 1969.

On a isolé de l'écorce seul des alcaloïdes dont l'hordenine. Présence de flavonoïdes dans les tiges de l'espèce cultivée en Inde (Kerharo et Adams, 1974).

## 6- Actions pharmacologiques

La pectine contenue dans la pulpe du fruit de tamarin active les fonctions physiologiques du transit digestif. La pectine à 1% possède une bonne activité bactéricide, principalement vis-à-vis des bacilles gram et antifongique principalement vis-à-vis de *Candida albicans* et *C.cerevisiae* (Kerharo et Adams, 1974).

Les fruits servent à fabriquer des sirops utilisés comme boissons rafraîchissantes et comme laxatif (Bruneton, 1993).

*In vivo*, l'extrait aqueux à 5% du fruit possède une bonne activité antioxydante (Martinello et coll, 2006).

**Activité antibactérienne** : l'extrait éthanolique (70%) est active sur les *Bacillus cereus*, *Bacillus megatherium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus albus* et *Staphylococcus aureus*.

La teinture du fruit sec à la concentration de 30 microlitre/ disque est active sur *E.coli*. L'extrait de 10g du fruit sec dans 100ml d'éthanol est utilisé.

L'extrait éthanolique (95%) du fruit sec est actif sur *E.coli* et de manière équivoque sur *Staphylococcus aureus* (Ross, 1999).

**Activité antifongique** : l'extrait Ethanol/eau (1:1) du fruit à la concentration de 333mg/ml est actif sur *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* ; *Rhizopus nigricans* et *Trichophyton mentagrophytes*.

A 500mg/ml l'extrait est actif sur *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum*, *Rhizopus nigricans*, *Trichophyton mentagrophyte* (Ross, 1999).

**Activité antischistosomiale** : L'extrait méthanolique à la concentration de 100.0 ppm est active sur *Schistosoma mansoni* (Ross, 1999).

**Activité antivirale** : l'extrait éthanolique (80%) du fruit sec gelé est actif sur le *Herpes virus* de type I (Ross, 1999).

**Activité diurétique** : le décocté du fruit sec administré via nasogastrique du rat à la dose 1.0mg/kg produit bonne activité (Ross, 1999).

## 7- Contrôle de qualité du fruit

### 7-1 Caractères organoleptiques

Odeur faible, caractéristique ; saveur âcre et sucrée (OUA, 1985).

### 7-2 Macroscopie

La capsule contient une douzaine de graines ou plus ; elle peut atteindre 20cm de longueur. Le pédoncule est articulé de 2 à 3cm de longueur. La capsule est triangulaire arrondie avec un faisceau longitudinal principal dans chaque angle et deux ou trois autres inclus entre les deux angles ventraux, tous s'étendant sur toute la longueur de la capsule et avec de nombreuses ramifications latérales fines. L'écorce brune, friable, rigoureuse, d'environ 1cm d'épaisseur, peut s'enlever facilement de la capsule cloisonnée exposant le mésocarpe mou dont elle peut être à son tour séparée.

Les graines sont aplaties ; en quadrilatère plus ou moins arrondi, fortement vernissé sur les bords, mais avec une tache terne, légèrement déprimée et nettement dessinée au centre de chaque côté. La graine orthotrope, le hile et le micropyle se trouvent sur les bords opposés. On reconnaît le hile par les restes d'un funicule arraché et le micropyle à son bord surélevé circulaire uniforme. Une faible côte sur le bord de la graine peut être prise par erreur pour un raphé, mais elle s'étend tout autour et non vers la chalaze. Le hile se trouve directement dessus de la courte radicule droite (non recourbée) qui représente environ le quart de la longueur des cotylédons charnus, ces derniers étant appariés pour la recevoir. On observe ni endosperme ni périsperme (OUA, 1985).

### 7-3 Microscopie

#### ➤ Pédoncule

La coupe transversale montre des cellules subéreuses un contenu brun, un parenchyme brun et des cellules pierreuses ; péricycle de cellules pierreuses et de cellule cristallines, zone de phloème avec des fibres cristallines, cambium, xylème, zone de vaisseaux et de fibres libériennes et moelle.

#### ➤ Péricarpe

Six couches sont présentées dont les deux premières forment l'écorce. Epicarpe de cellule subéreuses, plusieurs épaisses, souvent avec des parois interne latérale épaissies.

Hypoderme formé d'une masse dense de cellules pierreuses avec un contenu sombre, de taille croissante de l'extérieur vers l'intérieur et étroites rangées radiales parenchyme.

➤ Mésocarpe du parenchyme

Contient des amidons atteignant  $12\mu$  et de beaux cristaux de bitartrate de potassium (ou de calcium), également des faisceaux vasculaires de fibres. Fibre de  $15\mu$  de largeur avec des parois nettement grenues.

Parenchyme brun avec des cellules plus petites dans le mésocarpe et endocarpe de fibres incolore de moins de  $10\mu$  de largeur avec lumière à peine visibles.

➤ Spermodermes

Au niveau du centre des taches ternes, cinq couches sont différenciées. Cellule palissadique de  $135\mu$  de hauteur et de  $10\mu$  de largeur formant l'épiderme avec une cuticule.

Subépiderme formé de cellules en forme d'os atteignant  $50\mu$  de hauteur et de  $25\mu$  de largeur, un tiers d'épaisseur contenant des grains de chlorophylle désorganisés ou un contenu brun foncé se transformant en cellules parenchymateuses à parois épaisses, allant de cellule de même diamètre dans la couche externe à des cellules allongées transversalement dans la couche interne.

Cellule parenchymateuse allongée radialement.

Epiderme interne formé de petites cellules à parois épaisses. Les cellules sous épidermiques sont très variables suivant les parties où elles se trouvent. Sur les bords de la graine toutes les couches internes sont fortement développées. Périsperme et endosperme semblent manquer complètement à la pleine maturité.

➤ Embryon

Le glucide de réserve dans la paroi cellulaire, se trouve dans les cotylédons, sous forme d'amyloïde, non de mucilage.

Les cellules contiennent des lipides et des protéines dans des granules de structure indéfinie.

➤ Poudre

Le fruit de tamarin pulvérisé est de couleur brun jaunâtre, d'odeur caractéristique et de saveur acide, caractérisé par les facteurs suivants : pulpe contenant de longs

faisceaux fibreux. Graines brunes quadrilatérales avec bord vernissé et tache ternes sur les côtés, enfermées dans des sacs d'endocarpe. Pulpe contenant des cristaux de bitartrate, des cellules amylacées, des cellules subéreuses, des cellules pierreuses de différents tailles, des larges fibres avec des parois grenues et des fibres étroites pratiquement sans lumière. Des cellules palissadiques avec deux bulbes et cotylédons avec parois grenues épaisses se colorant en bleu avec l'iode.

Test de pureté :

Cendres : pas plus de 1.56 pour cent (OUA ; 1985).

## 8- Rappel sur le sirop

### 8-1 Définition du sirop

Les sirops sont des préparations aqueuses sucrées et de consistance visqueuse. Ils sont généralement préparés avec du saccharose qui, à une concentration voisine de 65% leur assure, en prenant un minimum de précautions, une protection antimicrobienne.

Par convention, ce n'est qu'à partir de la concentration de 45% qu'une solution de saccharose est appelée sirop. De même il a été admis que le saccharose pouvait être remplacé par du glucose, du fructose, du sucre inverti ou d'autres sucres et que les sirops pouvaient même être obtenus à partir de polyols de saveur sucrée (glycérol, sorbitol, xylitol, ...), d'édulcorants artificiels et d'épaississants pour atteindre une viscosité voisine de celle du sirop de saccharose.

Les sirops peuvent contenir un ou plusieurs principes actifs et aussi des substances auxiliaires telles que colorants, aromatisants et agents antimicrobiens.

Certains sirops ne contiennent pas de principes actifs, ils sont destinés à être utilisés comme véhicule dans diverses préparations pharmaceutiques et, en particulier, dans les potions.

Le nom et la concentration des édulcorants et des agents antimicrobiens doivent être indiqués sur l'étiquette.

## 8-2 Méthodes de préparation de sirops simples

### ➤ Préparation à chaud en vase clos

On prend 180g de sucre et 100g d'eau. Les deux éléments eau sucre sont introduits dans le récipient en vase clos. Et chauffé à 105° C jusqu'à ébullition. Lorsque le bouillant marque une densité de 1.26. On arrête le chauffage puis on refroidit le tout sous couvercle. La densité du sirop après refroidissement doit être 1.32. Le sirop est légèrement coloré à cause d'un début de caramélisation.

### ➤ Préparation à chaud en récipient ouvert

On chauffe 165g de sucre pour 100g de véhicule lorsqu'on opère en récipient ouvert. Après refroidissement la densité est 1.32.

### ➤ Préparation du sirop à froid

On met 180g de sucre dans 100g d'eau. La densité obtenue est 1,32.  
(Hir, 2001)

## 8-3 Sirops médicamenteux

On distingue :

- Les sirops obtenus par addition du principe actif au sirop de sucre.
- Les sirops préparés par dissolution du sucre directement dans une solution de principe actif ou de principes aromatiques.
- Les sirops composés : ces sirops contiennent plusieurs principes actifs. Leur préparation est plus ou moins complexe selon leur composition  
(Hir, 2001).

## 8-4 Exemple d'additif : gomme arabique

Elle se présente en larmes arrondies, irrégulières et dures en fragments plus ou moins volumineux de couleur blonde ou rougeâtre ou surtout pour l'usage pharmaceutique en poudre blanche ou blanc jaunâtre. Elle est entièrement soluble dans l'eau.

On l'utilise :

- Dans la préparation des émulsions et des suspensions : par la viscosité qu'elle confère à la phase aqueuse, la gomme arabique stabilise les suspensions et les émulsions L/H ;

- Dans la fabrication des comprimés comme liant et comme délitant (grâce à son pouvoir de gonfler dans l'eau) ;
- Dans l'enrobage pour que l'enrobage adhère au comprimé ;
- Dans la préparation des pâtes officinales et en confiserie : pour son pouvoir épaississant, son pouvoir liant et son aptitude à empêcher la cristallisation du sucre ;
- Dans la préparation de tablettes, pilules, granules, mucilages potions, certaines crèmes dermiques, etc.

Il est à noter que la gomme arabique contient une peroxydase qu'on peut avoir intérêt à détruire par la chaleur (ébullition dans le cas du sirop de gomme) (Hir; 2001).

#### 8-5 Contrôles de qualité du sirop

##### ➤ Densité

L'altération d'un sirop peut être due à une trop faible ou à une trop forte concentration en sucre.

- S'il est trop concentré (trop cuit), le saccharose cristallise. Il suffit alors d'ajouter la quantité d'eau nécessaire pour rajuster la densité.

- S'il est trop dilué : la teneur en sucre est insuffisante d'où la prolifération des microorganismes ; de levures et moisissures interversion du sucre sous l'action d'invertine et fermentation alcoolique. Si le sirop supporte l'action de la chaleur, il pourra être ramené à la densité voulue par maintien un moment à ébullition (Hir, 1997)

La densité se calcule en divisant la masse du corps (sirop) par son volume (KIFLOTTE, 2005).

Le sirop simple obtenu est 1.32 (Hir, 2001).

##### ➤ Stabilité

Idéalement, les médicaments doivent être stables du point de vue chimique, c'est-à-dire qu'ils ne doivent pas se décomposer en solution aqueuse (Graham, 2001).

La stabilité du sirop est vérifiée par la coloration ; la formation de précipitation par la variation de pH et la séparation des composés (Hir, 2001).

##### ➤ Viscosité

La viscosité d'un liquide est la propriété caractérisée par la résistance qu'opposent ses molécules au déplacement des molécules voisines.

L'unité de viscosité absolue dynamique d'un liquide homogène est le poise.

La détermination de la viscosité consiste à mesurer le temps nécessaire à l'écoulement par un tube capillaire convenablement choisi d'un volume déterminé du liquide essayé, sous un régime de pression connu à une température déterminée. Il y a lieu de porter une attention particulière sur la mesure du temps ; pour obtenir une bonne précision, la durée de l'écoulement doit être connue au moins à une demi seconde près ; c'est-à-dire que la répétition d'une mesure doit se faire en des temps ne différant pas entre eux de plus d'une demi seconde. Pour éviter dans le liquide la présence de poussières, de fibre et de particules en suspension, on filtrera le liquide sur papier (Pharmacopée française, 1983).

## 9- Constipation

### ➤ Définition

La constipation se caractérise par un allongement du temps de transit, s'expliquant par un trouble de la progression au niveau du côlon (constipation de la progression) ou par une atteinte de l'évacuation (constipation terminale). Elle peut être authentifiée par l'utilisation de marqueurs radio opaque permettant de déterminer le temps de transit colique segmentaire dans le côlon droit, le côlon gauche, le rectosigmoïde et le temps de transit global, respectivement au maximum de 24, 30, 44 et 67 heures. Lors de la constipation, les selles sont peu nombreuses (moins de 2-3 par semaine), surdigérées et trop déshydratées (poids quotidien inférieur à 35g/jour, poids sec supérieur à 30%).

Le caractère idiopathique de la constipation est affirmé sur l'ancienneté des troubles et après qu'aient été éliminés un obstacle organique colique, une hypothyroïdie, une pathologie iatrogène (neuroleptiques, atropiniques...), un désordre métabolique (hypercalcémies, hypokaliémie).

### ➤ Les types de constipation

- La constipation par atonie du colon, rare ;
- La constipation par inertie colique spastique (colon irritable) ;

- Une maladie de la fonction de réservoir du rectum (méga rectum) avec la possibilité pour le rectum de se laisser encombrer par un volume excessif des matières ;
- Une obstruction terminale spastique avec reflux rectostigmoïdien ;
- Une anomalie de fonctionnement du sphincter strié de l'anus (anisme) objectivée par certain examen complémentaire spécialisé (la manométrie anorectale).

➤ Physiopathologie

Le côlon droit reçoit chaque jour 800 à 1500 ml de liquide iléal. Le volume d'eau des selles est d'environ 100 ml/jour. Le côlon est donc le siège d'une importante réabsorption d'eau qui s'effectue essentiellement au niveau du caecum. De nombreux facteurs modulent cette capacité d'absorption : interviennent en particulier la concentration en sels biliaires, le pH conditionné par une production d'acide organique par la flore de fermentation à partir de résidus glucidiques non résorbés par le grêle, des facteurs hormonaux.

La déshydratation du contenu colique est facilitée par l'activité motrice colique. Les contractions segmentaires non propulsives, les mouvements péristaltiques et antipéristaltiques intéressant un court segment colique, assurent le brassage endoluminal. Les mouvements péristaltiques propulsifs ne surviennent que deux à trois fois par jour, en particulier le matin et en phase post-prandiale.

❖ Constipation de la progression

Une atteinte motrice colique caractérise les constipations de progression dont deux variétés sont individualisées. L'inertie colique spastique, fréquente, se signale par une stagnation des marqueurs radio opaques et surtout leur reflux vers une zone sus-jacente lors de la survenue d'ondes antipéristaltiques. Au cours de l'inertie atone, on constate une diminution des ondes propulsives entraînant une stagnation des marqueurs dans l'ensemble du cadre colique. A terme, une constipation spastique traitée par des laxatifs irritants peut se compliquer d'une constipation atonique. Ces deux types de constipation, responsables de la formation de selles déshydratées de petit volume, peuvent entraîner l'apparition d'une constipation d'évacuation.

### ❖ Les constipations terminales

Les ondes propulsives provoquent l'arrivée de matières dans l'ampoule rectale une à deux fois par jour. La distension de la paroi rectale stimule les récepteurs sensitifs et produit la sensation consciente du besoin d'exonérer. Le relâchement du sphincter interne commandé par le réflexe rectoanal inhibiteur est suivi, si, la défécation est différée, d'une contraction du sphincter externe strié d'une diminution de la tension de la paroi rectale. Lors de la défécation, on constate un relâchement sphinctérien, l'ouverture de l'angle rectoanal par relâchement du faisceau puborectal du releveur de l'anus. Ces phénomènes sont synchrones de l'activité propulsive : activité contractile des muscles de la paroi rectale, élévation de la pression intra abdominale. Une constipation terminale suspectée sur la présence de matière abondante au toucher rectal en l'absence de besoin d'exonération est objectivée par une stagnation des marqueurs radio opaques dans le rectum ou le bas sigmoïde. Les différents types de constipation terminale peuvent être précisés par manométrie anorectale et l'étude de la compliance rectale.

Le méga rectum fonctionnel correspond à une diminution de sensibilité de la distension dont résulte une augmentation importante du volume rectal. La résultante des forces propulsives s'exerçant sur l'ampoule rectale est, de ce fait, faible ou nulle. L'anisme est une forme pure de dysnergie anorectale comportant une majoration du tonus du puborectal lors de la défécation responsable d'une fermeture de l'angle rectoanal. L'obstruction terminale spastique se traduit par un reflux de matières recto sigmoïde vers le colon gauche.

Au cours d'une constipation terminale, les efforts répétés (notion de défécation traumatique) sont susceptibles d'entraîner des troubles de la statique pelvienne (syndrome du périnée descendant) éventuellement associés à une altération anatomique rectale qui peut être précisée par la défécographie. On met ainsi en évidence des lésions purement muqueuses (prolapsus muqueux, syndrome de l'ulcère solitaire du rectum) ou plus important (rectocèle, prolapsus interne). L'élongation progressive des nerfs du plancher pelvien est à l'origine d'une myopathie de dénévation. Associée à une altération du plancher pelvien, elle peut participer à l'apparition d'un prolapsus total du rectum et rendre compte d'une incontinence fécale ultérieure.

➤ Traitement symptomatique

❖ Fibres alimentaires

Les fibres alimentaires sont utilisées depuis longtemps comme traitement de la constipation. Le pouvoir hygroscopique élevé entraîne une augmentation de l'hydratation et du volume des selles. Plusieurs types de fibres existent. Les fibres insolubles, cellulose, hémicellulose, lignine sont surtout présentes dans les produits céréaliers en particulier son du blé. Elles se caractérisent par un pouvoir hygroscopique particulièrement important. Peu dégradées par les bactéries coliques, leur action prolonge sur l'ensemble du côlon. Les fibres solubles constituées par les pectines sont présentes dans les fruits et les légumes. Elles sont très fermentescibles sous l'action des bactéries coliques qui entraîne une production d'acides gras volatils renforçant l'action laxative due au pouvoir hygroscopique.

❖ Les mucilages

Les mucilages ont le même mode d'action que les fibres.

❖ Laxatifs huileux

Les huiles minérales, huile de vaseline et huile de paraffine, ne sont pas absorbées par l'intestin. Elles agissent par lubrification et en retardant l'absorption de l'eau dans l'intestin. Utilisées à forte dose, elles peuvent provoquer des suintements anaux. Au cours d'un traitement prolongé, elles sont susceptibles d'entraver l'absorption des vitamines liposolubles. Des accidents d'inhalation ont pu être signalés en cas de reflux gastro-oesophagien nocturne (Hilllon, Jeune et Aubert , 1994).

❖ Anthracénosides

Selon la dose administrée, les dérivées 1,8-dihydroxyanthracéniques exerceront une action laxative ou purgative plus ou moins violente. Aux doses habituelles ce sont des laxatifs stimulants (Bruneton, 1993).

❖ Eau

Le bol alimentaire et l'eau reste longtemps au niveau des intestins et c'est au niveau de l'intestin grêle que le passage de l'eau se fait vers le sang l'intermédiaire des capillaires. Toute l'eau ne passe pas dans le sang car une quantité d'eau précise est

nécessaire pour que le bol alimentaire puisse descendre dans le gros intestin. L'eau est indispensable pour l'évacuation correcte des selles. En effet, pas assez d'eau et c'est la constipation ([www.Articlesbase.com](http://www.Articlesbase.com), 2008).

## **PARTIE 2: TRAVAUX PERSONNELS**

---

Notre étude expérimentale a consisté à :

- Identifier les caractères organoleptiques, macroscopiques et microscopiques de la pulpe du fruit de *Tamarindus indica*.
- Déterminer les éléments phytochimiques, le rendement des extraits et la charge microbienne de la pulpe.
- Formuler le sirop à base de pulpe de tamarin
- Effectuer le contrôle de qualité sur les sirops préparés.

## 1- Lieux d'étude

Les travaux ont été réalisés dans les services des structures suivantes :

- Les sections bactériologie et stérilisation de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP).
- La section biochimie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP).
- L'UMPP : Usine Malienne de Produits Pharmaceutiques (département sirop et pommade)
- Le Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'INRSP.

## 2- Matériel végétal

Nous avons travaillé sur quatre échantillons de fruit de *Tamarindus indica* provenant de quatre zones différentes du Mali que sont Koutiala ; Sorobougou ; Bakaribougou ; Mandoli.

Les fruits de Sorobougou ; Bakaribougou ; Mandoli étaient non décortiqués à l'arrivée. Ceux de Koutiala étaient déjà décortiqués.

Des informations sur les échantillons sont reportées dans les tableaux N°1 et 2.



Figure 6: **Photo de fruits non décortiqués *T. indica* (DMT)**



Figure 7: **Photo de fruits décortiqués de *T. indica* (DMT)**

Provenance :

Les fruits ont été collectés de :

Koutiala (Commune de Koutiala ; Cercle de Koutiala)

Sorobougou (Arrondissement de Cinzana, Cercle de Ségou)

Bakaribougou (Arrondissement de Sikasso, Cercle de Sikasso)

Mandoli (Arrondissement de Ouou, Cercle de Bandiagara)

L'échantillon de Koutiala a été acheté sur le marché de Médine à Bamako, l'herboriste a affirmé que l'échantillon provient de Koutiala.

Les autres échantillons ont été fournis par l'IER, dans le cadre du projet DADOBAT.

Tableau I: Provenance et date de récoltes des différents échantillons

	<b>Sorobougou</b>	<b>Bakaribougou</b>	<b>Mandoli</b>
Unité agro climatique	Sud soudanien	Nord soudanien	Sahélien
Type de sol	Sols ferrugineux tropicaux lessivés à taches et concrétions	Sols ferrugineux tropicaux appauvris	Sols ferrugineux tropicaux lessivés modaux
Latitude	12°44'38.3"	11°58'54.1"	14°14'52.6"
Longitude	006°50'25.1"	006°43'47.3"	003°44'19.7"
Altitude	320	357	387
Date de récolte des fruits	02/02/08	18/02/08	24/02/08

Koutiala : Longitude 5°,465620 Ouest

Latitude : 12°,390150 Nord

Le matériel végétal a été exposé à l'air libre dans la salle de séchage du DMT pour éviter l'apparition et/ou la prolifération des insectes.

### 3- Caractères organoleptiques et macroscopiques

Nous avons déterminé différents caractéristiques des échantillons : couleur ; Odeur ; saveur ; aspect au touché ; le nombre de graines. Nous avons aussi procédé au triage afin de déterminer le pourcentage de corps étrangers.

### 4- Etude microscopique

L'observation microscopique a été effectuée à l'objectif 40.

Le réactif de Gazet du Chatelier a été utilisé.

Marque: Wild M11. Made in Switzerland

### 5- Détermination de la charge microbienne (*E. coli* ; *Salmonella typhi*)

#### ➤ Prélèvement

Nous avons travaillé sur la pulpe de fruit des différentes localités pris comme échantillon.

❖ Suspension mère

1) Prendre 1g de la pulpe du fruit; ajouter 9ml d'eau distillée, placer le tout au bain marie pendant 5min à 47° C.

2) Prendre 1g de la pulpe du fruit, ajouter 9ml d'eau distillée, et laisser en macération pendant 24h.

❖ Dilution décimale

Elle se fait à l'aide de l'eau physiologique

Prendre 1ml de diluant dans 9ml d'eau physiologique (dilution au 1/10<sup>e</sup>) qu'on appelle A

Prendre 1ml de solution A dans 9ml d'eau physiologique, qu'on appelle B

Prendre 1 ml de la solution B dans 9 ml d'eau physiologique, qu'on appelle C

➤ Recherche d'*E. coli*

❖ Recherche en milieu liquide

Milieu bouillon BCP (Bromo crésol pourpre) et bouillon lactose ou vert brillant.

Prendre 1 ml de solution A ; mettre dans 3 tubes différents.

Prendre 1 ml de solution B ; mettre dans 3 tubes différents.

Prendre 1 ml de solution C ; mettre dans 3 tubes différents.

Prendre 1 ml de solution D ; mettre dans 3 tubes différents.

Prendre 1 ml de la suspension mère (SM) ; mettre dans 3 tubes différents.

Mettre les différents tubes à 37° C pendant 48H.

❖ Recherche en milieu solide :

Milieu de culture : Drigasky

Prendre 0.2ml (deux gouttes) de la solution mère ; mettre dans une boîte de Petri contenant le Drigalsky.

Prendre 0.2ml (deux gouttes) de la solution A ; mettre dans une boîte de Petri contenant le Drigalsky.

Prendre 0.2ml (deux gouttes) de la solution B ; mettre dans une boîte de Petri contenant le Drigalsky.

Prendre 0.2ml (deux gouttes) de la solution C; mettre dans une boîte de Petri contenant le Drigalsky.

Les différentes boîtes de Petri sont mises à 37° C pendant 24h.

- ❖ Résultats milieu solide (milieu Drigalsky)

Si des colonies poussent, faire une galerie API.

Les colonies rouges correspondent à des coliformes.

- Recherche de *Salmonella*

Le milieu de culture utilisé ici est la gélose *Salmonelle Shigelle* (gélose SS).

- ❖ Pré enrichissement

Prendre 1 ml de la solution mère, ajouter 9ml d'eau peptonée tamponnée ; mettre en incubation pendant 18h à 37° C.

- ❖ Dépôt sur gélose SS :

Mettre 0.1ml du pré enrichissement sur gélose SS (en cadran) pendant 24h à 37° C

- ❖ Autres méthode

Prendre 0.2 ml de solution B ; mettre dans une boite de Petri contenant la gélose SS à la température de 37° C pendant 24h.

Prendre 0.2 ml de solution B ; mettre dans une boite de Petri contenant la géloses SS à la température de 37° C pendant 24h.

Prendre 0.2 ml de solution C ; mettre dans une boite de Petri contenant la gélose SS à la température de 37° C pendant 24h.

Prendre 0.2 ml de solution mère ; mettre dans une boite de Petri contenant la gélose SS à la température de 37° C pendant 24h.

## 6- Etudes phytochimiques

- Réactions de caractérisation

- ❖ Alcaloïdes

Ils forment un groupe important de substances naturelles d'intérêt thérapeutique par leur diversité structurale et l'éventail de leurs activités pharmacologiques. Ce sont des substances azotées qui agissent comme des bases.

### Solution à analyser

Nous avons ajouté la poudre fruit (10g) de l'acide sulfurique dilué au 1/10 (50 ml) dans un erlenmeyer de 250 ml. L'ensemble a été laissé en macération à la température du laboratoire pendant 24 heures puis filtré. Le filtrat a été complété à 50 ml avec de l'eau distillée.

Nous avons ajouté directement sur la poudre végétale (10g) 25ml d'ammoniaque dilué au 1/2 et 25ml de Chloroforme dans une ampoule à décanter.

Nous avons soutiré la phase organique séché sur sulfate de sodium anhydre et faire une évaporation à sec pour récupérer avec de l'acide chlorhydrique dilué au 1/10.

### Caractérisation

Nous avons pris 2 tubes à essai dans lesquels nous avons introduit le filtrat (1 ml). Dans le premier tube nous avons ajouté 5 gouttes de réactif de Mayer (solution aqueuse de mercuri-iodure de potassium) ; dans le deuxième tube et 5 gouttes de réactif de Dragendorff (solution aqueuse d'iodo-bismuthate de potassium). La présence d'alcaloïdes est caractérisée par la formation d'un précipité dans chaque tube.

#### ❖ Substances Polyphénoliques

### Solution à analyser

La solution à analyser est un infusé à 5 %. Nous avons ajouté à la poudre de fruit (5g) de l'eau bouillante (100 ml) contenue dans un erlenmeyer de 250 ml. Nous avons arrêté l'ébullition, surmonté d'un entonnoir et laissé infuser 15 min. Le filtrat a été complété à 100 ml avec de l'eau distillée.

### Caractérisation

#### • Tanins

Ce sont des esters de l'acide gallique ou de glucose. Leurs propriétés biologiques sont liées à leur pouvoir de former des complexes avec les macromolécules en particulier les protéines.

Dans un tube à essai contenant de l'infusé (1ml), nous avons ajouté une solution aqueuse diluée de FeCl<sub>3</sub> à 1% (1ml). En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

- Tanins catéchiques

A l'infusé à 5 % (5ml), nous avons ajouté 1 ml d'alcool chlorhydrique (5 ml d'éthanol 95° alcoolique, 5ml d'eau distillée, 5ml d'HCl concentré). Nous avons porté à ébullition pendant 15 minutes.

En présence de tanins catéchiques, il y a formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique.

A 30 ml d'infusé à 5 % nous avons ajouté 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40 %, 15 ml d'acide chlorhydrique concentré). Nous avons chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 minutes. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques.

- Tanins galliques

Filtrer et saturer le filtrat d'acétate de sodium pulvérisé, ajouter 1 ml goutte à goutte d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 1%, le développement d'une teinte bleu noire montre la présence de tanins galliques.

- Flavonoïdes

Ce sont les pigments universels des végétaux responsables de la coloration des fruits, des fleurs et souvent des feuilles.

A l'infusé à 5 % présentant une coloration plus ou moins foncée, nous avons ajouté un acide (5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) puis une base (5 ml de NH<sub>4</sub>OH). Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut conclure à la présence d'anthocyane.

#### Réaction à la cyanidine

Nous avons introduit dans un tube à essai 5 ml de l'infusé à 5 %, ajouté 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95 %, l'eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes) ; puis quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique.

L'apparition d'une coloration rose-orangée (flavones) ou rose-violacée (flavanones) ou rouge (flavonols, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques.

La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les aurones, les catéchines et les isoflavones.

### Leucoanthocyanes

Nous avons effectué la réaction à la cyanidine sans ajouter les copeaux de magnésium et chauffé pendant 15 min au bain-marie.

En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée. Les catéchols donnent une teinte brun-rouge.

#### ❖ Dérivés anthracéniques

Ils appartiennent au groupe des quinones. Ils se caractérisent par leur pouvoir oxydant élevé.

- Anthracéniques libres

#### Solution à analyser

A la pulpe de tamarin (1g), nous avons ajouté du chloroforme (10 ml) et chauffé pendant 3 minutes. Nous avons filtré à chaud et complété à 10 ml si nécessaire.

#### Caractérisation

A 1 ml de l'extrait chloroformique obtenu nous avons ajouté 1 ml d'ammoniaque dilué au 1/2 et agité.

La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'antraquinones libres.

- Anthracéniques combinés
  - O-hétérosides

Nous avons préparé un hydrolysât à partir du résidu de la drogue épuisée par le chloroforme auquel nous avons ajouté 10 ml d'eau et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré. Nous avons maintenu le tube à essai au bain-marie bouillant pendant 15 minutes. Nous avons filtré et complété le filtrât à 10 ml.

Nous avons agité 5 ml de l'hydrolysât avec 5 ml de chloroforme. Nous avons soutiré la phase organique et l'avons introduite dans un tube à essai. Nous avons gardé la phase aqueuse.

A la phase organique, nous avons ajouté 1 ml d'ammoniaque dilué au 1/2. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence d'antraquinones.

Si la réaction est négative ou faiblement positive, rechercher les O-hétérosides à genine réduite.

Nous avons prélevé 5 ml de l'hydrolysât et ajouté 3 à 4 gouttes de  $\text{FeCl}_3$  à 10 %. Nous avons chauffé pendant 5 min au bain-marie puis refroidi sous courant d'eau.

Nous avons agité avec 5 ml de chloroforme puis soutiré la phase chloroforme. Nous l'avons introduite dans un tube à essai.

Nous avons ajouté 1 ml d'ammoniaque dilué et agité.

En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment.

- C-hétérosides

La solution à analyser est la phase aqueuse obtenue avec la solution à analyser des O-hétérosides. A cette solution nous avons ajouté de l'eau (10 ml) et du  $\text{FeCl}_3$  (1 ml). Le tube à essai a été maintenu au bain-marie pendant 30 min puis refroidi sous un courant d'eau. Nous avons agité avec du  $\text{CHCl}_3$  (5 ml) puis soutiré la phase chloroformique. Nous y avons ajouté de l'ammoniaque dilué au  $\frac{1}{2}$  (1 ml).

L'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de C-hétérosides.

- Quinones

Au fruit (1g) humectée avec de l'acide sulfurique à 10 % nous avons ajouté un mélange à volume égal d'éther et de chloroforme (20 ml). Après une macération de 24 heures, 5 ml du filtrat obtenu ont été évaporés à l'air, puis le résidu a été repris par quelques gouttes d'éthanol à 95 %. Nous avons ajouté goutte à goutte une solution aqueuse d'acétate de nickel à 5 %.

La réaction positive se caractérise par une coloration rouge.

- ❖ Stérols, triterpènes et caroténoïdes

#### Solution à analyser

L'extrait à tester a été obtenu à partir de la poudre du fruit (drogue végétale) (1g) et de l'éther (20 ml) laissés en macération pendant 24 heures. Nous avons filtré et complété à 20 ml avec de l'éther.

#### Caractérisations

- Stérols et triterpènes

Nous avons évaporé à sec dans un tube à essai 10 ml d'extrait, puis fait dissoudre le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique et dans 1 ml de chloroforme. Nous avons partagé dans deux tubes à essai, l'un servant de témoin puis avons mis dans le fond du second tube à l'aide d'une pipette 1 à 2 ml d'acide sulfurique concentré.

A la zone de contact des deux liquides il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageant devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et tri terpènes.

- Caroténoïdes

Après évaporation jusqu'à sec de 5 ml d'extrait, nous avons ajouté 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine dans le chloroforme. Il se développe en présence de caroténoïdes une coloration bleue devenant rouge par la suite.

- ❖ Hétérosides cardiotoniques

Ils forment un groupe homogène possédant un intérêt thérapeutique réel. Ils demeurent des médicaments majeurs de l'insuffisance cardiaque.

Solution à analyser

Nous avons introduit la poudre de fruit (10g) d'éthanol à 60 % (30ml), porté en ébullition et filtrer après refroidissement.

Caractérisation

Extraire le filtrat avec chloroforme ( $\text{CHCl}_3$ ), partager cette phase chloroformique entre 3 tubes à essai et évaporer au bain marie bouillant jusqu'à sec et reprendre avec 0.4ml d'isopropanol.

En présence d'hétérosides cardiotoniques, les colorations suivantes se sont développées :

Tube 1 Kedde : rouge-violacé, orangé

Tube 2 Baljet : orangé

Tube 3 Raymond et Marthoud: violet-fugace

- ❖ Saponosides

Ce sont des hétérosides caractérisés par leurs propriétés tensioactives.

Solution à analyser

La solution à analyser est un décocté à 1 %. Nous avons porté à ébullition dans un erlenmeyer de l'eau distillée (100 ml) et y avons projeté de la drogue végétale (1g). Une ébullition modérée a été maintenue pendant 15 min. Nous avons filtré et ajuster après refroidissement à 100 ml.

Caractérisation

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, nous avons réparti successivement 1, 2, ....10 ml du décocté à 1%. Le volume de chaque tube a été ajusté

à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube a été agité pendant 15 secondes dans le sens de la longueur puis laissé au repos pendant 15 minutes puis la hauteur de la mousse a été mesurée.

L'indice de mousse (I.M.) a été calculé à partir du tube dans lequel la hauteur de la mousse a été de 1cm (N).

$$\text{Indice de mousse} = \frac{1000}{N}$$

#### ❖ Autres caractérisations

##### Composés réducteurs

Le décocté aqueux à 10 % (5 ml) a été évaporé au bain-marie jusqu'à sec. Nous avons ajouté au résidu 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml réactif A + 0,5 ml réactif B, mélange extemporané).

L'obtention d'un précipité rouge-brique indique la présence de composés réducteurs.

- Oses et holosides

Le décocté aqueux à 10 % (5 ml) a été évaporé à sec. Nous avons ajouté au résidu 2 à 3 gouttes de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré, puis après 5 minutes 3 à 5 gouttes d'alcool saturé avec du thymol.

Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides.

- Mucilages

Nous avons ajouté à 1 ml de décocté à 10 % de l'éthanol absolu (5 ml).

L'obtention d'un précipité floconneux, par mélange, indique la présence de mucilages.

#### ❖ Coumarines

Nous avons évaporé à sec l'extrait éthéré (5 ml) obtenu après une macération de 24 heures, puis avons repris le résidu avec de l'eau chaude (2 ml). Nous avons partagé la solution entre deux tubes à essai. Nous avons ajouté dans l'un des tubes de l'ammoniaque à 25 % (0,5 ml) et observé la fluorescence sous UV 366 nm.

Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

❖ Hétérosides cyanogénétiques

Nous avons ajouté à la pulpe du fruit (1g), un mélange à volume égal d'eau et de toluène (5 ml). Nous avons bien agité, nettoyé la partie supérieure du tube à essai et y avons fixé à l'aide d'un bouchon le papier picrosodé fraîchement préparé.

La présence d'hétérosides cyanogénétiques est indiquée par la coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé.

➤ Préparations des extraits

Pour la préparation de l'extrait nous avons utilisé 5g, 10g, 20g de drogue en respectant à chaque fois les proportions.

❖ Macération à l'eau

Dans trois erlenmeyers nous avons mis 5g ; 10g ; 20g de poudre de fruit dans 100ml d'eau distillée. L'ensemble a été ensuite placé sous agitation avec une baguette magnétique pendant 24h à la température du laboratoire. Après, nous avons filtré le produit obtenu avec des compresses, puis concentré au rotavapor et lyophilisé. Le produit obtenu a été conservé dans un flacon propre sec et stérile.

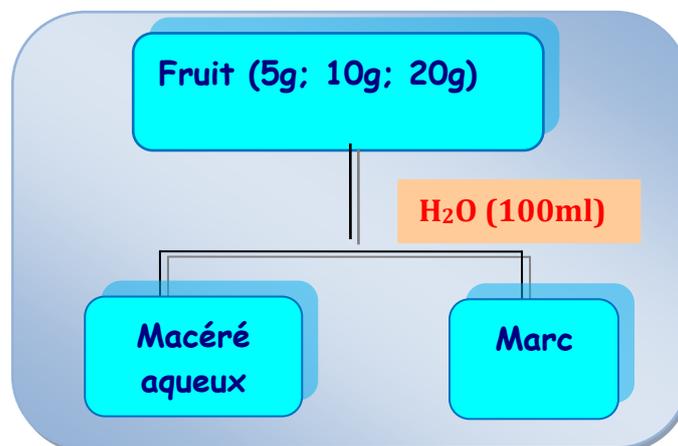


Figure 8: Schéma d'extraction par macération à l'eau des fruits de *Tamarindus indica*

❖ Macération à l'éthanol 70% :

Dans trois erlenmeyers nous avons mis 5g, 10g ; 20g de poudre de fruit de tamarin et 100ml d'éthanol à 70% à chaque fois. Après une agitation de 24h, le produit obtenu est filtré, puis concentré au rotavapor et lyophilisé. Les lyophilisats sont ensuite conservés dans un flacon propre, sec et stérile.

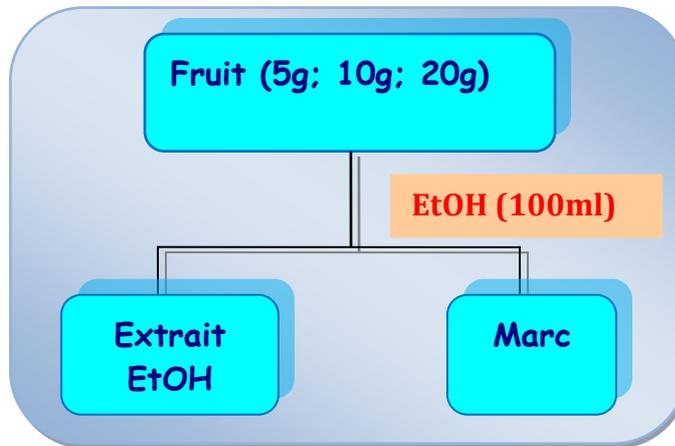


Figure 9: Schéma d'extraction par macération éthanolique des fruits de *Tamarindus indica*

➤ Substances extractibles par l'eau

Nous avons fait une décoction pendant 15 min avec la poudre fruit (1g) dans de l'eau distillée (20 ml). Le filtrat a été mis dans une capsule ou dans un ballon préalablement taré puis évaporé à sec. Nous avons ensuite pesé la capsule ou le ballon à froid et déduit la masse du résidu.

➤ Substances extractibles par l'éthanol

Nous avons fait macérer la poudre de fruit (1g) dans de l'éthanol 70 % (20 ml) pendant 24 h. Le filtrat a été mis dans une capsule tarée et évaporé à sec (au bain-marie). Nous avons ensuite pesé la capsule à froid et déduit la masse du résidu.

➤ Dosage (teneur en eau)

Deux méthodes ont été utilisées pour le dosage de l'eau :

❖ Méthode gravimétrique

• Principe

C'est une méthode pondérale qui consiste en la détermination de la perte en masse d'une quantité connue de poudre par dessiccation à l'étuve ou au four réglé à la température de  $103 \pm 2^\circ \text{C}$  pendant 24 h.

- Matériel :

- Balance analytique de précision (type SARTORIUS ; max 400g ; d=0 ;01)
- Four (Controller P 320 ; Naberterm 30-3000°C)
- Pince
- Spatule métallique
- Verre de montre (ou creuset)
- Dessiccateur

- Technique

Nous avons taré cinq verres de montre et y avons introduit des prises d'essai (PE) de 1 à 2g (pesées au mg près). Nous avons ensuite pesé les verres de montre contenant les drogues (fruit) avant de les introduire dans le four réglé à  $103 \pm 2^\circ \text{C}$  pour une dessiccation pendant 24 h. Au sortir du four nous avons refroidi les poudres dans un dessiccateur contenant un desséchant (chlorure de calcium, anhydride phosphorique) et les avons ensuite pesées.

Le calcul suivant permet d'obtenir le pourcentage en eau :

$$\text{Masse prise d'essai} = \text{masse avant four} - \text{tare}$$

$$\text{Masse eau} = \text{masse avant four} - \text{masse après le four}$$

$$\% \text{ eau} = \frac{\text{masse eau}}{\text{masse PE}} * 100$$

- ❖ Méthode azéotropique

- Principe

Cette méthode encore appelée méthode volumétrique consiste à mesurer le volume d'eau entraîné par distillation à température constante d'un solvant non miscible à l'eau auquel une masse de drogue végétale est ajoutée. L'eau se condense dans la partie inférieure du tube collecteur gradué et son volume est lu.

- Matériel et solvants :

- Ballon de 250 millilitres en verre.
- Réfrigérant à reflux tube droit de 20cm de long
- Tube collecteur gradué surmonté d'un tube cylindrique de condensation
- Source de chaleur (chauffe-ballon)
- Eau distillée

- Solvant non miscible à l'eau (toluène)
  - Technique

Nous avons introduit dans un ballon sec de l'eau distillée (1 ml) et du toluène (100 ml).

Nous avons distillé pendant une heure (1h) et avons laissé reposer pendant trente minutes (30 min).

Le volume initial (Vi) d'eau distillée a été lu.

Nous avons ensuite introduit dans le ballon une prise d'essai (PE) de 5g de fruit de drogue et avons fait bouillir l'ensemble pendant 1h. Nous avons laissé reposer pendant 30 min.

Le volume final (Vf) d'eau dans l'appareil a été lu.

Nous avons recherché le pourcentage d'eau dans la drogue par le calcul suivant.

$$\% \text{ d'eau dans la drogue} = 100 \times \frac{M(Vf - Vi)}{PE}$$

➤ Dosage des Cendres

Matériel

- Balance analytique de précision (type SARTORIUS ; max 400g ; d=0.01)
- Four (Controller P 320 ; Nabertherm ; 30-3000°C)
- Creusets en porcelaine ou en fer
- Spatule métallique
- Dessiccateur
- Pince

❖ Cendres totales

Les cendres proviennent des tissus de la plante ou des éléments étrangers (sable, terre...) adhérant à la drogue végétale. Elles sont obtenues par calcination complète de la matière végétale dans l'air.

La teneur en cendres est obtenue par dosage pondéral des cendres blanches obtenues par calcination de la drogue végétale dans un four.

Mode opératoire

Nous avons pesé 3 prises d'essai de la drogue (M) dans 3 creusets en silice préalablement tarée (T).

Après incinération au four à une température d'environ 600°C pendant 6h, et refroidissement dans un dessiccateur, nous avons déterminé la masse des creusets contenant les prises d'essai et les avons noté M'1, M'2 et M'3.

La masse moyenne en cendres totales (MCt) contenue dans le creuset est donnée par la formule :

$$MCt = \frac{(M'1 - T1) + (M'2 - T2) + (M'3 - T3)}{3}$$

La masse moyenne de la prise d'essai (PE) est donnée par la formule :

$$PE = \frac{(M1 + M2 + M3)}{3}$$

Le pourcentage des cendres totales (% Ct) est donné par la formule

$$\% Ct = 100 \times \frac{MCt}{PE}$$

#### ❖ Détermination de la teneur en cendres sulfuriques

C'est une méthode d'évaluation des substances inorganiques de la drogue végétale. Les cendres sulfuriques sont obtenues après une attaque de la drogue par l'acide sulfurique.

La teneur est déterminée par dosage pondéral des sulfates non volatils obtenus par calcination de la matière végétale préalablement traitée avec de l'acide sulfurique dilué au ½. Les sulfates résultent de la conversion des sels organiques.

Dans un creuset en quartz sec préalablement taré (T), nous avons introduit une prise d'essai de la poudre et pesé l'ensemble (M).

Nous avons ensuite humecté la poudre avec une quantité suffisante d'acide sulfurique dilué au ½ et trituré avec une baguette.

Le creuset a été laissé à l'étuve jusqu'à l'évaporation à sec puis mis au four à la température de 600° C pendant 6 heures. Nous avons pesé le creuset après refroidissement (M'). La masse des cendres sulfuriques (MCs) s'obtient comme suit :

$$MCs = M' - T$$

$$\text{La masse de la prise d'essai est : } PE = M - T$$

Le pourcentage des cendres sulfuriques (% Cs) est donné par la formule :

$$\% Cs = 100 \times \frac{Mcs}{PE}$$

❖ Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %

C'est une évaluation du contenu en constituants siliceux de la matière végétale. Ces cendres sont déterminées à partir de l'action de l'acide chlorhydrique dilué à 10 % sur les cendres totales.

Nous avons introduit la totalité des cendres dans un erlenmeyer et ajouté 20 ml d'acide chlorhydrique à 10 %. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15 mn au bain-marie. Après refroidissement, nous avons recueilli, lavé la matière non soluble sur un papier filtre sans cendre, puis transféré le filtre dans un creuset sec préalablement taré (T).

Le creuset contenant le papier filtre a ensuite été séché à l'étuve pendant 24 heures et calciné pendant 6 heures au four à la température de 600° C. Après refroidissement dans un dessiccateur, nous avons pesé le creuset contenant les cendres (M').

- La masse des cendres chlorhydriques (MCc) est donnée par la formule :

$$MCc \text{ (masse cendre chlorhydrique)} = M' - T$$

- La masse de la prise d'essai (PE) est la masse de poudre utilisée pour les cendres totales.
- Le pourcentage des cendres chlorhydriques (% Cc) s'obtient de la manière suivante :

$$\% Cc = 100 \times \frac{MCc \text{ (masse cendre chlorhydrique)}}{PE}$$

PE : (prise essai)

➤ Dosage de certains minéraux

L'ionogramme est le dosage des ions dans une substance donnée. Nous l'avons réalisé sur les cendres totales de nos extraits aqueux et éthanoliques à 20%. Pour chaque échantillon les cendres (10mg) ont été dissoutes dans de l'eau distillée (5ml). Le filtrat après centrifugation a servi à la réalisation des tests.

❖ Dosage du sodium et du potassium

Il est réalisé à l'aide d'un photomètre de flamme à dilution automatique.

- Principe

La nébulisation d'un échantillon à travers une flamme entraîne une excitation des atomes et provoque le passage des électrons d'une couche (ou sous-couche) à une sous couche immédiatement supérieure. L'électron en revenant à son niveau d'énergie initiale restitue cette page sous forme de photon. Les photons émis par les atomes donnent un flux de lumière qui passe au travers d'un filtre interférentiel et qui est ensuite mesuré par un photomultiplicateur.

- Mode opératoire

L'échantillon doit se présenter sous forme d'un aérosol de façon à ce que le solvant s'évapore instantanément dans la flamme.

Les photons émis par l'étalon interne de potassium ou de sodium vaporisé dans la flamme sont envoyés au travers d'un filtre interférentiel sur un photomultiplicateur générant ainsi une tension de mesure.

Les concentrations en sodium, potassium sont affichées en temps réel sur l'appareil l'unité est Meq/l.

- Description de l'appareil

L'appareil est composé de deux sous ensembles :

- Le compartiment de flamme :

Il est constitué :

- D'un brûleur en acier inoxydable ; la flamme est alimentée par un mélangeur d'air gaz (butane ou propane). Il est situé dans une cheminée étanche en verre refroidie par une circulation forcée. La flamme est entourée d'un rideau d'air qui l'abrite de toute impureté
- D'une cheminée : de forme cylindrique qui permet l'évacuation du gaz brûlé.
- D'une chambre nébulisation : qui est sphérique et assure un mélange parfait du gaz, de l'air et de l'aérosol. Cette chambre est fixée sur une plaque latérale droite à l'aide d'un collier magnétique.
- Détenteurs air et gaz : la fonction de deux détenteurs d'air et de gaz est ajuster le débit ce constituants de la flamme et de les réguler.

### Mélangeur-diluteur :

Le diluteur en continu permet un taux de dilution de l'ordre du  $1/200^{\text{ème}}$  de l'échantillon à doser ; cette partie est constituée :

- d'une pompe péristaltique
- d'un peigne tendeur des tuyaux de pompe
- d'un bloc mélangeur
- d'une évacuation (Aminata Tounkara ; 2007).



Figure 10: **Photo de l'appareil permettant le dosage des ions Sodium et Potassium (INRSP)**

#### ❖ Dosage du Calcium et du fer

##### • Principe

Le COBAS INTEGRA 400 Plus est un appareil qui utilise les méthodes spectrométriques et potentiométriques pour déterminer les concentrations des différents paramètres.

Description de l'appareil :

L'appareil est composé de trois grandes parties :

- Une station d'analyse ;
- Une unité centrale ;
- Des accessoires (écran, clavier, souris, imprimante) ;

Dans la station d'analyse il y a une partie réservée aux raques portant les réactifs, une partie pour les portoirs des échantillons. A coté des réactifs nous avons une position réservée aux calibrations et contrôles et à coté des échantillons nous avons une position réservée au portoir ISE. En faisant face à l'appareil à l'extrême gauche il y a le module ISE, à droite il y a le réservoir des cuvettes, la poubelle, la station de lavage et celle des mesures. Le centre de la station est occupé par le bras de transfère minus des aiguilles de prélèvement. Ce bras de transfère se déplace dans toutes les directions dans la station d'analyse.

L'unité centrale minus d'un logiciel spécial ordonne et traite toutes les informations du système.

NB : il est mieux de brancher l'appareil sur un onduleur pour le protégé des courts circuits.



Figure 11: **Photo de l'appareil permettant le dosage du fer et du calcium (INRSP)**

➤ Détermination de la composition en monosaccharides des polysaccharides

❖ Matériel

- Etuve
- Flacon
- Générateur d'azote
- Micro pipette Finnpiquette\* D741034500040\* 40-200µl
- Pipette pasteur de 2ml

Les réactifs :

- HCl 4M
- Méthanol
- Mannitol
- Pyridine

❖ La dépolymérisation : la Méthanolyse

• Principe

Dans cette méthode, la solution de méthanolyse (4 HCl/MeOH) agit sur les molécules de polysaccharides par rupture des liaisons glucosidiques. On obtient des méthyl glucosides en Cl puis des méthyl esters glucosidiques.

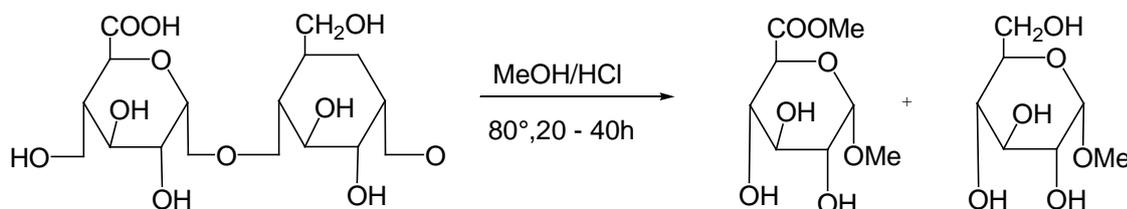


Figure 12: Réaction de Méthanolyse (Chambers et Clamp.1971)

• Mode opératoire

- Placer dans les flacons 2 mg d'échantillon (1mg pour les petites quantités)
- Ajouter 1 ml de (4HCl/MeOH), puis 200ul de Mannitol/ MeOH (1mg/ml)
- Agiter et bien fermer les flacons
- Incuber à 80° C pendant 20 à 24 heures
- Décompresser les flacons après 10mn d'incubation puis au bout d'une heure ils sont agités et replacés à l'étuve.

- Evaporer les solutions après incubation sous un courant d'azote.
- Laver et sécher à 2 reprises chaque résidu avec 1ml de méthanol anhydre.
- Fermer les flacons puis conserver au congélateur ou dans un dessiccateur.

❖ La dérivation

• Principe

Le TMS agit sur les groupements hydroxyles libres des produits de la dépolymérisation pour donner des dérivés triméthylsilanes volatiles. Les conditions anhydres sont indispensables à cette opération.

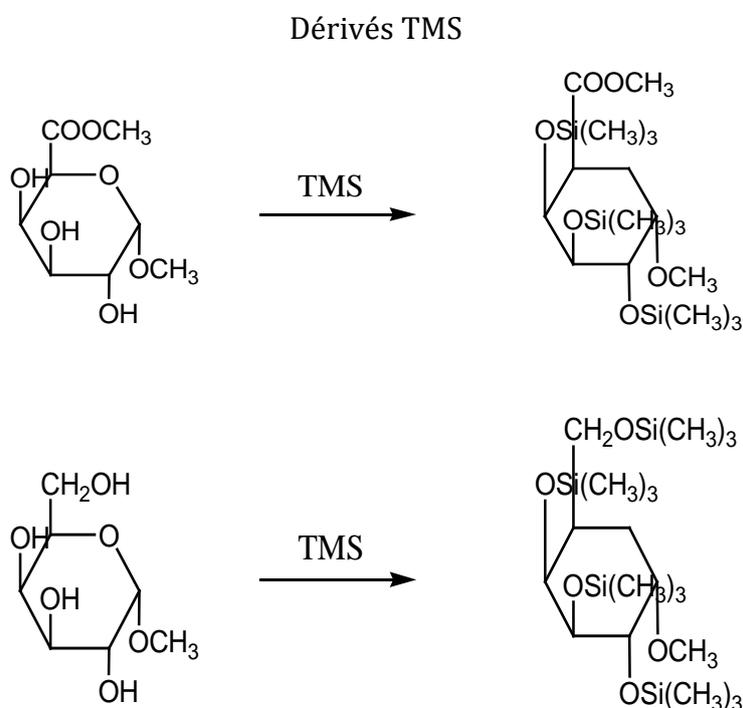


Figure 13: Schéma de la formation des dérivés du TMS (Chambres et Clamp, 1971)

• Mode opératoire

- Ajouter 100ul de T.M.S à l'extrait méthananalysé et séché.
- Agiter et laisser pendant 30 minutes puis procéder à la C.P.G

❖ La chromatographie en phase gazeuse

Elle est répandue pour l'identification et la détermination quantitative des monosaccharides contenus dans les extraits polysaccharidiques. Elle nécessite une phase mobile gazeuse et une transformation des molécules à analyser à l'état gazeux. La séparation repose sur les différences de distribution des

monosaccharides entre une phase gazeuse et une phase liquide qui est à travers une phase solide.

- Principe

Les monosaccharides sont identifiés à partir de leur temps de rétention relatif comparé au temps de rétention relatif standard. Les masses des monosaccharides sont obtenues à partir des aires relatives. Le standard utilisé est le mannitol.

- Conditions opératoires

- Appareil : Carlo Erta 6000 Vega Serie 2 programme 1CU600

- Intégrateur : Shimadzu C-R6A

- Détecteur : Ionisation de flamme (FID) avec H<sub>2</sub> et air pour la flamme

- Injecteur : Split-splitless injecteur

- Colonne : DB-5 (jet w Scientific)

Colonne capillaire 'fused Silica)

Longueur 30m

Diamètre 0.32 mm

Epaisseur fil 0.25 µm

- Vecteur gaz Hélium

- Débit d'écoulement 1.8 ml/min

- Débit de séparation 15 ml/min

- Volume injecté 1.0ul

- T° d'injection 260° C

- T° de détection 310° C

- Programme de température 140° C 170° C avec une évolution de 1°C/ min

170° C 250° C avec une évolution 6°C/ min

250° C 300° C avec une évolution de 50°C/ min

- ❖ Procédure

Mettre l'appareil en marche et ouvrir les sorties de gaz : la pression de la sortie de H<sub>2</sub> à pression de 0.6Kg/cm<sup>2</sup> puis celle de l'air à 0.9Kg/cm<sup>2</sup>.

Presser (1GN) jusqu'à entendre le son qui rassure la présence de la flamme. Injecter rapidement l'échantillon et faire démarrer l'enregistreur en même temps (Coulibaly ; 2001).

- Chromatographie sur couche mince

Nous avons établi le profil chromatographique de nos extraits aqueux (5% et 20%) et de nos extraits éthanoliques (5% et 20%). Le système BAW (60 :15 :25) a été utilisé comme système de solvants.

Nous avons utilisé le réactif de Godin ;  $\text{FeCl}_3$  ;  $\text{AlCl}_3$  ; DDPH pour la révélation des plaques.

## 7- Formulation du sirop

### ➤ Matériels utilisés

- Les matériels techniques, ainsi que les différents appareils utilisés pour l'élaboration du sirop :

- Une tasse en acier inoxydable d'une capacité de 1litre
- Une plaque chauffante (ETA 2117)
- Une balance (AND Instruments LTS ; max 31kg ; min 0.2Kg ; e= 0.1)
- Un agitateur (une baguette)
- Un entonnoir pour filtrer
- Filtre : compresse
- Fiole jaugée d'une capacité de 500ml
- Fiole jaugée d'une capacité de 5 ml
- Une éprouvette graduée

### ➤ Sirop simple :

Nous avons préparé le sirop simple à chaud en prenant 165g de sucre local (sucre de Sukala) pour 100g d'eau distillée.

Mode opératoire :

- Mettre 500 ml d'eau distillée dans la tasse inoxydable d'une capacité de 1l
- Chauffer jusqu'à ébullition
- Mettre progressivement le sucre en remuant avec une baguette jusqu'à obtenir un ensemble homogène (dissolution complète du sucre).
- Filtrer deux fois de suite avec un papier filtre
- Laisser refroidir
- Mettre le sirop dans une fiole jaugée d'une capacité de 500ml préalablement taré

- Calculer la densité du sirop en divisant la masse du corps par son volume (KIFLOTTE ; 2005).

➤ Préparation du sirop médicamenteux

❖ Extraction du principe actif

25g de fruit de tamarin ont été mis dans 500 ml d'eau distillée ; soit 5g de fruit dans 100ml d'eau distillée et laissé en macération pendant 24 h : ensuite nous avons concentré au rotavapor à la température de 45 à 50° C jusqu'à élimination de 90% d'eau.

❖ Sirop médicamenteux

Mettre 10 parties de l'extrait concentré pour 100 parties en volume de sirop simple préalablement préparé avec la gomme arabique (0,5g ; 1g ; 2g). L'ajout de gomme arabique doit se faire progressivement et par petite quantité sur le sirop simple afin d'obtenir un mélange homogène. Cet ajout de gomme arabique se fait à chaud car celle-ci contient une peroxydase qu'on peut avoir intérêt à détruire par la chaleur (Hir, 2001). Et mesurer la densité.

En plus de ces trois sirops préalablement préparés nous avons élaboré aussi un sirop médicamenteux sans additif. C'est-à-dire mettre 10 parties de l'extrait concentré (principe actif) pour 100 parties en volume de sirop simple.

## 8- Contrôle de Qualité

➤ Test biologique : charge microbienne (*E.coli*, *Salmonella thyphi*)

❖ Prélèvement

Nous avons travaillé sur le sirop médicamenteux élaboré à partir de l'extrait aqueux à 5% de la pulpe.

❖ Suspension mère

Prendre 1g du sirop ; ajouté 9ml d'eau distillée, placer le tout au bain marie pendant 5 min à 47° C.

- Recherche d'*E.coli*

- Recherche en milieu liquide

Milieu bouillon BCP (Bromo crésol pourpre).

Prendre 1 ml de la solution mère ; mettre dans 1 tube contenant le bouillon BCP.  
Mettre le tube à 37° C pendant 48 h.

- Recherche en milieu solide

#### Milieu de culture : Drigasky

Prendre 0.2 ml (deux gouttes) de la solution mère ; mettre dans une boîte de Petri contenant le Drigasky.

Prendre 0.2 ml (deux gouttes) de la solution (BCP + sirop) ; mettre dans une boîte de Petri contenant le Drigasky.

Les différentes boîtes sont mises à 37° C pendant 24h.

#### Résultats milieu solide (milieu Drigalsky)

Si des colonies poussent, faire une galerie API.

Les colonies rouges correspondent à des coliformes.

#### Milieu EMB

Prendre 0.2ml (deux gouttes) de la solution (BCP+sirop) ; mettre dans la boîte de Pétri contenant l'EMB.

Mettre les boîtes à 37° C pendant 24h.

#### Résultats sur milieu EMB

Si les colonies poussent, faire une galerie API (à ce niveau nous avons fait une galerie classique en plus de la galerie API car nous voulions confirmer ou infirmer les résultats de la galerie API).

- Recherche de *Salmonella*

Le milieu de culture utilisé ici est la gélose *Salmonelle Shigelle* (gélose SS)

- Pré enrichissement

Prendre 1 ml de la solution mère, ajouter 5 ml de sélénite ; mettre en incubation pendant 24h à 37° C (sirop).

- Dépôt sur gélose SS :

Mettre 0.1ml du pré enrichissement sur gélose SS (en cadran) pendant 24h à 37° C

- Autre méthode

Prendre 0.2ml de solution mère ; mettre dans une boîte de Petri contenant la gélose SS à la température de 37° C pendant 24h.

➤ Densité du sirop

Nous avons pesé le sirop simple après refroidissement dans une fiole jaugé de 500ml préalablement taré. Ensuite nous avons calculé la densité en divisant la masse (en Kg) par le volume (en l) (KIFLOTTE ; 2005).

C'est la même procédure utilisée pour calculer la densité des sirops médicamenteux.

➤ Stabilité du sirop

Afin d'éviter les dépôts dans le sirop nous allons ajouter la gomme arabique à 0.5g, 1g, 2g sur certains sirops.

15 jours ; 30 jours et 60 jours ; 90 jours après la préparation du sirop nous allons contrôler la stabilité de celui ci en nous basant sur la couleur ; la saveur ; l'odeur ; le pH ; la présence de moisissure ; la présence ou non de dépôt dans le sirop.

➤ Limpidité du sirop

La limpidité est liée au faite que le sirop soit transparent, trouble mais aussi à la présence de dépôt (FPAQ, 2009).

➤ Détermination du pH

Pour déterminer le pH nous avons utilisé un papier pH.

## **PARTIE 3: RESULTATS**

---

## 1- Caractères organoleptiques et macroscopiques

Tous les échantillons ont une couleur noir chaud, d'odeur caractéristique et saveur sucrée acide. Le pourcentage de corps étrangers et les différents éléments étrangers sont reportés dans le Tableau N°II.

Tableau II: **Corps étrangers et leurs pourcentages dans les échantillons de fruit.**

<b>Echantillons</b>	<b>Pourcentage, nature des corps étrangers et nombre de graine des fruits</b>
Koutiala	<ul style="list-style-type: none"> <li>- % corps étrangers : 6.42</li> <li>- coque du fruit (majoritairement)</li> <li>- fibre et pédoncule</li> <li>- fruits secs dont on ne peut enlever la coque.</li> <li>- Les herbes sèches</li> <li>- Quelques débris de plastique</li> </ul>
Sorobougou	<ul style="list-style-type: none"> <li>- % corps étrangers : 4.22</li> <li>Majoritairement fibre et pédoncule détaché du fruit. Fils de tissu blanc dû à l'emballage. Fruit sec difficilement décortiqué.</li> <li>- Moisissure</li> <li>- Insectes et œufs d'insectes soit 4 œufs par fruit</li> <li>- 3 à 12 graines par fruit</li> </ul>
Bakaribougou	<ul style="list-style-type: none"> <li>- % corps étrangers : 3.85</li> <li>- pédoncule</li> <li>- Fibre de tissu</li> <li>- Morceau de branche</li> <li>- 5 à 14 graines par fruit</li> </ul>
Mandoli	<ul style="list-style-type: none"> <li>- % corps étrangers : 2.13</li> <li>- pédoncule et fibre du fruit</li> <li>- Plume d'oiseau</li> <li>- Fibre de tissu</li> <li>- Des insectes et œufs d'insectes soit 9 œufs par fruit</li> <li>- 4 à 12 graines par fruit</li> </ul>

## 2- Microscopie

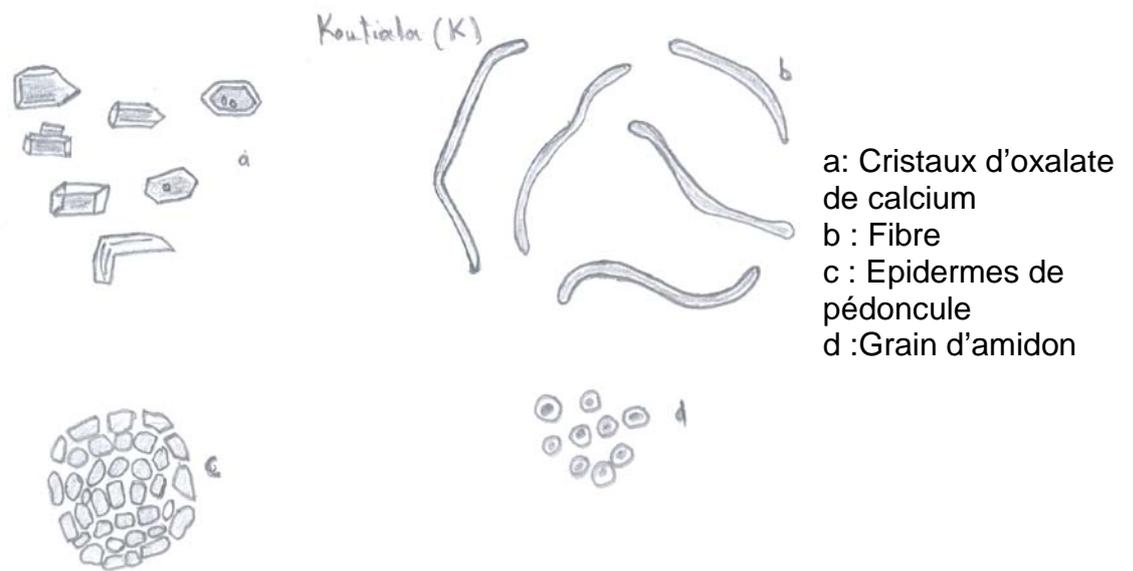


Figure 14: Echantillon : Koutiala

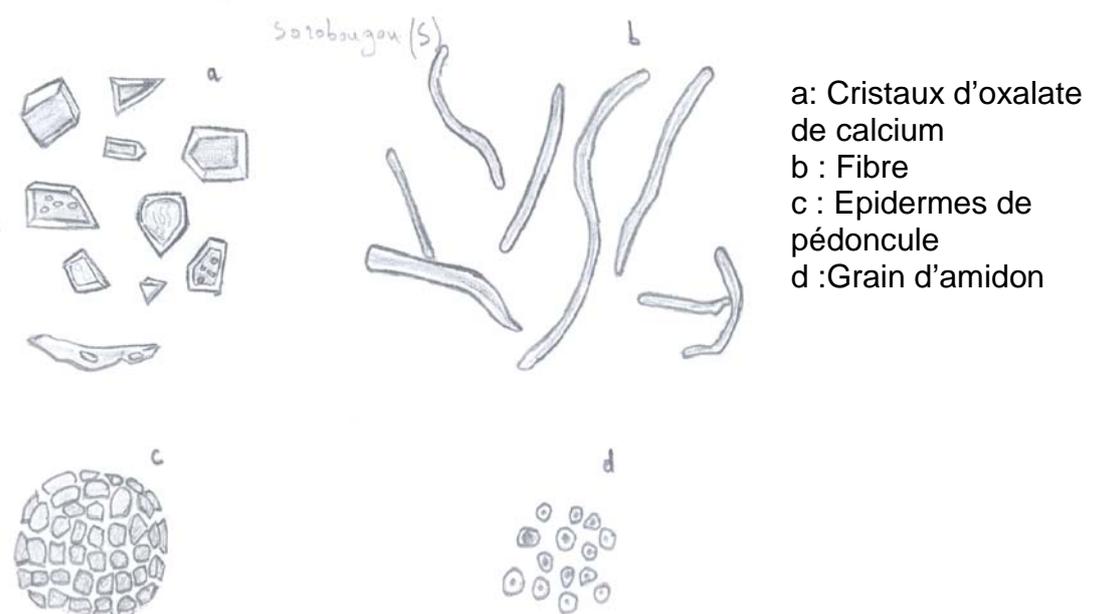


Figure 15: Echantillon de Sorobougou

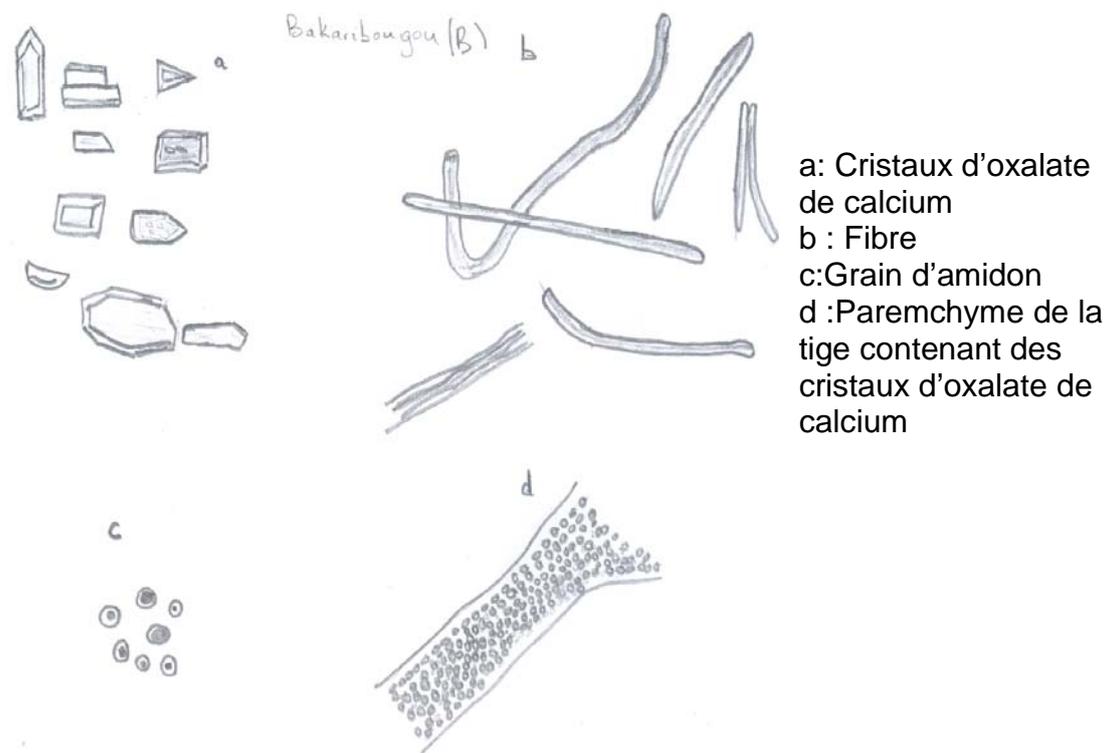


Figure 16: Echantillon de Bakaribougou

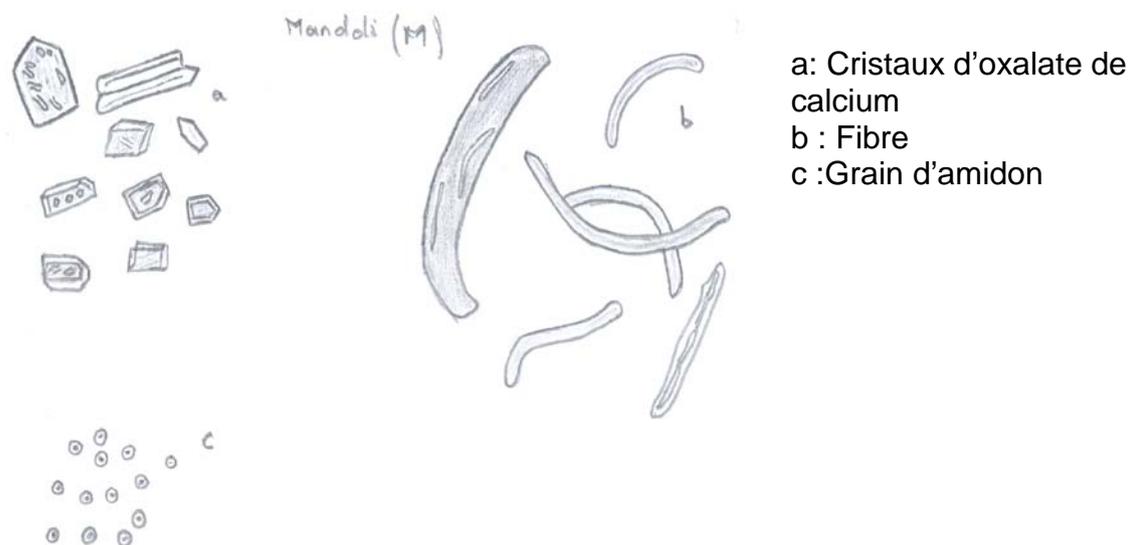


Figure 17: Echantillon de Mandoli

### 3- Charge microbienne sur le fruit

A l'issue de l'étude microbienne sur les différents fruits nous n'avons pas noté la présence d'agents pathogènes notamment *Escherichia.coli* et *Salmonella typhi*.

## 4- Réactions de caractérisation

Tableau III: Les résultats des réactions en tube à partir du fruit du tamarin

Recherche	Koutiala	Sorobougou	Bakaribougou	Mandoli
Oses et holosides	+++	+++	+++	+++
Polyuronides (mucilage)	+++	+++	+++	+++
Leucoanthocyanes	++	+	+	++
Anthocyanes	-	-	-	-
Anthracénosides combinés libres (Borntrager)	-	-	-	-
Anthracénosides combinés C-hétérosides	-	-	-	-
Anthracénosides combinés O-hétérosides (Borntrager)	-	-	-	-
Flavonoïdes : Génines flavoniques (Shibata)	-	-	-	-
Alcaloïdes	-	-	-	-
Coumarines	-	-	-	-
Caroténoïdes (carr et Price)	-	-	-	-
Saponosides : Mousse	-	-	-	-
Tanins : Réaction avec FeCl <sub>3</sub>	-	-	-	-
Tanins : réaction avec HCl	-	-	-	-
Tanins catéchiques : Réaction de Stiasny	-	-	-	-
Tanins galliques : Réaction de Stiasny	-	-	-	-
Composés réducteurs	-	-	-	-
Stérols et triterpènes : hétérosides triterpéniques (Lieberman)	-	-	-	-
Hétérosides cardiotoniques (Raymond-Martoud)	-	-	-	-
Hétérosides cardiotoniques (Keede)	-	-	-	-
Hétérosides cardiotoniques (Baljet)	-	-	-	-

Nous constatons que les quatre échantillons ont les mêmes constituants chimiques.

## 5- Extraits

Tableau IV: Rendement des macérés aqueux et éthanolique

Extraits	Rendement en %			
	Koutiala	Sorobougou	Bakaribougou	Mandoli
Macéré aqueux 5%	57.62	58.60	25.20	43.20
Macéré aqueux 10%	48.40	42.00	32.30	42.90
Macéré aqueux 20%	33.25	37.65	39.80	40.66
Macéré éthanolique 5%	34.80	29.00	35.00	44.80
Macéré éthanolique 10%	32.30	34.20	37.20	33.30
Macéré éthanolique 20%	34.25	32.25	29.40	37.95

Il ressort de ce tableau que l'eau permet d'extraire plus d'éléments que l'éthanol 70%. La macération aqueuse à 5% permet d'extraire plus d'éléments que les macérés aqueux à 10% et 20%.

## 6- Tableau récapitulatif de certains dosages

Tableau V: Dosage des substances extractibles par l'éther et la teneur en eau

Echantillons	Ether	Teneur en eau	
		MP	MA
Koutiala	0.4	10.68	4
Sorobougou	0.6	16.40	4
Bakaribougou	0.2	11.36	4
Mandoli	0.6	12.86	4

MP = méthode pondérale ; MA= méthode azéotropique

L'eau permet d'extraire plus d'éléments que l'éther et l'éthanol 70%. La teneur en eau par la méthode pondérale étant supérieure à 10%, les fruits peuvent s'altérer facilement si les dispositions nécessaires ne sont pas prises.

## 7- Cendres

La détermination des cendres s'est effectuée sur les lyophilisats

Tableau VI: **Pourcentages de cendre totale ; chlorhydrique et sulfurique à partir des extraits aqueux à 20%**

<b>Cendres</b>	<b>Koutiala</b>	<b>Sorobougou</b>	<b>Bakaribougou</b>	<b>Mandoli</b>
Cendre totale	3.10	3.70	4.43	2.98
Cendre chlorhydrique	0.22	0.13	0.22	0.22
Cendre sulfurique	3.32	5.01	5.00	3.65

L'échantillon de Sorobougou à la plus faible teneur en cendre chlorhydrique.

Tableau VII: **Pourcentages de cendres à partir des extraits éthanoliques à 20%**

<b>Cendres</b>	<b>Koutiala</b>	<b>Sorobougou</b>	<b>Bakaribougou</b>	<b>Mandoli</b>
Cendre totale	0.78	2.76	1.22	1.99
Cendre chlorhydrique	0.11	0.22	0.22	0.11
Cendre sulfurique	0.99	0.66	1.00	1.99

A ce niveau nous remarquons que les l'échantillons de Koutiala et de Mandoli ont les plus petites teneurs en cendre chlorhydrique.

## 8- Dosage de certains minéraux

Le dosage des extraits aqueux et éthanolique à 20% nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

Tableau VIII: **Teneur en éléments minéraux sur 100g d'extraits**

<b>Echantillons</b>	<b>Na<sup>+</sup> en mg</b>	<b>K<sup>+</sup> en mg</b>	<b>Ca<sup>++</sup> en mg</b>
Koutiala 20% aqueux	39.00	993.22	20.34
Koutiala 20% éthanolique	11.41	38.00	0.99
Sorobougou 20% aqueux	39.35	1738.00	25.32
Sorobougou 20% éthanolique	23.96	162.50	12.50
Bakaribougou 20% aqueux	39.87	1084.10	16.64
Bakaribougou 20% éthanolique	11.44	155.60	6.57
Mandoli 20% aqueux	86.17	2269.92	74.93
Mandoli 20% éthanolique	17.34	589.45	12.36

Seul l'échantillon de Bakaribougou (extrait aqueux à 20%) révèle la présence de Fer ( $1.16 \cdot 10^{-2}$  mg).

### 9- Détermination de la composition en monosaccharides des polysaccharides

Ce test a été effectué sur 2mg d'extrait aqueux à 10%.

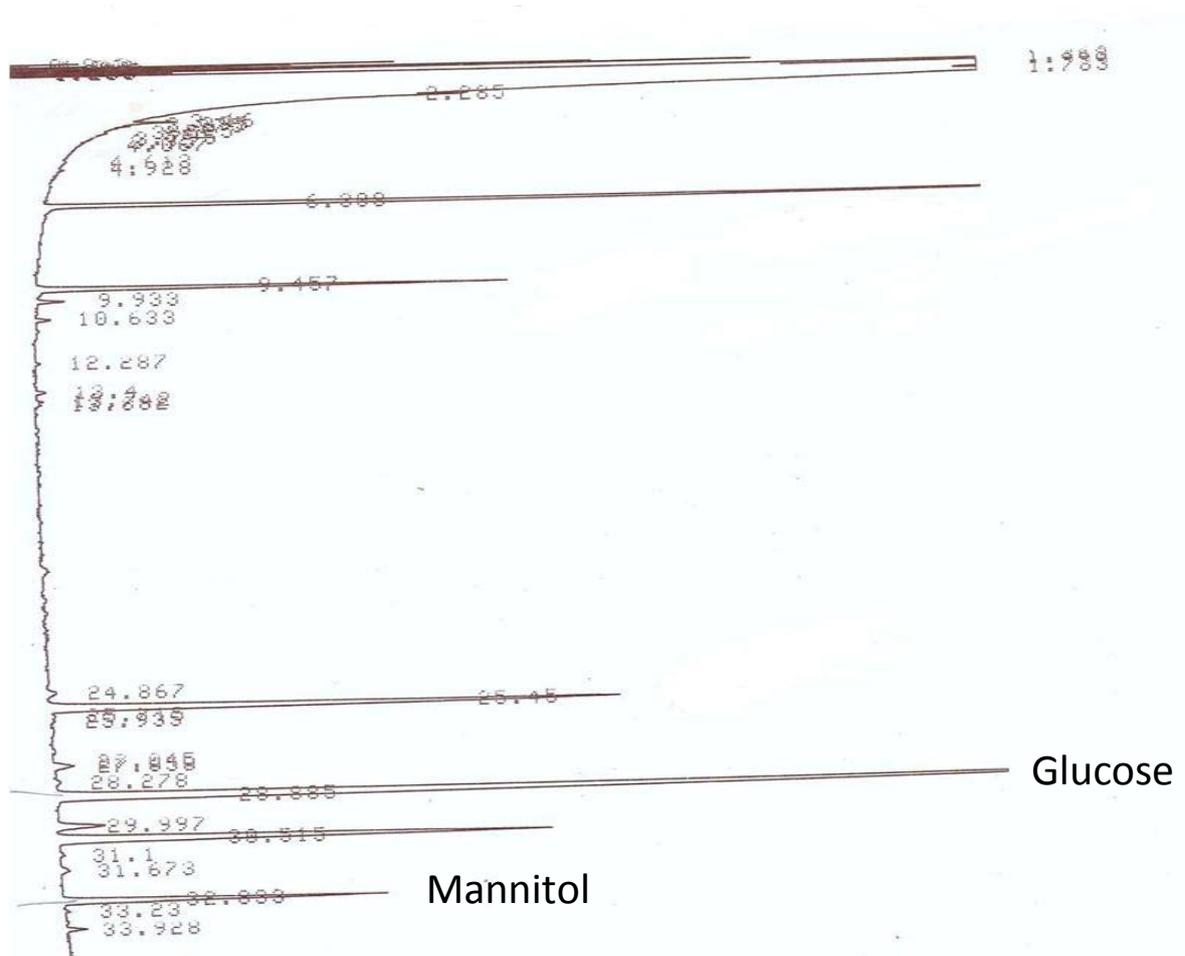


Figure 18: Chromatogramme de l'extrait aqueux de la pulpe de fruit *Tamarindus indica*

Tableau IX: **Composition en monosaccharides des polysaccharides de *T. indica***

<b>Echantillons</b>	<b>Glucose</b>
Koutiala	100
Sorobougou	100
Bakaribougou	100
Mandoli	100

Les polysaccharides des extraits aqueux sont principalement des glucanes  
Chromatographie sur couche mince

Tableau X: Rf et coloration des taches de *T.indica* récoltés des extraits aqueux et éthanoliques de Koutiala dans le système Butanol-Acide acétique-Eau (BAW) (60 :15 :25)

Localités/ Extraits	Rf	UV 366nm	Fluorescence	Godin
Koutiala 20% aqueux	0.11	Violet		
	0.19			
	0.30			
	0.36			Gris chaud
	0.64			Blanc sale
	0.95			Bleu violet
Koutiala 5% aqueux	0.13	Violet		
	0.18			
	0.25			
	0.30			Gris chaud
	0.35			
	0.95			Bleu violet
Koutiala 20% Ethanol	0.06	Violet		
	0.13			
	0.18			
	0.25			gris chaud
	0.35			
	0.95			Bleu violet
Koutiala 5% Ethanol	0.09	Violet		
	0.14			
	0.19			
	0.29			gris chaud
	0.35			
	0.95			Bleu violet

Aucune tache n'a été visible à UV 254 ; Aucune tache n'a réagi au FeCl<sub>3</sub> 10%, ce qui montre l'absence de tanin dans les différents échantillons. Au point de dépôt de tous les extraits nous avons obtenu des fluorescences jaunes et décoloration de la solution de DPPH.

**CONDITIONS**

**Echantillons testés** : Koutiala 20% ; 5% aqueux ; 20% ; 5% ETOH

**Plaque** : Silicagel 60 sans fluorescence

**Front du solvant** : 8 cm

**Dépôt** : 20ul

**Système de solvant** : BAW (60; 15 ; 25)

**Révélateur** : DDPH

Figure 19: **Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques révélé avec le DDPH**

Tableau XI: Résultats de la CCM des extraits aqueux et éthanoliques de Sorobougou dans le système Butanol-Acide acétique- Eau (BAW) (60 :15 :25)

Localités/ Extraits	Rf	UV 366nm Fluorescence	Godin
Sorobougou 20% aqueux	0.13	Violet	
	0.19		
	0.34	bleu violet	
	0.95	bleu violet	Bleu violet
Sorobougou 5% aqueux	0.05	Violet	
	0.15		Blanc sale
	0.20		
	0.34	bleu violet	Gris chaud
	0.95	bleu violet	Bleu violet
Sorobougou 20% Ethanol	0.06	Violet	Blanc sale
	0.26		Gris chaud
	0.95		Bleu violet
Sorobougou 5% Ethanol	0.06	Violet	Blanc sale
	0.15		Couleur chaire
	0.32		Gris chaud
	0.95		Bleu violet

Aucune tache n'a été visible à UV 254 ; Aucune tache n'a réagi au  $\text{FeCl}_3$  10%, ce qui montre l'absence de tanin dans les différents échantillons. Au point de dépôt de tous les extraits nous avons obtenu des fluorescences jaunes et décoloration de la solution de DPPH.



## CONDITIONS

**Echantillons testés :** Sorobougou 20 ; 5% aqueux ; 20% ; 5% ETOH

**Plaque :** Silicagel 60 sans fluorescence

**Système de solvant :** BAW (60 ; 15 ; 25)

**Dépôt :** 20  $\mu\text{l}$

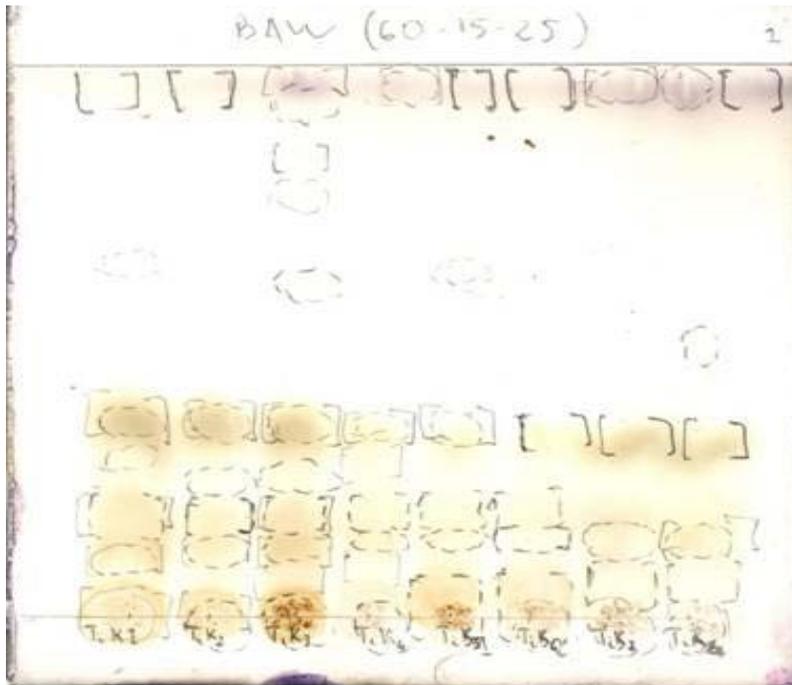
**Eluant :** BAW (60 :15 : 25)

**Front du solvant :** 8cm

**Révéléteur :**  $\text{AlCl}_3$

**Observation :** UV 365

Figure 20: Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques révélé avec le  $\text{AlCl}_3$

**CONDITIONS**

**Echantillons testés** : Koutiala 20%; 5 % aqueux ; 20% et 5% ETOH ; Sorobougou 20% ; 5% aqueux ; 20% et 5% ETOH

**Plaque** : Silicagel 60 sans fluorescence

**Front du solvant** : 8 cm

**Système de solvant** : BAW (60; 15 ; 25)

**Dépôt** : 20uL

**Révéléteur** : Godin

Figure 21: Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques révélé avec Godin

**CONDITIONS**

**Echantillons testés**: Sorobougou ; Bakaribougou ; Mandoli

**Plaque** : Silicagel 60 sans fluorescence

**Front du solvant** : 8 cm

**Système de solvant** : BAW (60; 15 ; 25)

**Dépôt** : 20uL

**Révéléteur** : DDPH

Figure 22: Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques révélé avec le DDPH

Tableau XII: Résultats de la CCM des extraits aqueux et éthanoliques de Bakaribougou dans le système Butanol-Acide acétique Eau BAW (60 :15 :25)

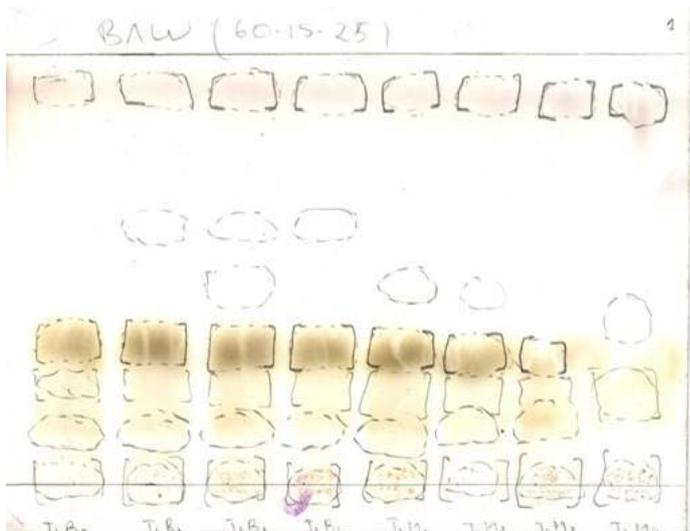
Localités/ Extraits	Rf	UV 366nm Fluorescence	Godin
Bakaribougou 20% aqueux	0.11	Violet	Terre d'ombre naturelle Gris froid
	0.24		
	0.33		
	0.91		
Bakaribougou 5% aqueux	0.13	Violet	Terre d'ombre naturelle Gris froid
	0,23		
	0.33		
	0.60		
	0.91		
Bakaribougou 20% Ethanol	0.13	Violet	Terre d'ombre naturelle Gris froid
	0.21		
	0,31		
	0,45		
	0,60		
	0,94		
Bakaribougou 5% Ethanol	0.13	Violet	Terre d'ombre naturelle Gris froid
	0,23		
	0.31		
	0.60		
	0.91		

Aucune tache n'a été visible à UV 254 ; Aucune tache n'a réagi au FeCl<sub>3</sub> 10%, ce qui montre l'absence de tanin dans les différents échantillons. Au point de dépôt de tous les extraits nous avons obtenu des fluorescences jaunes et décoloration de la solution de DPPH.

Tableau XIII: Résultats de la CCM des extraits aqueux et éthanoliques de Mandoli dans le système Butanol-Acide acétique-Eau (BAW) (60 :15 :25)

Localités/ Extraits	Rf	UV 366nm Fluorescence	Godin
Mandoli 20% aqueux	0.11	Violet	Terre d'ombre naturelle
	0.20		
	0.31		
	0,45		
	0.91		
Mandoli 5% aqueux	0.14	Violet	Terre d'ombre naturelle
	0,21		
	0.30		
	0.44		
	0.90		
Mandoli 20% Ethanol	0.13	Violet	Gris froid
	0.21		
	0,30		
	0,90		
Mandoli 5% Ethanol	0.21	Violet	Gris froid
	0,38		
	0.89		

Aucune tache n'a été visible à UV 254 ; Aucune tache n'a réagi au FeCl<sub>3</sub> 10%, ce qui montre l'absence de tanin dans les différents échantillons. Au point de dépôt de tous les extraits nous avons obtenu des fluorescences jaunes et décoloration de la solution de DPPH.

**CONDITIONS**

**Echantillons testés:** Bakaribougou 20% ; 5% aqueux ; 20% ; 5% ETOH et Mandoli 20% ; 5% aqueux ; 20% ; 5% ETOH

**Plaque :** Silicagel 60 sans fluorescence

**Front du solvant :** 8cm

**Système de solvant :** BAW (60; 15 ; 25)

**Depôt :** 20uL

**Révéléteur :** Godin

Figure 23: Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliqes révéle avec Godin

## 10- Sirop

Les sirops ont été conditionnés dans les flacons de 100 ml. Nous avons trois flacons de sirop pour chaque dose de sirop élaboré.



Figure 24: Photo des différents sirops élaborés

➤ Contrôle de Qualité du sirop

❖ Détermination de la charge bactérienne (*E.coli* ; *Salmonelle*)

A l'issue de l'étude microbienne sur les différents sirops nous n'avons noté ni la présence d'*E.coli* ; ni la présence de *Salmonelle*.

❖ Densité du sirop

La densité du sirop simple est de 1.31 à la température ambiante.

La densité du sirop médicamenteux (sans additif) : 1.28 à la température ambiante

La densité du sirop médicamenteux 0.5g de gomme arabique : 1.28 à la température ambiante.

La densité du sirop médicamenteux 1g de gomme arabique : 1.29 à la température ambiante.

La densité du sirop médicamenteux avec 2g de gomme arabique : 1.29 à la température ambiante.

❖ Stabilité du sirop

pH du sirop médicamenteux est égale à 3.

Après 15 jours, un mois, deux mois, trois mois nous avons constaté que la couleur ; l'odeur ; sont restés intacts.

Le pH reste inchangé. Il n'y a pas de formation de moisissure.

❖ Limpidité

On remarque la formation de dépôt dans tous les sirops. Cependant le sirop avec 2g de gomme à moins de dépôt.



Figure 25: **Couleur du sirop (DMT)**

## COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Le Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut Nationale de Recherche en Santé Publique (INRSP) du Mali, travaille avant tout dans la recherche phytochimique et pharmacologique des plantes médicinales maliennes.

Notre travail avait pour objectif de contribuer à l'étude anatomique, phytochimique de la pulpe du fruit de *Tamarindus indica* et à l'élaboration d'un sirop.

Dans le souci d'élaborer un sirop de bonne qualité, nous avons effectué notre étude sur quatre échantillons provenant de quatre localités différentes du Mali : Koutiala ; Sorobougou ; Bakaribougou, Mandoli, afin de choisir l'échantillon le plus apte (pouvant répondre au norme de l'OMS).

De l'étude macroscopique, il ressort que les échantillons de Sorobougou et Mandoli sont infectés par des insectes. Cela nous a incité à éliminer ces deux échantillons.

Dans un souci de résultat, nous avons effectué une étude microscopique à l'objectif 40. De cette étude, il ressort que les quatre échantillons ont les mêmes éléments que sont les cristaux d'oxalate de calcium ; les fibres et amidons. La présence d'oxalate de calcium et de fibre permet de confirmer les résultats des études antérieures (OUA ; 1985).

La présence de fibre justifie la propriété laxative du fruit de *Tamarindus indica*. (Hillon ; Jeunne et Aubert ; 1994)

Cependant l'amidon trouvé au niveau des différents échantillons ne figure pas dans la monographie.

Les échantillons de Koutiala et de Sorobougou ont révélé la présence d'épidermes des pédoncules. Cette présence pourrait s'expliquer par le fait que des parties d'épidermes se sont collées à la pulpe du fruit. C'est ce qui justifie aussi la présence de parenchyme de tige au niveau de l'échantillon de Bakaribougou.

Après analyse nous avons établi les quantités pour mener à bien nos extractions. Les extractions sont faites à 5% ; 10% ; 20%, et les solvants utilisés ont été l'eau et l'éthanol à 70%. Il ressort des résultats obtenus que l'eau permet d'extraire plus d'éléments que l'éthanol à 70%. Aussi le rendement de l'extraction à 5% est beaucoup plus élevé que celle de 10% et 20%. Cela pourrait s'expliquer par le fait

qu'à 10% et 20% la solution est vite saturée. Cela nous a amené à élaborer le sirop médicamenteux à partir de l'extrait aqueux à 5%.

En matière de contrôle de qualité du fruit, la teneur en eau étant supérieure à 10% (norme établies par la pharmacopée internationale) dans toutes les drogues. Les conditions d'avoir des réactions d'oxydation, de fermentation et de formation de moisissure dans nos drogues sont favorables (OUA, 1988). C'est ce qui a peut être favorisé l'apparition d'insectes sur les échantillons de Sorobougou, Mandoli qui ont les teneurs en eau les plus élevées. Pour freiner la prolifération et/ou l'apparition d'insectes sur les échantillons nous avons jugé nécessaire de les exposer dans la salle de séchage à l'air libre.

L'échantillon de Koutiala a présenté la plus faible teneur en eau (10.68%).

Les cendres totales renseignent sur la charge en éléments minéraux de la matière végétale et les cendres sulfuriques quant à elles résultent de la conversion des sels organiques en sulfates. Les cendres chlorhydriques nous renseignent sur la présence dans la drogue d'éléments siliceux (Adiza ; 2006). Cette dernière peut jouer un rôle important dans le choix de l'échantillon. Plus le taux de cendre chlorhydrique est faible, plus les extraits de plante sont de meilleures qualités (moins d'impuretés). Les échantillons de Koutiala et de Mandoli révèlent les taux de cendre chlorhydrique les plus faibles (0.11).

Le screening phytochimique de nos différents échantillons a révélé la présence de mucilage, de leucoanthocyanes et d'oses et holosides.

La plupart de ces groupes chimiques pourraient être extraits par l'eau, car celle-ci permet d'extraire plus d'éléments. La présence de mucilage peut être responsable de la propriété laxative du tamarin (Hillon ; Jeunne et Aubert ; 1994).

Selon les études antérieures, la pulpe du fruit de *Tamarindus indica* a montré des propriétés antibactérienne (Ross, 1999). Ces propriétés Antibactériennes pourraient être attribuées à la présence dans la pulpe de pectine (Kheraro et Adams 1974).

La chromatographie sur couche mince (CCM) a permis de confirmer certains résultats des réactions en tube notamment la présence de flavonoïde (leucoanthocyanes) à travers la coloration jaune avec comme révélateur le  $AlCl_3$ . Cette coloration jaune a été observée beaucoup plus au niveau des extraits éthanoliques que des extraits aqueux ; cela voudrait dire que l'éthanol 70% permet d'extraire plus facilement les flavonoïdes par rapport à l'eau.

Le révélateur universel de Godin a permis de détecter la présence d'éléments à travers les couleurs terre d'ombre naturelle et gris froids ; jaune ; gris chaud ; blanc sale ; bleu violet ( $R_f$  compris entre 0.15 et 0.95). Et la couleur jaune pour le DDPH permet de signifier la présence d'antiradicalaires. Cette activité antioxydante est probablement due à la vitamine C.

La recherche de tanin avec le  $FeCl_3$  a montré clairement l'absence de cet élément, ce qui confirme une fois de plus les réactions en tubes.

Les résultats de l'ionogramme de nos extraits montrent leur richesse en éléments minéraux notamment le Sodium ; le potassium et le calcium. L'élément majoritaire est le potassium confirmant ainsi les résultats de Bruneton en 1999.

Le tamarin en plus de son utilisation contre la constipation pourrait être proposé dans le traitement de troubles respiratoires car le potassium (taux élevé) est un régulateur de la respiration (Gilliland; 2002).

La présence de sodium dans le fruit de *Tamarindus indica* L pourrait expliquer le fait qu'il soit utilisé contre la constipation. En effet le Na est reconnu pour sa capacité de rétention hydrique ce qui lui permet de lutter contre la constipation.

Seul l'échantillon de Bakaribougou (extrait aqueux à 20%) révèle la présence de fer ( $1.16 \cdot 10^{-2}$  mg) : en très faible quantité. La pulpe du tamarin est donc pauvre en fer. Ce résultat confirme les travaux antérieurs (ICUC; 2001)

Globalement l'extrait aqueux permet d'extraire plus d'éléments minéraux que l'extrait hydroalcoolique (éthanol 70%). Voici là une raison supplémentaire d'élaborer le sirop à partir des extraits aqueux.

Au vu des résultats de l'ionogramme, si nous devons choisir un échantillon pour l'élaboration du sirop se serait l'échantillon de Mandoli (Na : 86.17mg/100g ; K : 2269.92 mg/100g; Ca : 74.93mg/100g) plus riche en éléments minéraux. Cependant cet échantillon n'a pas été retenu du à la présence d'insecte.

La détermination de la composition en monosaccharides des polysaccharides a permis d'identifier le glucose. Mais pas de fructose comme indiqué dans les travaux antérieurs. Cependant ce sont deux hexoses.

L'appareil utilisé ne permet peut être pas de détecter la fonction cétone ; cela pourrait expliquer l'absence de fructose. En effet la différence fondamentale entre le

fructose et le glucose est que le fructose possède une fonction cétone alors que le glucose possède plutôt une fonction aldéhyde (Brown ; 1999)

Une des indications du glucose est la réhydratation habituelle et la prévention des déshydratations (Bruneton, 1993). Propriété qui appuie celle du sodium.

Après toutes ces analyses l'échantillon choisi est celui de Koutiala car dépourvu d'insecte, cet échantillon à la plus faible teneur en eau, et en cendres chlorhydriques, et une quantité importante d'éléments minéraux.

Le sirop simple préparé à une densité légèrement inférieure à la normale (1.32>1.31). Cette différence est peut être due à la méthode utilisée (méthode de calcul).

La densité du sirop sans additif et avec 0.5g gomme est de 1,28 ;

Par contre les sirops médicamenteux (1g et 2g de gomme arabique) ont une densité de 1,29. Le sirop médicamenteux de *Tamarindus indica* à une densité supérieure à celle du sirop Balembo adulte (1.24) qui est un sirop élaborer au niveau du Département de Médecine Traditionnelle.

Nous n'avons pas constaté de germes pathogènes notamment *E.coli* et *salmonella typhi* dans les sirops au contrôle de qualité. Cependant on constate des dépôts au fond du sirop (ces dépôts existaient depuis le jour de la préparation du sirop). Cependant le sirop avec 2g gomme arabique pour 100ml de sirop simple a moins de dépôt par rapport aux autres sirops. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la gomme arabique confert une viscosité élevé et stabilise le sirop.

Aussi, la présence de dépôt peut être dû à la qualité du sucre utilisé (peut être que la qualité du sucre de sukala, n'est pas appropriée pour l'élaboration du sirop).

La bonne conservation du sirop peut être dû à la présence de vitamine C dans le fruit (Hir ; 1986).

## CONCLUSION

Aux termes de notre étude, il ressort que *Tamarindus indica* peut présenter des vertus thérapeutiques justifiant son utilisation en médecine traditionnelle.

Le contrôle de qualité de la matière première végétale nous a permis de révéler la présence de fibre par la microscopie. Lequel élément, doué de pouvoir hygroscopique élevé entraîne une augmentation de l'hydratation.

Les études phytochimiques nous ont permis de connaître la composition chimique de la pulpe de fruit du tamarinier que sont les mucilages, les oses et holosides, et flavonoïdes (Leucoanthocyanes). Les mucilages pourraient être responsables de l'activité laxative.

Nous avons élaboré les sirops selon quatre formulations (sans additif et avec additif à 0.5g ; 1g ; 2g de gomme arabique). Nous n'avons pas trouvé de différences significatives entre les différentes formulations. Sauf qu'avec le sirop à 2g d'additif il y' a moins de dépôt. Il faudrait peut être augmenté la quantité de gomme arabique pour éviter les dépôts.

Il serait important de continuer ce travail afin d'élucider la dose nécessaire à la propriété laxative.

## RECOMMANDATIONS

Ainsi nous recommandons :

### **Au Département de Médecine Traditionnelle :**

De poursuivre les investigations sur le fruit de *Tamarindus indica* en faisant des tests cliniques afin de déterminer la dose adéquate pour un patient.

De mettre en place une structure complète de contrôle de qualité du sirop.

### **Aux populations :**

Le régime alimentaire est l'une des principales causes de la constipation. Il serait bien que la population en tienne compte.

### **Aux gouvernements des pays en développement notamment le Mali :**

Mettre à la disposition du DMT les moyens pour mener à bien nos recherches.

## REFERENCES

Adiza Ammadou; Etude d'une recette traditionnelle ; les écorces de tronc de *Sclérocarya birea* Hosch et de *Uapaca togoensis* Pax utilisé dans le traitement du diabète ;107 p

Arama Ené Augustin (1981) ; Médecine traditionnelle en pays dogon au Mali ; 143p

Bhatia et Al (1969), Indian J. Chem., 7,123

Boullard Bernard (2001); plantes médicinales du monde ; réalité et croyances édité par ESTEM à Paris; 636p

Brown Eric (1999); traité de chimie organique ; 457p

Bruneton (1993) ; pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales 2<sup>ème</sup> édition ; 915p.

Bruneton Jean (1999) ; pharmacognosie phytochimie des plantes médicinales 3<sup>ème</sup> édition ; 1120p.

Burkill H.M (1985); The useful plants of west tropical africa vol 3 famille J-K; (857-175)

Chambers, RE, and Clamp J.R (1971) An assessment of methanolysis and other factors used in the analysis of Carbohydrate-containing materials. Biochemical Journal, 25, 1009-1101

Commission permanente de la pharmacopée par l'ordre des pharmaciens (1983) ; pharmacopée française VIII édition ; 1890p

Coulibaly Assétou (2001); Etude des plantes utilisées dans le traitement des plaies au Mali. Polysaccharide de *Biophytum petersianum* Klotz ; thèse de pharmacie ; 101p

Damodaran et Rangachari, J. sci. Indust. Res. ,1945-46, 4298

Fortin Daniel ; Lô Modou ; Maynard Guy (1997); Plantes médicinales du Sahel ; 280p

Gilliland Franck (2002) American journal of Epidemiology; 125(2):125-31

Graham L PATRICK (2001); Chimie pharmaceutique ; 629p ;

Hillon P ; Le Jeune Cl.; Aubert P ; Casassus Ph (1994); THERAPEUTIQUE : De la physiopathologie au traitement ; Edition Frison-Roche ; 890p

Hir A. (1986) Abrégé de pharmacie galénique, formes pharmaceutique, 5<sup>ème</sup> édition ; 381p.

Hir A. (1997) Abrégé de pharmacie galénique ; excipients ; opération et forme pharmaceutique ; 2<sup>ème</sup> édition ; 345p

Hir A. (2001) Abrégée de pharmacie galénique ; Bonne pratique de fabrication des médicaments ; 8<sup>ème</sup> édition Masson Paris; 402p

Imam S; Azhar I; Hasan MM; Ali MS; Ahmed SW; revu Pak J Pharm science paru 2007 Apr: tome 20(2): page 125-7; Pubmed (leaf of *Tamarindus indica* chemical)

Institut Pasteur (1981); Milieux et Réactifs de laboratoire pasteur ; 589 p

International Centre for Underutilised Crops University of Southampton (2001); Tamarind *Tamarindus indica* L.; 30p

Jackson Betty P; Derek W Snowdon (1990); atlas of microscopy of medicinal plants culinary herbes and spices; 257p

Kerarho J. et Adams J. G (1974) ; la pharmacopée sénégalaise traditionnelle ; Plante médicinale et toxique édition Virgot et frère, Paris, 1011p

Kodio Aldiouma (1986) contribution à l'étude de la consommation des sirops antitussifs en république du Mali : Evaluation des besoins et amélioration de la mise au points du sirop Balembo ; thèse de pharmacie ; 53p

KOKWARO J.O. (1993); Médicinal plants of East Africa; Kenya litterature bureau Nairobi ; 401p

Lavergne R. ; Vera R. (1989); Médecine Traditionnelle et pharmacopée étude ethnobotanique des plantes utilisée dans la pharmacopée traditionnelle à la réunion ; page 236

Malgras Denis (1992) ; Arbre et arbuste guérisseur des savanes malienne ACCT ; 456p

Martinello F, Soares SM; Franco JJ, Santos AC, Sugohara A; Garcia SB; Curti C; Uyemura SA (2006) ; Food Chem Toxicol ; 44(6) : 810-8

O MS (1980); pharmacopée internationale ; méthode générale d'analyse ; 3<sup>ème</sup> édition ; volume 1 ; 223p

OUA (Organisation de l'Unité Africaine) Commission Scientifique Technique et de recherche (1985); Pharmacopée africaine; vol1 ; première édition ;

OUA (Organisation de l'Unité Africaine) Commission Scientifique Technique et de la Recherche (1988) ; Pharmacopée africaine ; 264p

OUA (Organisation de l'Unité Africaine) Commission Scientifique Technique et de la Recherché; Pharmacopée africaine; Méthodes générales d'analyses. Première édition Lagos Nigeria 1998 ; 254p

Parramon M José (1973) ; comment peindre à l'huile, édition Bordas ; 589p

Ross A. Ivan (1999); Medicinal plant of the world; 415p

Toukara Aminata (2007); Etude de l'activité hepatoprotectrice de deux plantes médicinales du Mali : *Anogeissus leiocarpus* Guill et Perr et *Terminalia macroptera* Guill et Perr. (*Combretacée*) ; thèse de pharmacie ; 169p

[http://fr.articlesbase.com/article\\_390521.html](http://fr.articlesbase.com/article_390521.html)

L'Eau de vie et de santé-l'importance De Boire Suffisamment D'Eau Chaque Jour  
18-04-2008

[http// www.siropperable.ca/classification.aspx](http://www.siropperable.ca/classification.aspx); fédération des producteurs acéricoles du Québec ; 2009

[WWW.acrouen.fr/premier\\_degré/prestteia\\_76/ressources\\_écoles\\_sciences/Kiflotte.htm](http://www.acrouen.fr/premier_degré/prestteia_76/ressources_écoles_sciences/Kiflotte.htm)

Défi science pour les cycles1 / 2 / 3 KIFLOTTE ; 2005

**ANNEXES****COMPOSITION DES CONSTITUANTS DES MILIEUX DE CULTURE**

- Gélose lactosée à l'éosine et au bleu de méthylène (EMB) (Milieu de Teague-Lévine)

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Peptone bactériologique .....	10
Phosphate dipotassique .....	2
Lactose.....	10
Eosine.....	0.4
Agar.....	15
PH : 6.8 (environ)	

- Bouillon de sélénite de sodium

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Peptone bactériologique .....	5
Phosphate de sodium.....	10
Lactose.....	4

- Gélose lactosée de Drigalsky

Composition en g par litre d'eau distillée

Tryptone.....	15
Extrait de viande.....	3
Extrait autolytique de levure.....	3
Desoxycholate de sodium.....	1
Thiosulfate de sodium.....	1
Lactose.....	15
Cristal violet.....	0.005
Bleu de bromothymol.....	0.08
Agar agar .....	11
pH : 7	

➤ Gélose *Salmonelle Shigelle*

Composition en gramme par litre d'eau distillée en gramme par litre

Peptone .....	5
Extrait de viande de bœuf.....	5
Sels biliaires.....	4.2
Citrate de sodium.....	10
Thiosulfate de sodium .....	8.5
Citrate de fer .....	2
Lactose.....	10
Rouge neutre .....	0.025
Vert brillant .....	0.003
Agar agar.....	12
Ph : 7.3	

## ➤ Bouillon lactosé bilié ou vert brillant

Peptone bactériologique .....	10
Bile de bœuf .....	20
Lactose .....	10
Vert brillant .....	0.0133
pH: 7.4	

**Composition des réactifs**

## ➤ Réactif de BALJET

Acide picrique.....	1 g
Ethanol à 50° alcoolique q s p.....	100 ml

## ➤ Réactif de DRAGENDORFF

Nitrate de bismuth pulvérisé.....	20,80 g
Iode.....	38,10 g
Iodure de sodium anhydre.....	200 g
Eau distillée q s p.....	1000 ml
Agiter pendant 30 min	

## ➤ Réactif du DPPH

1,1 diphényl 2 picrylhydrazyle en solution méthanolique à 2 mg / ml (M / V).

## ➤ Réactif de FEHLING

Solution A :

CuSO<sub>4</sub> ..... 35 g  
 Eau distillée.....500 ml  
 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.....5 ml

Laisser refroidir et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.

Solution B :

Sel de Seignette.....150 g  
 Eau distillée.....500 ml

Refroidir et ajouter 300 ml de lessive non carbonatée à 1 litre avec de l'eau distillée.

**NB** : Mélanger les deux solutions à volume égal au moment de l'emploi.

## ➤ Réactif de GODIN

Solution A :

Vanilline .....1 g  
 Ethanol à 95° alcoolique.....1000 ml

Solution B :

Acide perchlorique.....3 ml  
 Eau distillée.....100 ml

Mélanger les deux solutions au moment de l'emploi, ensuite pulvériser sur les plaques CCM avec une solution de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 4 %.

## ➤ Réactif de GUIGNARD (Papier picrosodé)

Acide picrique .....1 g  
 Carbonate de sodium.....10 g  
 Eau distillée q s p.....100 ml

## ➤ Réactif de KEDDE

Acide dinitro 3,5 benzoïque.....1 g  
 Ethanol à 95 ° alcoolique q s p.....100 ml

## ➤ Réactif de MAYER

Iodure de potassium.....	25 g
Chlorure mercurique.....	6,77g
Eau distillée q s p.....	50 ml

## ➤ Réactif de RAYMOND MARTHOUD

1,3 dinitrobenzène.....	1 g
Ethanol à 96° alcoolique q s p.....	100 ml

Concernant l'indentification des couleurs nous nous sommes référés sur le livre de José M Parramon intitulé (1994) « comment peindre à l'huile »

L'indentification des éléments microscopiques ont été effectués sur la base du livre Jackson et Snowdon intitulé atlas of microscopy of medicinal plants culinary herbs and Spices ; 1990

Les différents milieux utilisés pour la recherche microbienne sont répertorié dans un livre de l'institut pasteur « Milieux et réactifs de laboratoire pasteur » ; 1981

## FICHE SIGNALITIQUE

**TITRE:** Contrôle de qualité et formulation galénique (sirop) de la pulpe de fruit de *Tamarindus indica* Linn (*Caesalpinaceae*)

**NOM:** DIARRASSOUBA

**PRENOM:** Mamadou Lamine

**VILLE DE SOUTENANCE:** Bamako

**PAYS D'ORIGINE:** Mali

**LIEU DE DEPOT:** Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie

**SECTEUR D'INTERET:** Médecine traditionnelle

## RESUME

Notre recherche a porté sur l'étude phytochimique et l'élaboration d'une forme galénique de la pulpe de *Tamarindus indica*. Ces études ont porté sur quatre échantillons provenant de 4 localités différentes du Mali en vue de choisir l'échantillon le plus apte.

Le screening phytochimique réalisé sur les différents échantillons a mis en évidence différents groupes chimiques dont certains ont une importance reconnue dans le domaine de la médecine. C'est le cas des mucilages qui ont une bonne propriété laxative.

La chromatographie a permis de confirmer certaines réactions en tubes.

Le solvant le plus apte à faire l'extraction est l'eau ; et pour extraire plus d'élément il faut faire une extraction à 5%.

Les études macroscopiques, physico-chimiques, microbiennes révèlent que l'échantillon de Koutiala est le plus apte à l'élaboration du sirop.

Après le contrôle de qualité du sirop médicamenteux élaboré à partir de l'extrait aqueux à 5%, nous avons constaté que le sirop se conserve bien.

### SERMENT DE GALIEN

- ❖ Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :
- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- ❖ D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et de sa dignité humaine.
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels
- ❖ Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.
- ❖ Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure