

**MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE,
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



UNIVERSITE DE BAMAKO



Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS)

Année universitaire : 2007– 2008

N°

TITRE

**ETUDE DE LA PHYTOCHIMIE ET DE
L'EFFET HYPOGLYCEMIANT DE TROIS
(3) PLANTES UTILISEES DANS LA
PHARMACOPEE TRADITIONNELLE AU
MALI**

THESE

**Présentée et soutenue publiquement le ...
Devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie**

Par

Mr Samba SANOGO

Pour obtenir le Grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'état)

COMPOSITION DU JURY

Président: Pr SIDIBE Assa TRAORE

Membre: Dr Antoine NIENTAO

Membre: Dr Chiaka DIAKITE

Codirectrice de thèse : Dr Rokia SANOGO

Directeur de thèse: Pr Drissa DIALLO

Sommaire

Introduction	6
Motivations et Objectifs	9
Chapitre I : Généralités	11
1-Définitions.....	11
2- Classification du diabète et trouble de la glycorégulation	11
3- Physiopathologie du diabète	11
3-1- Diabète de type 1 :	11
3-2-Diabète de type 2 :	12
4- Complications	13
5- Traitements	13
5-1- Règles hygiéno-diététiques :	13
5-2- L'insulinothérapie :	14
5-3- Les hypoglycémiant oraux :	15
5-4- Rappel sur les antioxydants :	20
6- Diabète et médecine traditionnelle	21
6-1- Sclerocarya birrea (Hochst)	22
6-2- Stylosanthes mucronata Willd	27
6-3- Annona senegalensis Pers.....	30
Chapitre II : Etudes phytochimiques	36
1- Méthodologie :	36
1-1- Matériel :	36
1-2- Dosages :	36
1-3- Réactions de caractérisations	40
1-4- Extractions	48
1-5- Chromatographie	51
2- Résultats	53
2-1- Dosages.....	53
2-3- Groupes chimiques caractérisés :	54
2-4- Extraits :	55
2-5- Données chromatographiques.....	56
1- Analyses et Discussion :	64
Conclusion.....	65
Chapitre III : Tests biologiques	67
1- Méthodologie	67
1-1-Tests antioxydants :	67
1-2-Test de l'activité antidiabétique.....	67
2- Résultats	71
2-1- Activité antioxydant :	71
2-2- Activité antidiabétique.....	73
3- Analyses et Discussion	78
Conclusion.....	80
Chapitre IV : Evaluation clinique du Diabetisane.....	83
1- Méthodologie	83
2-Résultats :	88
3- Commentaires et Discussion	98
Conclusion :	102
Bibliographie	103

ABREVIATIONS

° : degré

°C : degré Celsius

µl : microlitre

µg : microgramme

1, 1-D.P.P.H. : 1-1 Diphényl -2- pycril hydrazile.

A. senegalensis : *Annona senegalensis*

A.A. : acide aminé

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium

A.M.M.: Autorisation de Mise sur le Marché

A.U.C. : aire sous la courbe

B.A.W.: butanol-acetic acid-water

C.C.M.: chromatographie sur couche mince

CHCl₃ : chloroforme

D.M.T. : département médecine traditionnelle

Déc. *A s* = décocté lyophilisé d'*Annona senegalensis*

Déc. ext. *A s* = décocté extemporané d'*Annona senegalensis*

Dia : diabétique

Diab : diabétique

E.S : écart type

EtOH : éthanol

F.A.s. : feuille d'*Annona senegalensis*

F.M.P.O.S. : faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie

FeCl₃ : Chlorure ferrique

g : gramme

Glyc 120 min = glycémie à 120 min après l'administration des drogues

Glyc 180 min = glycémie à 180 min après l'administration des drogues

Glyc 60 min = glycémie à 60 min après l'administration des drogues

Glyc de base = glycémie de base

H.P.V.O. : hyperglycémie provoquée par voie orale

H.T.A : Hypertension artérielle

H₂SO₄ : acide sulfurique

HCl : acide chlorhydrique

I.M.C : indice de masse corporelle

I.R.S.: insulín receptor substance

Inf. ext. *S. m* = infusé extemporané de *Stylosanthes mucronata*

Inf. *S m* = infusé lyophilisé de *Stylosanthes mucronata*

K⁺ : Potassium

Kg: kilogramme

KOH : hydroxyde de potassium

l : litre

M = moyenne

m : mètre

M : moyenne

M.T.A. médicament traditionnel amélioré

m²: mètre carré

MeOH : méthanol

mg : milligramme

ml : millilitre

mmol : millimol

mn : minute

Na⁺ : Sodium

nm : nanomètre

O.M.S. : Organisation mondiale de la santé

P.S.S.m : partie supérieur de *Stylosanthes mucronata*

PM : poids moléculaire

P.V.D : pays en voie de développement

Rf : facteur de rétention (rapport frontal)

S. mucronata : *Stylosanthes mucronata*

Témoins : sujets non diabétiques

U.V. : ultra-violet

Introduction

Introduction

Le diabète sucré est un état d'hyperglycémie chronique qui peut résulter de nombreux facteurs, d'une part environnementaux, d'autre part génétiques les deux souvent agissant ensemble. Sa gravité n'est pas le fait des complications aiguës, plus rares depuis l'avènement de l'insuline, mais plutôt des lésions dégénératives chroniques telles que les angiopathies et les neuropathies qui sont responsables d'une morbidité importante et d'une diminution de l'espérance de vie des diabétiques [1].

L'anomalie principale du diabète est un déficit de sécrétion d'insuline qui est isolé ou associé à une résistance à l'action de l'insuline ou une insulino-résistance seulement.

Dans les pays en voie de développement l'explosion de l'épidémie du diabète, est la conséquence directe de l'apparition massive du surpoids et de l'obésité. Cette explosion de l'obésité qui concerne autant la classe aisée que la classe populaire, est essentiellement liée à l'apparition d'une transition nutritionnelle progressive. La transition nutritionnelle est définie comme une modification progressive du régime alimentaire avec notamment une nette consommation des matières grasses d'origine animale, de glucides, de la sédentarité et de l'absence d'exercice physique.

Au Mali, une enquête menée dans la commune 2 du district de Bamako en juin 2006 a montré que sur 397 personnes testées, 34 nouveaux cas de diabète ont été dépistés soit un taux d'incidence de 8,5% [2]. A Sikasso, troisième région du Mali, 91 nouveaux cas de diabète ont été dépistés sur 660 personnes testées soit un taux de 11,8% [2].

On passera en 2000 de 171 millions de personnes atteintes à 366 millions en 2030 soit une prévalence de 2,8% à 4,4% dans l'hypothèse favorable où l'obésité ne progressera pas. Les PVD compteront alors 76% des patients diabétiques dans le monde [3].

C'est le diabète de type 2 qui pose un véritable problème de santé publique. Il représente 80% des cas de diabète [1]. Sa prévalence augmente parallèlement au vieillissement, à l'urbanisation, à la sédentarisation, et au développement de l'obésité dans les pays industrialisés et aussi dans les pays en voie de développement.

La prise en charge des diabétiques dans les pays en voie de développement est problématique, car d'une part, le traitement clinique est extrêmement coûteux, et d'autre part le prix des médicaments conventionnels est hors de portée des populations à revenu modéré.

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 80% de la population africaine utilisent la médecine traditionnelle pour leur besoin en soins de santé.

Cette médecine relève d'un système de pensée qui reste essentiel dans la vie de la plupart des africains. Les malades consultent des tradithérapeutes qu'ils aient ou non les moyens d'accéder aux traitements de la médecine moderne [4].

Une bonne connaissance des éléments chimiques peut contribuer à l'amélioration et à la valorisation de cette médecine.

Ainsi, le département médecine traditionnelle en collaboration avec les tradithérapeutes assure la recherche et le développement des médicaments traditionnels améliorés, dont la « diabétisane » à base des feuilles de *Sclerocarya birrea* et est utilisé dans le traitement du diabète.

De nombreuses études scientifiques ont démontré les propriétés hypoglycémiantes des plantes africaines comme *Sclerocarya birrea* sur des animaux [5]. C'est pourquoi nous nous sommes proposé à étudier l'effet hypoglycémiant de *Sclerocarya birrea* Hochst, d'*Annona senegalensis* Pers et de *Stylosanthes mucronata* Willd chez l'animal et chez l'homme afin de vérifier l'efficacité biologique.

Dans un premier temps, nous ferons quelques rappels sur le diabète et donner les éléments de monographies des trois plantes étudiées. La deuxième partie sera consacrée à l'étude de la phytochimie de l'*Annona senegalensis* et *Stylosanthes mucronata*, des activités biologiques de ces deux plantes. Dans la dernière partie, nous évaluerons l'effet hypoglycémiant du Diabétisane chez les personnes diabétiques et non diabétiques.

Motivations et Objectifs

Motivations et Objectifs

Motivations

- Une contribution à la prise en charge des patients diabétiques ;
- Une valorisation de la médecine traditionnelle ;
- Un élargissement des gammes de MTA ;
- Un approfondissement des études déjà menées sur certaines plantes utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète.

Objectif général :

- Evaluer l'effet hypoglycémiant de trois plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle au Mali.

Objectifs spécifiques :

- Identifier les groupes chimiques présents dans *Annona senegalensis* et *Stylosanthes mucronata* ;
- Déterminer l'activité antioxydante des extraits d'*Annona senegalensis* et de *Stylosanthes mucronata* ;
- Déterminer l'activité hypoglycémiante des extraits d'*Annona senegalensis* et de *Stylosanthes mucronata* sur des animaux ;
- Déterminer l'effet hypoglycémiant du Diabetisane sur des sujets diabétiques et des sujets non diabétiques ;
- Déterminer la meilleure posologie d'utilisation du Diabetisane ;
- Déterminer les effets secondaires de *Sclerocarya birrea* ;

Généralités

Chapitre I : Généralités

1-Définitions

Le diabète sucré est défini comme un état d'hyperglycémie chronique, qui peut résulter de nombreux facteurs génétiques et liés à l'environnement, souvent agissant de « concert » [(Organisation Mondiale de la Santé, ou) OMS, 1980].

L'hyperglycémie est elle-même définie comme la glycémie à partir de laquelle apparaissent les complications chroniques du diabète, et en particulier la rétinopathie. Il existe trois moyens de quantifier cette hyperglycémie pour parler de diabète :

- La glycémie à jeun sur plasma veineux supérieure ou égale à 1,26g/l soit 7mmol/l à deux reprises,
- La glycémie aléatoire supérieure ou égale à 2g/l soit 11, 1mmol/l, plus les symptômes du diabète,
- La glycémie à la 2^{ème} heure de l'HGPO supérieure à 2g/l soit 11, 1mmo/l.

2- Classification du diabète et trouble de la glycorégulation

Il y a principalement deux types de diabète :

- le diabète de type 1 : idiopathique ou auto-immune ;

- le diabète de type 2 : commun ou monogénique ;

En outre, il existe le diabète gestationnel et les diabètes secondaires [endocrinopathie, hépatopathie, pancréatopathie, les médicaments (diurétiques thiazidiques, corticoïdes...)].

3- Physiopathologie du diabète

3-1- Diabète de type 1 :

Le diabète de type 1 est dû à une destruction auto-immune des cellules insulinosécrétrices du pancréas dites cellules bêta. Cette destruction est authentifiée par la présence d'anticorps anti-cellules d'îlots, anti-insuline, anti-glutamate décarboxylase (GAD) et anti-tyrosine phosphatase IA1 et IA2 [6].

Le diabète de type 1 peut être idiopathique c'est-à-dire sans cause évidente ou auto-immune (précoce ou retardé) [LADA (Lantent Autoimmune Diabetes in Adults)]

3-2-Diabète de type 2 :

On peut distinguer parmi les diabètes de type 2 (DT2) deux variétés principales, des formes monogéniques, et des formes « communes ».

Les formes monogéniques sont liées à un déficit isolé de l'insulinosécrétion. Elles ne représentent que 5 à 10 % des cas de diabète de type 2.

Les formes « communes » de diabète de type 2 représentent 90 à 95% des cas. Elles associent selon la définition de l'OMS [7,8] deux anomalies métaboliques dont l'importance relative est variable d'une forme à l'autre. Il s'agit d'un déficit de l'insulinosécrétion ou insulinopénie et une diminution de la sensibilité à l'insuline des tissus cibles, principalement les muscles, le foie et les tissus adipeux, ou insulino-résistance. La combinaison des deux anomalies conduit au diabète de type 2 [9, 10].

Ce sont ces formes dont la prévalence augmente actuellement, et qui représentent un problème majeur de santé publique.

Tableau I : Critères diagnostiques du diabète, de l'intolérance au glucose (IG) et de l'hyperglycémie modérée à jeun (HMJ), suivant les conditions de prélèvement [11]

	Concentration de glucose en g/l (mmol/l)		
	Sang total		Plasma Veineux
	Veineux	Capillaire	
Diabète Glycémie à jeun ou à 2h de l'HGPO	≥ 1,10 (6,1) ou ≥ 1,80 (10,0)	≥ 1,10 (6,1) ou ≥ 2,00 (11,1)	≥ 1,26 (7,0) ou ≥ 2,00 (11,1)
IG Glycémie à jeun (si mesurée) et à 2h de l'HGPO	< 1,10 (6,1) et 1,20-1,79 (6,7-9,9)	< 1,10 (6,1) et 1,40-1,99 (7,8-11,0)	< 1,26 (7,0) et 1,40-1,99 (7,8-11,0)
HMJ Glycémie à jeun et à 2h de l'HGPO (si mesurée)	1,00-1,09 (5,6-6,0) et < 1,20 (6,7)	1,00-1,09 (5,6-6,0) et < 1,40 (7,8)	1,10-1,25 (6,1-6,9) et < 1,40 (7,8)

En plus des diabètes de type I et II, il existe d'autres diabètes comme :

Le **diabète gestationnel** : Il se définit comme tout diabète et à la particularité de se manifester durant la grossesse, le plus souvent au cours du deuxième ou troisième trimestre. Il peut être temporaire et disparaître peu après l'accouchement, mais peut causer certaines complications chez la mère et l'enfant. Il est favorisé par les modifications métaboliques de cet état hormonal particulier (résistance à l'insuline).

4- Complications

Le diabète est une affection chronique, qui, sans traitement ou mal traité peut se compliquer d'infections, de troubles métaboliques aboutissant aux comas diabétiques et à des complications dégénératives.

- **Les complications métaboliques aiguës :**

- Coma acidocétose diabétique ;
- Coma acidose lactique ;
- Coma hypoglycémie
- Coma hyperosmolarité diabétique.

- **Les complications chroniques dégénératives :**

- ✓ Microangiopathie
- rétinopathie diabétique ;
- néphropathie diabétique ;
- neuropathie diabétique ;
- ✓ Macroangiopathie :
- coronaropathies ;
- accidents vasculaires cérébraux ;
- artériopathie des membres inférieurs ;

- Les complications infectieuses

5- Traitements

Le traitement du diabète concerne :

- Les règles hygiéno-diététiques ;
- L'insulinothérapie ;
- Les Antidiabétiques Oraux (A.D.O.).

5-1- Règles hygiéno-diététiques :

Ce régime est basé sur plusieurs grands principes :

- Fixer, équilibrer la consommation de glucides : la consommation quotidienne totale de glucides doit être décidée avec le nutritionniste, et varie d'une personne à l'autre.
- Mettre l'accent sur les fibres alimentaires : car l'index glycémique de nombreux aliments riches en fibres alimentaires (légumineuses, fruits, légumes, céréales entières) est faible.

- Mettre l'accent aussi sur les aliments qui jouent un rôle préventifs : on parle ici de magnésium et de vitamine E, mais également de poisson (grâce à ses huiles riches en acides gras oméga-3, ses huiles monoinsaturées).
- Diminuer la consommation de gras saturés : et cela au profit de gras monoinsaturés (l'huile d'olive et de canola, par exemple) et polyinsaturés (poissons, noix et graines) encore nommés « bons gras ». Cela se traduira par une diminution du taux de cholestérol total, du mauvais cholestérol (le LDL) et des triglycérides, et une augmentation du taux de bon cholestérol (le HDL)
- Réduction de la consommation d'alcool.

Il est important d'associer une alimentation adaptée à la pratique d'une activité physique, car ceci entraîne une baisse des taux de glucose sanguin et de la tension artérielle, et permet d'atteindre ou de maintenir un poids santé, sans parler du tonus et du bien-être qu'elle procure.

5-2- L'insulinothérapie :

➤ Définition et structure de l'insuline :

L'insuline est un polypeptide hormonal, formé par deux chaînes peptidiques α (21 acide aminés) et β (30 acides aminés) réunies par deux ponts disulfures qui relient les cystéines A7 et A20 de la chaîne α à leur homologues B7 et B20 de la chaîne β . L'insuline est sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas sous forme pro-insuline [6].

L'insuline abaisse le taux de glucose dans le sang :

- en favorisant la transformation des glucides en lipides ;
- en favorisant le stockage du glucose sous forme de glucogène dans le foie ;
- en augmentant le catabolisme du glucose dans l'organisme [10].

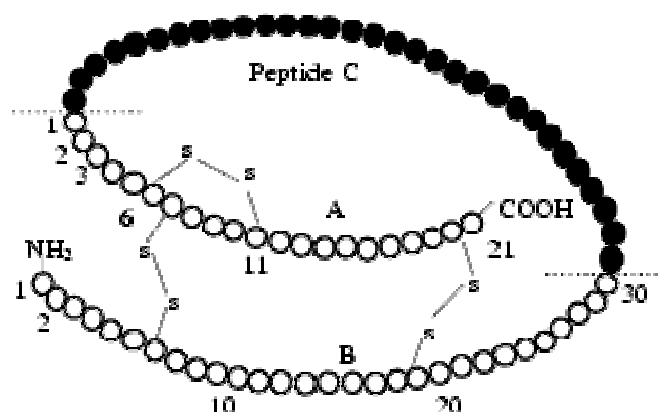


Figure N° 1 : Insuline, chaînes α et β réunies par deux ponts disulfure et le peptide C [6]

➤ Mécanisme d'action de l'insuline :

Le récepteur de l'insuline est formé de deux unités α extracellulaires et deux unités β intracellulaires sur lesquelles se fixe l'insuline. Ces deux unités α sont reliées par des ponts disulfures, entre elle d'une part et deux unités β d'autre part.

L'activation du récepteur par l'insuline entraîne directement la phosphorylation des protéines intracytoplasmiques comme l'IRS-1 (insulin receptor substrate) qui, lui-même, agit sur d'autres protéines [6].

L'insuline agit sur le métabolisme des glucides, des protides, des lipides et du potassium...

5-3- Les hypoglycémiantes oraux :

On compte cinq familles médicamenteuses dans le traitement du diabète :

5-3-1- Les sulfamides hypoglycémiantes

Ils agissent en stimulant la sécrétion d'insuline par les cellules bêta des îlots de Langerhans sans influencer sa synthèse [13].

- **Indication :**

Les sulfamides hypoglycémiantes sont utilisés dans le traitement du diabète de type 2 avec déficit d'insulinorésistance prédominant : chez l'adulte d'âge moyen non obèse [14].

- **Pharmacocinétique :**

Les sulfamides hypoglycémiantes se lient à un récepteur spécifique présent sur la membrane des cellules bêta-pancréatiques. La liaison des sulfonylurées à leurs récepteurs spécifiques entraîne la fermeture des canaux potassiques ATP dépendant de la cellule bêta-pancréatique

source d'une dépolarisation membranaire et de l'ouverture secondaire des canaux calciques. L'afflux de calcium dans le cytoplasme des cellules bêta-pancréatiques induit l'exocytose des vésicules contenant l'insuline d'une façon similaire à celle observée après stimulation par le glucose [15].

Les sulfamides hypoglycémiantes sont entièrement absorbés au niveau digestif. Il s'agit de médicaments fortement liés aux protéines plasmatiques [13]. Les sulfamides hypoglycémiantes sont métabolisés totalement ou partiellement dans le foie et excrétés principalement dans les urines [13 ; 15]. La demi-vie plasmatique ne reflète pas la durée de l'effet hypoglycémiant (demi-vie biologique ou durée d'action) [13 ; 15].

- **Effets secondaires :**

Le risque de prise de poids et le risque d'hypoglycémie sont les principaux effets secondaires des sulfamides hypoglycémiantes et aussi les allergies [14].

Exemples : glibenclamide, gliclazide, glimeperide, glipizide...

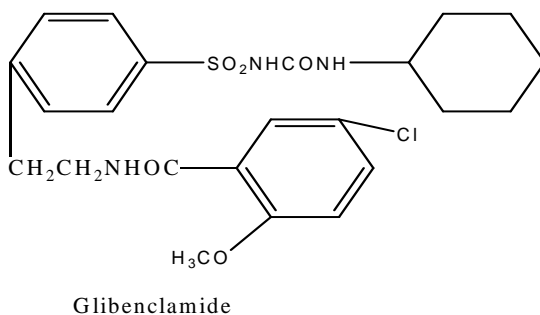


Figure N° 2 : Structure de la glibenclamide

5-3-2- Les biguanides :

Les biguanides dont le chef de file est la metformine ont pour propriétés de favoriser l'action de l'insuline dans l'organisme. Ils agissent sur l'insulinorésistance via de la néoglucogenèse hépatique et une amélioration de l'absorption du glucose dans les tissus périphériques. En monothérapie, la metformine ne peut provoquer une hypoglycémie [14]. Elle améliore le métabolisme lipidique et diminue la synthèse de l'inhibiteur de la fibrinolyse PAI-1 [16].

- **Pharmacocinétique :**

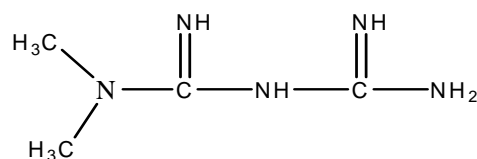
La metformine présente une disponibilité biologique d'environ 50%. Elle se repend rapidement dans l'organisme et n'est ni liée aux protéines plasmatiques, ni métabolisées dans le foie. La metformine est excrétée par les reins [14].

- **Indication :**

Les biguanides apparaissent aujourd'hui comme les médicaments de première intention dans le traitement du diabète de type 2. Elles sont administrées uniquement *per os* à raison de 1 à 3 prises par jour [11].

- **Effets secondaires :**

Ils sont essentiellement digestifs (anorexie, nausées, troubles du transit, diarrhée, goût métallique dans la bouche). Ils sont prévenus par la majoration progressive des posologies et la prise de metformine avec des aliments ou juste après les repas [11].



Metformine

Figure N° 3 : Structure de la metformine

5-3-3- Inhibiteur de l'alpha-glucosidase : (Acarbose)

L'inhibiteur de l'alpha-glucosidase agit en diminuant l'absorption intestinale des sucres (monosaccharides) juste après les repas (glycémie post-prandiale). L'acarbose n'est pas absorbé par le tractus digestif [17]. Il diminue donc la glycémie post prandiale.

- **Pharmacocinétique :**

Les inhibiteurs des alphasglucosidases intestinales ralentissent le clivage enzymatique des sucres alimentaires en mono et disaccharides qui sont alors absorbés dans l'iléon. L'absorption du glucose après un repas est ainsi retardée dans le temps. Les inhibiteurs des alphasglucosidases sont essentiellement actifs sur l'hyperglycémie post-prandiale. L'acarbose n'est pas absorbé par le tractus digestif [17].

- **Indication :**

L'arcarbose est indiqué dans le traitement du diabète de type 2, surtout lorsqu'il est difficile d'assurer le contrôle de la glycémie postprandiale [14].

- **Effets secondaires**

Les principaux effets secondaires des inhibiteurs des alphaglucosidases sont digestifs, liés à l'arrivée d'oligosaccharides dans le colon, favorisant la croissance bactérienne et à la présence de substance osmotiquement actives dans la lumière intestinale; les manifestations cliniques, qui affectent dans certaines séries jusqu'à 50 % des patients, sont représentées par des flatulences, un météorisme et de la diarrhée [18]. La majoration progressive de la posologie limite ces effets secondaires.

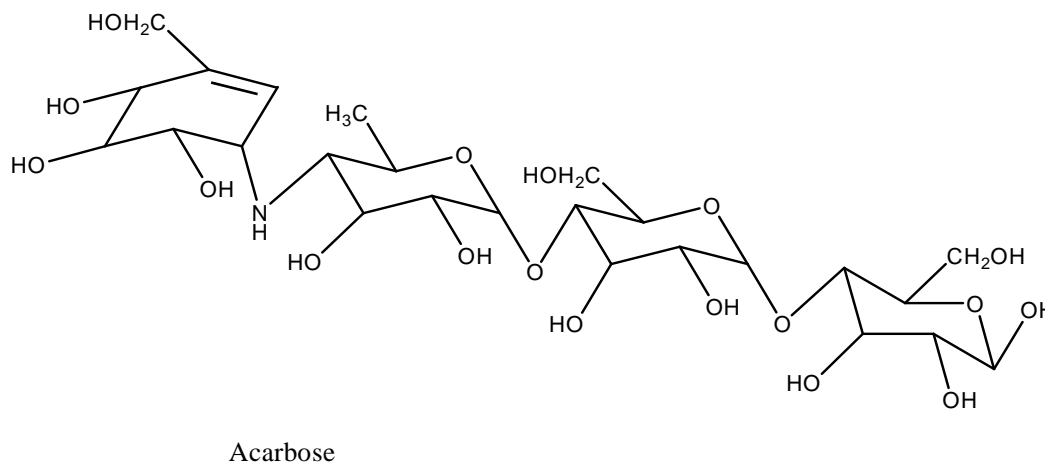


Figure N°4 : Structure de l'Arcarbose

5-3-4- Les Glinides : (nouveaux insulino-sécréteurs)

Les glinides agissent de la même façon que les sulfamides hypoglycémiantes en stimulant la sécrétion d'insuline.

- **Pharmacocinétique :**

Les glinides comme la Repaglinide sont rapidement absorbés dans le tractus gastro-intestinal et présentent une biodisponibilité d'environ 60%. Ils sont fortement liés aux protéines plasmatiques et sont presque totalement dégradés par le foie dans les métabolites qui n'ont aucun effet hypoglycémiant. Les glinides sont principalement éliminés par voie biliaire [14].

- **Indication :**

Les glinides sont indiqués dans le diabète du type 2 chez l'adulte lorsque les mesures non médicamenteuses ne suffisent pas à maintenir l'équilibre glycémique. Ils peuvent être utilisés en monothérapie ou associés à des biguanides [14].

- **Effets secondaires :**

Il y a le risque d'hypoglycémie, des gênes gastro-intestinales et dans les rares cas l'augmentation des enzymes hépatiques (cytolyse hépatique).

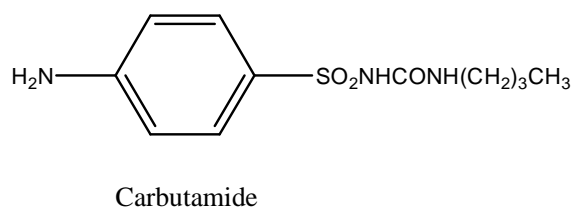


Figure N° 5 : Structure de carbutalide

5-3-5- Les thiazolidinediones (glitazones)

La rosiglitazone et la pioglitazone sont rapidement absorbées (pics de concentration plasmatiques respectifs 1h et 2h) ; elles subissent un métabolisme hépatique. Leurs demi-vies d'éliminations respectives sont de 3 à 4 heures et de 5 à 6 heures.

L'insuffisance rénale modifie peu ces caractéristiques pharmacocinétiques. Ces médicaments réduisent la glycémie en diminuant la résistance à l'insuline au niveau des tissus adipeux, des muscles squelettiques et du foie. La diminution maximale de la glycémie est obtenue au bout de 8 semaines de traitement [11].

- **Pharmacocinétique :**

La disponibilité biologique est de 80% à 100%. Les glitazones sont totalement dégradées par le foie et il se produit une importante liaison protéique.

- **Effets secondaires :**

Une prise de poids légère parfois accompagné d'une rétention d'eau (œdème), une légère anémie. Un risque d'hépatotoxicité a été décrit en ce qui concerne la troglitazone (actuellement retiré du marché).

Les thiazolidinediones sont contre indiquées en cas d'insuffisance cardiaque.

Des antioxydants pourraient être une ligne thérapeutique pour les diabétiques.

5-4- Rappel sur les antioxydants :

Les maladies cardiovasculaires sont la première cause de mortalité au cours du diabète. Parmi les facteurs pathologiques de l'athérosclérose, les modifications qualitatives des lipoprotéines jouent un rôle important. L'hyperglycémie induit une glycation des lipoprotéines, en particulier les lipoprotéines de basse densité (LDL). La glycation de l'apo B empêche sa reconnaissance par le récepteur spécifique, favorise l'accumulation des LDL dans les macrophages et l'oxydation des LDL. D'autres phénomènes contribuent à l'augmentation de l'oxydation des LDL au cours du diabète : l'augmentation de la production des radicaux libres, alors que leur dégradation est diminuée, l'association de l'hypertriglycéridémie à la présence de LDL denses de petites tailles plus facilement oxydables, et anomalies des lipoprotéines de haute densité diminuant leurs capacités antioxydants. Les interactions entre glycation et oxydation sont complexes : les LDL glyquées sont plus facilement oxydables, mais les antioxydants pourraient également diminuer la glycation des protéines indépendamment de l'équilibre glycémique [19]

L'oxydation du glucose conduit à la formation de différents intermédiaires réactifs, dont les produits terminaux de la glycation protéique (Advanced Glycosylation End Products = AGE).

Les AGE s'accumulent au niveau des protéines à longue durée de vie, entraînant notamment une perte d'élasticité tissulaire au niveau des vaisseaux sanguins et du cristallin, et pourraient ainsi participer au dysfonctionnement endothélial et aux complications vasculaires du diabète [20].

Des études prouvent qu'un traitement enrichi aux antioxydants, particulièrement en vitamine C restaurait à un niveau normal tous les marqueurs de stress oxydatifs. Ce traitement réduit l'activité des radicaux libres et peut participer à la diminution du risque de complication diabétique [21].

6- Diabète et médecine traditionnelle

Tableau II : Quelques plantes utilisées dans le traitement du diabète

Noms scientifiques	Familles	Drogues	Références
<i>Allium cepa</i> Linn	<i>Liliaceae</i>	Bulbe	[22]
<i>Anacardium occidentale</i> L	<i>Anacardiaceae</i>	Ecorces	[4]
<i>Artemisia herba Alba</i> Asso	<i>Composeae</i>	partie aeriene	[23]
<i>Azadirachta indica</i> A, gress	<i>Meliaceae</i>	Feuilles	[4]
<i>Bridelia ferruginia</i> Benth	<i>Euphorbiaceae</i>	Feuilles	[24]
<i>Carica papaya</i> Linn	<i>Caricaceae</i>	Feuilles	[25]
<i>Cassia abus</i> Linn	<i>Caesalpinaceae</i>	Graines	[26]
<i>Cassia dulcis</i> Linn	<i>Caesalpinaceae</i>	Feuilles	[26]
<i>Combretum glutinosum</i> Perr ex	<i>Combretaceae</i>	Feuilles	[27]
<i>Eucalyptus globulus</i> Linn	<i>Myrtaceae</i>	Feuilles	[28]
<i>Eugenia jambalana</i> Lam	<i>Myrtaceae</i>	Graines	[24]
<i>Musa paradisiaca</i> Linn	<i>Musaceae</i>	Tige	[29]
<i>Persea americana</i> Mill	<i>Lauraceae</i>	Feuilles	[30]
<i>Sclerocarya birrea</i> (A,Rich) Hocht	<i>Anacardiaceae</i>	Feuilles	[31]
<i>Scoporia dulcis</i> Linn	<i>Scrophulariaceae</i>	Tige	[23]
<i>Striga aspera</i> Willd	<i>Scrophulariaceae</i>	plante entière	[32]
<i>Stylosantes mucronata</i> Willd	<i>Fabaceae</i>	Racines	[30]
<i>Tamarindus indica</i> Linn	<i>Caesalpinaceae</i>	Feuilles	[28]
<i>Ximenia americana</i> Linn	<i>Olacaceae</i>	écorces et racine	[30]
<i>Ziziphus mauritana</i> Linn	<i>Rhamnaceae</i>	Feuilles	[28]

Monographie des trois plantes étudiées :

6-1- *Sclerocarya birrea* (Hochst)

- **Famille:** *Anacardiaceae*
- **Synonymes:** *Pourpartia birrea* (A. Rich) Aubrév, *Spondias birrea* (A. Rich). Hochst.
- **Français:** Sclerocarya à bière
- **Noms en langue locales :**

Malinké: kuntan, kunan, kuntango

Bambara: n'gunan, kutan 'dao

➤ **Systematique**

RègneVégétal

Sous règneEucaryotes

GroupeEucaryotes chlorophylliens

Sous-groupe Embryophytes vasculaires

Embranchement Spermatophytes

Sous embranchement Angiosperme

Classe Dicotylédones

Sous classe Rosidae

Groupe Rosidae obdiplostemones à ovaire Super et disque nectarifère

OrdreSapindales

Famille *Anacardiaceae*

Genre *Sclerocarya*

Espèce *birrea*.

➤ **Descriptions botaniques :**

Arbre de 8 à 10 m de haut, à cime arrondie assez dense, écorce est écailleuse, gris argenté ; les feuilles sont alternes imparipennées (12 à 20 folioles obovales à bord entier ou denté, souvent sur le même arbre) [figure N° 6]; à l'extrémité de rameaux épais, se trouvent des fleurs de couleurs rougeâtres ou verdâtres ; les fruits drus globuleux de couleurs jaunes sont nombreux [4].



Figure N° 6 : Photo du *Sclerocarya birrea*

➤ **Habitat :**

L'espèce est assez commune, plus ou moins grégaire, dans les savanes soudaniennes et sahélo-soudaniennes [4].

➤ **Usages traditionnels :**

Sclerocarya birrea arrive au deuxième rang des drogues antivenimeuses, après *Securidaca longepedunculata* et bien avant les autres espèces rencontrées dans diverses formules prescrites pour cet usage.

Les feuilles et les écorces de tronc ont une réputation de soigner la jaunisse et la conjonctivite, la diarrhée, l'aménorrhée, la rougeole et la carie dentaire [4 ; 33].

Les écorces de tronc sont utilisées pour baisser la fièvre et contre le paludisme, contre la diarrhée, la dysenterie, la schistosomiase, l'épilepsie, le diabète [34]. Elles sont aussi utilisées avec les racines dans le traitement des nausées, des vomissements, de la syphilis, des douleurs abdominales, de la dysenterie et avec la plante entière de *Momordica balsamina*, elles sont indiquées dans la morsure de serpent ou piqûres de scorpion [33].

D'une manière générale et en usage externe, la pâte d'écorce est anti-inflammatoire et est utilisée dans les céphalées en application frontale additionnée au beurre de karité, sur les yeux pour les blépharites [35].

➤ **Autres utilisations :**

Alimentaire :

La pulpe du fruit est comestible de la même manière que les graines huileuses. La pulpe sert à préparer de la bière fermentée [36].

Artisanale :

La plante est aussi utilisée en menuiserie légère, meubles, ustensiles agricoles (pour la confection des bols), placages, caisserie, coffrage, sculpture, jouets, tournerie, mortiers. Les cendres provenant de la brûlure du bois sont utilisé avec d'autres arbres pour enlever les poils de la peau des chèvres [37 ; 38].

➤ **Données chimiques :**

Les feuilles et les écorces de troncs et de racines renferment des :

Flavonoïdes (quercétine 3-O-alpha-1-(5'-galloy)-arabinofuranosides), des dérivés de l'épicatchine, Coumarines, Saponines, Tanins, Oses et holosides, Hétérosides Cardiotoniques, Leucoanthocyanes, Anthracenosides, caroténoïdes, Mucilages, Stérols et triterpènes, Phenols, Alcaloïdes. En plus d'autres éléments comme le zinc, le magnésium, le cuivre et les protéines (leucine, phenylamine, lycine, thréomine) ont été isolés du noyau [39 ; 34 ; 40 ; 41 ; 42 ; 43].

➤ **Données biologiques**

*** *Activité antidiabétique***

De nombreuses études ont été effectuées sur les propriétés antidiabétiques de *Sclerocarya birrea* :

Selon Gueye [4], l'extrait aqueux des feuilles administré aussi bien par voie orale que par voie intra- péritonéale au rat, présente une action périphérique sur l'assimilation du glucose par le tissu musculaire et une action sur la glycémie.

Les propriétés antidiabétiques des extraits aqueux des feuilles de *Sclerocarya birrea* ont été confirmées par des recherches réalisées par différents auteurs au niveau du DMT [44 ; 40 ; 41 ; 42].

L'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Sclerocarya birrea* a démontré une activité hypoglycémiant à dose dépendante chez les rats normoglycémique et rendus diabétiques avec la streptozotocine [45 ; 46].

*** *Activité anti-inflammatoire***

Les extraits aqueux et méthanoliques des écorces de tronc *Sclerocarya birrea* administrés par voie orale aux doses allant de 25 à 800mg/ kg ont montré une activité anti-inflammatoire moyenne (comparé à l'acide acétylsalicylique à la dose de 100mg/kg par voie orale) sur l'œdème provoqué dans la patte des rats par l'albumine d'œuf [45 ; 46].

*** *Activité cardiovasculaire***

L'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Sclerocarya birrea* a montré un effet vasorelaxant et hypotensif chez le rat [34].

*** Activité antidiarrhéique**

L'activité antidiarrhéique des tanins et de la procyanidine isolés du décocté lyophilisé de l'écorce de tronc de *Sclerocarya birrea* a été prouvée [47].

*** Activité sécrétogogue**

L'activité sécrétogogue de l'ester (-)-epicatechine -3-galloyl isolé de l'écorce de tronc de la plante a été prouvée [48].

*** Activité anti-bactérienne**

Les extraits acétoniques des écorces et des feuilles de *Sclerocarya birrea* ont donné une meilleure activité sur *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis* par la technique de dilution [49].

*** activité anti-ulcéreuse :**

Les écorces du tronc et des feuilles de *Sclerocarya birrea* à 50mg/kg induisent une protection de 79,78% et de 77,78% contre l'ulcère gastrique chez les souris [50]

*** Activité antioxydante**

Les substances polyphénoliques isolées à partir des feuilles des *Sclerocarya birrea* (spontané et cultivée) présentent une activité antioxydante [51].

➤ **Données toxicologiques**

Les extraits aqueux et méthanoliques des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* administrés par voie intrapéritonéale chez les souris, possèdent une dose létale 50 (DL₅₀) de 1215 ± 38 mg et 1087 ± 41mg respectivement [45].

6-2- *Stylosanthes mucronata* Willd

- **Famille** : Fabaceae
- **Synonyme** : *Stylosanthes fructicosa* (Retz), *Stylosanthes viscosa* (de FWTA), *Stylosanthes bojeri* Vogel, *Stylosanthes aprica* Spam, *Stylosanthes setosa* Harv, *Stylosanthes flavicans* Bah, *Hedysarum hamatum* Burm f.
- **Nom local** : segou fali
- **Systématique**

- Embranchement	Spermaphytes (phanérogame)
- Sous embranchement	Angiospermes
- Classe	Dicotilédones
- Sous classe	Rosidae
- Ordre	Fabales
- Famille	Fabaceae
- Genre	<i>Stylosanthes</i>
- Espèce	<i>mucronata</i>

➤ **Description botanique**

C'est un sous arbrisseau vivace, ligneux à la base, atteignant 75 cm de haut, ramifié, tige adulte densément pubescente avec des poils glanduleux. Les feuilles sont trifoliées à folioles étroitement elliptiques, acuminée au sommet, de 15 sur 6 mm couramment pubescentes au dessous (**figure N° 7**). Les épis sont de 2 cm avec de petites fleurs jaunes et les gousses sont poilues [35].



Figure N° 7 : Photo de *Stylosanthes mucronata*

➤ **Habitat**

La plante est retrouvée dans toutes les régions du Sénégal, commun dans les sols non inondés de la vallée du Sénégal et autres vallées limoneuses de même qu'en Casamance [35].

➤ **Usages traditionnels**

Au Sénégal la plante est utilisée contre la toux, soit en infusion per os, soit mélangée au tabac dans la pipe [35 ; 37].

En Gambie et au Sénégal, elle est utilisée en infusion comme antipyrétique [37] et comme antidiarrhéique [35 ; 37].

L'infusé des feuilles est utilisé contre les maux de ventre et de la vessie en Gambie et comme antidiarrhéique au Kenya. La plante entière est utilisée pour soigner les malades mentales, et les racines contre les infections urinaires et aussi comme aphrodisiaque en Tanzanie. Elle a aussi une activité molluscicide [37].

La plante entière de *Stylosanthes mucronata* est utilisée dans la médecine traditionnelle indienne comme : antihelmétique, analgésique, anti-inflammatoire, hépatoprotecteur, antihyperglycémique, anticancéreux [52].

Les *Stylosanthes* produisent des substances capables de tuer les ticks. Ils sont donc utilisés dans la lutte contre les ticks [53].

A Niono (Mali), *Stylosanthes erecta* est utilisé contre les infections à schistosomiase [54].

➤ **Autres usages**

La plante est utilisée comme fourrage, elle est broutée par le bétail [37].

➤ **Données chimiques :**

Selon les études faites par Collette [55], sur *Stylosanthes erecta*, la présence des composés suivants ont été signalés : Coumarines, Flavonoïdes, Catéchols, Saponosides, Tanins, Mucilages, Stérols et triterpènes, et les Hétérosides cardiotoniques. D'autres études antérieures ont montré la présence des Leucoanthocyanes [56].

➤ **Données biologiques :**

L'extrait éthanolique de *Stylosanthes mucronata* à une dose comprise entre 100 et 500mg/kg a montré une activité analgésique significative chez le lapin albinos. La protection est $P < 0,05$ (35% de protection), $P < 0,01$ (45,5% de protection) [52].

L'extrait aqueux des racines contient des stéroïdes possédant des propriétés virilisantes [56].

Des extraits aqueux et organiques de deux recettes de *Stylosanthes erecta* à la dose de 300, et 400 ug ont inhibé la croissance des souches cliniques d'*Echerichia coli*. Ces recettes à base de *Stylosanthes erecta* notamment *Stylosanthes erecta* et Tamarin à 20%, et *Stylosanthes erecta* et Hibiscus à 20%, ont donné des résultats intéressants avec 100 ug d'extrait aqueux lors du criblage préliminaire. Les zones d'inhibitions sont de 7 mm et 14 mm [57].

D'après les études effectuées par Bah [58], sur deux peptides synthétiques, *Stylosanthes erecta* a montré une activité protéolytique élevée.

Une activité complexe sur le récepteur GABA (A) a été observée avec l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Stylosanthes erecta* [59].

6-3- *Annona senegalensis* Pers

- **Famille :** *Annonaceae*
- **Synonyme :** *Annona chrysophylles*
- **Noms français :** pomme - cannelle de brousse
- **Bamanan :** Daga, Dagan, Mandé sunsun

My: Mugumon

Se: Namurungo, namulgho

Malinké: Karamoko sounzou

Nom commun : Pomme cannelle du Sénégal

[33 ; 4].

➤ **Systématique**

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphyte
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Annonales
Famille	<i>Annonaceae</i>
Genre	<i>Annona</i>
Espèce	<i>senegalensis</i>

➤ **Description botanique :**

Un arbuste de 1,5 à 2 m de haut à cime irrégulière, les écorces sont grises et lisses à tranche rose, les feuilles sont alternées, régulières et parallèles [60]. Les fleurs sont de couleur jaunâtre à trois sépales entrouvertes, les fruits sont charnus et orangés à maturité, réticulés et comestibles [4] (**figure N° 8**).



Figure N° 8 : photo d'*Annona senegalensis*

➤ **Habitat : [60]**

La plante est rencontrée dans toute la zone semi-aride à subhumide entre le Sénégal et le Soudan, au Sud jusqu'à la savane guinéenne. Elle est en générale solitaire dans les sous bois de la savane là où la pluviométrie dépasse 600 mm.

➤ **Usages traditionnels**

L'*Annona senegalensis* a des utilisations multiples en médecine traditionnelle. Toutes les parties sont utilisées :

Les racines sont employées contre la blennorragie, la dysenterie, [4 ; 61], l'onchocercose [60 ; 4], contre la schistosomiase [56]. La sève et les écorces de racine sont utilisées contre la diarrhée et les troubles gastro-intestinaux et comme vermifuge [61].

Les écorces de tronc sont utilisées contre la stérilité et favorisent la lactation. Les fibres servent de garrot pour la morsure de serpent [4].

Les feuilles grillées et réduites en poudre sont utilisées dans le traitement des plaies, en infusion contre les vomissements, fraîchement mâchée, elles soignent la dysenterie [4].

Les feuilles mélangées avec celles de *Guiera senegalensis* et de *Manguifera indica*, sont utilisées en décoction contre le VIH et le SIDA [62].

Les feuilles d'*Annona senegalensis*, *Xylophia aethiopia*, *Lannea acida*, *Afzelia africana*, *Pterocarpus erinaceus*, sont mélangées au beurre de karité et on forme avec le mélange 3 à 4 boules respectivement selon que le patient soit un homme ou une femme et on fait une décoction dans une marmite en terre cuite. Le décocté est utilisé *per os*, en bain et en fumigation contre la gonococcie [62].

Les rameaux feuillés sont utilisés en boisson et utilisés en application locale, ils arrêtent l'hémorragie [4].

Les écorces de racine sont utilisées en décoction contre les écoulements génitaux [62].

➤ **Autres utilisations**

Les fruits sont comestibles [4], les feuilles sont mangées par le bétail et sont consommées par endroit comme légume. Les bois fournissent des manches de houes, et sont utilisés aussi pour construire les huttes. La cendre est ajoutée au tabac ou utilisée en solution pour faire du savon [62].

➤ **Données chimiques :**

La rutine, la quercetine, et la quercitrine ont été isolées des feuilles d'*Annona senegalensis* par Mackie et coll [35].

Les feuilles d'*Annona senegalensis* renferment aussi des : coumarines, flavonoïdes, saponosides, tanins, oses et holosides, polyuronides, stérols et triterpènes, stéroïdes, hétérosides cardiotoniques, leucoanthocyanes [62], les alcaloïdes [63]. Les écorces de tiges de l'espèce nigériane ont donnés des réactions positives pour la présence des alcaoides, des Tanins et des Saponines [35]. L'annosenegaline et annogalène ont été isolés de la graine d'*Annona senegalensis* [64].

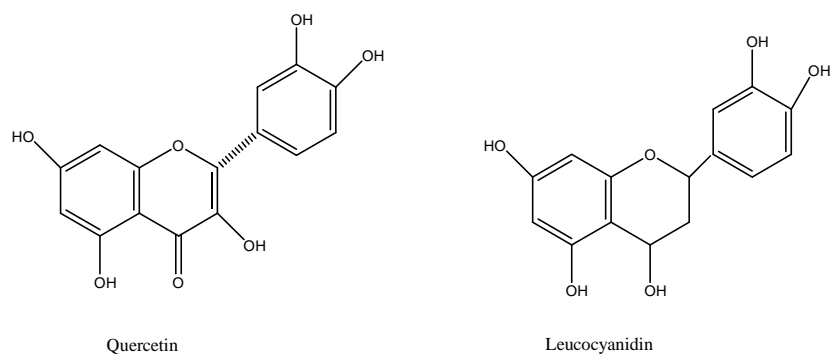


Figure 9: Structure deux molécules isolées de la plante

➤ Données biologiques

* **Activité antiparasitaire**

Le baume de la feuille se montre efficace contre les Sclerostomes aux différents stades de la vie et les dérivés sesquiterpéniques ont donné des propriétés larvicides [35].

L'extrait aqueux des racines a un effet antitrypanosomiase. L'acétogénine extrait de la graine est responsable de l'activité cytotoxique et antiparasitaire (*Leishmania major*, *Leishmania donovani*, *Trypanosoma brucei*) [65].

Les coumarines, les chalcones, tetralones et les saponines sont responsables de l'activité antileishmanial [66].

L'extrait de racine a montré une activité intéressante sur la chloroquinorésistance de *Plasmodium falciparum* à Dakar (Senegal) [67].

L'extrait aqueux de l'*Annona senegalensis* a été significative ($p < 0,001$) à la dose de 7,1 mg/ml sur des souches d' *Haemonchus contortus* eggs in vitro [68].

* **Activité antibactérienne**

Les études ont montré que les extraits aqueux et méthanolique des écorces de racines d'*Annona senegalensis* ont donné une activité inhibitrice sur les *Staphylococcus aureus* [69].

* **Activité antidrèpanocytaire**

Au Congo, les extraits aqueux et éthanolique ont montré une activité antidrèpanocytaire [70].

*** Activité anticancéreux**

Un alcaloïde (aporphine (-) roemerine (1) ; isolé des feuilles de *Annona senegalensis* s'est avéré augmenter la réponse cytotoxique [63].

*** Antidote**

L'extrait méthanolique de l'écorce de tronc d'*Annona senegalensis* testé sur les lapins après morsure de serpent, a montré une baisse de l'hyperthermie et une détoxification du venin de 16-33% [71].

Etudes phytochimiques

Chapitre II : Etudes phytochimiques

1- Méthodologie :

1-1- Matériel :

* Matériel végétal :

Le matériel végétal a été constitué par :

Les parties aériennes de *Stylosanthes mucronata* et des feuilles d'*Annona senegalensis*.

La poudre des feuilles d'*Annona senegalensis* et les parties aériennes fraîches de *Stylosanthes mucronata* aient parvenu par des tradithérapeutes. Elles ont été identifiées par les forestiers du D.M.T.

Le séchage des drogues a été réalisé à l'ombre dans la salle de séchage du DMT et ensuite ils ont été pulvérisées avec un broyeur Resch type SM2000 OSI /1430 upm.

* Matériel de laboratoire :

Bêchers, tubes à essai, balance de type sartorius, pipettes, éprouvettes graduées, bain marie, spatule, ballon de concentration, rotavapor, lyophilisateur, papier filtre, creusets, agitateur magnétique, baguettes magnétiques, agitateurs simples, coton, cuillère à café, erlenmeyer, thermomètre, alcoomètre.

1-2- Dosages :

1-2-1- Substances extractibles par l'eau

Nous avons fait une décoction pendant 15 mn avec 1 g de poudre dans 20 ml d'eau distillée. Le filtrat a été mis dans une capsule préalablement tarée et évaporée à sec. La capsule a été ensuite pesée après refroidissement et la masse du résidu déduite.

1-2-2- Substance extractive par l'éthanol à 70%

Un gramme de poudre a été mis en macération dans 20ml d'éthanol pendant 24h, puis filtré. Le filtrat a été mis dans une capsule préalablement tarée et évaporée à sec. Nous avons ensuite pesé la capsule à froid et déduire la masse du résidu.

1-2- 3- Dosage de l'eau

➤ Méthode gravimétrique

• Principe :

Il consiste à déterminer la perte en masse d'une quantité connue de poudre par dessiccation à l'étuve à la température de $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures.

• Mode opératoire :

Nous avons introduit 5 prises d'essai (3 g) respectivement dans 5 verres de montre préalablement tarés (T_1 à T_5). Les masses des prises d'essai plus les tares ont été notées P_1 à P_5 . Après 24 heures de séjour à l'étuve à la température de $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, nous les avons pesés de nouveau et noté P'_1 à P'_5 . Les prises d'essai ont été placées à l'étuve jusqu'à masse constante.

La masse d'eau contenue dans la poudre de chaque verre de montre notée M est donnée par la formule :

$$M = P - P'$$

La masse de la prise d'essai est :

$$M_{PE} = P - T$$

Le pourcentage d'eau contenue dans la poudre est :

$$\% \text{ eau} = \frac{\text{Masse eau}}{M_{PE}} \times 100$$

M_{PE} : Masse de la prise d'essai.

Nous avons ensuite déterminé la moyenne des pourcentages d'eau des 5 verres de montre dans les mêmes conditions.

➤ Méthode de l'entraînement azéotropique

• Principe :

Il consiste à entraîner l'eau contenue dans une prise d'essai de la poudre par distillation avec un solvant non miscible.

- **Mode opératoire :**

Dans un ballon de 500 ml, nous avons introduit 100 ml de toluène et 1 ml d'eau distillée et porté l'ensemble à ébullition pendant une heure sous réfrigérant. Après 30 mn de repos, nous avons lu le niveau d'eau (V_1). Ensuite, nous avons introduit 5 g de poudre dans le contenu du ballon et engagé une ébullition d'une heure. Après 30 mn de refroidissement, nous avons lu le niveau d'eau (V_2). Le volume d'eau contenue dans la prise d'essai est calculé selon la formule :

$$V = V_2 - V_1$$

Le pourcentage d'eau est calculé selon la formule :

$$\% \text{Eau} = \frac{V_2 - V_1}{PE} \times 100$$

PE : masse de la prise d'essai.

1-2-4- Dosage des cendres

➤ **Cendres totales**

- **Principe :** il repose sur la détermination des substances résiduelles non volatiles contenues dans une drogue lorsque cette dernière est calcinée.
- **Mode opératoire :** nous avons pesé une prise d'essai de la poudre (M) dans un creuset en fer préalablement taré (T). Après incinération au four à une température d'environ 600°C pendant 6 heures puis refroidissement dans un dessiccateur, la masse du creuset contenant la prise d'essai a été déterminée et notée M'.

La masse des cendres totales (mCt) contenue dans le creuset est donnée par la formule :

$$mCt = M - M'$$

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

$$M_{PE} = M - T$$

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

$$\% \text{ Ct} = \frac{m \text{ Ct}}{\sum \text{ PE}} \times 100$$

Nous avons réalisé 3 essais de la même manière afin de déterminer la moyenne

➤ **Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %**

La détermination de ces cendres se fait sur les cendres totales.

Nous avons introduit les cendres totales des cinq essais dans un erlenmeyer et ajouté 20 ml de HCl à 10 %. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15 min au bain-marie bouillant. Après refroidissement, nous avons recueilli et lavé la matière non soluble sur un papier filtre sans cendre, et le filtre a été transféré dans un creuset sec préalablement taré (T). Le creuset contenant le papier filtre a ensuite été séché à l'étuve pendant 2 heures (M) et calciné pendant 6 heures au four à la température de 600°C. Après refroidissement dans un dessiccateur, nous avons pesé le creuset contenant le papier filtre calciné (M').

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

$$m\text{Cc} = M' - T$$

Le pourcentage des cendres chlorhydriques (% Cc) est donné par la formule :

$$\% \text{ Cc} = \frac{m\text{Cc}}{\sum \text{ PE}} \times 100$$

$\sum \text{ PE}$ étant la somme des masses de poudre utilisées pour la détermination des cendres totales.

➤ Cendres sulfuriques

Ces cendres sont les substances résiduelles non volatilisées recueillies lorsque l'échantillon de drogue est calciné avec de l'acide sulfurique. Ces cendres déterminent la quantité de substances inorganiques contenues dans la drogue.

Dans un creuset en quartz sec préalablement taré (T), nous avons introduit une prise d'essai de la poudre et pesé l'ensemble (M). La poudre a ensuite été humectée avec H₂SO₄ à 50% et laissée à l'étuve pendant 24 heures à la température de 100°C, le creuset a été porté à la calcination dans un four à la température de 600°C pendant 6 heures et pesé ensuite après refroidissement (M'). La masse des cendres sulfuriques (m Cs) est donnée par la formule :

$$m \text{ Cs} = M - M'$$

La masse de la prise d'essai : M PE = M - T

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

$$\% \text{Cs} = \frac{m \text{Cs}}{M \text{ PE}} \times 100$$

1-3- Réactions de caractérisations

Les réactions de caractérisation ont porté sur la recherche dans les poudres des plantes des principaux groupes chimiques. Ces réactions permettent d'avoir des informations sur la composition chimique des plantes.

Les groupes chimiques présents dans nos échantillons ont été caractérisés par des réactions en tubes.

Les résultats sont classés selon :

Réaction franchement positive : + + + +

Réaction positive : + + +

Réaction moyennement positive : + +

Réaction louche : +

Réaction négatif : -

➤ **Matériel**

Balance analytique de précision (type SARTORIUS)

Tubes à essai, éprouvette

Entonnoir, coton, papier filtre

Pipettes, erlenmeyer, poire

Ampoule à décanter

Bain-marie Buchi 461 water bath

➤ **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 à de la poudre végétale (10 g) 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.

Caractérisation

Nous avons pris 2 tubes à essai dans lesquels nous avons introduit le filtrat (1 ml). Nous avons ajouté 5 gouttes de réactif de Mayer (solution aqueuse de mercuri-iodure de potassium) dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Dragendorff (solution aqueuse d'iodo-bismuthate de potassium) dans le second. 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 de la poudre végétale (5 g) 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 mn. 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 1 ml de l'infusé, nous avons ajouté 1 ml d'une solution aqueuse diluée de FeCl_3 à 1 %. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

- ***Tanins catéchiques***

A 5 ml d'infusé à 5 %, nous avons ajouté 1 ml d'alcool chlorhydrique (5 ml d'alcool 95°, 5 ml d'eau distillée, 5 ml 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_3 à 1 %. Le développement d'une teinte bleu noirâtre 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_2SO_4) puis une base (5 ml de NH_4OH). 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 %, 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 orangé (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 auronnes, les catéchines et les isoflavones.

• ***Leucoanthocyanes***

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

En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée.

Les catéchols donnent une teinte brune rouge.

➤ **Dérivés anthracéniques**

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

• ***Anthracéniques libres***

Solution à analyser

A de la poudre végétale (1 g), 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'anthraquinones 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 filtrat 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 introduit 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 génine réduite.

Nous avons prélevé 5 ml de l'hydrolysât et ajouté 3 à 4 gouttes de FeCl₃ à 10 %. Nous avons chauffé pendant 5 mn 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 FeCl₃ (1 ml). Le tube à essai a été maintenu au bain-marie pendant 30 mn puis refroidi sous un courant d'eau. Nous avons agité avec du CHCl₃ (5 ml) puis soutiré la phase chloroformique. Nous y avons ajouté de l'ammoniaque diluée au 1/2 (1 ml).

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

➤ **Stérols, triterpènes et caroténoïdes**

• **Solution à analyser**

L'extrait à tester a été obtenu à partir de la poudre de drogue végétale (1 g) 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 triterpènes.

➤ **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 1 g de poudre, 10 ml d'alcool à 60 % et 5 ml d'une solution d'acétate neutre de plomb à 10 % dans un tube à essai puis porté à ébullition au bain-marie bouillant pendant 10 minutes. Nous avons filtré sur coton.

Caractérisation

La phase chloroformique obtenue après agitation du filtrat avec 10 ml de chloroforme a été partagée entre 3 tubes à essai et évaporée au bain-marie bouillant jusqu'à sec. Les résidus ont été repris avec 0,4 ml d'isopropanol et dans les 3 tubes nous avons ajouté respectivement 1 ml de réactif de Baljet, 1 ml de réactif de Kedde, 1 ml de réactif de Raymond-Marthoud. Nous avons introduit dans chaque tube 5 gouttes de KOH à 5 % dans l'éthanol et observé après 10 minutes environ.

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

Tube 1 : orangé

Tube 2 : rouge violacé

Tube 3 : 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 poudre de drogue végétale (1g). Une ébullition modérée a été maintenue pendant 15 mn. Nous avons filtré et après refroidissement ajusté 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 1 cm (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 H₂SO₄ 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 éthérique (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 de la poudre végétale (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.

1-4- Extractions

Matériel utilisé

- Balance de précision type Sartorius
- Eprouvette graduée de 1000ml
- Rotavapor type 349/2.J Bibby
- Bain- marie Watherbath Bm 480
- Pompe à vide de marque Edward
- Lyophilisateur Drywinner type Heto
- Congélateur marque Zanker
- Ballon de 3l
- Entonnoir en verre
- Coton
- Potence
- Spatule

- **Extraction par l'eau**

- **Décoction**

Nous avons introduit 60g de poudre de feuilles d'*Annona senegalensis* dans un ballon contenant 1000 ml d'eau distillée. Il s'agit d'une décoction à 6% selon l'indication du thérapeute. L'ensemble a été maintenu en ébullition dans un chauffe ballon pendant 15mn. Après refroidissement à la température ambiante du laboratoire, nous avons filtré sur compresse. Nous avons concentré le filtrat à l'aide d'un rotavapor sous vide à la température de 55°C. Nous avons ensuite lyophilisé l'extrait concentré après congélation. La lyophilisation nous a permis d'obtenir une poudre.

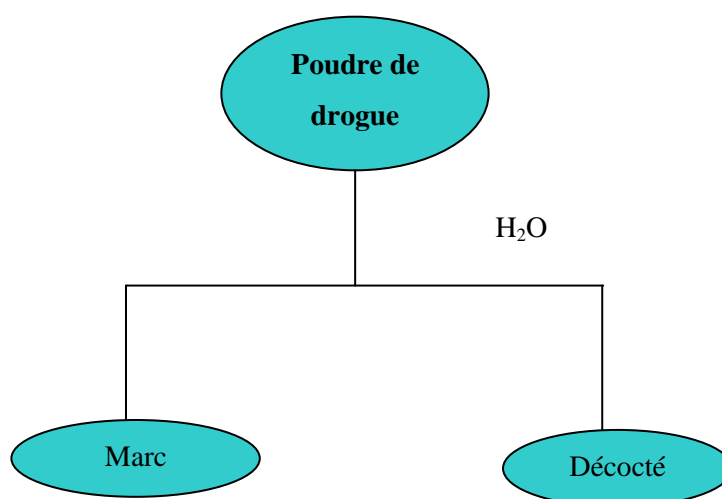


Figure 10 : Extraction de la drogue d'*A. senegalensis* par décoction

- **Infusion**

Nous avons utilisé 1000 ml d'eau distillée et 100g de poudre pour chacune des extractions. Il s'agit d'une infusion à 10%. Après ébullition et projection des poudres, l'ensemble fût fermé et laissé refroidir à la température ambiante du laboratoire. Nous avons filtré sur compresse puis concentrer le filtrat à l'aide d'un rotavapor sous vide à la température de 55°C. Nous avons ensuite lyophilisé l'extrait concentré après congélation. La lyophilisation nous a permis d'obtenir des poudres.

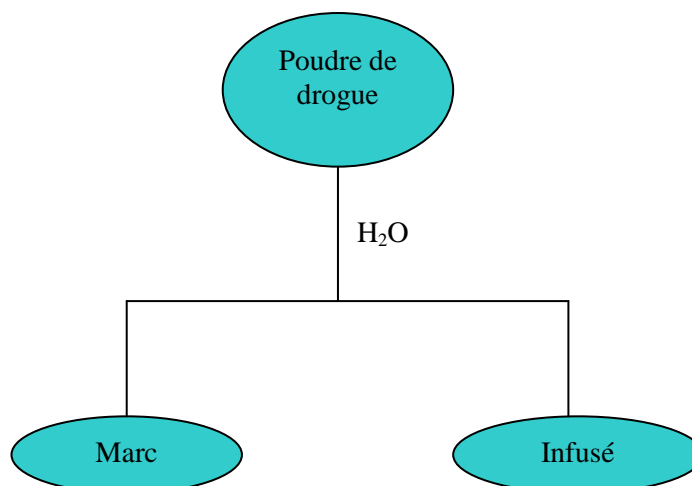


Figure 11 : Extraction des drogues d'*A. senegalensis* et de *S. mucronata* par infusion

- **Extraction par l'éthanol 70% et par l'eau :**

- **Macération**

Nous avons pesé 100 g de poudre, auquel nous avons ajouté 1000 ml d'éthanol ou de l'eau distillée et laissé en agitation pendant 24 h. L'opération a été reprise deux fois avec les mêmes solvants. Les différents filtrats ont été concentrés à l'aide d'un rotavapor, récupérés dans des ballons de lyophilisation déjà taré, puis lyophilisés. Nous obtenons ainsi une poudre.

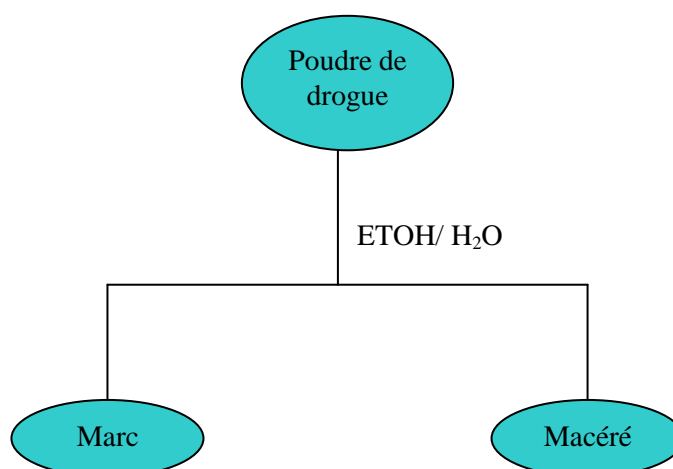


Figure 12 : Extraction des drogues d'*A. senegalensis* et de *S. mucronata* par macération

1-5- Chromatographie

Le mécanisme de la séparation chromatographique s'explique par les différences de répartition des molécules des composés d'un mélange entre deux phases non-miscibles: l'une mobile et l'autre stationnaire.

➤ Chromatographie sur couche mince :

C'est une méthode physicochimique dont l'adsorbant est constitué d'une couche mince et uniforme de 0,25 mm d'épaisseur d'une substance séchée et finement pulvérisée, appliqué sur un support approprié. La phase mobile ou éluant se propage à la surface de la plaque par capillarité.

• Matériels et réactifs

- Balance analytique de précision type Sartorius ;
- Plaque en aluminium avec support du silicagel 60 FG₂₅₄ Merck ;
- Cuves avec couvercles ;
- Crayon à papier et règle graduée ;
- Eprouvette graduée de 20ml ;
- Micropipette de 10 μ l ;
- Pulvérisateur ;
- Réglette graduée ;
- Séchoir type Solis ;
- Lampe UV type Desaga.

• Solvants

Système de solvant :

Butanol : acide acétique : eau (BAW) (60 :15 :25) ;

EtOAc : Acide formique : Acide acétique : Eau (100 :11 :11 :26) pour les coumarines glycosides

- **Révélateurs**

Réactif de Godin : c'est un réactif polyvalent

Réactif de Dragendorff : spécifique aux alcaloïdes

FeCl₃ : spécifique aux tanins

AlCl₃ : spécifique aux flavonoïdes

KOH (5-10% KOH dans l'éthanol) : un réactif polyvalent.

- **Méthode**

Nous avons utilisé l'extrait extemporané (forme d'utilisation des thérapeutes).

Des dépôts de 10 microlitres ont été réalisés sur les plaques, une fois séchées, les plaques ont été remises dans la chambre chromatographique saturée de vapeur de solvant. Cette dernière est fermée et maintenue à la température du laboratoire.

Les plaques sont ensuite retirées après migration des substances jusqu'à moins 1 cm du bord supérieur, elles sont séchées et observées à UV 254 et 366. Ensuite elles sont révélées avec des solvants appropriés.

2- Résultats

2-1- Dosages

Tableau III : Teneur en cendres totales, chlorhydrique, sulfurique, eau, substance extractibles par l'eau

Substances	F.A.s	PS.S.m
Cendres totales (%)	6,42	5,09
Cendres HCl à 10% (%)	4,05	2,27
Cendres H ₂ SO ₄ à 50% (%)	9,00	7,50
Substances extractibles/H ₂ O (%)	8,00	5,00
Teneur en eau (gravimétrique)	5,92	5,46
Teneur en eau (volumétrique)	8,00	6,00

F.A.s = feuille de *Annona senegalensis* ; **PS.S.m** = partie supérieure de *Stylosanthes mucronata*

Le plus faible pourcentage en cendre HCl a été obtenu avec *Stylosanthes mucronata* (2,27%).

Les teneurs en eau de toutes nos drogues n'excèdent pas 10%, limite supérieur requise par la pharmacopée internationale pour une bonne conservation des drogues.

2-3- Groupes chimiques caractérisés :**Tableau IV** : Réactions en tubes

RECHERCHE	F.A.s	PS.S.m
Coumarines (Fluorescence UV 366 nm)	+++	+++
Anthracénosides libres (Borntrager)	++	-
Flavonoïdes (Génines flavoniques)	++	++
Saponosides: Mousse	+++	+
Tanins: Réaction avec FeCl ₃	+++	++++
Tanins galliques: Réaction de Stiasny	-	++
Tanins catéchiques: Réaction de Stiasny	++	-
Oses et holosides	+++	+++
Mucilages	++++	++++
Leucoanthocyanes	++	++
Stérols et triterpènes	-	++++
Hétérosides cardiotoniques (Raymond-Marthoud)	+++	+++
Hétérosides cardiotoniques (kedde)	++	+
Hétérosides cardiotoniques (Baljet)	++	++

Seule *Annona senegalensis* présente des anthracenosides libres. Dans nos conditions expérimentales, les alcaloïdes, heterosides, flavoniques, anthocyanes, heterosides cyanogéniques, anthracenosides combinés et les composes réducteurs ont été absents dans toutes nos drogues.

2-4- Extraits : Les rendements, les aspects et les couleurs des extraits d'*A senegalensis* et de *S mucronata* sont illustrés dans le tableau ci dessous.

Tableau V : Rendement des extractions de *A senegalensis* et de *Stylosanthes mucronata*

Plantes	Extraits	Rendements (%)	Aspect	Couleur
<i>Annona senegalensis</i>	Décocté	15,55	Poudre	Jaune
	Infusé	8,96	Poudre	Verte
	Macéré	15,30	Poudre	Jaune
	Ethanolique	22,62	Poudre	Brune
<i>Stylosanthes mucronata</i>	Infusion	9,85	Granulé	Jaune
	Macéré	9,78	Poudre	Brune
	Ethanolique	12,80	Poudre	Brune

Les rendements les plus élevés ont été obtenus avec les extraits éthanoliques, tandis que les plus faibles ont été obtenu avec l'infusé d'*Annona senegalensis* (8,96%) et le macéré de *Stylosanthes mucronata* (9,78%).

2-5- Données chromatographiques

Tableau VI : Résultats de la chromatographie sur couche mince de l'infusé des feuilles d'*Annona senegalensis*

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃	KOH 10%
0,11	Visible	-	violet	-	-	Jaune
0,16	-	Bleu	-	-	-	-
0,25	Visible	-	Brun	jaune	-	-
0,31	Visible	-	-	-	-	-
0,39	-	Bleu	-	bleu	-	-
0,50	Visible	-	Violet	jaune	-	-
0,56	Visible	Jaune	Jaune	jaune	-	Jaune
0,59	-	-	-	-	Noir	-
0,74	Visible	-	-	-	-	-
0,83	Visible	-	-	-	-	-
0,91	Visible	-	-	-	-	-

La coloration jaune après révélation avec les réactifs de Godin et de AlCl₃ nous oriente vers la présence des Flavonoïdes.

La coloration violette après révélation par le réactif de Godin oriente vers la présence des terpénoïdes. Le noir avec FeCl₃ indique la présence des Tanins.

Tableau VII : Résultats de la chromatographie sur couche mince de l'infusé de la partie supérieure de *Stylosanthes mucronata*

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	AlCl ₃	KOH 10%
0,10	Visible	Bleu	Bleu	Jaune
0,14	-	-	-	Jaune
0,20	Visible	Bleu	Bleu	Jaune
0,28	Visible	Bleu	-	Bleu
0,39	-	-	Bleu	-
0,50	Visible	Bleu	Bleu	-
0,64	Visible	-	-	-
0,94	Visible	-	-	-

Aucune substance n'a été observée après révélation par le réactif de Godin et de FeCl₃ dans nos conditions expérimentales.

Tableau VIII : Résultats de la chromatographie sur couche mince des macérés aqueux des feuilles de *A senegalensis*

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl₃	FeCl₃	KOH 10%
0,13	Visible	-	-	jaune	-	-
0,15	-	Bleu	-	-	-	-
0,19	Visible	Bleu	-	jaune	-	-
0,23	-	-	-	-	Noir	-
0,25	Visible	-	-	jaune	-	-
0,34	Visible	-	Brun	jaune	-	-
0,40	-	Jaune	-	-	-	-
0,45	Visible	-	-	bleu	-	-
0,54	Visible	-	Brun	jaune	-	-
0,59	Visible	Jaune	Jaune	jaune	-	Jaune
0,65	-	Bleu	-	-	-	-
0,75	Visible	-	-	-	-	-
0,85	Visible	-	-	-	-	-

Une seule substance est notée avec les réactifs de FeCl₃ (Rf = 0,23) et de KOH (Rf = 0,59).

Tableau IX : Résultats de la chromatographie sur couche mince de macéré de la partie supérieure de *S mucronata*

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃
0,13	Visible	Bleu	-	-
0,21	Visible	Bleu	-	jaune
0,28	Visible	Bleu	-	jaune
0,35	Visible	-	Bleu	-
0,43	Visible	Bleu	-	-
0,54	Visible	Bleu	-	-
0,59	-	Bleu	-	bleu

Aucune substance n'a été observée avec les réactifs de FeCl₃ et de KOH, une seule avec le réactif de Godin (Rf = 0,35).

Tableau X : Résultats chromatographie sur couche mince des décoctés des feuilles d'*A senegalensis*

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃	KOH 10%
0,15	-	-	Violet	-	-	-
0,16	-	Bleu	-	-	-	-
0,25	Visible	-	Violet	-	-	-
0,38	Visible	-	Violet	bleu	-	-
0,46	Visible	Brun	Bleu	jaune	-	-
0,50	-	Bleu	-	-	Noir	-
0,56	Visible	Jaune	Jaune	jaune	-	Jaune
0,75	Visible	-	Violet	-	-	-
0,80	Visible	Brun	orange	-	-	-
0,84	Visible	-	Violet	-	-	-
0,85	-	Bleu	-	-	-	-

Une seule substance est notée avec les réactifs de FeCl₃ (Rf = 0,50) et de KOH (Rf = 0,56).

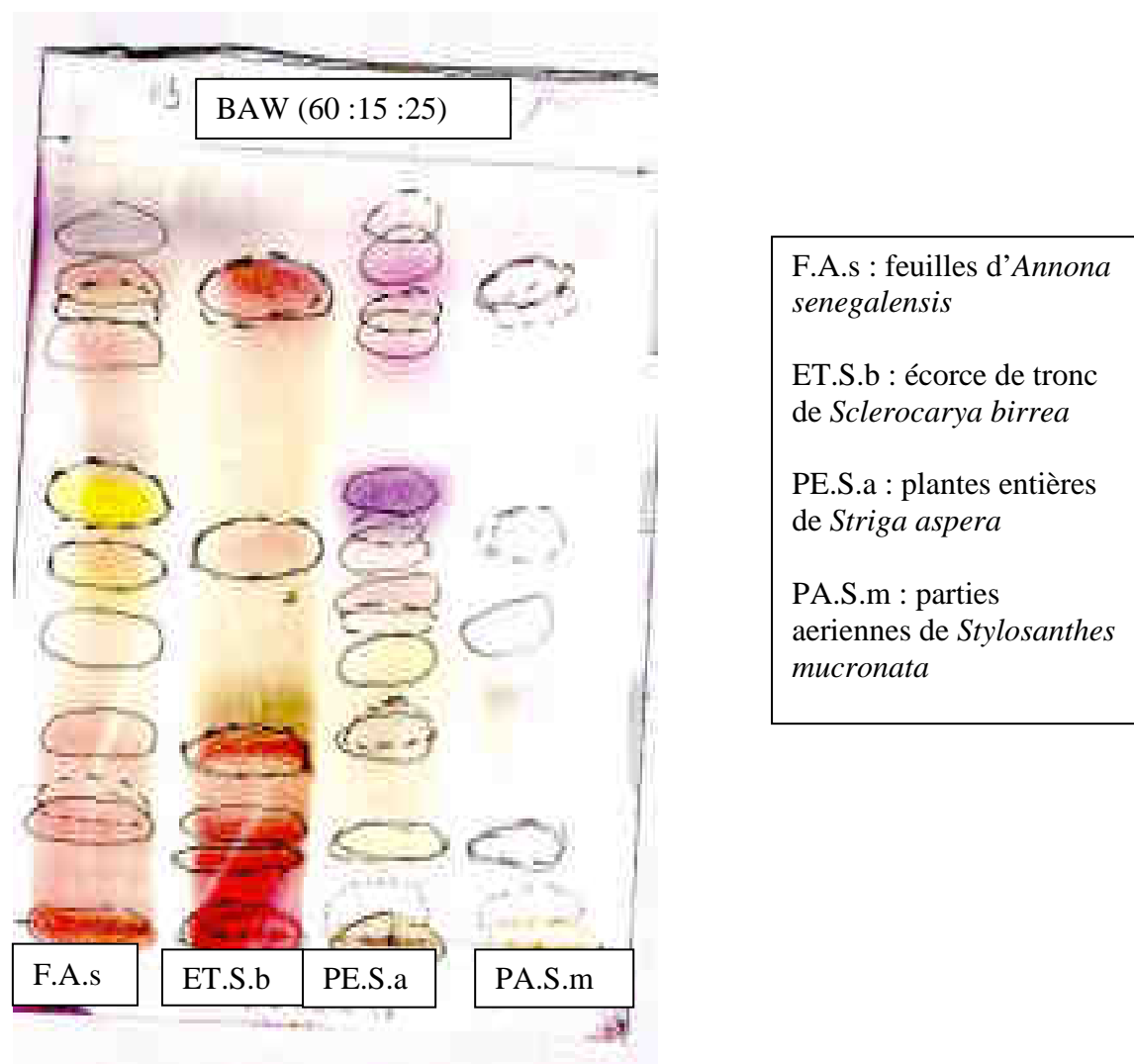


Figure 13: Chromatogramme des extraits aqueux (décoctés), révélé avec Godin

Tableau XI : CCM des éthanoliques des feuilles de *A senegalensis*

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃	KOH 10%
0,11	Visible	-	-	-	-	-
0,15	-	Bleu	-	-	-	-
0,21	Visible	-	-	-	-	-
0,30	Visible	-	-	-	-	-
0,36	-	Bleu	-	jaune	-	-
0,40	Visible	-	-	jaune	-	-
0,46	Visible	-	-	bleu	-	-
0,54	Visible	Jaune	Jaune	jaune	-	Jaune
0,61	Visible	Jaune	Bleu	jaune	-	-
0,70	Visible	Orange	-	-	-	-
0,75	-	-	-	jaune	-	-
0,80	Visible	Orange	-	-	Noir	-
0,90	Visible	Orange	Violet	-	Noir	-

Nous avons noté la présence de nombreuses substances avec le réactif d'AlCl₃, par contre une seule tâche a été observée avec le réactif de KOH.

Tableau XII : Résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits éthanoliques de la partie aérienne de *Stylosanthes mucronata*

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃	KOH 10%
0,16	-	Bleu	-	-	-
0,21	-	-	-	-	Bleu
0,25	Visible	Bleu	-	bleu	Jaune
0,28	-	Bleu	Brun	-	-
0,38	Visible	-	-	jaune	-
0,44	Visible	-	-	bleu	Bleu
0,55	Visible	-	-	bleu	Jaune
0,90	-	Orange	Violet	-	-

Aucune substance n'a été observée avec les réactifs de FeCl₃ et de KOH, par contre nous avons noté de nombreuses tâches avec les réactifs de AlCl₃ et de KOH.

1-Analyses et Discussion :

Dans cette partie, le matériel végétal était constitué des feuilles d'*Annona senegalensis* et des paries aériennes de *Stylosanthes mucronata*.

Les teneurs en eau dans toutes les drogues n'excèdent pas 10%, limite supérieure requise par la pharmacopée internationale pour une bonne conservation des drogues.

Les cendres totales renseignent sur la charge en éléments minéraux de la matière végétale et les cendres sulfuriques quant à elles résultent de la conservation des sels organiques en sulfates. Les cendres chlorhydriques nous renseignent sur la présence dans la drogue d'éléments siliceux.

Les réactions en tubes nous ont montré la présence des coumarines, flavonoïdes, saponosides, tanins, oses et holosides, des mucilages, leucoanthocyanes, stérols et triterpènes et les hétérosides cardiotoniques. Cela confirme les travaux de Ouattara [62], qui a noté la présence de ces mêmes substances dans les feuilles d'*Annona senegalensis*.

La chromatographie sur couche mince (CCM) nous a permis de confirmer certaines de ces réactions citées ci-dessus, c'est le cas des coumarines qui ont été caractérisés par la présence d'inflorescence bleu en UV 366 nm, et révélé avec le réactif de KOH 10%, des flavonoïdes et des triterpènes ont été révélés par des réactifs appropriés.

Selon Iserin [22], les coumarines du (*Melilotus officinnalis*) et du (*Aesculus hypocastanum*) contribuent à fluidifier le sang, ce qui permet de diminuer les risques de phlébites et de thromboses. Les coumarines contenues dans nos drogues pourraient garantir la prévention des atteintes vasculaires et nerveuses qui sont susceptibles de survenir chez le diabétique (ces plantes pourraient être utilisées dans le traitement de l'hypertension artériel).

Les saponosides dissolvent les graisses, donc celles présentes dans nos drogues pourraient aider à prévenir les complications dégénératives (cécité, neuropathies des jambes) chez le diabétique. Les tanins ont des effets astringents, très utiles quant il y a trop de sécrétions (les bronchites, les diarrhées, les leucorrhées, les plaies saigneuses, très grand antihémorragiques, antiseptiques) [72], alors les tanins présents dans nos drogues pourraient prévenir et guérir les infections qui sont susceptibles de survenir chez le diabétique.

Lino et Deogracious [69] ont noté une concentration minimale inhibitrice (CMI) d'*Annona senegalensis* sur *Staphylococcus aureus* (62,5mg/ml). Cette activité pourrait prévenir ou guérir les complications infectieuses chez les diabétiques.

Un traitement riche en antioxydant réduit l'activité des radicaux libres et peut participer à la diminution du risque de complication diabétique [23], les tanins étant connus pour leur activité antioxydante [26], les tanins contenus dans nos drogues pourraient être responsables des activités antiradicaux.

Les mucilages agissent comme protecteurs des muqueuses, ce sont des adoucissantes des calmants de l'inflammation. Selon Perez et col [73], les mucilages sont doués d'activité hypoglycémiant. Celles contenues dans nos drogues pourraient être responsables d'effet hypoglycémiant.

D'après Togora [30], les plantes riches en mucilage sont utilisées en cosmétique comme l'Aloe, les mucilages présents dans nos drogues seront donc être utiles dans la prévention des affections cutanée chez le diabétique.

Les sterols et triterpènes sont doués d'une activité anti-inflammatoire, ils préviennent donc les inflammations chez le diabétique. Selon Perez et col [73], ils ont aussi un pouvoir hypoglycémiant. Celles présentes dans nos drogues pourraient être responsables de l'effet hypoglycémiant de ces plantes.

Les plus grands rendements ont été obtenus avec les extraits éthanoliques (22,62% pour *A senegalensis* et 12,80% pour *S mucronata*), suivi du décocté (15,55%) pour *A senegalensis* et de l'infusé de *S mucronata* (9,85%).

Conclusion

Les études phytochimiques ont révélé la présence de nombreuses substances notamment les coumarines, les saponosides, les flavonoïdes, les sterols et triterpènes, les mucilages, ..., pouvant expliquer l'utilisation de ces plantes dans le traitement du diabète en médecine traditionnelle.

La détermination des polysaccharides dans ces plantes n'a pas été effectuée dans notre étude, nous recommandons donc au DMT de prendre en compte cette partie dans les études prochaines.

Tests biologiques

Chapitre III : Tests biologiques

1- Méthodologie

1-1-Tests antioxydants :

- **Matériel végétal :** poudre des feuilles d'*Annona senegalensis*, et les parties supérieures de *Stylosanthes mucronata*.
- **Méthode :**

Les plaques obtenues dans la chromatographie ont révélé avec une solution du radical 1, 1'diphenyl-2 picrylhydryle (DPPH). Des activités antiradicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-blanc sur un fond violet.

1-2-Test de l'activité antidiabétique

- **Matériel végétal :** poudre des feuilles de *Annona senegalensis* et des parties aériennes de *Stylosanthes mucronata*.
- **Matériel de laboratoire :**
 - Une balance,
 - Un thermomètre électronique de type "Ama digit ",
 - Un Bêcher,
 - Seringues à insuline,
 - Une solution colorée pour la dénomination des animaux,
 - Un chronomètre pour déterminer les temps de prélèvement,
 - Cahier et un stylo,
 - Ethanol,
 - Coton,
 - Un glucomètre de type "ONE TOUCH^R ULTRATM" avec ses bandelettes.

➤ **Animaux :**

Nous avons travaillé sur des souris blanches mâles et femelles de masse variant entre 20 et 38 g, fournies par l'animalerie du Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie (CNAM). Ces souris sont issues d'une souche non consanguine sélectionnées à partir d'une lignée de souris présentant des caractéristiques de vigueur et de productivité appelée CF₁ (Carworth Farms Souche 1) et qui a été introduite à l'Institut Marchoux en 1967 et pris le nom de OF₁ (Oncins France Souche 1) [figure N° 14]. Ces souris ont été suivies dans les locaux du DMT à Darsalam.

Notre expérience a concerné 36 souris : mâles (12) et femelles (24). Nous avons constitué des lots homogènes de souris (sexe, poids).



Figure N° 14 : Photo des souris blanches

➤ **Appareil de dosage :**

Le Système "ONE TOUCH ULTRA™" : (instrument, test sensors et contrôles) a servi pour le dosage.

Cet appareil a été conçu pour les patients diabétiques et des professionnels de la santé pour mesurer le taux de glucose sur le sang total. Le système ONE TOUCH ULTRA™ est spécifique au glucose et se réfère au glucose sur sang total.

1-2-1- Suivi des animaux

Les animaux ont été suivis pendant un mois avant les tests, durant lequel, le poids corporel et l'eau de boisson de chaque lot ont été mesurés.

1-2-2-Technique d'administration

Nous avons immobilisé l'animal, la tête surélevée, la bouche ouverte. Ainsi la bouche bien ouverte, une seringue chargée du produit, munie de la sonde gastro-œsophagienne a été introduite jusqu'à l'estomac, puis nous avons envoyé le produit en poussant le piston de la seringue.

1-2-3-Prélèvement

Il s'effectue sur la veine de la queue afin d'avoir une goutte de sang suffisante pour la détermination de la glycémie.

1-2-4- Essai hypoglycémiant

- **Principe** : Consiste à vérifier l'effet des produits en étude sur la glycémie de base.
- **Mode opératoire** :

Après un jeun préalable de 24h, nous avons mesuré la glycémie de base et ensuite administré les extraits à nos souris. Les glycémies ont été mesurées à des intervalles de temps de 30mn pendant 3h. Elles ont été comparées à la glycémie de base.

1-2-5- Hyperglycémie temporaire ou

Hyperglycémie provoquée par voie orale (H.P.V.O)

- **Principe** : Consiste à provoquer une hyperglycémie temporaire chez les animaux non diabétiques et ensuite vérifier l'effet des produits en étude sur l'hyperglycémie.
- **Mode opératoire**

Après un jeun préalable de 24h, nous avons mesuré la glycémie de base et provoqué une hyperglycémie temporaire chez les souris en administrant le glucose (dilué à 10% dans l'eau distillée) par voie orale à la dose de 3g/kg de poids corporel. Nous avons mesuré la glycémie au bout de 30mn. Les souris hyperglycémiantes sont alors triées pour constituer des lots.

Ces différents lots de souris ont été traités comme suit :

- Un lot témoin traité avec l'eau distillée à la dose de 25ml/kg ;

- Un lot référence traité avec la metformine 500mg/kg ;
- Un lot d'essai traité avec les extraits aqueux à la dose de : 80, 160, 240 mg/kg pour *Annona senegalensis* et 50, 100, 150 mg/kg pour le *Stylosanthes mucronata* ;
- Un lot d'essai traité avec l'extrait extemporané (solution d'utilisation des thérapeutes) 25ml/kg.

Nous avons ensuite déterminé la glycémie 1h, 2h et 3h après les différents traitements.

Les résultats sont analysés par rapport aux pics.

2- Résultats

2-1- *Activité antioxydant :*

Tableau XIII : Résultat des substances antiradicalaires

Plantes/drogues	Rf
Feuilles de <i>A senegalensis</i>	
Décocté	0,38 ; 0,8
Macéré aqueux	0,13
Macéré éthanolique	0,90

Dans nos conditions expérimentales, nous avons pas notés de substances antiradicalaires avec les extraits de *Stylosanthes mucronata*.

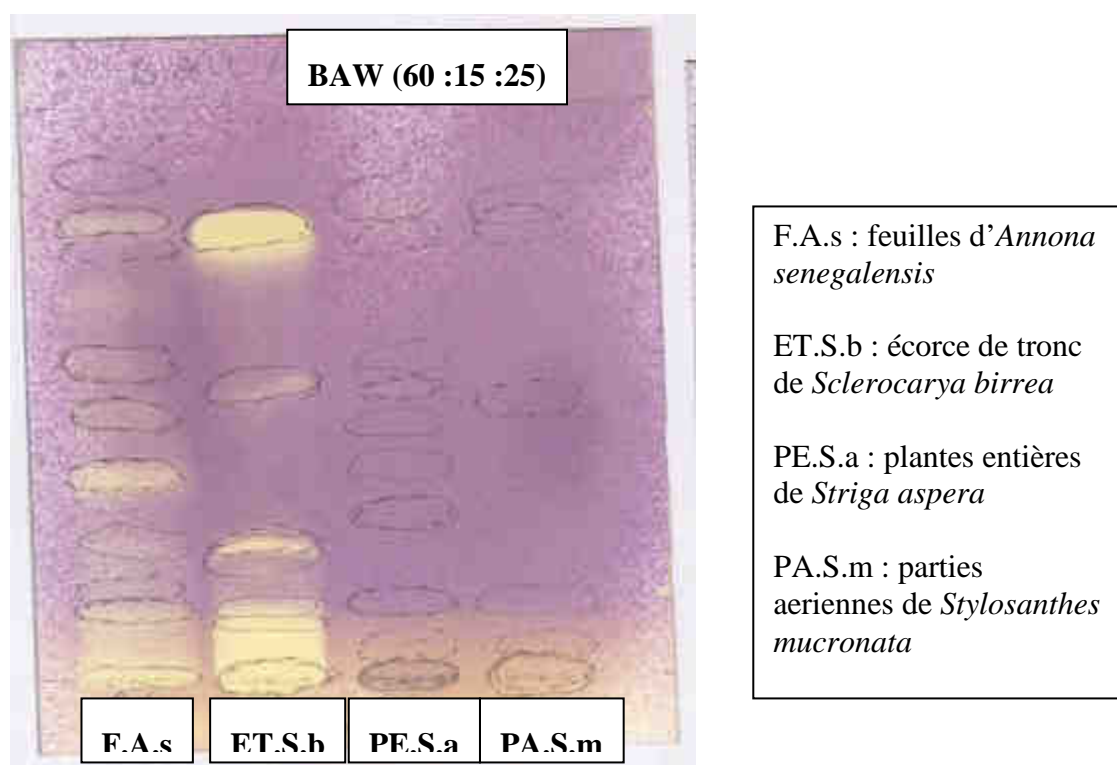


Figure 15 : Chromatogramme des extraits aqueux dans du BAW (60, 15, 25) et révéle avec du DPPH.

2-2- Activité antidiabétique

2-2-1- Effet *A senegalensis* et *S mucronata* sur la glycémie de base

Tableau XIV : Effet d'*A senegalensis* et de *S mucronata*, de l'eau distillée sur la glycémie de base

Drogues	Dosage	Glycémie (mmol/l) normale M±DS			
		Gly 0 mn	Gly 60 mn	Gly 120 mn	Gly 180 mn
Eau distillée	25ml/kg	7,78±0,78	8,25±1,96	7,00±1,30	6,70±1,30
Déc.ext. <i>A. s</i>	25ml/kg	5,68±0,54	7,80±1,33	7,38±1,08	6,12±0,75
Déc. <i>A s</i>	80mg/kg	5,32±1,48	6,48±3,22	5,33±1,41	4,97±1,49
Déc. <i>A s</i>	160mg/kg	6,2±1,72	6,87±1,72	6,17±0,79	6,63±1,13
Déc. <i>A s</i>	240mg/kg	6,6±0,44	6,52±1,37	6,35±1,07	5,17±0,75
Inf.ext. <i>S.m</i>	25ml/kg	7,62±0,64	9,65±2,28	7,67±1,47	6,83±0,85
Inf. <i>S m</i>	50mg/kg	7,03±1,29	6,60±2,35	4,42±1,61	4,03±0,79
Inf. <i>S m</i>	100mg/kg	6,78±0,72	8,13±2,36	6,83±1,38	6,77±1,67
Inf. <i>S m</i>	150mg/kg	8,5±1,00	8,98±2,11	6,47±1,11	6,48±1,53

Nous avons observé une diminution significative ($p < 0,05$) avec tous les extraits d'*Annona senegalensis*. Par contre une légère augmentation a été notée avec les extraits aqueux de *Stylosanthes mucronata*, sauf avec l'extrait à la dose de 50mg/kg que nous avons observé une légère diminution.

Tableau XV : Pourcentage de diminution de la glycémie normale

Drogues	Dosage	Pourcentage de diminution		
		Gly 60 mn	Gly 120 mn	Gly 180 mn
Eau distillée	25ml/kg	-6,00%	10,06%	13,92%
Déc. ext. <i>A s</i>	25ml/kg	-37,24%	-29,91%	-7,62%
Déc. <i>A s</i>	80mg/kg	-21,94%	-0,31%	6,58%
Déc. <i>A s</i>	160mg/kg	-10,75%	0,54%	-6,99%
Déc. <i>A s</i>	240mg/kg	1,26%	3,79%	-21,72%
Inf. ext. <i>S m</i>	25ml/kg	-26,70%	-0,66%	10,28%
Inf. <i>S m</i>	50mg/kg	6,16%	22,99%	42,65%
Inf. <i>S m</i>	100mg/kg	-19,90%	-0,74%	0,25%
Inf. <i>S m</i>	150mg/kg	-5,69%	23,92%	23,73%

Courbes d'évolution de la glycémie normale

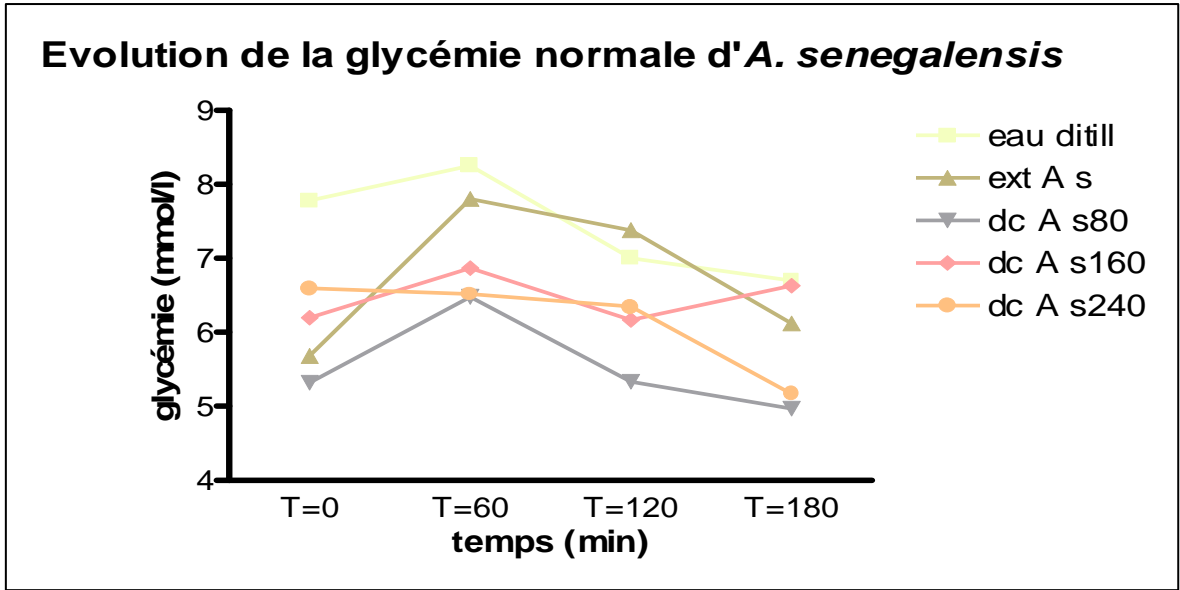


Figure 16 : Effet des extraits d'*Annona senegalensis* sur la glycémie normale

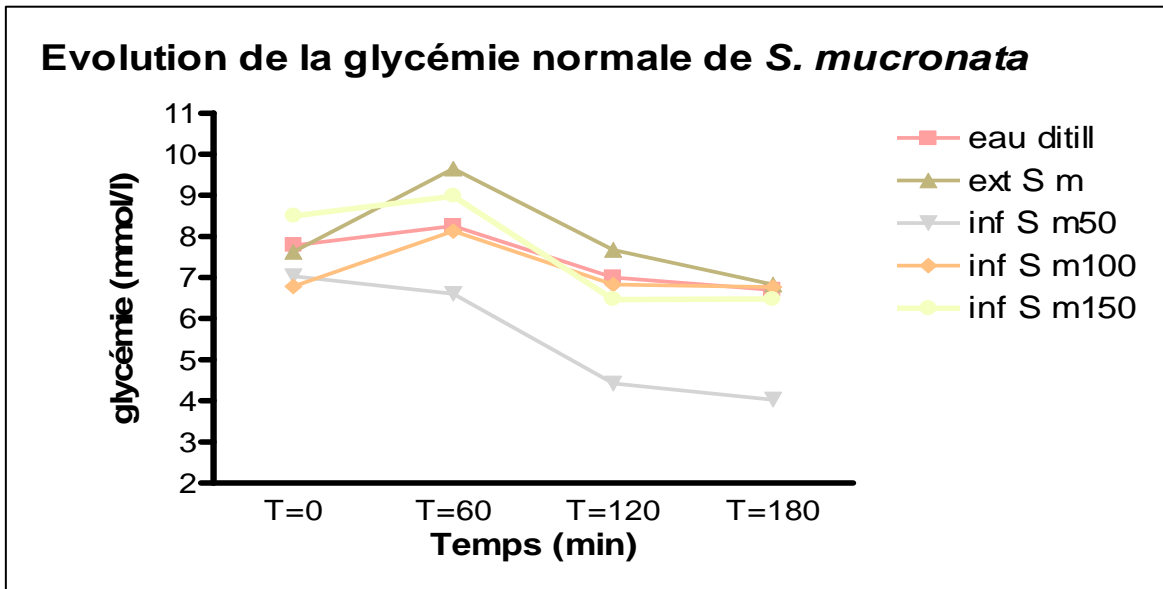


Figure 17 : Effet des extraits de *Stylosanthes mucronata* sur la glycémie normale.

2-2-2- Effet d'*Annona senegalensis* et de *Stylosanthes mucronata* sur l'hyperglycémie temporaire

Tableau XVI : Effet *A senegalensis*, *S mucronata*, eau distillé et de la metformine sur l'hyperglycémie temporaire

Drogues	Dosage	Glycémie (mmol/l) temporaire M±DS			
		Gly 30 mn	Gly 60 mn	Gly 120 mn	Gly 180 mn
Eau distillée	25mg/kg	10,62±1,02	9,67±1,07	8,53±0,77	7,75±0,73
Metformine	500mg/kg	9,65±1,28	5,22±0,23	4,48±0,57	3,82±1,34
Déc. ext. <i>A s</i>	25ml/kg	10,67±0,77	6,00±0,40	5,27±0,70	5,60±0,97
Déc. <i>A s</i>	80mg/kg	11,08±2,95	7,53±1,15	5,90±0,52	6,43±1,36
Déc. <i>A s</i>	160mg/kg	11,42±1,52	7,67±0,81	7,43±0,95	7,07±0,78
Déc. <i>A s</i>	240mg/kg	12,37±3,91	8,13±2,06	6,78±0,99	6,22±1,15
Inf. ext. <i>S m</i>	25ml/kg	12,98±3,21	9,47±1,40	7,10±1,32	6,97±0,54
Inf. <i>S m</i>	50mg/kg	12,35±1,35	11,32±1,08	10,42±0,91	9,08±0,60
Inf. <i>S m</i>	100mg/kg	10,47±1,32	9,00±2,37	7,90±2,01	6,75±1,28
Inf. <i>S m</i>	150mg/kg	11,02±1,72	8,08±2,03	7,72±1,11	7,18±0,41

Les extraits aqueux d'*Annona senegalensis* ont donné une diminution significative ($p < 0,05$) de l'hyperglycémie temporaire. Par contre la diminution est moins importante avec tous les extraits aqueux de *Stylosanthes mucronata* sauf la solution extemporanée où la différence était significative ($p = 0,0307$).

Tableau XVI : Pourcentage de diminution de l'hyperglycémie temporaire

Drogues	Dosage	pourcentage d'inhibition		
		Gly 60 mn	Gly 120 mn	Gly 180 mn
Eau distillée	25mg/kg	8,98%	19,65%	27,02%
Metformine	500mg/kg	45,91%	53,58%	60,41%
Déc. ext. <i>A s</i>	25ml/kg	43,75%	50,63%	47,50%
Déc. <i>A s</i>	80mg/kg	32,03%	46,77%	41,95%
Déc. <i>A s</i>	160mg/kg	32,85%	34,89%	38,10%
Déc. <i>A s</i>	240mg/kg	34,23%	45,15%	49,73%
Inf. ext. <i>S m</i>	25ml/kg	27,09%	45,31%	46,34%
Inf. <i>S m</i>	50mg/kg	8,37%	15,65%	26,45%
Inf. <i>S m</i>	100mg/kg	14,01%	24,52%	35,51%
Inf. <i>S m</i>	150mg/kg	26,63%	29,95%	34,80%

La plus grande diminution de l'hyperglycémie temporaire a été observée avec les solutions extemporanées d'*Annona senegalensis* (50,63%), et de *Stylosanthes mucronata* (46,34%)

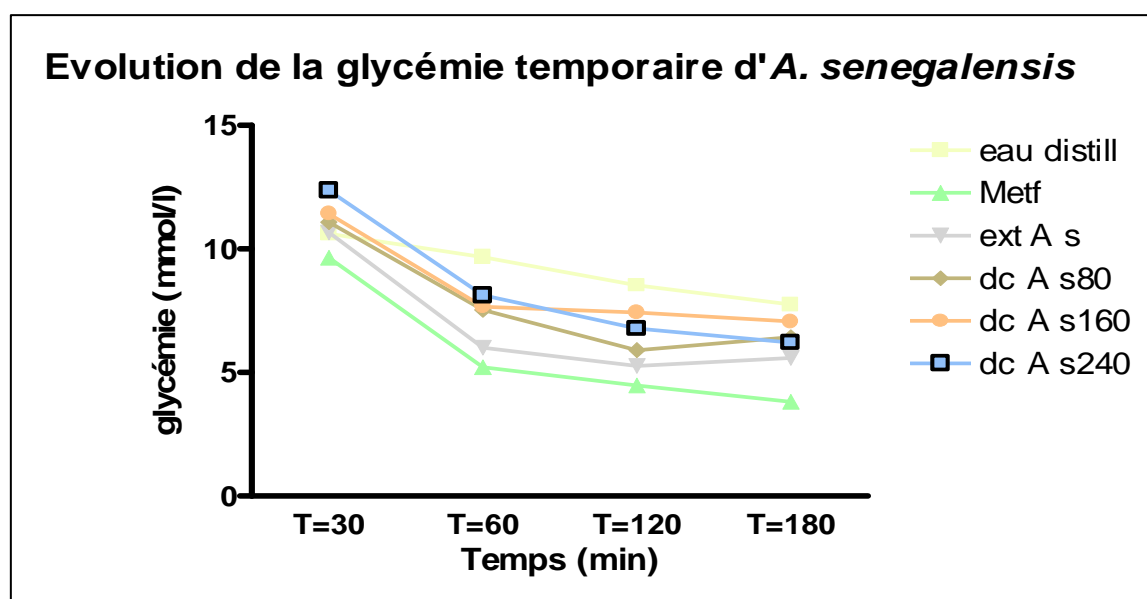


Figure 18 : Effet des extraits d'*Annona senegalensis* sur l'hyperglycémie temporaire

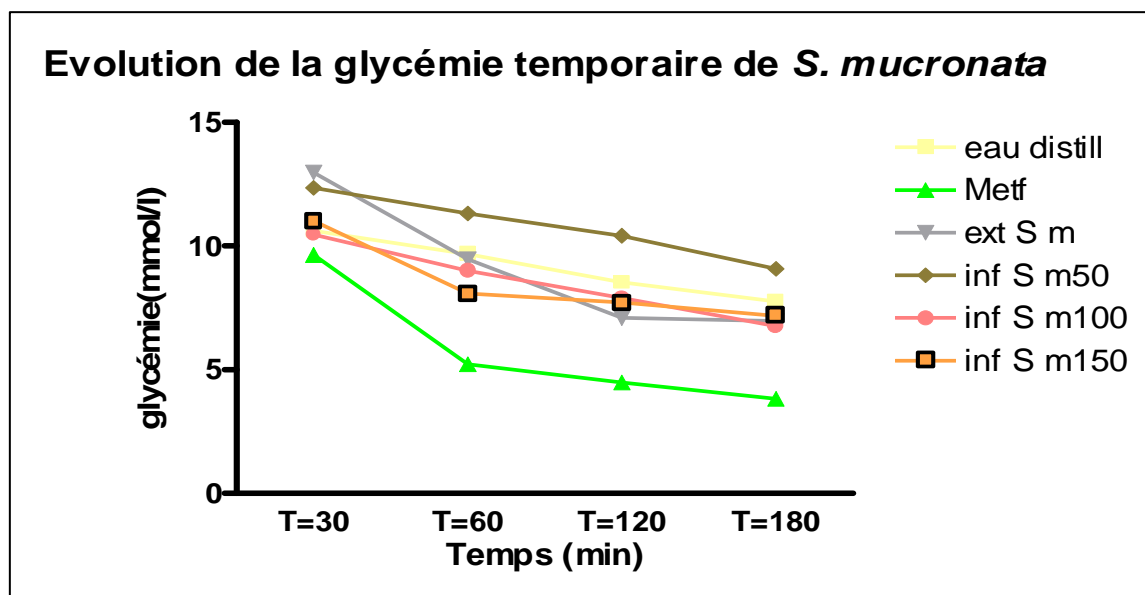


Figure 19 : Effet des extraits d'*Stylosanthes mucronata* sur l'hyperglycémie temporaire.

3- Analyses et Discussion

Seuls les extraits d'*Annona senegalensis* ont révélé des substances antiradicalaires observées en coloration jaune sur fond violet. L'activité antiradicalaire pourrait être due à la présence des substances polyphénoliques dans ces extraits. En effet les polyphénols inhibent les L.D.L qui sont impliqué dans la peroxydation et l'athérosclérose [74].

Le test sur la glycémie de base nous a donné une légère augmentation de la glycémie avec les trois doses y compris l'extrait extemporané du décocté d'*Annona senegalensis*. Seul au temps T₆₀ où nous avons observé une diminution à la dose de 240 mg/kg avec le décocté d'*Annona senegalensis* alors qu'au même moment, nous avons noté une augmentation avec le lot témoins (-6%). L'infusé de *Stylosanthes mucronata* nous a donné une légère diminution à la dose de 50 mg/kg.

Pour l'étude de l'activité antihyperglycémiant chez les souris, nous avons utilisé la metformine 500 mg comme produit de référence. Nous avons constaté une diminution de la glycémie chez tous les animaux.

Le plus grand pourcentage de diminution a été 50,63% avec le décocté extemporané d'*Annona senegalensis* au temps T₁₂₀ et de 46,34% avec l'infusé extemporané de *Stylosanthes mucronata* au temps T₁₈₀. Nous constatons ainsi que dans nos conditions expérimentales, le mode d'utilisation des thérapeutes provoque plus de diminution de la glycémie que les extraits lyophilisés. Mais par comparaison, la metformine a provoqué plus d'inhibition que nos extraits, 53,58% au temps T₁₂₀ et 60,41% au temps T₁₈₀.

Dans nos conditions expérimentales, les extraits d'*Annona senegalensis* ont provoqué plus d'inhibition que les extraits de *Stylosanthes mucronata*. Mais aussi nos résultats montrent que l'effet de *Stylosanthes mucronata* est dose dépendante.

Nos résultats sont comparables à ceux de Coulibaly [41] sur les lapins qui ont montré que le décocté à 6% des graines de *Cassia occidentalis* avait une activité de 51,84% au temps T₃₀ à la dose 3 ml/kg.

D'après Yaro [32], le décocté à 6% de la plante entière de *Striga aspera* avait une activité de 39,94% sur l'hyperglycémie à la dose de 250 mg/kg.

Pour Haïdara [24], l'extrait butanolique des feuilles de *Bridelia ferrugina*, à la dose de 10 mg/kg abaissait la glycémie de 4,12% au temps T_{30} ; l'extrait éthanolique des feuilles de *Sclerocarya birrea* diminuait la glycémie de 10,59% au même moment.

Des tests hypoglycémiantes effectués par Hamsatou [66], ont montré qu'au temps T_{30} , le macéré des feuilles de *Zyziphus mauritiana* avait une activité de 56,02% à la dose de 150 mg/kg. Comparativement à nos résultats, cet extrait des feuilles de *Zyziphus mauritiana* semble être plus efficace que les notre.

Selon **Sabu** et Kuttan [75], les extraits méthanoliques (75%) de *Terminalia belerica*, *Emblica officinalis* et des combinaisons de « Triphala » inhibaient de 50% la peroxydation des lipides à des concentrations respectivement de 85,5 ; 27 ; 74 ; et 69 ug/ml. Les mêmes extraits à 100 mg/kg abaissaient la glycémie temporaire et la glycémie provoquée par l'alloxane (120 mg/kg) chez les rats.

D'après Togora [30], le macéré de la recette I diminuait au temps T_{90} la glycémie de 45,24%.

Gidado [76] ont obtenu un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 45% de l'hyperglycémie permanente des rats au bout de 4 heures après traitement avec l'extrait aqueux des feuilles de *Nauclea latifolia* à la dose de 200 mg/kg.

Les études effectuées par Sambo [25], ont montré que l'infusé de *Manilkara multinervis* abaissait au temps T_{120} la glycémie de 49,68% à la dose de 6,5 mg/kg. Cet infusé est apparemment moins efficace que le décocté extemporané d'*Annona senegalensis*, mais plus efficace que l'infusé de *Stylosanthes mucronata*.

Les différents résultats obtenus au terme de cette étude, pourraient justifier l'utilisation de ces deux plantes dans le traitement traditionnel du diabète.

Conclusion

Dans nos conditions expérimentales, seuls les extraits aqueux et alcooliques d'*Annona senegalensis* ont présenté des substances antiradicaux et une importante activité hypoglycémiant. Mais les plus fortes activités ont été obtenues avec les solutions extemporanées des deux plantes.

Ces informations sont encourageant pour la continuité de ces études afin d'aboutir à des M.T.A. pour le traitement du diabète.

D'où l'intérêt de notre dernier chapitre qui sera consacré à l'évaluation clinique de l'effet hypoglycémiant de *Sclerocarya birrea*.

Evaluation clinique de l'effet hypoglycémiant de *Sclerocarya birrea*

Chapitre IV : Evaluation clinique du Diabetisane

1- Méthodologie

1-1- Matériels utilisés :

- balance de ménage de type SEHNLE
- glucomètres de type ACCU-CHEK^R Active
- bandelettes de type ACCU-CHEK^R Active
- lancettes de type ACCU-CHEK^R Softclix et de type 1st choice
- chronomètres
- alcool
- coton
- eau
- pain blanc
- sucre
- décoction de *sclerocarya birrea*

1-2- Cadre d'étude :

Le travail a été réalisé dans les locaux du Centre National de diabétologie de Bamako

1-3- Type d'étude :

Il s'agissait d'une étude observationnelle répondant aux critères d'un essai clinique de phase 1, composée de 45 sujets volontaires repartis de la manière suivante :

15 personnes en bonne santé non diabétiques, qui n'étaient pas sous prescription médicales,

15 personnes diabétiques « maigres » qui ne prenaient pas d'Antidiabétiques Oraux (ADO) ou d'insuline,

15 personnes diabétiques « obèses » qui ne prenaient pas d'ADO ou d'insuline,

Les caractéristiques suivantes des sujets ont été recueillies :

Sexe ;

Âge ;

Indice de masse corporel (IMC) ;

Glycémies à jeun.

Pour l'adhésion de la population à notre étude, il a été expliqué aux sujets les objectifs, la méthodologie, les risques et les bénéfices de l'étude. Les questions de clarification des sujets ont été répondues par l'équipe de recherche.

Un document de consentement éclairé de participation a été signé par les participants.

Le protocole a été soumis au comité d'éthique de l'I.R.N.P. qui a donné son accord pour l'exécution de ce travail.

1-4- Préparation du médicament à administrer :

Le médicament à administrer était la diabétisane qui est un Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) fabriqué au Département de Médecine Traditionnelle (DMT) à partir de *Sclerocarya birrea*. Ce MTA est produit au DMT et nécessite les essais cliniques complémentaires pour l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché (AMM). Cette étude est l'une des étapes de ce processus en vue de l'obtention d'une AMM pour la diabétisane.

La posologie testée était la posologie conseillée habituellement au DMT, pour une utilisation efficace de la diabétisane.

Préparation du Diabétisane :

La Diabétisane est constituée de feuilles séchées à l'ombre dans un endroit propre de *Sclerocarya birrea* Hochst, conditionnée en sachets de 20g.

Préparation

Un sachet de 20g est mis en ébullition dans 250 ml d'eau. Le temps de décoction est de 15mn à partir du début de l'ébullition. Remuer au moins 2 fois au moment de la décoction. Le mélange est filtré et absorbé.

Les doses thérapeutiques journalières varient suivant la glycémie :

Jusqu'à 2g/l, 1 sachet de 60g en 3 prises ;

Au delà de 2g/l, 1 sachet de 100g en 3 prises. La dure du traitement est de 7 jours ;

Le traitement d'entretien se fait avec une dose de 40g en 2 prises.

Dans notre étude, nous avons adopté la posologie suivante : 30 g de diabétisane dans 500 ml d'eau. Le décocté a été absorbé avant l'ingurgitation du pain blanc. Elle a été possible grâce aux études faites par Maiga [44] et Coulibaly [40].

1-5- Protocole expérimental

Pour cette étude, nous avons adopté le protocole de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour la mesure des réponses post prandiales et des index glycémiques (FAO/WHO) [75].

Chaque groupe a été testé 2 fois. Une première fois avec l'aliment de référence permettant d'obtenir la charge glucidique initiale. La seconde fois avec la charge glucidique précédée de l'ingestion d'une quantité définie de la décoction de diabétisane.

Les sujets sont mis à jeun au moins 13 heures avant le test. Chaque sujet a été testé deux fois durant une période d'un mois.

Lors de la 1^{ère} épreuve, chaque sujet a consommé 100g de pain qui correspond à 50g de glucose.

Lors de la 2^{ème} épreuve, chaque sujet a ingurgité avant l'ingestion du pain (équivalente à 50g de glucide) la diabétisane, en suivant la quantité recommandée.

Il a été demandé aux sujets de ne pas pratiquer d'activités physiques inhabituelles, de garder une alimentation normale en évitant la prise de légumes et d'alcool la veille du test.

La 1^{ère} mesure au temps $T = 0$, a été réalisée avant l'ingestion du repas. Ensuite les sujets, placés au calme, ingèrent leur repas test avec un peu d'eau. Les prélèvements suivant ont été réalisés aux temps $t = 30, 60, 90, 120, 150$ et 180 min

Les glycémies ont été mesurées par la méthode au glucose oxydase à partir de sang capillaire prélevé sur les doigts des sujets.

1-6- Population d'étude :

Elle a été composée de sujets volontaires diabétiques ou non âgés de 32 à 68 ans. Les sujets diabétiques sont des malades consultants dans les locaux du Centre National de Diabétologie. Les sujets sains ont été recrutés parmi les proches des malades et du personnel du Centre en répondant aux critères taille et poids.

1-7- Critère d'inclusion

Sont inclus dans l'étude :

Les sujets volontaires non diabétiques ;

Les sujets diabétiques volontaires non insulino-dépendants, qui ne prennent pas d'Antidiabétique.

1-8- Critères de non inclusion

Ne sont pas inclus dans l'étude :

Tous les sujets diabétiques de type 1 ;

Les sujets présentant une dyslipidémie (modification anormale du taux des graisses dans le sang).

Tous les volontaires non diabétiques mais souffrant de cardiopathie et des maladies respiratoires, les insuffisances rénales, les insuffisances hépatiques, les femmes enceintes.

1-9- Méthode d'analyse des données

L'aire sous la courbe de la glycémie est calculée de manière géométrique (FAO/WHO) [75]. La ligne correspondante à la glycémie à jeun est choisie comme ligne de base. Les résultats sont comparés en utilisant l'analyse de variance et le test t de Student.

Les différences sont dites significatives lorsque $p < 0,05$. Les données statistiques sont calculées en utilisant le logiciel Graph prim 4.

NB :

+ : significative,

- : non significative,

* : pas de croisement.

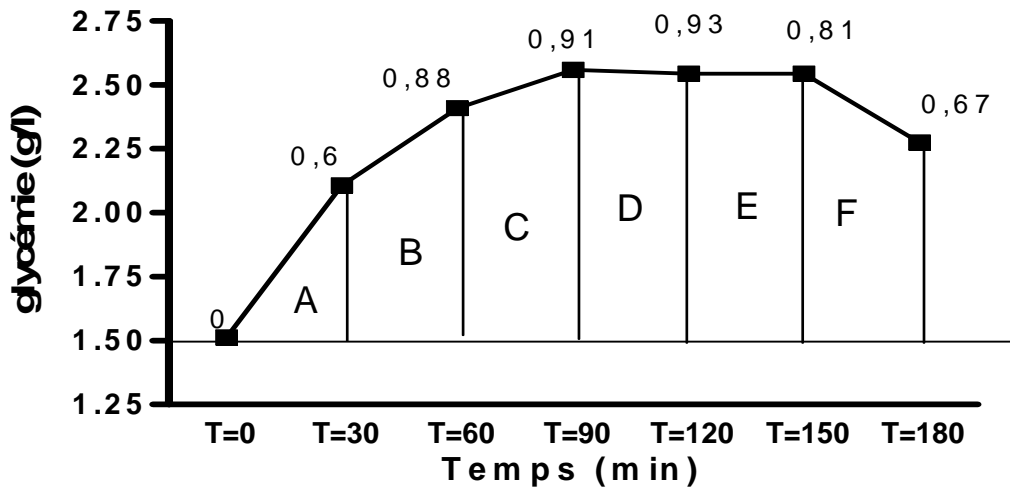


Figure 20 : Exemple de calcul de l'aire sous la courbe (AUC) de la glycémie

La courbe est extraite du tableau 3 (diab maigres sans S.b)

AUC est égale à la somme des aires du triangle et des trapèzes : $A+B+C+D+E+F$

$$\text{Aire du triangle A} = 0,6 \times 30/2 = 9$$

$$\text{Aire du trapèze B} = (0,6 + 0,88) \times 30/2 = 22,2$$

$$\text{Aire du trapèze C} = (0,88 + 0,91) \times 30/2 = 26,85$$

$$\text{Aire du trapèze D} = (0,91 + 0,93) \times 30/2 = 27,6$$

$$\text{Aire du trapèze E} = (0,93 + 0,81) \times 30/2 = 26,1$$

$$\text{Aire du trapèze F} = (0,81 + 0,67) \times 30/2 = 22,2$$

$$\text{A.U.C.} = 9 + 22,2 + 26,85 + 27,6 + 26,1 + 22,2 = 133,95 \text{ g.min/l}$$

2-Résultats :

AGES ET INDICE DE MASSE CORPOREL

Tableau XVII : Age et IMC moyens des sujets

	M ± E.S	
	Ages (ans)	I.M.C. (kg/m ²)
Témoins	38,80±2,019	27,104±1,334
Dia maigres (PN)	51,60±2,641	24,279±0,966
Dia obèses	47,73±1,878	31,307±0,966

L'âge moyen était de 38,80 ans pour les témoins, 45,73 ans pour les diabétiques obèses et 51,60 ans pour les diabétiques maigres.

L'I.M.C. moyen était de 27,104 kg/m² pour les témoins, 24,279 kg/m² pour les diabétiques maigres (poids normal) et 31,307 kg/m² pour les diabétiques obèses.

SEXE

Tableau XVIII : répartition des sujets selon le sexe

	Témoins	Diab maigres	Diab obèses	%
Hommes	6	3	3	26,67
Femmes	9	12	12	73,33
Total	15	15	15	100

Les femmes étaient plus nombreuses, soit 73,33%

GLYCEMIE :

Tableau XIX : résultats des glycémies des passages sans *Sclerocarya birrea*

	T=0	T=30	T=60	T=90	T=120	T=150	T=180
Témoins	0,82± 0,019	1,25± 0,033	1,22± 0,044	1,20± 0,041	1,03± 0,038	0,98± 0,032	0,89± 0,028
Diab maigres (PN)	1,53± 0,140	2,13± 0,155	2,41± 0,168	2,44± 0,165	2,46± 0,184	2,34± 0,184	2,20± 0,188
Diab obèses	1,41± 0,137	1,88± 0,122	2,25± 0,131	2,25± 0,138	2,10± 0,167	1,89± 0,171	1,80± 0,169

Tableau XX : résultats des glycémies des passages avec *Sclerocarya birrea*

	T=0	T=30	T=60	T=90	T=120	T=150	T=180
Témoins	0,84± 0,018	1,15± 0,033	1,24± 0,040	1,16± 0,039	1,07± 0,035	0,95± 0,027	0,87± 0,018
Diab maigres (PN)	1,43± 0,101	1,68± 0,105	1,96± 0,124	2,13± 0,135	2,17± 0,152	2,08± 0,144	1,95± 0,140
Diab obèses	1,19± 0,071	1,47± 0,075	1,67± 0,091	1,71± 0,103	1,70± 0,111	1,57± 0,121	1,47± 0,122

Analyses

T=0 (glycémie à jeun) :

➤ Nous n'avons pas noté de différence significative ($p < 0,05$) entre :

- Les témoins ;
- Les diabétiques maigres ;
- Les diabétiques obèses ;
- Les diabétiques maigres et diabétiques obèses.

Tableau XXI : Résultats de la comparaison des différents groupes à T=30 minutes

T=30	Témoins T	Diab maigre T	Diab obèse T
Témoins NT	+	*	*
Diab maigres NT	*	+	*
Diab obèses NT	+	-	+
Témoins T	*	+	+
Diab maigre T	*	*	-

T=30 (glycémie à 30 minutes l'administration des produits) :

- **Nous n'avons pas noté de différence significative ($p < 0,05$) entre :**
 - Les diabétiques maigres non traités et les diabétiques obèses non traités ;
 - Les diabétiques maigres traités et les diabétiques obèses traités.
- **Nous avons noté de différence significative ($p < 0,05$) entre :**
 - Les témoins traités et les témoins non traités ($p < 0,0184$) ;
 - Les témoins traités et les diabétiques maigres traités ($p < 0,0001$);
 - Les témoins traités et les diabétiques obèses traités ($p = 0,0003$).

Tableau XXII : Résultats de la comparaison des différents groupes à 60 minutes

T=60	Témoins T	Diab maigre T	Diab obèse T
Témoins NT	-	*	*
Diab maigres NT	*	+	*
Diab obèses NT	*	-	+
Témoins T	*	+	+
Diab maigre T	*	*	-

T=60 (glycémie à 60 minutes après l'administration des produits) :

- **Nous n'avons pas noté de différence significative (p<0,05) entre :**
 - Les témoins non traités et les témoins traités ;
 - Les diabétiques maigres traités et les diabétiques obèses traités.
- **Nous avons noté de différence significative (p<0,05) entre :**
 - Les témoins traités et les diabétiques maigres traités (p<0,0001) ;
 - Les témoins traités et les diabétiques obèses traités (p<0,0001).

Tableau XXIII : Résultats de la comparaison des différents groupes à T=90 minutes

T=90	Témoins T	Diab maigre T	Diab obèse T
Témoins NT	-	+	+
Diab maigres NT	*	-	*
Diab obèses NT	*	*	+
Témoins T	*	+	+
Diab maigre T	*	*	+

T=90 (glycémie à 90 minutes après l'administration des produits) :

- **Nous n'avons pas noté de différence significative (p<0,05) entre :**

- Les témoins non traités et les témoins traités ;
- Les diabétiques maigres non traités et les diabétiques maigres traités.
- **Nous avons noté de différence significative ($p < 0,05$) entre :**
- Les témoins traités et les diabétiques maigres traités ($p < 0,0001$) ;
- Les témoins traités et les diabétiques obèses traités ($p < 0,0001$) ;
- Les diabétiques maigres traités et les diabétiques obèses traités ($p = 0,0166$).

Tableau XXIV : Résultats de la comparaison des différents groupes à T=120 minutes

T=120	Témoins T	Diab maigre T	Diab obèse T
Témoins NT	-	+	+
Diab maigres NT	+	-	*
Diab obèses NT	*	*	+
Témoins T	*	+	+
Diab maigre T	*	*	+

T=120 (glycémie à 120 minutes après l'administration des produits) :

- **Nous n'avons pas noté de différence significative ($p < 0,05$) entre :**
- Les témoins non traités et les témoins traités ;
- Les diabétiques maigres non traités et les diabétiques maigres traités.
- **Nous avons noté de différence significative ($p < 0,05$) entre :**
- Les témoins traités et les diabétiques maigres traités ($p < 0,0001$) ;
- Les témoins traités et les diabétiques obèses traités ($P < 0,0001$) ;
- Les diabétiques maigres traités et les diabétiques obèses traités ($p = 0,0172$).

Tableau XXV : Résultats de la comparaison des différents groupes à T=150 minutes

T=150	Témoins T	Diab maigre T	Diab obèse T
Témoins NT	-	*	*
Diab maigres NT	*	-	*
Diab obèses NT	*	*	-
Témoins T	*	+	+
Diab maigre T	*	*	+

T=150 (glycémie à 150 minutes après l'administration des produits) :

➤ **Nous n'avons pas noté de différence significative ($p < 0,05$) entre :**

- Les témoins non traités et les témoins traités ;
- Les diabétiques maigres non traités et les diabétiques maigres traités.

➤ **Nous avons noté de différence significative ($p < 0,05$) entre :**

- Les témoins traités et les diabétiques maigres traités ($p < 0,0001$) ;
- Les témoins traités et les diabétiques obèses traités ($p < 0,0001$) ;
- Les diabétiques maigres traités et les diabétiques obèses traités ($p = 0,0092$).

Tableau XXVI : Résultats de la comparaison des différents à T=180 minutes

T=180	Témoins T	Diab maigre T	Diab obèse T
Témoins NT	-	*	*
Diab maigres NT	*	-	*
Diab obèses NT	*	*	-
Témoins T	*	+	+
Diab maigre T	*	*	+

T=180 (glycémie à 180 minutes après l'administration des produits) :

- **Nous n'avons pas noté de différence significative ($p < 0,05$) entre :**
 - Les témoins non traités et les témoins traités ;
 - Les diabétiques maigres non traités et les diabétiques maigres traités ;
 - Les diabétiques obèses non traités et les diabétiques obèses traités.
- **Nous avons noté de différence significative ($p < 0,05$) entre :**
 - Les témoins traités et les diabétiques maigres traités ($p < 0,0001$) ;
 - Les témoins traités et les diabétiques obèses traités ($p < 0,0001$) ;
 - Les diabétiques maigres traités et les diabétiques obèses traités ($p = 0,0114$).

Pic d'hyperglycémie

Courbes d'évolutions de la glycémie des témoins

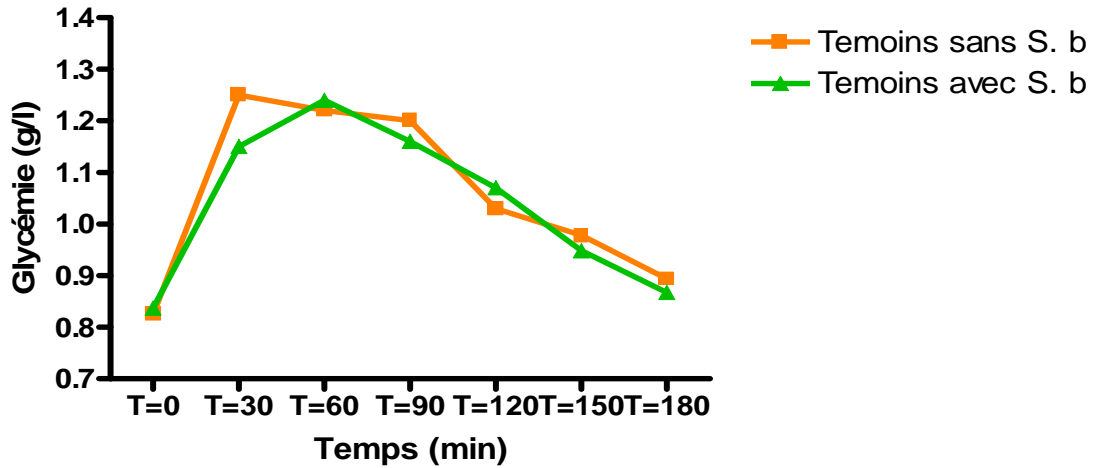


Figure 21

Les pics d'hyperglycémies étaient à 30 minutes pour les témoins non traités et 60 minutes pour les témoins traités.

Courbes d'évolution de la glycémie des diabétiques maigres

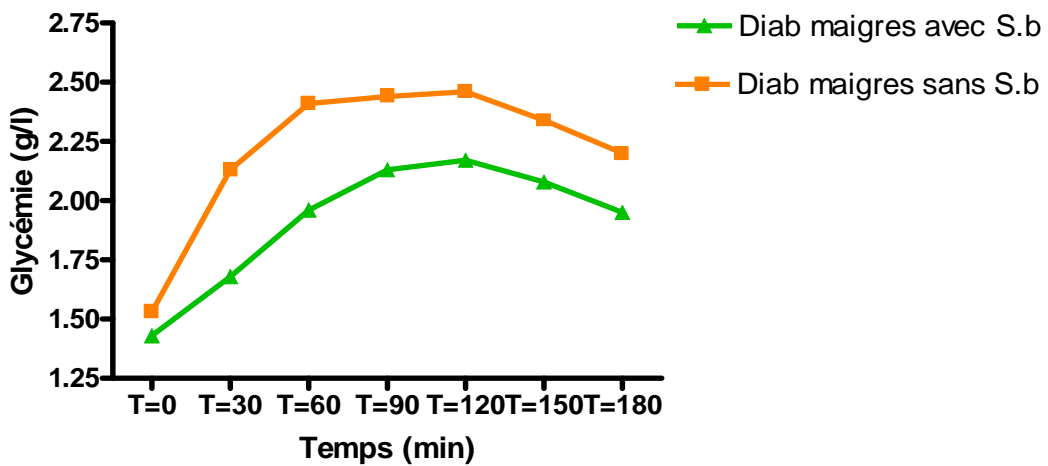


Figure 22

Les pics étaient en plateau entre 60^{ème} et 120^{ème} minute pour les diabétiques maigres non traités et 90^{ème} et 120^{ème} minute pour les diabétiques maigres traités.

Courbes d'évolution de la glycémie des diabétiques obèses

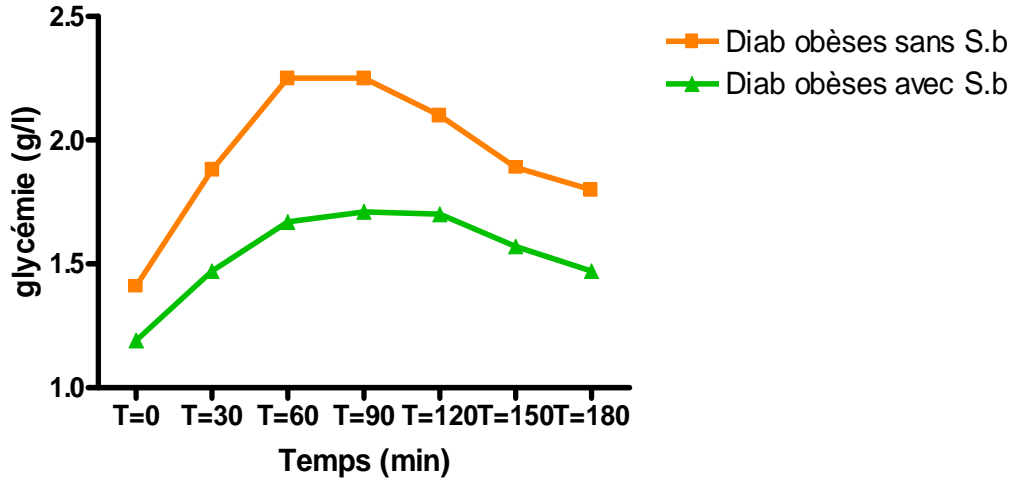


Figure 23

Les pics étaient en plateau étaient entre 60 et 90 minutes pour les diabétiques obèses non traités par contre, ils étaient entre 60 et 120 minutes pour les diabétiques obèses traités.

courbe d'évolution de la glycémie des diabétiques

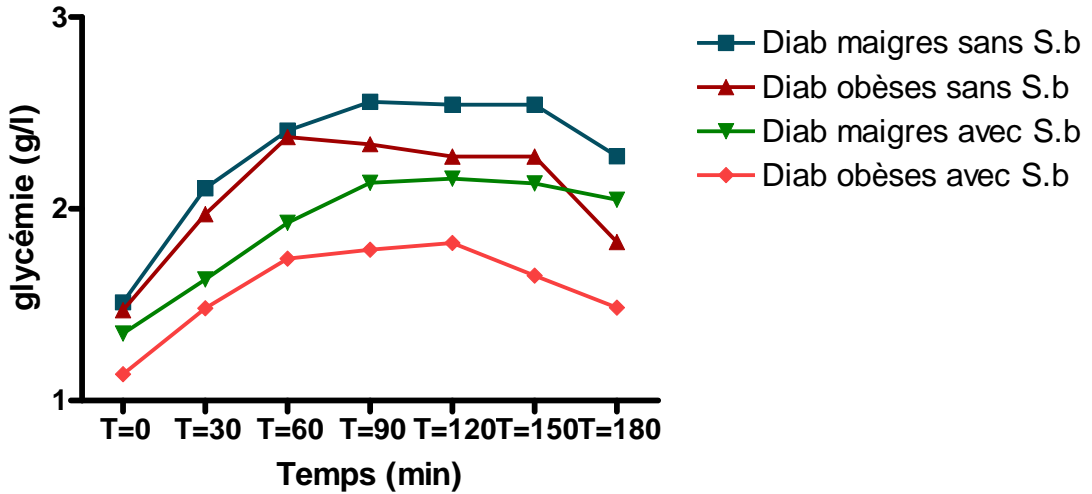


Figure 24

Nous notons sur cette figure que les diabétiques obèses ont leur augmentation de la glycémie moins importante que celle des diabétiques maigres.

Aire sous la courbe

Tableau XXVII : Aire sous la courbe (AUC)

	AUC		
	Témoins	Diab maigres	Diab obèses
Sans <i>S. b</i>	132±10,3	372±33,6	294±19,1
Avec <i>S. b</i>	116±9,25	258±29,7	194±22,3

L'aire sous la courbe représente la capacité pour un aliment de faire monter le taux de sucre dans le sang. Plus elle est importante, plus la glycémie est élevée.

Analyse

➤ **Nous n'avons pas noté de différence significative ($p < 0,05$) entre :**

- Les témoins non traités et les témoins traités ;
- Les diabétiques maigres traités et les diabétiques obèses traités.

➤ **Nous avons noté de différence significative ($p < 0,05$) entre :**

- Les témoins traités et les diabétiques maigres traités ($p < 0,0001$) ;
- Les témoins traités et les diabétiques obèses traités ($p < 0,0001$) ;
- Les diabétiques maigres non traités et les diabétiques maigres traités ($p = 0,0138$) ;
- Les diabétiques obèses non traités et les diabétiques obèses traités ($p = 0,0012$).

Effets secondaires

Quelques effets secondaires ont été observés comme : les nausées, vomissements, diarrhées, vertiges et somnolences.

3- Commentaires et Discussion

Notre travail était une étude observationnelle d'un essai clinique de phase 1. Il est l'une des étapes du processus de l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché (A.M.M.) d'un médicament traditionnel amélioré (M.T.A.).

La matière première a été récoltée à Siby, à 50 km de Bamako, dans une plantation de *Sclerocarya birrea*. Elle a été séchée sous l'ombre dans le local du D.M.T.

Le dosage de la glycémie était fait sur sang capillaire, moins contraignante que le contrôle sur sang veineux total (plus spécifique que celui du sang capillaire) car il y'avait sept prélèvement par sujet et par jour de test.

Le temps d'observation était de 3 heures, temps suffisant pour évaluer une potentielle activité antihyperglycémiant de *Sclerocarya birrea*.

Au départ du protocole, nos trois échantillons étaient comparables. En effet, il n'y avait pas de différences significatives ($p < 0,05$) entre les glycémies à jeun chez les témoins, les diabétiques maigres et les diabétiques obèses.

Nous avons noté dans tous les groupes une augmentation des glycémies post charges par rapport aux glycémies initiales (à jeun), puis une diminution progressive en cloche sans atteindre les glycémies de départs et ceux jusqu'à la fin de la troisième heure.

L'insulinosécrétion post prandiale étant retardé chez les diabétiques de type 2 (absence ou diminution du pic précoce), un médicament possédant un délai d'action lent à une efficacité moins importante, un produit possédant un délai d'action court pourra casser l'hyperglycémie post prandiale précoce des diabétiques de type 2 ce qui augmente son efficacité.

Dans notre étude les pics étaient variables, avec et sans *Sclerocarya birrea*, en fonction des groupes, ils étaient à 60 minutes pour le groupe des témoins, 90 à 120 minutes (en plateau) pour le groupe des diabétiques obèses et 120 minutes pour le groupe des diabétiques maigres.

La prise de *Sclerocarya birrea* n'a pas entraîné dans notre essai le déplacement des pics d'hyperglycémies chez les patients diabétiques, cependant, chez les témoins, on note un déplacement du pic d'hyperglycémie de 30 à 60 minutes.

L'aire sous la courbe (A.U.C.) représente la capacité hyperglycémiant d'un aliment. Les produits ayant un impact important sur la réduction de l'A.U.C peuvent posséder un effet hypoglycémiant.

L'A.U.C. des témoins non traités et des témoins traités ne présentait pas de différence significative ($p=0,2526$). Cette faible variation de la glycémie pourrait s'expliquer par le fait que les sujets sains ont une régulation normale de la glycémie.

Dans notre étude l'A.U.C avait diminué considérablement après la prise du *Sclerocarya birrea* (diabétisane) chez les patients diabétiques maigres et obèses ce qui met en évidence un possible effet hypoglycémiant du produit. Cette donnée est conforme aux études déjà menées sur la plante par le Dr Gueye [5] et Mr Maïga [44], qui ont noté un effet hypoglycémiant du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea* chez les lapins rendus hyperglycémiant.

Il faut noter que l'effet est plus important chez les patients diabétiques obèses que chez les patients diabétiques maigres. Cet effet pourrait se rapprocher de celui du médicament utilisé dans la prise en charge des patients diabétiques obèses : la metformine. Nous pourrions donc penser à un effet insulinosensibilisateur.

Cependant, il est important de noter que notre essai est un essai en phase aigue puisque les patients n'ont pas été placés sous une prise de *Sclerocarya birrea* quelques jours avant le protocole. Ils ont absorbé le décocté uniquement 30 minutes avant l'ingestion du repas. Hors, nous savons que si l'on réalise un essai en phase aigue avec la metformine, nous n'aurons pas d'effet car il faut attendre quelques jours pour que l'effet insulinosensibilisateur puisse se mettre en place. Nous pouvons donc nous interroger sur le fait que notre produit pourrait avoir un effet qui ne soit pas direct sur la sécrétion ou la sensibilisation à l'insuline mais qui se positionne durant la phase digestive avec des possibles retard d'absorption.

Cette hypothèse est renforcée par le fait d'avoir chez les témoins aucune différence significative de l'AUC globale mais un déplacement du pic d'hyperglycémie de 30 à 60 minutes.

Nous avons noté quelques effets secondaires à savoir, nausées, vomissements, diarrhées, et vertiges, des effets habituellement connus chez les antidiabétiques oraux et qui pourraient probablement être dû à la dose du produit administré. Des somnolences ont été observées chez d'autres, elles pourraient être dues à notre condition d'étude où les patients étaient obligés de se réveiller très tôt, à jeun, avant d'être sur le lieu de l'étude.

Certains de nos patients avaient du mal à absorber le décocté, cela dû à la concentration très forte du produit pour certains et l'inhabitude de prendre des médicaments traditionnels chez d'autres. Ceux qui pourraient expliquer ces effets secondaires.

Conclusion :

Au terme de notre étude nous avons évalué l'effet hypoglycémiant des feuilles de *Sclerocarya birrea* (« diabétisane »).

L'étude a donc révélé l'effet hypoglycémiant de la diabétisane chez les patients diabétiques. Mais cet effet était beaucoup plus prononcé chez les patients diabétiques obèses que chez les patients diabétiques maigres.

Des troubles digestifs, notamment communs aux antidiabétiques oraux ont été notés comme des effets secondaires.

Nous pensons que des études plus poussées pourront aboutir à l'autorisation de mise sur le marché d'un M.T.A.

Il serait donc judicieux :

- d'étudier la diabétisane à des doses différentes, sur une période plus longue ;
- d'observer les effets secondaires du diabétisane à une période beaucoup plus longue ;

En fin d'évaluer d'autre aspect du diabète et d'adapter une posologie.

Conclusion générale

Conclusion :

Le coût du traitement du diabète est élevé et n'est pas à la portée de la plupart des patients.

Nous avons entrepris ce travail dans le but d'apporter une contribution à l'étude du traitement du diabète.

Un constat sur les médications antidiabétiques montre que le monde végétal a une richesse potentielle en espèces hypoglycémiantes ou antihyperglycémiantes qui mérite d'être exploité. Une bonne connaissance des éléments chimique peut donc contribuer à l'amélioration et à la valorisation de ces produits.

Les études phytochimiques d'*Annona senegalensis* et de *Stylosanthes mucronata* ont révélé la présence des coumarines, des saponosides, des flavonoïdes, des sterols et triterpènes, des mucilages etc.

Nous pensons que des essais thérapeutiques axés sur des protocoles planifiés doivent emboîter le pas aux exploitations floristiques et pharmacologiques pour apprécier la valeur thérapeutique et les limites d'utilisations des recettes. Mais nous estimons qu'il faut adopter une conception africaine du médicament, puisque pas mal de sujets meurent pour les raisons économiques ou de rupture de stock des produits importés.

Les études pharmacodynamiques d'*Annona senegalensis* et de *Stylosanthes mucronata* nous ont donné des résultats satisfaisants, surtout avec les extraits extemporanés (extrait brute) des deux plantes.

Dans l'étude clinique, le *Sclerocarya birrea*, a montré des effets antihyperglycémiantes sur des sujets diabétiques. Mais cet effet est beaucoup plus remarquable chez les sujets diabétiques obèses que chez les sujets diabétiques maigres. Nous pensons que les études plus poussées sont nécessaires pour l'amélioration de ce produit.

Nous espérons par ce travail contribuer à l'avancée de la médecine traditionnelle et à la mise au point d'un M.T.A.

Bibliographie

- 1- **Yvan TOUITOU**, 1997, Pharmacologie, Diplôme d'Etat d'infirmière, 8^{em} éd Masson, pp 387.
- 2- **BESANCON Stéphane, NIENTAO Antoine, SCHMITT Cécile, DIARRA Aly**, Rapport annuel, période janvier à décembre 2006 ; « Appui au développement, Santé Diabète Mali », 2007. Pp 41-48
- 3- **Wild S, Roglic G, Green A, Sicree, King H; 2004**. Global of diabetes estimates for the year 2000 and projection for 2030 Diabetes. 24: 1047-53.
- 4- **Denis Malgras**, 1992, Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes, Karthala et ACCT. Page 477
- 5- **Gueye. M** ; (1973). Contribution à l'étude pharmacodynamique d'une plante antidiabétique *Sclerocarya birrea* (A. Rich). Hochst, Thèse doctorat sciences pharmaceutique. Pharmacie (Dakar) pp 73, N°2
- 6- **Léon Perlemuter, Jean-Louis Sélam, Gerard Collin de l'Hortet**, 2003, Diabète et maladies métaboliques. Masson 4^{ème} édition. Page 384.
- 7- The Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 1997 ; 20 : 1183-1197
- 8- **Alberti K.G.M.M., Zimmet P.Z.** for the WHO consultation. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Diabet Med 1998 ; 15 : 539-553.
- 9- **Polonsky K.S., Sturis J., Bell G.I et al.** Non-insulin-dependent diabetes mellitus. A genetically programmed failure of the beta-cell to compensate for insulin resistance. N Engl J Med 1996 ; 334 : 777-783
- 10- **Elbein S.C., Wegner K., Kahn S.E.** Reduced cell compensation to the insulin resistance associated with obesity in members of caucasian familial type 2 diabetic kindreds. Diabetes Care 2000 ; 23 : 221-27
- 11- **Haute Autorité de Santé, 2006 ; Traitement Medicamenteux Du Diabete De Type 2 (Actualisation) Recommandation de Bonne Pratique Argumentaire. Pp 158**
- 12- **Yvan TOUITOU**, 2000, Pharmacologie, Diplôme d'Etat d'infirmière, Professionnels, 9^{ème} éd, Masson pp 400.

- 13- **Melander A.** Oral anti-diabetic drugs : an overview. *Diabetic Medicine* 1996 ; 13 : S143-S147
- 14- **Institute National d'Assurance Maladie-Invalidité**, 2003; L'Usage adéquate des antidiabétiques oraux. Rapport du jury. 49 p
- 15- **Ilarde A, Tuck M.** Treatment of non insulin-dependent diabetes mellitus and its complications A state of the art review. *Drugs and Aging* 1994 ; 4 : 470-491
- 16- **Dunn C, Peters D.** Metformin. A review of its pharmacological properties and therapeutic use in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Drugs* 1995 ; 49 : 721-749
- 17- **Reuser A, Wisselaar H.** An evaluation of the potential side-effects of alphasglucosidase inhibitors used for the management of diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 1994 ; 24 (suppl 3) : 19-24
- 18- **Colucciello M;** Vision loss due to macular edema induced by rosiglitazone treatment of diabetes mellitus. *Arch Ophthalmol* 2005 ; 123 : 1273-1275
- 19- **Picards**, 1995, Lipoprotein glyco-oxidation (Glyco-oxydation des Lipoprotéine). *Diabète Metab*, vol 21, pp 89-94
- 20- www.randox.com/French/products.cfm?ccs=44s
- 21- www.sante-securite.com/conso-the-htm
- 22- **Iserin Paul, Michel Masson, Jean Pierre Kedellini**, 2001, Larousse Encyclopedie des plantes médicinales, Identification, Préparation, soins VUEF. Page 335
- 23- **Pr M.K Boukef**, 1986 ; Les plantes dans la médecine traditionnelle Tunisienne. Agence de coopération culturelle et technique (ACCT). Page 350
- 24- **Tatouk Haïdara**, 1999, Etude botanique, Phytochimique et Pharmacologique de trois plantes de la pharmacopée malienne indiquées dans traitement du diabète (*Bridelia ferruginea benth ; Sclerocarya birrea (A.Rich) Hochst ; Terminalia macroptera Guill et Perr*). Page 97
- 25- **Sira Haby GUEBA BA**, 2005 ; Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Zizyphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae) utilisée dans le traitement traditionnel du diabète et de l'hypertension artérielle en Mauritanie. Thèse de pharmacie ; p 120 ; N°14
- 26- **M^{lle} Yansambou Boubacar Hamsatou**, 2002, Etude phytochimique et de l'activité hypoglycémiant de *Zizyphus mauritiana* Lam (*Rhamnaceae*). Thèse de pharmacie, université de Bamako. Page 85
- 27- **Boubou Coulibaly**, 1988, Contribution à l'étude des remèdes traditionnels utilisés dans le traitement du diabète au Mali. Thèse de pharmacie, N°88 pp 112.

- 28-M^{lle} Sambo Moumouni Halimatou**, 2005, Etude du traitement traditionnel du diabète par une recette et les écorces de tronc de *Manilkara multinervis* Dub (*Sapotaceae*). Thèse de pharmacie, université de Bamako. Page 112
- 29-Glew, R. S, Vander Jagt, D. J, Huang Y. S, Chuang L. T, Bosse R, Glew R. H. (2004)**. Nutritional analysis of the edible of *Sclerocarya birrea* (A. R.ch). Hochst in the republic of Niger (daniya Houssa); in journal of food composition and Analyse 17, Edition Elsevier, USA pp 99-111.
- 30-Yaya Togora**, 2005, Etude phytochimique et de l'activité Antihypoglycémiante de deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement du diabète. Thèse de pharmacie, université de Bamako. Page 108, N°36.
- 31-Boubou Coulibaly, 1988**, Contribution à l'étude des remèdes traditionnels utilisés dans le traitement du diabète au Mali. Thèse de pharmacie, N°88 pp 112.
- 32-Bouréma Yaro, 1992**, Contribution à l'étude du traitement traditionnel du diabète au Mali. Thèse de pharmacie, université de Bamako. Page 133
- 33-Adjanohoun, E.J, A, Ahyi, A, Aké Assi L, Dan Dicko. L ; Daouda. H ; Delmas.M ; Souzade.S ; Garda.M ; Guido.S; Koyong. A; N'Golo.D; Raynal. J.L; Saadou. M. (1980)**; Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger, Médecine traditionnelle et pharmacopée. A.C.C.T.T. paris 250 p
- 34-JOHN. A. O. OJEWOLE**, 2006, Cardiovascular journal of South Africa. Vol 17, N°3. 117-123
- 35- Kerharo, J. et Adams, G. (1974)**. La pharmacopée Senegalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques. Edition Vigot et frères. Paris 1011 p
- 36-Parkan (1974)**. Dendrologie forestière 2ème partie, cours destiné aux élèves, ingénieurs des sciences appliqués, Edition PNUD/UNESCO-MLI-65/504, Katibougou, Tome II, 255p.
- 37-H.M.Burkill**, 1995, The useful plants of west tropical Africa vol 5. Fam J-L, Royal Botanic GARDENS KEW. Page 857
- 38-Cuny. P ; Sanogo. S ; Sommer. N;** (1997). Arbres du domaine soudanien. Leur multiplication, C.R.R.A.S. Sikasso (Mali) ; 122 p
- 39-Amadou Adiza (2006)**, étude d'une recette traditionnelle, des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* HOSCHT et de *Uapaca togoensis* Pax utilisées dans le traitement du diabète. Thèse pharmacie. P 107
- 40-Boubou Coulibaly, 1988**, Contribution à l'étude des remèdes traditionnels utilisés dans le traitement du diabète au Mali. Thèse de pharmacie, N°88 pp 112.

- 41-Tatouk Haïdara**, 1999, Etude botanique, Phytochimique et Pharmacologique de trois plantes de la pharmacopée malienne indiquées dans traitement du diabète (*Bridelia ferruginea benth* ; *Sclerocarya birrea* (A.Rich) Hochst ; *Terminalia macroptera Guill et Perr*). Page 97
- 42-Kadiatou dite Mama Fomba**, 2001, Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémiant des feuilles d'une plante antidiabétique (*Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hochst (*Anacardiaceae*)). Thèse de pharmacie, université de Bamako. Page 63 N°26
- 43-Glew, R. S, Vander Jagt, D. J, Huang Y. S, Chuang L. T, Bosse R, Glew R. H. (2004)**. Nutritional analysis of the edible of *Sclerocarya birrea* (A. R.ch). Hochst in the republic of Niger (daniya Houssa); in journal of food composition and Analyse 17, Edition Elsevier, USA pp 99-111.
- 44-Abdourahamane Amadou Maïga** (1984), Effets d'extraits de rameaux feuilles de *Sclerocarya birrea* sur la glycémie chez le lapin en comparaison avec l'effet de l'insuline. Mémoire, Ecole Normale Supérieure de Bamako, pp 52
- 45-John A.O. Ojewole ***, 2003, Evaluation of the anti-inflammatory properties of *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hochst. (family : *Anacardiaceae*) stem-bark extracts in rats. *Journal of ethnopharmacology*, vol 85, pp 217-220
- 46-John A. O. Ojewole**, 2004; Evaluation of the Analgesic, Anti-inflammatory and Anti-diabetic Properties of *Scerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst. Stem-Bark Aqueous Extract in Mice and Rats. *Phytotherapy Research* 18. 601-608
- 47-Galves, J. ; Zarzuelo, A.M.E.; Utrilla, M.P. and Jimenez, J. ; Spiessens, G. and DE Witte, P.** (1991) ; antidiarrhoic activity of *Sclerocarya birrea* bark extract and it's active tannin constituent in Rats, phytotherapy Reseach volume 5, 276-278 p
- 48-Galvez, J.M.E.; Grespo, and Zarzuelo, A.P. De Wiltte A.N.D.C. Spiessens** (1993). Pharmacological activity of a procyanidin Isolated from *Sclerocarya birrea* bark; Antidiarrhoeal activity and affect on Isolad Guinea-pigleum, Research phytotherapy; volume 7, 25-28 p
- 49-J. N. Eloff ***, 2001, Antibacterial activity of Marula (*Sclerocarya birrea* (A. Rich) (*Anacardiaceae*) bark and leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, vol 76, pp 305-308
- 50-M^{lle} Keïta Aminata (2005)**, Etude de trois plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère gastro-duodéal dans le District de Bamako : *Borassus aethiopum* Mart (*Palmeae*), *Sclerocarya birrea* (A. Rich). Hochst. (*Anacardiaceae*) et *Ximena americana* L (*Olacaceae*)

- 51-Braca, A; Politi, M.; Sanogo, R. ; Sanou, H. ; Morelli, I. ; Pirra, C. ; De Tommasi, N.** (2003). Chemical compounds from Wild and cultivated *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae) leaves J Agric Food Chem ; 1 (23) ; 6689-6695
- 52-P. Malairajan(a*), Geetha Gopalakrishman(b) S. Narasimhan(c), K. Jessi Kala Veni(a) ;** 2006 ; Analgesic activity of some Indian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, vol 106, pp 425-428
- 53- Kaaya G.P.** 2000. The potential for antitick plants as components of an integrated tick control strategy. *Ann N.Y sci* 916; 576-82.
- 54-Sekou Bah, Drissa Diallo, Seydou Dembélé, Berit Smestad Paulsen,** 2006 ; Ethnopharmacological survey of plants used for the treatment of schistosomiasis in Niono District, Mali. *Journal of Ethnopharmacology*, 105; 387-399.
- 55-Collette EKOUMOU,** 2003 ; Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et cystite. Thèse de pharmacie. Bamako. Pp 145
- 56-Sanou D.B.** (1997). Etude de l'activité antifongique sur le *Candida albicans* de cinq plantes médicinales du Mali. Thèse de pharmacie ; Bamako ; 84 p
- 57-Bah S, Jäger A.K, Adersen A, Diallo D, Paulsen B.S.** 2007 *J pharmacolocol* 110 (3), 451-7
- 58-Huns-Jurgen Von Maydell,** 1990, Arbres et Arbustes du Sahel. Page 531
- 59-H.M.Burkill,** 2000, The useful plants of west tropical Africa vol 5. Fam S-Z Cryptogams. Addenda, Royal Botanic GARDENS KEW. Page 686
- 60-M^{elle} Fatoumata Oumar Ouattara,** 2004. Plantes médicinales traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles en milieu Miniaka, Malinké et Bambara: cas de *Annona senegalensis* L (*Annonaceae*) et de *Stachytarpheta angustifolia* Valh (*Verbenaceae*). Thèse de pharmacie pp 219.
- 61-You M, Wicramaratine DB, Silva GL, Chagwedera TE, Farnsworth. NR, Cordell GA, Kinghorn AD, Pezzuto JM ;** 1995 ; Roemerine, an aporphine alkaloid from *Annona senegalensis* that reverses cells. *J Nat Prod.* N° 4, vol 58, pp 598-604
- 62- Sevser Sahpaz, M. Carmen Gonzalez, Reynald Hocquemiller,* M. Carmen Zafra-Polo and Diego Cortes;** 1996; Annonosene and annosene : Two cytotoxic mono-tetrahydrofuran Acetogenins *Annona senegalensis* and *Annona Cherimolia*. *Pergamon Phytochemistry*, vol 42, N° 1, pp 103-107
- 63-Igweh AC, Onabango OD,** 1989; Chemotherapeutic effects of *Annona senegalensis* in *Trypanosoma brucei*. *Ann Trop Parastol.* N° 5, vol 83; pp 527-534

- 64- Akengue B, Ngou, Milama E, Laurens A, Hocquemiller R ; 1999 ;** Recent advances in the fight against Leishmaniasis with natural products. *PubMed-indexed MEDLINE*. N° 1, vol 6; pp 3-8
- 65- Fall D, Badiane M, Ba D, Loiseau P, Borie C, Gleye C, Hocquemiller R ; 2003.** N° 2, vol 48 ; pp 112-116
- 66- C.B.I Alawa(ab), A.M. Adamu(b), J.O. Gefu(b), O.J. Ajanus(c), P.A Abdu(c), N.P Chiezey(b), J.N. Alawa(d), D.D Bowman(a) ; 2003 ;** In vitro screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. *Veterinary Parasitology*, vol 113 ; pp 73-81
- 67- Apak Lino; Olila Deogracious, 2006,** The in-vitro antibacterial activity of *Annona senegalensis*, *Securidacca longipendaculata* and *Steganotaenia araliacea* Ugandan medicinal plants. *African Health Sciences*, N° 1, vol 6 : 31-35
- 68- P.T. Mpiana, D.S.T. Tshibangu, O.M. Shetonde, K.L. Ngbolua ; 2006 ;** In vitro antidrepanocytary activity (antisickle, cell anemia) of some congalese plants. *Elsevier Phytomedicine*, Page 1-4
- 69- B. Adzu, M.S. Abubacar, K.S. Izebe, D.D. Akumka, K.S. Gamniel; 2005;** Effet of *Annona senegalensis* rootbark extracts on *Naja nigricotlis nigricotlis* venom in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 96 507-513.
- 70- www.medecinesnaturelles.com**
- 71- R.M. Perez G, M.A. Zavala S, S Perez G, C Perez G, 1998.** Antidiabetic effet of coumpounds Isolated from plants vol 5 (1); pp 55-75.
- 72- Naturel phenylpropanoïd protect endothelial cells against oxydized L.D.L. induced cytotoxicity; Planta Med Mar; 69 (3): 207 – 11**
- 73- M.C. Sabu, Ramadasan Kuttan, 2002.** Anti-diabetic activity of medicinal plants and its relationship with their antioxidant property. *Journal of Ethnopharmacology* 81; 155-160.
- 74- Gidado. A, Ameh. D.A, and Atawodi. SE, 2005;** Effet of *Nauclea latifolia* leaves aqueous extraits on blood glucose levels of normal and alloxan induced diabetic rats
- 75- WHO, Aide-mémoire N°138, Révisé en avril 2002. www.who.int/inf/fs/am138.html**
- 76- Calleja SUAREZ J M '(1990);** Les méthodes pharmacologiaues d'évaluation des propriétés antidiabétiaves des substances d'origine naturelles. Acte du premier colloque européen d'ethnopharmacologie . pp 22-25

ANNEXE:

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 mn

► Réactif du DPPH

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

► Réactif de FEHLING

Solution A :

CuSO₄.....35 g
Eau distillée.....500 ml
H₂SO₄.....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 H₂SO₄ 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.....6,77 g
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

Feuille de consentement

Je soussigné, Mr/ Mme/ Mlle....., ai pris connaissance de l'explication destinée aux patient prenant part à l'évaluation clinique de la prise en charge du traitement du diabète, au centre de diabétologie de Bamako.

J'ai pu parlé librement, sans contraintes avec l'équipe responsable de l'étude.

J'ai reçu des compléments d'informations concernant l'étude en question. On veut prouver à travers cette évaluation clinique l'efficacité d'un traitement traditionnel utilisé depuis de nombreuses années par les thérapeutes traditionnels contre le diabète. Ce protocole devrait permettre d'avoir un MTA sûre et de coût abordable pour nos populations. Pour arriver à ce résultat, on a besoin de cette évaluation clinique pour la prouver.

J'accepte librement de participer à l'évaluation clinique, et accepte également de me soumettre au traitement. J'ai reçu les explications nécessaires concernant le déroulement de l'essai clinique, la durée du traitement, le suivi les prélèvements de sang.

Malgré mon consentement pour participer à cette évaluation clinique, je peux arrêter de mon propre gré l'évaluation clinique sur ma personne, sans que ceci change le traitement que je recevrai. Si je veux interrompre ma participation à l'étude, je m'engage à en informer l'équipe.

Le

Nom et prénom(s).....

Signature ou marque

FICHE SIGNALYTIQUE

NOMS : SANOGO

PRENOM : Samba

TITRE DE LA THESE : Etude de la phytochimie et de l'effet hypoglycémiant de trois plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle au Mali

VILLE DE SOUTENANCE : Bamako

LIEU DE DEPOT : Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontologie Stomatologie

SECTEUR D'INTERET : Médecine traditionnelle

Résumé

Notre étude a concerné trois plantes notamment *Annona senegalensis* Pers, *Sclerocarya birrea* Hochst, *Stylosanthes mucronata* Willd utilisé dans le traitement traditionnel du diabète. La première partie du travail est l'étude de la phytochimie des feuilles d'*Annona senegalensis* et de la partie aérienne de *Stylosanthes mucronata*. Elle a révélé la présence des coumarines, des saponosides, des flavonoïdes, des sterols et des triterpènes, des mucilages...

La C.C.M. a permis de mettre en évidence certaines de ces réactions : les coumarines sont caractérisées par la présence d'inflorescence bleue en U.V. 366 nm, elles ont été révélées par le réactif de KOH à 10%.

Les rendements les plus élevés ont été obtenus avec les extraits ethanologiques (22,62% pour *Annona senegalensis* et 12,80% pour *Stylosanthes mucronata*).

La deuxième partie était consacrée aux études biologiques. Les extraits aqueux extemporanés (25ml/kg) ont donné la plus forte inhibition de l'hyperglycémie temporaire chez les souris.

En dernière partie, nous avons évalué l'effet hypoglycémiant des feuilles de *Sclerocarya birrea* sur les patients diabétiques obèses maigres et les sujets non diabétiques. L'effet antihyperglycémiant a été noté chez les patients diabétiques, mais il est plus remarquable chez les patients diabétiques obèses que chez les diabétiques maigres.