MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE, SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE





UNIVERSITE DE BAMAKO



FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

N°.....

Titre:

ETUDE DE LA QUALITE DES FEUILLES DE Sclerocarya birrea (A. Rich) HOSCHT UTILISEES DANS LE TRAITEMENT DU DIABETE.

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 2009

Devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par Mlle Salimata DAGNOKO

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (DIPLÔME D'ÉTAT)

PRÉSIDENT JURY : Professeur Elimane MARIKO
MEMBRE : Professeur Benoît KOUMARE
MEMBRE : Monsieur Seydou DIARRA
DIRECTEUR DE THÈSE : Professeur Drissa DIALLO

Année Universitaire 2008-2009

DEDICACES

Au nom de Dieu le Tout puissant, le Tout Miséricordieux, le Très miséricordieux!

« Gloire à toi! Nous n'avons de savoir que ce que tu nous a appris, c'est toi l'omniscient, le sage »

Sourate 2, Verset 32 (Saint Coran).

Louange à toi ALLAH qui m'a permis de mener à bien ce travail.

Je dédie ce travail:

A mon père et à ma mère, Monsieur et Madame Dagnoko, chers parents, les mots me manquent

pour exprimer ce que je ressens envers vous, sachez que je suis fière d'être le fruit de tous vos

sacrifices. Je vous témoigne toute ma profonde reconnaissance pour m'avoir toujours guidée toutes

ces années. Je vous aime de tout mon cœur, fasse qu'Allah le tout puissant vous donne une vie

pleine de santé et vous garde aussi longtemps qu'il le pourra afin que vous puissiez profiter du fruit

de tous mes efforts durant toutes ces années.

A tous mes frère et sœurs, Aissata, Fatoumata, Mariatou, Gaoussou, Vamara, Hamed, Adama,

Karidja, Yaya, et Mariam, merci à tous pour vos encouragements et vos soutiens toutes ces années,

que Dieu vous accorde une vie pleine de santé, de réussite, et surtout de bonheur.

Je vous aime tous.

A mes belles sœurs et beau frère adoré(e) s, Michelle, Leïla, Monsieur Bakary Doumbia, Monsieur

Diakité Sidiki, Monsieur coulibaly Hamed, Monsieur Bakayoko Mekossou, merci pour tous vos

encouragements.

A Mme Dagnoko Awa Bahou et Mme Dagnoko Kadi Mahiri, merci pour tout le soutien moral et

financier dont vous avez fait preuve à mon égard, merci d'avoir été toujours être là pour moi,

puisse Dieu vous bénisse pour tout ce que vous avez fait et continuer de faire pour moi.

Au professeur Drissa Diallo, merci Professeur pour votre patience, votre soutien, votre compréhension, votre rigueur dans le travail et l'enseignement de haute qualité, dont vous avez fait preuve tout au long de ce travail, merci pour tout, merci d'avoir été là pour nous, que Dieu vous accorde une longue vie pleine de santé, qu'il vous apporte a vous ainsi qu'à toute votre famille,

beaucoup de bonheur et de succès dans toutes vos entreprises.

A mes ami(e)s Coumba Diallo, Sarata Kaba, Aïcha Fofana, Marta Castro, Ami koffi, Melama Dehi, Jacques, Abou, Souleymane, Mohamed, Claude Bahou, Michelle Bouleys, etc.Cher(e)s ami(e)s, votre solidarité, votre soutien, vos conseils et vos encouragements n'ont jamais fait défaut, merci d'avoir toujours été présent à mes côtés dans mes moments de joie comme dans la tristesse, puisse Dieu le très haut vous accorde la santé et vous permettent de réaliser tous vos vœux et qu'il apporte

beaucoup de bonheur à vous et à toute votre famille

Au Docteur Mahamadou Badji Sissoko, votre générosité, votre patience, votre ouverture d'esprit, vos prodigieux conseils, et vos encouragements n'ont jamais fait défaut, vous m'avez beaucoup soutenu durant ces dernières années, merci pour tout le soutien moral et financier. Que Dieu vous bénisse vous et toute votre famille et qu'il vous apporte beaucoup de bonheur tout au long de votre

vie. Merci encore!

A tout le personnel de l' "Officine Badji Sissoko et en particulier à Madame Traoré Aissata Maiga, Monsieur Adama Sissoko, Monsieur Diallo, Monsieur Touré. Vous avez été pour moi une grande famille, dans laquelle je me suis toujours bien sentie, merci pour toute cette attention particulière que vous m'avez accordez, pour tous les encouragements, pour tout votre soutien, et la patience dont vous avez fait preuve tout au long de mon stage au sein de l'officine, mille fois merci !!! Qu'Allah apporte à vous et à vos familles respectives beaucoup de bonheur.

Au Docteur Sékou Ba, au Docteur Adiaratou Togola, au Docteur Chiaka Diakité, merci pour tous vos conseils, votre disponibilité et toute l'attention que vous m'avez accordez tout au long de ma

formation au sein du DMT. Que Dieu vous bénisse vous et toute votre famille.

A toute ma promotion de Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie,

A mes camarades internes du DMT, Hamed, Lamine, Esther, Ouassa, Caleb, Philippe, Michelle,

merci pour votre fraternité et pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble,

qu'Allah vous accorde une très bonne carrière professionnelle.

A tout le personnel du DMT, et en particulier Fagnan Sanogo, tanti Tapa, Aissata, N'Golo, etc.,

merci pour tout vos encouragements, vos conseils et votre soutien moral, le courage et la

disponibilité dont vous avez fait preuve tout le temps que nous avons passez ensemble, que Dieu

vous donne la force et la santé dans votre vie tant sur le plan professionnel que familiale, merci

pour tout.

A Mr Kassim Coulibaly, pour son courage, sa simplicité, ces précieux conseils, ces

encouragements et sa disponibilité à la réalisation des tests biologiques, merci « Tonton » pour tout

ce que tu fais pour nous, que Dieu te bénisse!

A tout le personnel de l' INRSP en particulier le Laboratoire de Bactériologie et de Biochimie,

merci pour tout votre soutien et votre disponibilité tout au long de ce travail.

A toutes les personnes qui ont participé de loin ou de prêt à l'élaboration de ce travail.

Mention spéciale :

A mon grand frère Vamara Dagnoko, et a son adorable épouse Mme Dagnoko Awa Bahou, les mots me manquent pour vous témoigner ma gratitude et ma reconnaissance envers tout ce que vous avez fait pour moi tant sur le plan financier que moral, durant toutes années que j'ai passé chez vous, merci d'avoir été toujours à mes côtés, d'avoir su patienter, d'avoir su vous privez de pas mal de loisirs rien que pour moi, mille fois merci !!! Que Dieu vous accorde une longue vie tout plein de bonheur pour vous et vos enfants, une bonne santé, et surtout qu'ils vous permettent de réaliser tous vos vœux.

Au Professeur Rokia Sanogo, vous avez été pour moi plus qu'un professeur, merci pour tout votre soutien, vos prodigieux conseils et votre disponibilité durant tout le temps que nous avons passé ensemble, fasse Dieu vous récompenser et qu'il vous aide dans toutes vos entreprises.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

- A notre maître et président du jury : **Professeur Elimane Mariko**
 - Professeur de Pharmacologie et de Pharmacocinétique à la FMPOS,
 - Pharmacien Colonel chargé de mission au Ministère de la Défense et des Anciens Combattants.
 - Chef de la cellule sectorielle VIH-SIDA-MDAC
 - Directeur adjoint de la DSSA,

Honorable maître, merci pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples sollicitations. Nous sommes très touché par votre simplicité et votre humanisme. Vos remarquables connaissances scientifiques nous ont toujours impressionnés.

Veuillez trouver ici l'expression de toute notre admiration, et de notre profond respect

- ➤ A notre maître et juge : **Professeur Bénoît Yaranga Koumaré**.
 - Maître de conférence en chimie analytique
 - Spécialiste en neuropharmacologie;
 - Pharmacien chef au Centre Hospitalier Universitaire du Point G;
 - Référant en Pharmacie Humanitaire.
 - Directeur du Laboratoire National de la Santé,

Cher maître, vous nous faites un réel plaisir en acceptant de faire partie des juges de cette thèse malgré vos multiples occupations. Votre rigueur scientifique et votre souci pour le travail bien fait sont des qualités que nous avons découvertes en vous. Trouvez ici l'expression de notre haute considération et de nos sincères remerciements.

.

- > A notre maître et juge, Monsieur Seydou Diarra:
 - Chef de service de bactériologie et de virologie à l'INRSP.

Cher maître, nous sommes très heureux de votre participation à ce jury, vous nous avez impressionnés par votre abord facile, votre disponibilité et la rigueur dans le travail.

Veuillez accepter cher maître, l'expression de notre gratitude et de notre profonde reconnaissance.

- > A notre maître et Directeur de Thèse : Professeur Drissa Diallo.
- Maître de conférence agrégé en Pharmacognosie,
- 1^{er} assesseur de la FMPOS,
- Chef du Département de Médecine Traditionnelle,
- Responsable de l'enseignement de la Pharmacologie et de la Phytothérapie à la FMPOS.

Cher maître, nous ne saurions jamais trouver assez de mots pour témoigner notre reconnaissance, non seulement pour l'intérêt que vous portez à ce travail, mais aussi pour l'enseignement de qualité et pour la disponibilité dont vous avez fait preuve tout le temps de notre formation.

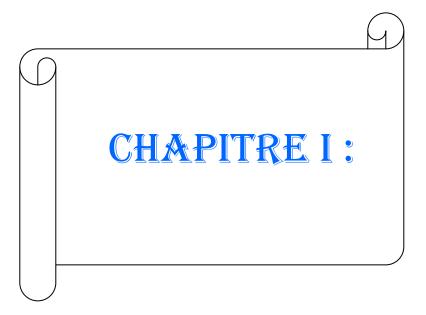
Votre amour pour le travail bien fait, votre ponctualité, votre rigueur dans la démarche scientifique, ainsi que vos qualités intellectuelles font de vous un éminent homme de science. Recevez ici très cher maître, l'expression de notre profonde reconnaissance et de nos sincères remerciements.

SOMMAIRE

CHAPI	TRE I :	1
INTR	ODUCTION	2
MOT	IVATIONS	4
OBJE	CTIFS:	4
	ГRE II :	
GENER	ALITES	
I.	MONOGRAPHIE DE LA PLANTE:	7
1)	Répartition géographique :	7
2)	La plante : (Figure 1 et Figure 2) :	
3)	Position dans la systématique :	7
4)	Description de la plante :	
5)	Caractéristiques de la drogue :	
6)	Données phytochimiques :	
7)	Données pharmacologiques :	
8)	Utilisation en Médecine traditionnelle :	12
II.	RAPPEL SUR LE DIABETE :	13
1)	Définition :	
2)	Facteurs favorisants du diabète :	13
3)	Les signes du diabète :	14
4)	Classification du Diabète :	14
5)	Complications du diabète :	
6)	Physiopathologie du diabète :	17
7)	Médication antidiabétique :	20
III.	RAPPEL SUR LES ANTIOXYDANTS	32
1)	Définition :	32
2)	Les principales sources d'antioxydants :	32
3)	Structures d'antioxydants :	34
4)	Diabète et antioxydants :	35
CHAPI	ГRE III :	37
TRAVA	UX PERSONNELS	37
I.	METHODOLOGIE	38
1)	Matériel végétal	38
2)	Matériels de laboratoire	
3)	Matériel animal :	
II.	ETUDES PHYTOCHIMIQUES	
1)	Réactions de caractérisation	
2)	Extractions:	
III.	CONTROLE DE QUALITE BOTANIQUE DE LA POUDRE	
111.	CONTROLL DE QUALITE DOTANIQUE DE LA I OUDRE	45

1)	Caractères microscopiques :	45
2)	Caractères macroscopiques des feuilles :	
3)	Caractéristiques organoleptiques :	47
IV.	CONTROLE DE QUALITE PHYSICO-CHIMIQUE	49
1)	Teneur en eau:	49
2)	Les cendres totales :	50
3)	Cendres chlorhydriques	51
4)	Les cendres sulfuriques	
5)	Détermination du pH des solutions :	
6)	Chromatographie sur couche mince : (CCM)	52
7)	Dosage des tanins :	
8)	Recherche des éléments minéraux (Ionogramme) :	
V.	DETERMINATION DE LA TENEUR EN POLYSACCHARIDES	
1)	Matériels:	57
2)	Les réactifs :	
3)	La dépolymérisation : le méthanolysis	
4)	La dérivatisation :	
5)	La chromatographie en phase gazeuse (CPG):	
6)	Procédure :	61
VI.	TESTS BACTERIOLOGIQUES	61
1)	Recherche de Escherichia coli :	61
2)	Recherche de salmonelle :	63
VII.	TESTS BIOLOGIQUES	63
1)	Animaux:	63
2)	Appareils:	63
3)	Technique d'administration :	64
4)	Prélèvement :	
5)	Test hyperglycémie temporaire (hyperglycémie provoquée par voie orale :	64
CHAPI	TRE IV:	66
RESUL	TATS	66
	MICROSCOPIE :	
1)	Caractères organoleptiques : (Couleur ; goût ; odeur) :	
2)	Caractères macroscopiques:	
3)	Examen microscopique:	
II.	PHYTOCHIMIE ET DOSAGE :	
1)	Résultats de la phytochimie	
2)	Résultats des différents dosages	
III.	EXTRACTIONS:	
1)	Extraction Soxhelet	
2) 3)	Résultats des décoctions	
3) 4)	Résultat des substances extractives par l'éthanol à 70%	
		/0
IV.	DETERMINATION DU PH DES SOLUTIONS AQUEUSES (DECOCTE ET SE):	76
V	TESTS RACTERII OCIOLES ·	70 76
•	IRSISBAI IRKII III_II II IKS!	16

VI.	TESTS BIOLOGIQUES:	77
1)	Contrôle des glycémies des rats	77
2)	Pourcentage de réduction de la glycémie	
VII.	IONOGRAMME:	78
VIII.	CHROMMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM):	79
1)	Calcul des facteurs de retention (Rf):	79
2)	Résultats des extraits de dichlorométhane et d'éther de pétrole :	88
3)	Plaques de CCM	92
IX.	RESUME DES DIFFERENTS RESULTATS	98
CHAPI	ΓRE V :	99
COMM	ENTAIRES ET DISCUSSION	99
CHAPI	ΓRE VI :	107
CONCL	USION ET RECOMMANDATIONS	107
FICHE SIGNALETIQUE		110
ANNEX	ŒS	112
REFER	ENCES BIBLIOGRAPHIQUES	114



INTRODUCTION

Le diabète communément appelé « Diabète sucré » est une maladie chronique connue depuis l'antiquité, et qui de nos jours représente un véritable problème de santé publique.

Chaque jour, une personne meurt toutes les 10 secondes de diabète dans le monde, les chiffres sont alarmants : Selon l'OMS :

- ✓ près de 80% des décès dus au diabète se produisent dans les pays au revenu faible ou moyen
- ✓ 1,1 million de personnes sont mortes de diabète en 2005
- √ 80% des décès dus au diabète vont augmenter de plus de 50% au cours des 10 prochaines années si l'on ne prend pas des mesures urgentes surtout, il risque d'augmenter de plus de 80% dans les pays à revenu moyen de la tranche supérieur entre 2006 et 2015
- ✓ près de la moitié des décès imputables au diabète surviennent chez des personnes de moins de 70 ans et 55% des personnes qui en meurent sont des femmes. (http://www.who.int/topics/diabetes mellitus/)

Le traitement du diabète est beaucoup plus axé sur l'utilisation des antidiabétiques oraux qui eux n'entraînent la normalisation de la glycémie que dans moins de 50% des cas.

Ces derniers n'ont pas d'effets régressifs sur les lésions installées et ils sont contre indiqués dans les insuffisants rénales et hépatocellulaires de même que pendant la grossesse. Ces antidiabétiques oraux sont malheureusement prescrits à vie, bien que leur effet secondaire ne soit pas négligeable.

Il est donc opportun de trouver des nouveaux antidiabétiques d'origines végétales efficaces, peu onéreux et suffisamment disponibles, qui pourraient avoir des effets bénéfiques dans le rétablissement de certaines lésions installées chez les diabétiques et aussi de diminuer certains effets secondaires des médicaments modernes.

Le recours à la médecine traditionnelle dans le traitement du diabète remonte à très loin.

On constate de plus en plus dans de nombreux pays africains et asiatiques, une grande utilisation des plantes réputées pour leurs propriétés hypoglycémiantes, dont *Sclerocarya birrea*. Elle est la plus fréquemment utilisée en médecine traditionnelle précisément en Afrique de l'Ouest dans le traitement du diabète sucré.

C'est dans cette optique qu'au Mali, le Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut Nationale de Recherche en Santé Publique (INRSP) produit deux phytomédicaments qui sont utilisés dans le traitement du diabète non insulinodépendant qui sont: « Diabetisane2 »

constitués de feuilles de *Bridelia ferruginea (Euphorbiaceae*) et « Diabetisane 1 » à base de feuilles de *Sclerocarya birrea (Anacardiaceae)*.

De nombreuses études ont déjà été menées sur le *Sclerocarya birrea* (Hoscht) et ont permis de mettre en évidence l'activité hypoglycémiante des feuilles de la plante plus précisément sur la glycémie des rats en état d'hyperglycémie provoquée (Fomba, 2001).

Sanogo, 2008 a mené une étude clinique sur le phytomédicament à base des feuilles de *Sclerocarya birrea* (A Rich) Hoscht. Les sujets ont trouvé que le décocté à base du Diabétisane N°1 était difficile à avaler.

Il nous a donc parut intéressant de continuer les recherches sur les extraits de la plante et de trouver une formulation adéquate afin de mieux apprécier ses effets sur la glycémie et d'améliorer le « Diabetisane 1 »

MOTIVATIONS

- ✓ .Le diabète est une maladie chronique et un problème de Santé publique dans le monde, et le taux de prévalence reste très élevé
- ✓ .La prise en charge du diabétique est un souci considérant le coût des antidiabétiques modernes qui eux ne sont pas toujours à la portée de nos populations dans les pays en voie de développement
- ✓ .les antidiabétiques oraux sont contre indiqués chez la femme enceinte et les insuffisants rénaux et hépatiques et ont trop d'effets secondaires
- ✓ .la volonté de promouvoir et de valoriser les ressources de la médecine traditionnelle au Mali et de mettre à la disposition de nos populations des plantes présentant une activité antidiabétique, antihyperglycémiante, et hypoglycémiante
- ✓ .Améliorer et augmenter la gamme de phytomédicaments utilisés dans le traitement du diabète sucré.
- ✓ Le souci d'améliorer le « Diabétisane N°1», dont les malades ont trouvé que l'extrait administré était trop concentré et difficile à avaler.

OBJECTIFS:

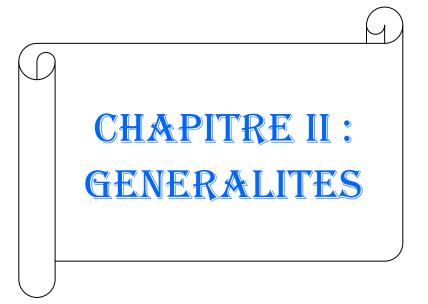
Objectif général:

Étudier la qualité des feuilles de *Sclerocarya birrea* utilisées dans le traitement traditionnel du diabète.

Objectifs spécifiques :

- Identifier les éléments du contrôle de qualité botanique de la drogue (aspect macroscopique et microscopique, caractères organoleptiques).
- Identifier les groupes chimiques présents dans les différents échantillons.
- Déterminer la teneur en eau, en cendres, des substances polyphénoliques (tanins) et substances extractibles par l'eau et par l'éthanol (70%).
- Déterminer le pH des différents solutions (infusés, et décoctés).
- Identifier les groupes chimiques présents dans les différents échantillons.

- Déterminer la contamination des échantillons en bactéries (analyses microbiologiques des échantillons).
- Déterminer un chromatogramme standard des extraits aqueux (Finger Print).
- Déterminer l'activité antioxydante des différents échantillons.



I. MONOGRAPHIE DE LA PLANTE:

« Sclerocarya birrea » (A Rich) Hoscht

1) Répartition géographique :

Sclerocarya birrea est une plante originaire d'Afrique tropicale. C'est une espèce répandue en zone soudanaise depuis le Sénégal jusqu'en Abyssinie.

L'arbre pousse souvent autour des villages en Afrique de l'Est. On la retrouve à l'état disséminé dans les savanes boisées, aussi dans les sols non inondables de la Casamance maritime (sables para littoraux). (Kherarho.J. et Adam 1974; Malgras 1992). La plante pousse sur les sols sableux aux sols limono sableux.

2) <u>La plante : (Figure 1 et Figure 2) :</u>

- Nom scientifique « Sclerocarya birrea » (A.Rich) Hoscht
- Noms locaux:

- Français : Sclerocarya à bière

- Bambara : n'gunan , kunta dao

- Malinké : kuntan, kunan

- Dogon : Bi

- Peulh: he di

Sonrhai : din(é), din(é)ya.

3) Position dans la systématique :

• Règne : végétal

• Sous règne : Eucaryotes

• Groupes: Eucaryote chlorophyllien

• Sous groupe : Embryophytes vasculaires

• Embranchement : spermaphytes

• Sous embranchement : Angiospermes

• Classe : Dicotylédones

• Sous classe : Rosidae

• Groupe : Rosidae obdiplostemones à ovaires super et disque nectarifère

• Ordre : Sapindales

• Famille: Anacardiaceae ou Terebinthaceae

• Genre : *Sclerocarya*

• Espèce : birrea

4) <u>Description de la plante :</u>

C'est un petit arbre de 8 à 10 m de haut (Fig1) à cime bien développée, avec fût droit et cylindrique à frondaison arrondie et écorces gris clair écailleuses, finement fissurées, claire et bien équilibrée.

Les feuilles sont composées imparipennées, de 7 à 10 paires de folioles opposées ou subopposées, elliptiques ou obovées, arrondies ou pointues au sommet qui est toujours mucroné.

Ces dernières sont acuminées entières ou dentées surtout sur les jeunes pieds et les rejets.

Les fleurs sont petites, dioïques sur des racèmes, verdâtres en épis courts de 2cm de long groupées à l'extrémités des rameaux et apparaissent généralement avant les feuilles.

Les fruits sont des drupes globuleuses, obovoïdes de couleur jaune à maturité et mesurant 3 cm de long et 2,5 cm de diamètre, courtement pédonculés. Elles contiennent un noyau épais qui est entouré d'une pulpe fibreuse.



<u>Figure 1</u>: Arbre *Sclerocarya birrea* (jardin Botanique DMT)



Figure 2: Fruits et feuilles Sclerocarya birrea (jardin botanique DMT)

5) Caractéristiques de la drogue :

• <u>Caractères organoleptiques :</u>

Les feuilles de *Sclerocarya birrea* sont de couleur verte, de la saveur astringente et d'odeur peu marquée.

• Caractères macroscopiques :

Du point de vue macroscopique, les feuilles sont composées, opposées, elliptiques et légèrement acuminées. Le limbe est asymétrique et sa grande partie est arquée par rapport à l'autre. La nervation est alternée de part et d'autre du pétiole et incurvée au bord du limbe la plus grande à une nervation beaucoup plus visible que celle de la plus petite partie.

A la face externe la nervation centrale est saillante. Le pétiole très court est de l'ordre de 2-3 mm de long. La feuille est dentelée chez les jeunes pieds.

• Caractères microscopiques :

Du point de vue microscopique, la coupe transversale de la feuille de Sclerocarya birrea présente :

- Au niveau de l'épiderme supérieur, un parenchyme palissade asymétrique, bien développé au niveau du limbe et réduit au niveau de l'arc libéro-ligneux.
- Au niveau de l'épiderme inférieure, des assises de collenchymes lacuneux avec des macles d'oxalate de calcium et de petits vaisseaux correspondants aux nervures tertiaires.
- Au niveau de l'arc libéro-ligneux, des poches à mucilages entourées de 2 à 3 assises de petites cellules cellulosiques, un peu à l'extérieur de l'arc vers le limbe, le bois correspondant au départ d'une tige secondaire, le bois secondaire lignifié entre les poches à mucilages.

L'examen microscopique de la poudre de feuilles présente les éléments caractéristiques suivants :

- Des fragments de bois
- Des fragments de fibres sclerenchymenteuses
- Des inclusions d'oxalate de calcium
- Des fragments de vaisseaux
- Des stomates de type aromocytique
- Des grains d'amidon.

6) Données phytochimiques :

Sclerocarya birrea a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques. Les résultats des essais préliminaires effectués au niveau du DMT par Haidara (1999), Dao (1998) sur les essais préliminaires de la poudre de feuilles de Sclerocarya birrea ont montré qu'elles sont riches en tanins, saponosides, flavonoïdes, stérols et terpènes.

Le pourcentage de flavonoïdes dans la poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea* varie de 2,3 à 2,51% (Dao, 1998).

- Laurens A (1976) et Paris (R.R, Nothis A (1970) « Plantes et dérivés phénoliques », ont isolé et identifié 6 hétérosides dérivant du quercétol et du kaempférol majoritairement dans l'extrait d'acétate d'éthyle et qui sont responsables en grande partie du pouvoir hypoglycémique attribué à la plante.
- Busson en analysant les amandes des graines provenant de Côte d'Ivoire, a trouvé les résultats suivants en gramme % du produit sec :

Cellulose: 1,3; extrait éthéré: 61,5; glucide: 0,5; insoluble formique: 3,8; protides: 30,6; cendres: 6,1; calcium: 0,17; phosphore: 1,04.

- Les acides gras sont surtout représentés par l'acide oléique 63,9%; acide myristique 17,4%; acide stéarique 8,7%.
- Parmi les amino acides (en gramme % des aminoacides totaux) : l'acide glutamique est majoritaire : 25,8% et l'arginine : 15,8% (Kerharo. J et Adam '1974)).

7) Données pharmacologiques :

Le décocté ou le macéré de la poudre de feuilles provoque une diminution de la glycémie chez les rats par voie orale ou intra péritonéale (Boubou Coulibaly, 1998). Selon Gueye, M (1973), l'extrait aqueux des feuilles de *Sclerocarya birrea* aurait une action sur le système régulateur de la glycémie et une activité périphérique propre sur l'assimilation du glucose par l'organisme, en particulier par le tissu musculaire.

L'action pourrait être due aux flavonoïdes et tannins. L'extrait aqueux présente également une très faible toxicité.

Sur le rat en hyperglycémie provoquée par surcharge de glucose, l'extrait aqueux lyophilisé est actif à la dose de 250mg/kg et cette activité est dose dépendante (Laurens A (1976);

Une autre étude a démontré que les extraits n'abaissent pas la glycémie chez l'animal normal.

Au Mali, des recherches précédentes effectuées par différentes auteurs ont permis de confirmer l'activité antidiabétique non seulement par des études expérimentales mais aussi par les essais cliniques (Haidara T. (1999); Laurens A (1976); Galvez et Coll. (Galvez . J. et al. (1992), ont étudié l'activité anti-diarrhéique des tanins isolés du décocté lyophilisé de l'écorce de tronc de *Sclerocarya birrea*. La procyanidine isolée de cette écorce en serait responsable.

Ils ont aussi démontré l'activité sécrétagogue de l'ester (-)- épicatechine-3-galloyl isolé de l'écorce de tronc de la plante.

8) <u>Utilisation en Médecine traditionnelle :</u>

❖ Au Mali:

Les feuilles sont utilisées en décoction comme antidiabétique, à cet effet le Département de Médecine traditionnelle (DMT) a mis au point un Médicament traditionnel amélioré appelé « Diabétisane N° 1 » qui se présente sous forme de sachet de 60g à faire bouillir dans un demi litre d'eau pendant 15mn et filtrer avant administration.

La posologie est donnée en fonction de la glycémie :

- au-delà de 2g/l : 1sachet de 100g en 3 prises et le traitement dure 7jours
- jusqu'à 2g/l : 1sachet de 60g en trois prises
- le traitement d'entretien se fait avec une dose de 40g en deux prises.

Les feuilles ont la réputation de soigner la jaunisse. Le macéré d'écorces de *Sclerocarya birrea* associé aux feuilles de *Cymbopogon giganteus* est utilisé dans le traitement de l'ascite. Il est éfficace dans le traitement de la rougeole, c'est aussi un excellent purgatif.

❖ Au Niger:

La poudre de l'écorce de tronc est efficace contre les douleurs abdominales ; la décoction de l'écorce de tronc est aussi indiquée dans le traitement de la dysenterie (selles afécales, glairosanglantes, avec douleurs abdominales. (Adjanohoun et coll., 1980)

❖ Au Sénégal :

L'écorce est utilisée comme antiodontalgique dans les névralgies dentaires masticatoire et pour les caries en plombages sous formes de boulettes.

L'écorce de racine est indiquée dans la préparation d'un décocté aqueux pour le traitement de la syphilis, des envenimations et des morsures de serpents (Adjanohoun et coll., 1980).

D'une manière générale, et en usage externe, la pâte d'écorce est un anti-inflammatoire et est utilisée dans les céphalées en application frontale additionnée au beurre.

II. RAPPEL SUR LE DIABETE :

1) Définition:

Le diabète est une maladie chronique due à une augmentation anormale de sucre dans le sang (état d'hyperglycémie) qui apparaît quand le pancréas ne sécrète pas assez d'insuline ou quand l'organisme utilise mal l'insuline qu'il produit (http://soins médicaux.blogspot.com/2008/02/qu'est ce que-le-diabète.htlm)

La glycémie à une valeur de 1g/l (soit 5,5 mmol/l). Elle varie entre 1-1,4 g/l deux heures après un repas et 0,8-1,26g/l à jeun le matin.

Selon l'OMS (Organisation Mondiale de le Santé), il y a diabète quand la glycémie à jeun est supérieur ou égal à 7mmol/l ou 1,26g/l (au moins deux prises).

Le diabète peut résulter de nombreux facteurs environnementaux et génétiques, qui agissent souvent de concert. L'hyperglycémie peut être due à un manque d'insuline ou à un excès des facteurs qui s'opposent à son action.

Ce déséquilibre conduit à des anomalies du métabolisme glucidique protéique et lipidique (Boubou Coulibaly, 1988).

2) <u>Facteurs favorisants du diabète :</u>

Ils sont nombreux, parmi lesquels on peut citer:

- L'état pré diabétiques, prédisposition héréditaire (père et mère diabétique type II)
- Obésité et sédentarité
- Grossesse
- Hypertension artérielle

- Utilisation de certains médicaments : diurétiques thiazidiques ; bêta bloquants ; corticoïdes ; bêta 2 stimulants (salbutamol) ; contraceptifs oraux (oestrogènes)
- ❖ Facteurs environnementaux (stress; excès pondéral; malnutrition protéino-énergétiques; alcool; inactivité physique; etc.)

3) <u>Les signes du diabète :</u>

Signes cliniques :

Lorsque la glycémie est supérieure à 3g/l on note :

- Polyuro-polydipsie
- Asthénie
- Amaigrissement
- Polyphagie

Ces différents signes entraînent une forte glycosurie conduisant à une polyurie osmotique qui provoque une polydipsie (Grimaldi, 1998).

- Infection cutanéo muqueux et infections urinaires
- Discrète perte pondérale (1-3kg).

Signes biologiques :

On note le tableau suivant :

- Augmentation du glucose sanguin, elle peut aller jusqu'à 2-6g/l ou même plus.
- Hyperglycémie modérée et intermittente (asymptomatique)
- La présence d'auto anticorps anti-îlots ou anti-insuline est le signe le plus précoce (Sira, 2005).

4) <u>Classification du Diabète :</u>

On classe généralement le diabète en deux principaux types :

- Le diabète de type I (diabète insulinodépendant), représente à peu près 10% des patients.
 On le rencontre généralement chez les jeunes hommes et femmes qui ont un âge supérieur ou égal à 20ans;
- Le diabète de type II (non insulinodépendant), qui lui se rencontre chez les sujets de plus de 40ans et obèses ; ce type est plus fréquents chez les femmes (Grimaldi 1998).

14

Outre ces deux grands types de diabète, on rencontre également :

- ❖ le diabète gestationnel : qui correspond à un trouble de la tolérance glucidique apparaissant entre la 24^{ème} et la 28^{ème} semaine de grossesse et disparaissent généralement après l'accouchement.
- Les diabètes secondaires : ces types sont rares (Grimaldi, 1998), ce sont :
- des maladies génétiques (défaut de fonction des cellules β du pancéas ; défaut de fonction de l'insuline) ;
- des maladies du pancréas (pancréatite chronique; fibrose kystique; néoplasie du pancréas, etc.);
- des maladies endocriniennes associées au diabète (acromégalie; hyperthyroïdie, syndrome de cushing, phéochromocytome, etc.);
- des maladies post infection (rubéole congénitale, infection à cytomégalovirus) ;
- des maladies associées aux médicaments (diazoxides, acide nicotique, glucocorticoïdes, hormones thyroïdiennes, interféron alpha, etc.)

(Http://www.chbc.qc.ca/diabète/diabète).

5) <u>Complications du diabète :</u>

Elles sont nombreuses, ce sont généralement des :

Complications dégénératives :

L'hyperglycémie chronique des diabétiques endommage progressivement les petits vaisseaux sanguins des reins et des yeux ainsi que des nerfs. L'excès de sucre dans le sang engendre des complications telles :

- Cécité ;
- Insuffisance rénale
- Neuropathies des jambes ;
- Altération des parois des vaisseaux artériels et capillaires (<u>www.doctissimo.fr</u>).

On peut regrouper cependant ces complications en deux groupes :

- La micro angiopathie diabétique : correspondant à une perturbation de la microcirculation, on peut citer :
- la rétinopathie diabétique (atteinte de l'œil);
- la néphropathie diabétique (atteinte des reins) ;
- la neuropathie diabétique (atteinte des pieds) ;

- La macro angiopathie diabétique : qui elle correspond à l'atteinte des artères musculaires allant de l'aorte jusqu'aux petites artères distales d'un diamètre supérieur à 200µm. Elle associe deux maladies artérielles distinctes :
- L'artériosclérose
- L'athérosclérose (Grimaldi, 1998).

Les complications chroniques:

Elles sont d'ordre dermatologiques. En cas de mauvais traitement, les diabétiques sont sensibles aux infections cutanées, buccales, et gynécologiques parce que les bactéries « aiment » le sucre. Les pieds sont particulièrement fragiles et les plaies mal soignées peuvent conduire à des gangrènes qui nécessitent des amputations (Grimaldi, 1998).

Les complications aigues :

Les complications aigues du diabète de type I sont parfois des malaises ou des comas par hyperglycémie et acidocétose, mais beaucoup plus souvent par hypoglycémie, due respectivement à une insuline non traitée ou mal dosée.

- L'acidocétose survient quand l'organisme ne peut plus du tout utiliser le glucose comme carburant (le sucre ne pénètre plus dans les cellules à cause de l'absence d'insuline). Les cellules s'attaquent alors aux graisses, provoquant leur dégradation anormalement massive en corps cétoniques, déchets toxiques pour l'organisme. Non traitée, l'acidocétose évolue vers le coma et la mort.
- L'hypoglycémie, accident de loin le plus fréquent, mais pas trop grave. Non traitée, elle peut aussi conduire au coma avec des séquelles neurologiques. Le coma hyper osmolaire, accident rare, survient surtout chez le sujet de plus de 60 ans à la suite d'une forte déshydratation lors de l'infection, de diarrhées ou de prise de diurétiques. La glycémie est alors très élevée et l'hospitalisation immédiate. La mortalité est lourde (50% des cas) et survient par baisse brutale de la tension artérielle malgré le traitement à l'insuline administré en urgence (www.doctissiomo.fr).

6) Physiopathologie du diabète :

6-1 Définition de l'insuline :

L'insuline est une hormone hypoglycémiante (diminuant le taux de glucose dans le sang) sécrétée par le pancréas et dont l'insuffisance provoque le diabète. L'insuline est produite dans le pancréas par les cellules bêta des îlots de Langerhans sous forme de pro-insuline, une forme inactive de stockage; selon les besoins de l'organisme, la pro-insuline se divise en deux parties : le peptide C et l'insuline. Cette dernière, libérée dans le sang, se fixe sur des récepteurs spécifiques situés sur les membranes des cellules, dans le foie, les muscles et le tissu adipeux.

6-2 Propriétés de l'insuline : (Mécanisme d'action)

L'insuline est une hormone qui exerce une action sur le métabolisme glucidique, lipidique et protéique. Cette action se manifeste remarquablement dans le foie pour les glucides, dans les tissus adipeux pour les lipides et des muscles pour les protéines.

Elle diminue le taux de glucose dans le sang en :

- favorisant la captation, le stockage du glucose sous forme de glycogène dans le foie
- favorisant la transformation du glucide en lipide ;
- augmentant le catabolisme du glucose dans l'organisme (Touitou, 2000).
- elle a une action hypoglycémiante ;
- elle a une action sur les protides
- elle a une action sur le métabolisme lipidique
- elle a une action sur le transport du potassium (augmente la captation du K+ par les cellules entraînant une hypokaliémie);
- elle a des effets centraux (action sur les récepteurs cérébraux).

6-3 Régulation de la sécrétion insulinique :

Chez un individu normal, la sécrétion journalière d'insuline est de 50 unités/jour. Le contenu du pancréas en insuline est d'environ 20unités, elle se fait de manière continue, mais le débit de sécrétion peut varier en raison de plusieurs facteurs : les facteurs stimulants et les facteurs d'inhibitions :

Les facteurs stimulants :

Les facteurs nerveux

Les îlots de Langerhans possèdent une riche innervation qui leur fournit le pneumogastrique droit dont la stimulation se traduit par une sécrétion d'insuline et une diminution de la glycémie

• La Glycémie:

C'est le facteur le plus important du contrôle de la sécrétion d'insuline. Une augmentation la glycémie peut promouvoir la sécrétion d'insuline en moins d'une minute. Lorsque la glycémie diminuer, la sécrétion diminue.

- Certains sucres comme le glucose ; le fructose ; le mannose ; le galactose ; le ribose, peuvent aussi stimuler la sécrétion d'insuline ;
- Les acides aminés (arginine ; lysine) ; les acides gras et les corps cétoniques stimulent la sécrétion d'insuline.

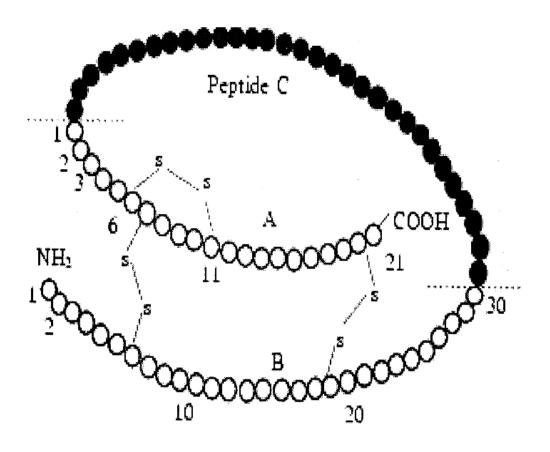
C'est le facteur le plus important du contrôle de la sécrétion d'insuline. Une augmentation la glycémie peut promouvoir la sécrétion d'insuline en moins d'une minute. Lorsque la glycémie diminue, la sécrétion diminue.

Les facteurs d'inhibitions :

La sécrétion d'insuline est inhibée par :

- L'adrénaline :
- La noradrénaline
- Le diazoxides (et autres benzothiazides);
- Le cortisol;
- L'ACTH (Yaro, 1992);
- Les sympamimétiques effet 2 (antihypertenseurs à effets central qui peuvent aggraver l'hyperglycémie);
- La somatostatine présente dans la cellule σ du pancéas ; sa sécrétion est stimulée par le glucose, divers acides aminés et diverses hormones intestinales ;
- Le jeûne ;
- La vagotomie.

6-4 Structure de l'insuline humaine :



Insuline, chaînes A et B réunies par deux ponts disulfure et le peptide C (Pharmacorama.com)

7) <u>Médication antidiabétique :</u>

L'objectif du traitement du diabète est double : il a pour but de prévenir la survenue de complications aigues et de complications dégénératives à plus long terme.

Le contrôle strict de la glycémie est le principe fondamental du traitement du diabète.

Ceci se passe en priorité par l'éducation du malade qui doit devenir son propre médecin.

La normalisation de la glycémie repose sur quatre piliers :

- la diététique (alimentation équilibrée, limitant les apports en graisse saturée et en alcool);
- l'exercice physique (sport);
- l'injection d'insuline et/ou la prise d'antidiabétique par voie orale ;
- le contrôle des résultats obtenus par le dosage de la glycémie, plusieurs fois par jour pour le diabète de type I (<u>www.doctissimo.fr</u>).

Traitement du diabète de type I ou diabète insulinodépendant :

Il repose essentiellement sur l'utilisation de l'insuline (insulinothérapie). Les insulines utilisées sont soit d'origine animale mais hautement purifiées, soit obtenues par génie génétique.

Le traitement du diabète insulinodépendant comporte une injection d'insuline avant chaque repas, adaptée au menu et à la glycémie du moment. Entre le repas du matin et celui de la nuit, le foie continue de produire du sucre et il faut le réguler par une ou deux injections d'insuline lente (matin et soir).

Dans les pays développés les injections d'insuline ne se font plus avec des seringues mais plutôt avec des stylos injecteurs beaucoup plus commodes. Des aiguilles ultra fine rendent les injections quasi indolores.

Cependant si les résultats restent irréguliers alors que le diabétique suit correctement son traitement, une pompe à insuline portable, administrant en permanence l'insuline est alors indiquée. Dans certains cas particulièrement difficiles, il faut avoir recours aux pompes implantant qui débitent de l'insuline non plus sous la peau, mais dans le péritoine. Il y a certains cas aussi ou la

greffe de pancréas bien que comportant des risques de rejet (1/3 des greffes sur 5), s'avère être une nécessité. Il faut noter que le traitement anti-rejet est très toxique (Grimaldi, 1998).

• <u>Pharmacocinétique</u>:

L'insuline est détruite par les enzymes protéolytiques du tractus digestif, par conséquent son administration doit se faire par voie parentérale.

La durée d'action est variable selon les préparations d'insuline utilisées.

L'insuline est métabolisée par le foie et le rein, et son élimination rénale justifie la réduction des doses chez les insuffisants rénaux (Assan et Fournier, 1980).

• Indications:

L'insuline est indiquée dans :

- le traitement du diabète insulinoprive, mais maigre, cétosique, le plus souvent juvénile ;
- le traitement du diabète non équilibré par les autres médicaments antidiabétiques (Assan et Fournier, 1980)

• Effets secondaires de l'insulinothérapie :

- Phénomènes allergiques locaux aux points d'injections ;
- Lipodystrophies cutanées;
- Une obésité favorisée par un surdosage prolongé ;
- Des maladies hypoglycémiques en cas de surdosage (Assan et Fournier, 1980).

• Interférences :

- Avec l'alcool : risque d'hypoglycémie grave par potentialisation de l'activité hypoglycémiante de l'insuline ;
- Médicamenteuses : avec risque d'hypoglycémie grave par potentialisation de l'activité hypoglycémiante de l'insuline et/ou effet hypoglycémiante propre :
 - o Metformine et sulfamides hypoglycémiants ;
 - Les bêtabloquants : ils peuvent réduire les manifestations habituelles de l'hypoglycémie à l'exception des sueurs.
 - o Risques d'hyperglycémie par diminution de l'activité hypoglycémiante de l'insuline et/ou effet hyperglycémiant propre ;

- Les corticoïdes, les oestro-progestatifs, les hormones thyroïdiennes, les neuroleptiques;
- o Les diurétiques (thiazides, acide étacrynique, furosémide).

• Conservation:

L'insuline doit se conserver au réfrigérateur, en évitant le gel, entre +2 et +10° (Assan et Fournier, 1980).

• Quelques exemples d'insulines :

Insulines rapides :

Elles manifestent leurs effets en 5mn en IM ou en IV et 20 mn après une injection sous cutanée profonde.

La durée d'action est brève (6 à 8h) ce sont :

- Endopacrine 100 (MONO-PIC*)
- Actrapid (NOVO-MC*)
- Velosuline (NORDISK*)
- Etc.

➤ Insulines semi lentes :

Elles produisent leurs effets après un temps de latence de 1h en administration sous-cutanée profonde. La durée d'action est (18h). Ce sont :

- Endopacrine protamine : Insuline NPH Monopic*;
- Insuline Rapitard MC*;
- Insuline semi lente MC*;
- Insuline ultra lente MC*;
- Insuline Mixtard Nordiek.

Ces insulines sont dosées à 100 UI/ml.

➤ <u>Insulines lentes :</u>

Elles produisent leurs effets après un temps de latence d'environ 2h en administration Sous-cutanée profonde. La durée d'action est de 24h.

Ce sont:

- Dura Soline Mono Pic*;
- Endopacrine zinc protamine Mono-Pic*;
- Endopacrine zinc retard Mono-Pic*;
- Insuline protamine zinc (IPZ*);
- Insuline insulated Nordiek*;
- Insuline lente MC*;
- Insuline ultra lente MC*;

Ces insulines sont dosées à 100UI/ml. Elles sont préparées soit :

- génie génétique ;
- méthode chimique (remplacement de l'alanine d'une insuline porcine par la théonine) permettant ainsi une absorption rapide et une diminution des allergies. (Yaro, 1992).

Traitement du diabète de type II ou diabète non insulinodépendant :

Ce sont en générale les antidiabétiques oraux. Pour ce type de diabète, avant toute prescription médicamenteuse, une perte de poids est indispensable. Il faut adopter un mode de vie sain avec du sport et une alimentation équilibrée. Le type d'aliment consommé, les horaires de repas et quantité des apports nutritifs sont à contrôler ; si cela ne suffit pas à normaliser la glycémie, on prescrit des médicaments qui aident l'organisme à produire ou à assimiler l'insuline.

Ces antidiabétiques oraux sont :

Les sulfamides hypoglycémiants :

Mécanisme d'action :

Ils stimulent et accélèrent l'insulinosécrétion, mais n'interviennent pas sur la biosynthèse de l'insuline et sur le développement des cellules bêta des îlots de Langerhans. Ceci explique qu'ils ne sont actifs que si une partie du pancréas est encore fonctionnelle.

Pharmacocinétique :

Ils sont rapidement absorbés par le tractus digestifs. Dans le sang, ils se fixent en forte proportion aux protéines plasmatiques (90% et même plus), ce qui est source d'interférences médicamenteuses. Ils franchissent la barrière placentaire et peuvent exercer un effet tératogène chez le fœtus. Dans le foie, ils sont plus ou moins métabolisés. Ils sont éliminés par le rein, d'où les

précautions d'emplois chez les insuffisants rénaux, par la bile dans le cas du glibenclamide (Assan et Fournier, 1980).

• Indications :

Ils sont indiqués dans le cas du diabète non acido-cétosique, non insulinodépendant de l'adulte lorsque le régime prescrit n'est pas suffisant pour rétablir à lui seul l'équilibre glycémique.

Effets secondaires :

- cutané d'origine allergique : urticaire ; érythémateuse ; exceptionnellement dermatite exfoliative ;
- hématologiques : accidents immuno-allergiques : agranulocytose, pancytopénie (diminution du nombre des cellules dans les trois principales lignées cellules du
- sang : globules blancs, globules rouges, plaquettes), thrombopénie, éosinophilie (Assan et Fournier, 1980).

• Interférences :

- Avec l'alcool : un risque d'hypoglycémie grave due à l'effet hypoglycémiant propre de l'alcool et/ou à la potentialisation de l'activité hypoglycémiante de l'insuline ;
- Médicamenteuses : avec un risque d'hypoglycémie grave par potentialisation de l'activité hypoglycémiante de sulfamides et/ou un effet hypoglycémiant propre.

• Exemple de sulfamides hypoglycémiants :

- o Glipizide : comprimé sécable dosé à 5mg;
- O Glimépiride : comprimé dosé à 1, 2 ; 3 ; 4 et à 5mg ;
- o Glicazide: comprimé sécable dosé à 80mg;
- o Glibenclamide : comprimé sécable dosé à 5mg et à 1,25 mg ;
- o Chlorpropamide : comprimé sécable dosé à 250mg.

Quelques structures des sulfamides hypoglycémiants :

D01599 Glicazide

H₃C CH₃ CH₃ CH₃ CH₃ CH₃

Glimépiride

Glibenclamide

Les Biguanides :

Mécanisme d'action :

La Metformine est un hypoglycémiant. Elle réduit la néoglucogenèse et l'absorption intestinale des glucides. Elle est inactive sur l'insulino-sécrétion, mais augmente l'efficacité de l'insuline au niveau périphérique.

Pharmacocinétique :

Son absorption gastro-intestinale est rapide. Dans le sang, elle est sous forme libre ; sa demi-vie est de 2h. Son élimination rénale est sous forme active.

■ Emploi:

Elle est indiquée :

- après échec du régime hypoglucidique et/ou hypocalorique seul, dans les diabète non cétosiques ne nécessitant pas l'administration d'insuline ;
- accessoirement en association avec l'insulinothérapie, dans les diabètes instables ou insulino-résistants, on emploie à la dose de 1 à 2,5g par jour, de Metformine base, par voie orale.

• Effets secondaires :

- gastro-intestinaux : anorexie, nausées, diarrhée ;
- anémie par diminution de l'absorption intestinale de la vitamine B12;
- métaboliques : hypoglycémies et acidose lactique.

• Interférences :

- Avec l'alcool : un risque d'hypoglycémie grave due à l'effet hypoglycémiant propre de l'alcool et/ou à la potentialisation de l'activité hypoglycémiante de l'insuline ;
- Médicamenteuse : avec un risque d'hypoglycémie grave par potentialisation de l'activité hypoglycémiante du sulfamide et/ou un effet hypoglycémiant propre :
- Insuline et sulfamides hypoglycémiants : risque d'hypoglycémie par diminution de l'activité hypoglycémiante de la Metformine et/ou un effet hyperglycémiant propre ;
- Diurétiques : (thiazidiques, furosémide, acide étacrynique), corticoïdes, contraceptifs oraux, rifampicine. Risque d'acidose lactique augmenté par l'activité intrinsèque de certains médicaments : diurétiques, antihypertenseurs, tétracyclines, corticoïdes, contraceptifs oraux.

• Contre indications :

- Diabète nécessitant l'administration d'insuline ;
- Insuffisances rénales chroniques même modérées : créatinine sérique132μmol/l
 (15mg).
- Insuffisances rénales aigues, même fonctionnelles, en particulier pendant un traitement diurétique ou à l'occasion d'une diarrhée aigue ;
- Insuffisances hépatiques, cardiaques ou respiratoires ;
- Alcoolisme chronique;
- Grossesse.

Les biguanides sont indiqués pour le diabète non acido-cétosique, non insulinodépendant de l'adulte lorsque la stricte application du régime n'a pas permis la normalisation du poids et de la glycémie.

• Exemple de biguanides :

Metformine : comprimé gastrorésistant dosé à 663mg ; comprimé sécable dosé à 390mg; et comprimé sécable dosé à 280mg.

<u>NB</u>: la Metformine diminue l'hyperglycémie sans risque d'hypoglycémie car elle n'abaisse pas la glycémie du sujet sain.

Structure de la Metformine :

Thèse: Salimata DAGNOKO

27

\triangleright Inhibiteur des α -glucosidases :

Ils sont utilisés en complément de l'insulinothérapie dans le diabète insulinotraité; diabète non insulinodépendant de l'adulte, non acido-cétosique, en complément du régime alimentaire, en monothérapie ou en association aux autres antidiabétiques oraux (Talbert et Coll., 2001).

• Quelques exemples :

o Acarbose : comprimé dosé à 50mg et 100mg;

o Miglitol: comprimé dosé à 50 et 100mg.

• Quelques structures d'inhibiteurs des α-glucosidases :

Acarbose

<u>Miglitol</u>

➤ Inhibiteurs de l'aldose réductase

Lorsque l'hyperglycémie provoque une augmentation des concentrations intracellulaires de glucose dans les tissus où sa pénétration est indépendante de l'insuline, l'excès de glucose non transformé en glucose-6-phosphate du fait de l'insuffisance de l'activité de la glucokinase, est réduit par l'aldose réductase en sorbitol et ensuite par la sorbitol déshydrogénase en fructose.

L'excès de sorbitol et de fructose intracellulaires altère la cellule, peut-être par un effet osmotique entraînant un appel d'eau et un gonflement cellulaire, avec rupture de la membrane plasmique. La déplétion de la cellule en taurine et en myoinositol qui intervient, notamment dans la synthèse de PIP₂, participerait aussi à son altération.

L'inhibition de l'aldose réductase par des substances en cours d'étude comme le tolrestat, l'imirestat, le ponalrestat, diminuerait certaines conséquences néfastes de l'hyperglycémie.

Une supplémentation par la vitamine C, même à doses faibles, de l'ordre de 100 mg/jour, inhiberait l'aldose réductase et s'opposerait à l'accumulation de sorbitol dans les érythrocytes mais ce résultat ne semble pas avoir été confirmé. (www.pharcorama.com extrait de « Les médicaments » 3^e édition- P. Allain avec mise à jour Août 2008 par P. Allain)

Dérivés de structure thiazolidinedione

Le premier médicament du groupe des thiazolidinediones a été la troglitazone, dont l'activité se rapproche de celle de la metformine : elle ne stimule pas la sécrétion d'insuline mais potentialise son action, diminue l'hyperglycémie et la concentration sanguine d'hémoglobine glycosylée. Il s'agit d'un médicament intéressant mais dont la commercialisation a été arrêtée car il a été à l'origine d'hépatites graves.

Les nouveaux analogues de la troglitazone : pioglitazone et rosiglitazone sont mieux tolérés. Leur intérêt par rapport à la metformine reste à préciser.

Les glitazones sont des agonistes des récepteurs PPAR gamma (Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma) qui, activés, forment des hétérodimères avec des récepteurs des rétinoïdes et modulent la trancription de gènes en ARN messager puis protéines (enzymes, transporteurs comme

Glut-4) impliquées dans le métabolisme du glucose et des acides gras notamment. Elles stimulent la libération d'adiponectine par les adipocytes.

Formule chimique de la rosiglitazone avec l'explication du terme thiazolidinedione :

Au cours des études cliniques la rosiglitazone et la pioglitazone ont amélioré certains paramètres biologiques : diminution de l'hyperglycémie, de l'hémoglobine glycosylée, des acides gras libres plasmatiques. Mais il n'existe pas encore de données sur la réduction éventuelle des complications du diabète et de la mortalité globale. Par ailleurs ses effets indésirables possibles sont à prendre en compte : rétention hydrique et insuffisance cardiaque, troubles hépatiques (surveiller ALAT), prise de poids, anémie, notamment.

Ces 2 médicaments sont utilisés dans le traitement du diabète de type 2, habituellement en complément de la metformine ou d'un sulfamide hypoglycémiant.

(<u>www.pharcorama.com</u> extrait de « Les médicaments » 3^e édition- P. Allain avec mise à jour Août 2008 par P. Allain).

Les Glinides

D'autres substances n'ayant pas de groupe sulfamide comme la nateglinide et le repaglinide augmentent la sécrétion d'insuline par le même mécanisme d'action que les sulfamides. Leur effet hypoglycémiant est plus rapide et de plus courte durée que celui des sulfamides hypoglycémiants.

Le répaglinide (Novonorm*) a été le premier à être commercialisé en France. Pris avant les repas il évite l'hyperglycémie post-prandiale mais ses avantages et inconvénients à long terme par rapport aux sulfamides hypoglycémiants restent à préciser.

Les incrétinomimétiques sont des substances qui augmentent la libération d'insuline.

Ce sont l'exénatique (BYETTA*), analogue GLP-1, les gliptines - sitagliptine (JANUVIA*).

RAPPEL SUR LES ANTIOXYDANTS

8) <u>Définition</u>:

Un antioxydant est défini comme toute substance qui lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat.

Le terme de substrat inclut toute sorte de molécule in vivo.

9) <u>Les principales sources d'antioxydants :</u>

De nombreux antioxydants interviennent in vivo lorsque les espèces réactives de l'oxygène sont générées ; il s'agit principalement :

- ➤ D'enzymes comme la dysmutase, le glutathion peroxydase, la catalase et aussi des molécules de faibles masses moléculaires comme le tripeptide glutathion ou l'acide urique (Cavin, 1999).
- Les médicaments qui constituent aussi une source importante d'antioxydants. Actuellement les agents thérapeutiques tels que : les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les anti-hyperlipoprotéiniques, les bêtabloquants, et autres anti-hypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes. Comme exemples on peut citer :
- Le probucol : (Curselle) : fait baisser le taux sanguin du cholestérol et prévient l'athérogénèse en agissant comme antioxydant et en supprimant la modification de l'oxydation des lipoprotéines de basses densités (LDL).
- La N-acétylcystéine : qui est une molécule qui agirait de manière significative dans la régénération du glutathion (antioxydant) en pénétrant les cellules.
- Certains antihypertenseurs (captopril, hydralazine, terazosin), favoriseraient dans certaines conditions la production d'enzymes antioxydants. (Adiza, 2007).
 - L'alimentation : elle apporte à l'organisme des substances naturelles antioxydantes, telles que : la vitamine E ; la vitamine A ; et les caroténoïdes. Ils contribueraient de manières significatives à la prévention des maladies cardiaques.

- La vitamine C (acide ascorbique) : l'apport alimentaire en acide ascorbique est réalisé par les légumes verts et les agrumes. C'est un puissant réducteur qui joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (tocophérol).
- Le β-carotène : possède la capacité de capter l'oxygène singulet. On le retrouve dans les légumes verts, les épinards, la salade, les carottes, les fruits (abricot, papaye, et autres fruits jaunes).
- Le sélénium : oligoélément : ses effets bénéfiques sur l'organisme ne sont connus que depuis un quart de siècle. Il neutralise les métaux toxiques (Plomb, Mercure) et prévient le vieillissement ; il aurait aussi une action préventive sur certain cancer. (Salamatou, 2003).
 - Les plantes (principales sources): L'intérêt porté aux antioxydants d'origine naturelle ne cesse d'augmenter ces dernières années. En effet, on trouve dans la littérature de plus en plus de publications sur les composés polyphénoliques (c'est-à-dire des composés possédant un noyau aromatique contenant un ou plusieurs substituants hydroxylés), incluant différents groupes fonctionnels dérivés. On les retrouve essentiellement dans les plantes alimentaires et ils sont consommés par un grand nombre d'individus (Bossokpi, 2002).

Les mécanismes d'action sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxyde, la complexation d'ions et de métaux de transition. On peut citer comme composés polyphénoliques : les flavonoïdes (morine), les Xanthones (mangiférine), les coumarines (coumarine), les caroténoïdes, les lignanes (sésaminol), les tanins, les stibennoïdes (hydragénol, acide lularique).

33

10) Structures d'antioxydants :

Vitamine P

11) Diabète et antioxydants :

Des études in vivo et in vitro ont montré que les radicaux réactifs contribuent à la destruction des cellules pancréatiques dans le diabète insulinodépendant (Rabinovitch et col. 1982). La raison de cette sensibilité des cellules en défense (Grankvitst et col. 1981, Malaisse et col. 1992). Ces radicaux sont responsables de la perturbation de production en insuline par les cellules β du pancréas.

L'acide dihydrolipoïque qui est un antioxydant, exerce une considérable action par l'inhibition partielle de l'inflammation et par une suppression incomplète du développement du diabète.

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'hypertriglycéridemie à la présence de LDL denses de petites tailles plus facilement oxydables, et anomalies des lipoprotéines de hautes densité diminuant leurs capacités antioxydants. (Samba, 2008). Les interactions entre glycation et oxydation sont complexes : les LDL glyquées sont plus facilement oxydable, mais les antioxydants pourraient également diminuer le glycation des protéines indépendamment de l'équilibre glycémique (Picards, 1995).

L'oxydation du glucose conduit à la formation de différents intermédiaires réactifs, dont les produits terminaux de la glycation protéique (Advancel 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 (www.randox.com/french/products.cfm ?ccs=44).

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. (www.sante-securite.com/conso-the-htm).

CHAPITRE III: TRAVAUX PERSONNELS

I. METHODOLOGIE

1) <u>Matériel végétal</u>

Il est constitué de feuilles de *Sclerocarya birrea* (Hoscht) qui sont récoltées dans 9 différentes zones du Mali (Blendio, Parana, Sido, Bandiagara (route de Sibi-Sibi, et route de Bodio), Sanakoroba, Bamako et Siby). Ces feuilles ont été séchées et broyées, ce qui nous a permis d'obtenir des poudres que ont été utilisées lors de notre travail.

Les différents échantillons ont été récoltés de Mai à Juin 2006, plus précisément :

- Echantillon de Blendio : récolté le 24/05/2008
- Echantillonde Parana et Bamako : récolté le 27/05/2008
- Echantillon de Sanakoroba et Sido : récolté le 14/06/2008
- Echantillon de Bandiagara (route de Bodio et route de Sibi-Sibi) : récolté le 18/06/2008

38

- Echantillon de Siby : récolté le 12/06/2008
- Echantillon de Siby (2007) : récolté le 06/07/2007.

2) Matériels de laboratoire

- Béchers
- Tubes à essais
- Balance de type Sartorius
- Pipettes
- Eprouvettes graduées
- Bain-marie
- Spatule
- Ballon de concentration
- Rotavapor
- Lyophilisateur
- Papier Filtre
- Creuset
- Agitateurs magnétiques
- Agitateurs simples
- Coton

- Cuillère à café
- Erlenmeyer
- Thermomètre
- Papier pH

3) Matériel animal :

Notre expérimentation a concerné des rats blancs (albinos) Suisse, de 2^e génération, mâles de poids compris entre 220- 350 g.

Ces rats ont été achetés au Centre National d'élevage de Bobo-Dioulasso au Burkina-Faso.

II. ETUDES PHYTOCHIMIQUES

1) Réactions de caractérisation

Substances Polyphénoliques :

La solution à analyser est un infusé aqueux à 5% qui sera préparé à partir de la poudre de la drogue (prendre 5g) dans de l'eau distillée bouillante (100 ml) pendant 15mn

■ Tanins:

Dans un tube à essai contenant 1ml de l'infusé, ajouter une solution aqueuse diluée de FeCl₃ dilué à 1% (1ml). En présence de Tanins, on obtient une coloration verdâtre ou Bleu noirâtre

o Tanins catéchiques

Ajouter à 5ml de l'infusé, 1ml d'éthanol chlorhydrique (Ethanol à 95°C (5ml) + eau distillée (5ml)); porter le tout à ébullition pendant 15mn

En présence de tanins catéchiques, on obtient un précipité rouge soluble dans l'alcool isoamylique)

o Tanins galliques : Réaction de Stiasny

Ajouter à 30ml de l'infusé, le réactif de Stiasny (10ml de formol à 40% + 15ml d'acide chlorhydrique concentré. On obtient un précipité montrant la présence de tanins galliques.

Filtrer et saturer 10ml du filtrat d'acétate de sodium.

Ajouter quelques gouttes de FeCl₃ dilué à 1% ; il se développe une teinte bleue noire indiquant la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

Flavonoïdes :

A 5ml de l'infusé (infusé à 5%), présentant une coloration de départ plus ou moins foncée, ajouter un acide (5ml d'acide sulfurique 0,1N) puis une solution basique de NH₄OH; Si la coloration s'accentue par acidification puis vire au bleu violacée en milieu basique, nous avons conclu la présence d'anthocyanes.

Réaction à la cyanidine

- Principe

En solution alcoolique et en présence d'hydrogène naissant par action de l'acide chlorhydrique sur les copeaux de magnésium, les flavonoïdes se colorent en rouge orangé allant au violet.

Mode opératoire

Introduire dans un tube à essai 5ml de l'infusé puis ajouter 5ml éthanol chlorhydrique (éthanol à 95%; eau distillée, acide chlorhydrique concentré à parties égales en volume) plus l'alcool isoamylique (1ml) et quelques copeaux de Magnésium; l'apparition d'une coloration rose orangée (flavones); rose violacée (flavonones); ou rouge (flavonolols, flavonols) rassemblé dans la couche surnageante d'alcool isoamylique ajouté, indique la présence d'un flavonoïdes libres (génines). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavonoïques.

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

o <u>Leucoanthocyanes</u>

Effectuer la réaction à la cyanidine sans ajouter les copeaux de Magnésium et chauffer au Bainmarie pendant 15mn.

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

Les catéchols donnent une coloration brun –rouge

o Dérivés anthracéniques :

Anthracéniques libres :

Solution à analyser

A la poudre végétale (1g), nous avons ajouté du chloroforme (10ml) et chauffé pendant 3 minutes. Nous avons filtré à chaud et complété à 10ml.

Caractérisation

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

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

Anthracéniques combinés :

o O-hétérosides:

Nous avons préparé un hydrolysat à partir du résidu de la drogue épuisée par le chloroforme auquel nous avons ajouté 10ml d'eau et 1ml 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 10ml.

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

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

Si la réaction est négative ou faiblement positive, rechercher les *O*-hétérosides à génines réduites.

Nous avons prélevé 5ml de l'hydrolysat et ajouté 3 à 4 gouttes de FeCl₃ 0,1N. Nous avons chauffé pendant 5mn 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.

o <u>C-hétérosides</u>

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 (10ml) et du FeCl₃ (1ml). 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

(5ml) puis soutiré la phase chloroformique. Nous y avons ajouté de l'ammoniaque diluée au ½ (1ml).

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

Différentiation des Quinones

A de la poudre de drogue végétale (1g) humectée avec de l'acide sulfurique 0,1N nous avons ajouté un mélange à volume égal l'éther et le chloroforme (20ml). Après une macération de 24 heures, 5ml du filtrat obtenu ont été évaporés à l'air, puis le résidu a été repris par quelques gouttes d'éthanol à 95 %. Nous avons ajouté goutte à goutte une solution aqueuse d'acétate de nickel à 5 %.

La réaction positive se caractérise par une coloration rouge.

o <u>Stérols, triterpènes et caroténoïdes</u>

Solution à analyser

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

Caractérisations

✓ Stérols et triterpènes

Nous avons évaporé à sec dans un tube à essai 10ml d'extrait, puis fait dissoudre le résidu dans 1ml d'anhydride acétique et dans 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 2ml 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.

✓ Caroténoïdes

Après évaporation jusqu'à sec de 5ml d'extrait, nous avons ajouté 2 à 3 gouttes d'une solution

saturée de trichlorure d'antimoine dans le chloroforme.

Il se développe en présence de caroténoïdes une coloration bleue devenant rouge par la suite.

✓ Hétérosides cardiotoniques :

Ils forment un groupe homogène possédant un intérêt thérapeutique réel. Ils demeurent des

médicaments majeurs de l'insuffisance cardiaque.

♦ Solution à analyser

Nous avons introduit 1g de poudre, 10ml d'alcool à 60% et 5ml d'une solution d'acétate neutre de

plomb à 0,1N 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 10ml 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

0,4ml d'isopropanol et dans les 3 tubes nous avons ajouté respectivement 1ml de réactif de Baljet,

1ml de réactif de Kedde, 1ml 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 (100ml) et y avons projeté de la poudre de drogue végétale (1g). Une ébullition

modérée a été maintenue pendant 15mn. Nous avons filtré et après refroidissement ajusté à 100 ml.

Caractérisation

Thèse: Salimata DAGNOKO

43

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 10ml 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 a partir du tube dans lequel la hauteur de la mousse a été de 1cm (N).

Indice de Mousse :
$$IM = \frac{1000}{N}$$

2) Extractions:

❖ Avec l'eau :

Décoction:

Prendre 20g; 10g; puis 5g de poudre dans un ballon contenant un de l'eau (500ml)

Maintenir l'ensemble en ébullition par un chauffe ballon pendant 15mn.

Après refroidissement, à la température ambiante au laboratoire, filtrer sur compresse puis sur coton.

Concentrer le filtrat obtenu à l'aide d'un Rotavapor sous vide à température de 55°C.

Lyophiliser l'extrait concentré après congélation. Les poudres obtenues des différentes extractions seront conservées dans des flacons en verre, stériles et hermétiquement fermés.

➤ Infusé:

Prendre 20g, 10g,5g de poudre de feuilles y ajouter de l'eau bouillante (500ml d'eau), laisser infuser pendant 30mn, filtrer sur compresse puis sur coton.

Concentrer le filtrat obtenu à l'aide d'un Rotavapor sous vide à température de 55°C.

Lyophiliser l'extrait concentré après congélation. Les poudres obtenues des différentes extractions seront conservées dans des flacons en verre, stériles et hermétiquement fermés.

❖ Substances extractibles par alcool (éthanol à 70%):

Introduire 5g de poudre dans un Erlenmeyer de 250ml contenant 100ml d'alcool à 70°.

Mélanger et placer sous agitation magnétique pendant 24h. Après 24h, filtrer sur papier filtre et compléter à 100ml avec éthanol à 70% concentré a sec au Rotavapor.

Peser un ballon d'évaporation a vide = P_1 (ballon vide).

Mettre le filtrat ajusté à 100ml dans ce ballon d'évaporation (ballon vide).

Évaporation à sec à l'étuve 110°C;

Peser de nouveau le ballon, on obtient P₂

Le pourcentage des substances extractibles par l'éthanol à 70% sera alors égal à :

$$P = \frac{\left(P_2 - P_1\right) \times 100}{5}$$

❖ Avec les solvants à polarité croissante :

Il se fait à l'aide d'un Soxhlet comme suite :

Introduire la poudre de feuilles (20g) dans une cartouche et procédé à l'extraction avec environ 100ml d'éther de pétrole sous réfrigérateur à reflux jusqu 'à épuisement.

L'extrait recueillit dans un ballon sera concentré à l'aide du Rotavapor. Après concentration, recueillir l'extrait dans un flacon de verre propre, laissé ouvert pendant 24h afin d'éliminer toute trace de solvant.

Cette même opération est reprise avec du Dichlorométhane (DCM); toujours sur la même drogue, reprendre l'opération avec du méthanol à la différence que cette fois-ci ,l'extrait méthanolique sera évaporé à sec puis repris avec un peu d'eau distillée, puis lyophiliser. Laisser à l'air libre dans le laboratoire pendant 24h, puis le résidu sera gratté et recueillit dans un flacon en verre stérile, propre et hermétiquement fermé.

III. CONTROLE DE QUALITE BOTANIQUE DE LA POUDRE

Il s'agit de déterminer les caractères macroscopiques, microscopiques, des caractères organoleptiques de la poudre de feuilles.

1) Caractères microscopiques :

1-1 Echantillonnage:

Afin de s'assurer de l'exactitude des déterminations qualitatives et quantitatives, il est nécessaire que la composition de l'échantillon pris pour les déterminations soit représentative de l'ensemble des drogues à analyser. Il est par conséquent essentiel de prendre une moyenne correcte de l'échantillon. Notre travail a consisté à prendre des échantillons des différentes zones du Mali à

savoir la zone de Blendio, Parana, Bamako, Sanakoroba, Bandiagara (route de Sibi-Sibi et Bodio), Siby (2007 et 2008) et Sido.

Pour cela il faut:

- s'assurer de l'uniformité et de l'intégrité des récipients (ou de la toile externe d'emballage), et de l'étiquettes de tout l'ensemble.
- Prendre des échantillons de chacun d'eux.
- Durant le processus d'échantillonnage, prélever le matériel des parties inférieures, supérieures et intermédiaire de chaque paquet ouvert.
- Préparer l'échantillon globale en mélangeant et combinant les échantillons unitaires pris dans chaque paquet ouvert, en s'assurant de ne pas accroître le degré de fragmentation.
- Réaliser l'échantillon moyen en divisant en quatre l'échantillon global.

L'échantillon moyen ainsi réalisé st d'une dimension suffisante, permettant d'effectuer tous les tests nécessaires. Une moitié de l'échantillon a été utilisée au laboratoire pour nos analyses et l'autre a été conservée pour l'analyse de référence en cas de besoin.

Remarque:

Le processus en 4 consiste à placer l'échantillon bien mélanger en un tas compact carré et à le diviser diagonalement en 4 parties égales.

Les deux parties opposées sont ensuite prises et soigneusement mélangées.

Le processus est répété autant de fois que possible jusqu'à obtention de la quantité requise.

(Pharmacopée Africaine, 1988)

1-2 Technique:

Nous avons incorporé une petite quantité de la poudre de la drogue dans deux goutte du réactifs universel de microcopie (réactifs de Gazet du Chatelier), mélanger avec soin, déposé sur une lame porte objet que nous avons recouvert d'une lamelle. Nous avons déposé l'ensemble sur la platine du microscope pour observation à l'objectif 40 et 100.

Les différents éléments microscopiques ont été identifiés.

2) <u>Caractères macroscopiques des feuilles :</u>

Il s'agit ici de déterminer :

-la forme

-la taille

-la couleur

-la texture

2-1 La forme :

L'échantillon n'a besoin d'aucun traitement préliminaire.

2-2 La taille:

Généralement on utilise une règle graduée en millimètre pour mesurer la longueur, la largeur et l'épaisseur des drogues brutes.

2-3 La couleur :

Examinez l'échantillon non traité à la lumière du jour diffuse. En cas de besoin, on utilisera une source artificielle de lumière de longueur d'onde semblable à celle de la lumière du jour ; toutefois la couleur de l'échantillon devra être comparée à celle d'un spécimen de référence.

2-4 La texture:

Tester l'échantillon en tâtant en vue de déterminer des informations s'il est mou ou dur. (Pharmacopée Africaine, 1988).

3) Caractéristiques organoleptiques :

3-1 L'Odeur :

Il consiste à examiner une petite portion de l'échantillon, placée dans la paume de la main ou dans un bécher de dimensions convenables, en exerçant une inspiration lente et répétée de l'air au dessus de l'échantillon.

Si aucune odeur n'est perceptible, écraser lentement l'échantillon entre pouce et index ou dans les paumes de la main, ou par d'autres moyens appropriés ou encore en versant une petite quantité d'eau bouillante sur l'échantillon écrasé et placer dans un bécher, puis examiner de nouveau.

Déterminer d'abord la force de l'odeur (aromatique, fruitée, relent, moisie, rancie, etc.).

Il est surtout conseillé d'effectuer un comparaison directe de l'odeur avec celle dune substance définie.

3-2 Le Goût:

Placer 5 à 10g de poudre de feuilles sur la langue et garder dans la bouche pendant 10 à 30 secondes.

Recracher l'échantillon, se rincer la bouche et apprécier le goût (piquant, fade, aigre, amer, etc.).

3-3 La couleur:

C'est une observation directe.

(Pharmacopée Africaine, 1988).

CONTROLE DE QUALITE PHYSICO-CHIMIQUE

Il s'agit ici de déterminer et cela pour les 9 échantillons de chacun des différentes zones :

- La teneur en eau;
- Les cendres totales ;
- Les cendres chlorhydriques ;
- Cendres sulfuriques;
- Le pH des solutions obtenues en fonctions des différentes concentrations
- Une chromatographie sur couche mince (CCM) « Finger print »
- Dosage des tanins
- Dosage des éléments minéraux (sodium, calcium, potassium)
- Identification des groupes chimiques.

1) Teneur en eau :

Nous avons utilisés deux méthodes pour la détermination de la teneur en eau des 9 différents échantillons. Il s'agit de la méthode gravidique et de la méthode azéotropique :

1-1 La méthode gravidique :

• Principe

Déterminer la perte en masse d'une quantité connue de poudre par dessiccation à l'étuve à température de $101^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 24h.

• Mode opératoire :

Introduire 5 prises d'essai (1 à 2g) respectivement dans 5 verres de montre préalablement tarés (T_1 à T_5). Les masses de prises d'essai plus les tares sont notés P_1 à P_5 .

Après 24h à l'étuve à température de $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, peser de nouveau et noté P'₁ à P'₅.

Placer les prises d'essai dans l'étuve jusqu à masse constante.

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

M=P-P'

La masse de la prise d'essai est MPE= P-T ; le pourcentage d'eau contenu dans la poudre est % d eau = (masse d eau /MPE) X 100

Avec MPE: masse de la prise d'essai

Déterminer la moyenne des pourcentages d eau dans les 5 verres dans les mêmes conditions.

1-2 La méthode azéotropique :

• Principe:

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

• Mode opératoire :

Dans un ballon de 500ml, introduire du toluène (100ml) et de l'eau distillée (1ml) et porté à ébullition pendant 1h sous réfrigérant.

Après 30mn de repos, lire le niveau d'eau (V1). Ensuite, introduire5g de poudre dans le contenu du ballon et engagé une ébullition d'une heure. Après 30mn de refroidissement, lire le niveau de l eau (V2). Le volume d eau contenue dans la prise d essai est cal cule selon la formule suivante :

$$V = V2 - V1$$

Le pourcentage d eau est calcule selon la formule :

Le % eau= $(V2 - V1 / PE) \times 100$

Avec PE: prise d essai.

2) Les cendres totales :

• Principe:

Il repose sur la détermination des substances résiduelles non volatiles contenus dans une drogue lorsque cette dernière est calcinée.

• Mode opératoire :

Peser une prise d'essai dans un creuset en Silice préalablement taré (T). Après incinération au four à température environ 600°C pendant 6h puis refroidir 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 suivante :

mCT = M - M'

La masse de prise d'essai (mPE) est calculée comme suite : mPE = M-T

Le % de CT = (mCT / mPE) X 100

Réaliser 5 essais de la même manière afin de déterminer un pourcentage moyen.

3) Cendres chlorhydriques

• Principe:

Elle se fait sur les cendres totales.

• Mode opératoire :

Introduire les cendres totales des 5 essais dans un Erlenmeyer, ajouter 200ml de l'acide chlorhydrique à 10%.

Porter l'ensemble a ébullition pendant 15mn au bain marie bouillant.

Après refroidissement, recueillir et laver la matière non soluble sur du papier filtre sans cendre, et le filtre a été transféré dans un creuset sec préalablement tare (T). Le creuset contenant le papier filtre a ensuite été séché à l'étuve pendant 24h (M) et calciné pendant 6h au four à la température de 600°C. Après refroidissement dans un dessiccateur, peser le creuset contenant le papier filtre calciné (M').

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

mCc = M' - T

Le pourcentage est donné par : % Cc = (mCc / S PE) X 100.

SPE= somme des masses de poudres utilisées pour déterminer des cendres totales.

4) <u>Les cendres sulfuriques</u>

Les cendres sulfuriques résultent de la calcination au contact de l'air après attaque par le H₂SO₄ (acide sulfurique). Le dosage est proposé pour la 8eme édition de la pharmacopée française donne des résultats constants que celui des cendres totales, les carbonates et oxydes se trouvant tous convertis en sulfates non volatils.

Technique:

Porter au rouge pendant 10mn un creuset en silice ou de platine de forme basse. Laisser refroidir dans un dessiccateur et taré le creuset. La prise d'essai (PE) exactement pesée est placée dans celui-ci

PE = 3 à 5g.

On mouille avec une quantité suffisante d'H₂SO₄ concentré préalablement dilué par un volume égal d'eau (dilution au ½). On chauffe au Bain Marie jusqu'à évaporation à sec puis à feu nu, d'abord avec précaution puis jusqu'au rouge sans excéder les 800°C de température.

On maintient la calcination jusqu'à disparition des particules noires, on laisse refroidir, on ajoute au poids constant après refroidissement dans un dessiccateur.

% = masse cendre/ masse de PE x 100

On calcul le taux de cendres sulfuriques en les rapportant à 100g de substance.

NB: la calcination peut être dans un four à moufle.

5) <u>Détermination du pH des solutions :</u>

Il s'agit de déterminer le pH des solutions obtenues en fonctions des différentes concentrations des différents échantillons en utilisant le papier pH.

6) Chromatographie sur couche mince : (CCM)

• Solvants:

De dissolution :

- Mélange méthanol-eau (1 : 1) pour les extraits polaires
- Acétate d'éthyle pour les extraits d'éther de pétrole et de dichlorométhane (DCM) ;
- Méthanol pour les extraits méthanolique et éthanolique.

• De migration :

- Ligroïne-acétate d'éthyle (1 : 1) pour les extraits d'éther de pétrole et de dichlorométhane
- Butanol-acide acetique-eau (BAW) (60 : 15 : 25).

* Révélateurs:

- Réactif de Godin;
- DPPH (le 1,1diphenyl-2 picrylhydrazyle)
- FeCl₃ (trichlorure de fer).
- AlCl₃ (trichlorure d'aluminium)

• <u>Technique</u>:

Dissoudre 10mg des extraits dans 1ml d un mélange eau-méthanol (1 : 1).

Les extraits méthanolique ont été dissous dans 1ml de méthanol. Quant aux extraits apolaires, ils ont été dissous dans 1ml d acétate d éthyle.

A l'aide d une micropipette de 10 microlitre de chaque solution sur la plaque. Les traces du solvant ont été complètement évaporées des dépôts à l'aide d un séchoir.

Placer la plaque dans les cuves de développement contenant les systèmes de solvants :

- Butanol-acide acétique- eau (BAW) (60 : 15 : 25) pour les extraits aqueux et méthanoliques
- Ligroïne-Acétate d éthyle (1 : 1) pour les extraits DCM et éther de pétrole

La migration de solvant d'élution entraîne les substances contenues dans les extraits de la plante à vitesses variées ; il se forme des taches caractérisant les substances présentes dans l'extrait.

Retirer les plaques des cuves des que le front du solvant atteint 8cm environ. Sécher les plaques et les observées sous une lampe UV à 254nm et à 366nm puis les révéler avec différents réactifs qui permettront de caractériser les différents groupes de constituants chimiques.

Chaque substance sera identifiée par sa fluorescence sous UV, par son facteur de rétention (Rf) dans un système de solvant précis, et par la couleur après révélation avec les réactifs chimiques.

Rf = distance parcourue par la substance / distance parcourue par le front du solvant

7) <u>Dosage des tanins :</u>

Il existe plusieurs méthodes de dosages des tanins, parmi ces méthodes, celle de la peau chromée est l'une des plus utilisées.

C'est une méthode pondérale dans laquelle on compte comme tanins, la différence de résidu sec de la solution tannante filtrée avant et après l'action de la peau chromée.

7-1 Préparation du décocté à 4%:

Peser 4g de poudre (échantillon) dans 100ml propre et sec, peser l'ensemble. Laisser macérer pendant 15mn dans le laboratoire.

Chauffer le ballon modérément pendant 1h en faisant surmonter le ballon d'un réfrigérant à reflux. Laisser refroidir et repeser le ballon sur la même balance. S'il y a diminution de poids, ajuster avec de l'eau distillée.

Filtrer la solution sur papier (mouiller le filtre et jeter les premiers millilitres de filtrat).

7-2 Dosage des substances totales solubles dans l'eau :

Peser une capsule vide et sèche (on obtient P1), mettre 25ml de décocté à 4% à l'aide d'une pipette jaugée.

Concentrer les 25ml de filtrat au Rotavapor pendant 15 à 30mn, puis mettre la capsule dans l'étuve à 100°C pendant environ 1h-1h30 pour évaporation à sec ; après étuve, mettre ensuite la capsule dans le dessiccateur pour refroidissement ;

Repeser la capsule (on obtient P2) ; la différence entre les deux masses correspond à la masse totale des substances solubles dans l'eau qu'on appelle : m

$$m = P2 - P1$$

7-3 Dosage des non tanins :

❖ Isolement des tanins par la peau chromée :

Dans un Erlenmeyer de 250ml, mettre successivement 50ml décocté à 4% et 50ml d'eau distillée. Ajouter 4g de peau chromée et agiter le mélange pendant 1h a l'aide d'un agitateur magnétique. Filtrer sur papier.

❖ Dosage des tanins :

Peser une seconde capsule(m1),mettre 50ml de filtrat préparé précédemment,concentré au Rotavapor pendant 15-30mn(à 60°C),puis placer la capsule dans l'étuve à 100°C pendant 1h-1h30 jusqu'à évaporation à sec ;

Après étuve, placer la capsule dans le dessiccateur pour refroidissement. Peser ensuite la capsule (m2).

La différence des deux masses correspond à la masse des non tanins qu'on appellera :

$$m' = m2 - m1$$
.

NB: cette masse des non tanins renferme la masse des substances de peau solubles dans l'eau.

Quand on agite 4g de poudre de peau chromée avec 100ml d'eau dans les mêmes conditions qu'avec la solution tannante et qu'on évapore à sec (50ml de ce filtrat), on constate qu'une masse de 0,0211g des substances est passée dans l'eau.

7-4 Dosage des tanins proprement dit :

La masse des tanins est égale à la différence des deux masses (masse totale des substances totales et masses des non tanins), on l'appellera M;

$$M = m - (m' - 0.0211)$$
;

Le pourcentage (P) des tanins vaut alors :

$$P = 100 x M$$
.

(Pharmacopée Africaine, 1988).

8) Recherche des éléments minéraux (Ionogramme) :

L'ionogramme est le dosage des ions dans une substance donnée.

Nous l'avons réalisé sur les cendres totales de nos extraits aqueux et celles des poudres entières. Pour chaque échantillon des cendres (10mg) ont été dissous dans l'eau distillée (5ml), le filtrat a servit à la réalisation des tests. (Pharmacopée Africaine, 1988).

Préparation de solution :

Prendre 10mg de cendres totales de poudre, à dissoudre dans 5ml d'eau distillée, puis centrifuger pendant 10mn, filtrer la solution.

8-1 Dosage du potassium et sodium :

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

Principe:

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

♦ Mode opératoire :

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

Les photons émis par l'étalon interne de Lithium de Potassium et de Sodium vaporisé dans la flamme sont envoyés au travers d'un filtre interférentiel sur un photo explicateur générant ainsi une tension de référence.

Les photons émis par l'échantillon à doser selon le même procédé générant une tension de mesure. La concentration de Sodium, Potassium, Lithium est affichée en temps réel sur l'appareil. L'unité est mEq/l.

❖ <u>Description de l'appareil :</u>

L'appareil est constitué de deux sous ensembles :

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

• Mélangeur diluteur :

Le diluteur en continu permet d'avoir le taux de dilution de l'ordre du 1/200eme de l'échantillon à doser, cette partie est constituée de :

- une pompe péristaltique ;
- des tuyaux de pompes ;
- d'un bloc mélangeur;
- d'une évacuation.

8-2 Dosage du fer, calcium et magnésium :

Principe:

C'est un appareil qui utilise les méthodes spectrométriques et potentiométriques pour déterminer les concentrations des différents paramètres.

Présentation :

_Il s'agit du COBAS INTEGRA 400 PLUS.

Cet appareil est composé de trois grandes parties :

- Une station d'analyse;
- Une unité centrale

- Des accessoires 'écran, clavier, sourie, imprimante).

Dans la station d'analyse il y a une partie réservée aux raques portant les réactifs, une partie pour les portoirs des échantillons.

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

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

<u>NB</u>: Il est mieux de brancher l'appareil sur un onduleur pour le protégé des courts circuits.

IV. <u>DETERMINATION DE LA TENEUR EN POLYSACCHARIDES</u>

Elle est faite par les méthodes chromatographiques.

1) Matériels :

- étuve
- flacon en téflon (4ml) avec bouchon
- générateur d'azote
- micropipettes Finnpipette* D741034500040*40-200µl
- pipette pasteur de 2ml.

2) Les réactifs :

- HCl 4M
- HMDS
- Méthanol anhydre
- Mannitol méthanol (1μg pour 1 μl)
- Pyridine
- TMCS

3) La dépolymérisation : le méthanolysis

• Principe:

Dans cette méthode, la solution de méthanolysis (4 HCl/MeOH) agit sur les molécules de polysaccharides par rupture des liaisons glucosidiques. Nous obtenons des méthyl glucosides en C₁ puis des méthylesters glucosides.

• Réaction :

• Mode opératoire :

- Placer dans les flacons 2 mg d'échantillon (1 mg pour les petites quantités)
- Ajouter 1ml de (4HCl/MeOH), puis 200 µl de mannitol/MeOH (1mg/ml)
- Agiter et bien fermer les flacons.
- Incuber à 80°C pendant 20 à 24h
- Décompresser les flacons après 10mn d'incubation puis au bout d'une heure, ils sont agités et replacés à l'étuve
- Evaporer les solutions après incubation sous un courant d'azote.
- Laver et sécher à deux reprises chaque résidu avec 1 ml de méthanol anhydre.
- Fermer les flacons puis conserver au congélateur ou dans un dessiccateur.

4) La dérivatisation :

• Principe:

Le triméthylsilane (TMS) agit sur les groupements hydroxyles libres des produits de la polymérisation pour donner des dérivés triméthylsilanes volatils. Les conditions anhydres sont indispensables à cette opération.

58

Structure

• Mode opératoire :

- Ajouter 100µl de TMS à l'extrait méthananolysé et séché.
- Agiter et laisser pendant 30mn puis nous procédons à la CPG

5) <u>La chromatographie en phase gazeuse (CPG) :</u>

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

• Principe:

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

59

• Condition opératoire :

- o Appareil: Carlo Erta 6000. Vega série2 programme ICU600
- o Intégrateur : Shimadzu C- R6A
- o Détecteur : ionisation de flamme (FID) avec H₂ de l'air pour la flamme
- o Injecteur : Split-Splitless injecteur
- o Colonne: DB-5 (jet w Scientific)

Colonne capillaire (fused silica)

- Longueur 30m
- Diamètre 0.32mm
- Epaisseur film 0.25µm
- o Vecteur gaz : hélium
- o Débit d'écoulement : 1.8ml/mn
- o Débit de séparation : 15ml/mn
- o Volume injecté : 1.0μl
- T° d'injection : 260°C
- T° de détection : 310°C
- o Programme de température :
- 140°C à 170°C avec une évolution de 1°C par minute
- 170°C à 250°C avec une évolution de 6°C par minute
- 250°C à 300°C avec une évolution de 50°C par minute.

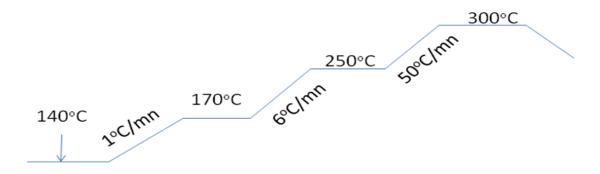


Figure Nº1: Programme de température du chromatographe en phase gazeuse

6) Procédure:

Mettre l'appareil en marche et ouvrir les sortie de gaz : la pression de la sortie de H_2 à pression de 0.6kg/cm^2 puis celle de l'air à 0.9kg/cm^2 .

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

V. TESTS BACTERIOLOGIQUES

Ces tests on été réalisés à l'Institut Nationale de Recherche en Santé Publique (INRSP), plus précisément dans le service de bactériologie. Ils avaient pour objectifs de rechercher la présence ou l'absence de *Escherichia coli* et des Salmonelles.

> Prélèvement :

On travaillera sur les différentes poudres de plantes prises comme échantillon.

- Méthodes générales d'analyses bactériologiques :
- Suspension Mère (SM):

Prendre 1g de poudre de plantes, ajouter 9ml d'eau peptonée tamponnée (EPT), placer le tout au bain marie à 47°C pendant 5mn.

• Dilution décimale :

Elle se fait à l'aide du Tripton sel ou de l'eau distillée :

- prendre 1ml de la solution mère (SM) dans 9ml d'eau distillée ou Tripton sel qu'on appelle
 A (dilution au 1/10^e)
- prendre 1ml de solution A dans 9ml eau distillée au Tripton sel, qu'on appelle B (dilution au 1/100^e)
- prendre 1ml de solution B dans 9ml d'eau distillée ou Tripton sel qu'on appelle C (dilution au 1/1000°).

1) Recherche de Escherichia coli :

* Recherche en milieu liquide :

Milieu bouillon BCP (Bromo Crésol Pourpre) et Bouillon Lactosé au Vert Brillant (BLVB).

- Prendre 1ml de solution A; mettre dans 3 tubes différents
- Prendre 1ml de solution B; mettre dans 3 tubes différents
- Prendre 1ml de solution C; mettre dans 3 tubes différents
- Prendre 1ml de la suspension mère (SM); mettre dans 3 tubes différents

NB: les différents tubes contiennent les bouillons BCP munis d'une cloche.

Mettre les différents tubes en incubation à 37°C (étuve) pendant 48H.

Les bouillons suspects (c'est-à-dire les tubes où il y a présence de gaz au 1/3 de la cloche, et/ou coloration jaune) ont été réisolé sur milieu EMB.

Lecture du bouillon BCP

Si bouillon BCP positif:

- fermentation du lactose : jaune
- produits de gaz au 1/10^e de la cloche.

En cas de bouillon BCP positif, faire le test de Mackenzie.

Test de Mackenzie:

A l'aide d'une öse bouclée, on ensemence à partir des tubes de BCP positifs le BLVB muni d'une cloche et un tube d'eau peptonnée (EP). Après 24 à 48h d'incubation à 44° C \pm 0,5.

On note la présence ou l'absence gaz dans le tube BLVB, puis on recherche la production d'indol dans le Bouillon peptonnée.

Lecture:

	Escherichia coli	Autres bactéries coliformes
Gaz en BLVB à 44°C	+	+ ou - ou -
Indole en EP à 44°C	+	– ou + ou –

<u>NB</u>: on peut trouver d'autres Entérobactéries.

Autre test:

Faire une subculture sur gélose EMB (Eosine et Bleu de Méthylène); ou Drygalski; ou un Dexoxycolate 1‰ en incubation pendant 24h à 37°C et ensuite faire une galerie d'identification ou galerie API.

* Recherche en milieu solide :

Il s'agira d'ensemencer les différents échantillons sur le milieu EMB (Eosine et Bleu de Méthylène), et l'incuber pendant 24h à 37°C.

Les colonies d'*Escherichia coli* se distinguent des autres Enterobactéries par leur reflet métallique. Ces colonies sont identifiées en utilisant une galerie API 20 E.

2) Recherche de Salmonelles :

Les différentes solutions ont été ensemencées sur milieux SS et Mackonkey qui sont des milieux solides et aussi sur bouillon sélénite qui lui est un milieu d'enrichissement.

Les différents ensemencements ont été mis à l'étuve pendant 24h à 37°C.

Après 24h, une galerie API a été faite sur les colonies suspectes (c'est-à-dire les colonies claires et à centre noir) qui avaient poussées sur milieu SS et Mackonkey, pour déterminer le germe en question. Les bouillons sélénites troubles ont été réisolés sur la gelose SS et Mackonkey.

Les colonies suspectent sur ces milieux sont identifiés en inoculant la galerie API 20 E.

NB: Selon l'OMS, les différents germes à savoir *Escherichia coli* et les Salmonelles doivent être de 0/g de poudre de feuilles.

VI. TESTS BIOLOGIQUES

1) Animaux:

Composés de rats mâles blancs Suisse (albinos) achetés au Centre Nationale d'élevage de Bobo-Dioulasso de masse comprise entre 220-350g.

2) Appareils:

Le système "One touch ultraTM" qui a été utilisé pour le contrôle des glycémies. Cet appareil a été spécialement conçu pour les patients diabétiques et des professionnels de la santé pour mesurer le taux de glucose sur sang total.

3) Technique d'administration :

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

4) Prélèvement:

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

5) Test hyperglycémie temporaire (hyperglycémie provoquée par voie orale :

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 jeune préalable de 18h, nous avons mesuré la glycémie de base et provoqué une hyperglycémie temporaire chez les rats en administrant le glucose (dilué à 50% dans l'eau distillée) par voie orale à la dose de 3g/kg de poids corporel. Les rats ont été repartis de sorte qu'un lot est constitué d'un rat. Nous avons mesuré la glycémie au bout de 30mn.

Ces différents lots de rats ont été traité comme suit :

- un lot témoin traité avec l'eau distillée ;
- un lot de référence traité avec Metformine 850mg/kg;
- un lot essai traité avec extrait aqueux à 5%;
- un lot essai traité avec l'extrait aqueux à 10%;
- un lot essai traité avec l'extrait aqueux à 20%.

Nous avons déterminé ensuite la glycémie après 60mn, 120mn et 180mn après différents traitements.

Les résultats sont analysés par rapport aux pics d'hyperglycémie de l'animal ayant reçu l'eau distillée.



I. MICROSCOPIE:

1) <u>Caractères organoleptiques : (Couleur ; goût ; odeur) :</u>

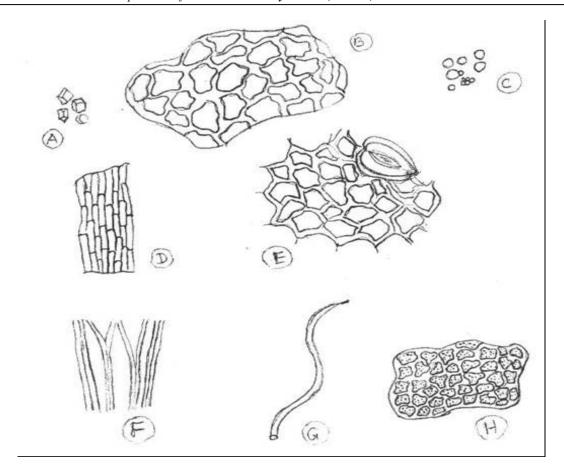
Les feuilles de *Sclerocarya birrea* sont de couleurs vertes, de saveur astringente et d'odeur peu marquée.

2) <u>Caractères macroscopiques :</u>

Les feuilles de *Sclerocarya birrea* (Hoscht) sont composées, imparipennées, opposées, avec des folioles légèrement elliptiques, arrondies ou pointues au bord. La nervation est alternée part et d'autre du pétiole et incurvée au bord du limbe qui est asymétrique et sa grande partie est arquée par rapport à l'autre. Le pétiole est très court. A la face externe la nervation centrale est saillante.

3) Examen microscopique :

La microscopie nous a permis de mettre en évidence les différents éléments qui suivent, que nous avons pris la peine de dessiner de façon manuelle. On obtient alors la figure suivante :



<u>Figure 1</u>: ELEMENTS MICROSCOPIQUES DE LA POUDRE DE FEUILLES DE <u>Sclerocarya</u> <u>birrea (A. Rich) Hoscht.</u>

Les différents éléments mis en évidence, ont été dessinés.

Eléments caractéristiques de la poudre de feuilles de Sclerocarya birrea (A. Rich) Hoscht :

A : cristaux d'oxalate de calcium (abondant)

B: fragments d'épiderme (nombreux)

C: grains d'amidon (nombreux)

D : fragments de tissu (nombreux)

E : stomate sur fragment d'épiderme (peu nombreux)

F: fragments de bois (peu nombreux)

G: poils tecteurs (peu nombreux)

H: fragments de fibres sclerenchymateuses (nombreux)

<u>Tableau I : </u>FREQUENCE DES ELEMENTS CARACTERISTIQUES DE LA POUDRE DE FEUILLES DE *Sclerocarya birrea* DANS LES DIFFERENTS ECHANTILLONS.

Eléménts	Blendio	Parana	Bamako	Sba	Siby 08	Siby 07	Sido	BgSS	BgB
caractéristiques									
Cristaux	l								
d'oxalate de calcium	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Fragments	++	++	++	++	++	++	++	++	++
d'épiderme									
Fragments de	+	++	+	++	+	++	++	++	++
tissus									
Stomate sur									
fragment	+	+	+	+	+	+	+	+	+
d'épiderme									
Fragments de									
bois	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Poils tecteurs									
	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fragments de									
fibres	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
sclerenchyma-									
teuses									
Grains	++	++	++	++	++	++	++	++	++
d'amidons									

NB:

+ + + : abondant BgB : Bangiagara (Bodio). + + : nombreux BgSS : Bandiagara (Sibi-Sibi).

+ : peu nombreux Sba : Sanakoroba

La microscopie a été effectuée sur chacune des différentes poudres prises comme échantillons

II. PHYTOCHIMIE ET DOSAGE:

1) Résultats de la phytochimie

Echantillons Groupes	Blendio	Parana	Bamako	Siby 08	Sba	Siby 07	Sido	BgSS	BgB
Chimiques									
Coumarine	_	_	+	_	+	+	+	_	_
Flavonoïdes	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Saponosides	_	-	-	++	+	++	_	-	_
Tanins	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Tanins catéchiques	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++
Tanins galliques	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oses et holosides	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Polyuronides (mucilages)	++	++	++	++	+	+	_	_	+
Stérols et triterpènes	_	_	_	_	_	_	_	_	_
Hétéroside cardiotonique	_	_	_	_	_	_	_	_	_
Leucoanthocyanes	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Composés réducteurs	_	_	_	_	_	_	_	_	_
Hétérosides cyanogénétiques	_	_	_	_	_	_	_	_	_
Caroténoïdes	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anthracénosides combinés libres	_	_	_	_	_	_	_	_	_
Alcaloïdes	_	_	_	_	_	_	_		_
Anthocyanes	_	_	_	_		_		_	_

La phytochimie a été réalisé sur chacune des différentes poudres prises comme échantillon.

<u>NB</u>: +++: Fortement positive +: faiblement positive

+ + : Positive — : négative

2) Résultats des différents dosages

Tableau III: RESULTATS DU DOSAGE DES DIFFERENTS ECHANTILLONS.

Echantillons	Teneur en eau (en %)(M.gravimétrique)	Teneur en eau (M.azéotropique) (en %)	Cendres totales (en %)	Cendres chlorhydriques (en %)	Cendres sulfuriques (en %)
Blendio	10,60	10	7,35	0,39	10,46
Parana	9,62	10	7,64	0,10	10,45
Bamako	8,10	10	6,52	0,62	10,40
Siby 08	9,16	8	7,64	0,34	12
Sba	9,43	10	7,83	0,70	11,46
Siby 07	10,33	12	7,51	0,97	11,20
Sido	9,42	10	6,58	0,35	9,2
BgSS	8,95	10	6,92	0,21	11,16
BgB	9,2	8	6,82	0,49	10,80

Ces différents dosages ont été effectués sur chaque échantillon et dans les mêmes conditions.

<u>Tableau IV:</u> RESULTATS DOSAGE DES TANINS DANS LES DIFFERENTS ECHANTILLONS

Echantillons	Dosage en %
Blendio	9,68
Sba	10,30
Bamako	4,11
Parana	5,57
BgB	4,89
BgSS	2,01
Siby 08	2,41
Siby 07	0,39
Sido	10,49

Les tanins ont été dosés sur les différents échantillons dans les mêmes conditions

<u>Tableau V:</u> POURCENTAGE EN CORPS ETRANGERS DES DIFFERENTS ECHANTILLONS DE LA POUDRE DE *Sclerocarya birrea*.

Echantillons	Pourcentages
Blendio	0,4%
Parana	2%
Bamako	1,7%
Sanakoroba	1,8%
Siby 2008	0,3%
Siby 2007	_
Sibi-Sibi	0,3%
Bodio	0,26%
Sido	0,17%

La détermination des pourcentages en corps étrangers a été effectuée sur les feuilles des différents échantillons sauf celui de Siby 2007, car nous avons travaillé directement sur la poudre de feuilles.

<u>Tableau VI</u>: DOSAGE DES POLYSACCHARIDES DANS LES ECHANTILLONS DE <u>Sclerocarya birrea</u>.

Echantillons	Blendio	Parana	Bamako	Sba	Siby 08	Siby 07	BgSS	BgB	Sido
Arabinose	6,5%	6,2%	4,3%	6%	3,5%	Ī	3,80%	6,2%	3,2%
Rhamnose	7%	6,9%	7,2%	6,4%	42%	_	_	_	_
Galactose	38,9%	42,5%	45,6%	41,9%	35,5%	49,8%	33,9%	37,1%	35,1%
Glucose	47,6%	44,3%	43%	45,7%	56,9%	50,2%	51,6%	56,5%	61,7%
Acide glucuronique	_	_	_	_	_	ı	10,7%	_	_
Pourcentage totale des sucres	41,47%	26,47%	20,82%	16,82%	31,30%	25,55%	51,88%	28%	18,57%

Ces dosages ont été effectués sur 10mg d'extrait aqueux (décocté à 10%) de chacun des différents échantillons

III. EXTRACTIONS:

1) Extraction Soxhlet

<u>Tableau VII</u>: RESULTATS DE L'EXTRACTION AU SOXHLET DES DIFFERENTS ECHANTILLONS.

Echantillons	Extractions	Rendements (en %)
	Ether de pétrole	3,7
Blendio	DCM	1,1
	Méthanolique	7,8
	Ether de pétrole	6,6
Parana	DCM	1,25
	Méthanolique	6,8
	Ether de pétrole	2,8
Bamako	DCM	1,2
	Méthanolique	5,65
	Ether de pétrole	3,5
Siby (2008)	DCM	1,3
	Méthanolique	6,3
	Ether de pétrole	2,95
Sba	DCM	2
	Méthanolique	4,8
	Ether de pétrole	2,65
Siby (2007)	DCM	1,70
	Méthanolique	2,7
	Ether de pétrole	3,45
Sido	DCM	0,95
	Méthanolique	6,95
	Ether de pétrole	2,4
BgSS	DCM	0,75
	Méthanolique	4,35
	Ether de pétrole	3,2
BgB	DCM	0,80
	Méthanolique	6,05

Les extractions ont été effectuées sur les différents échantillons de poudres de feuilles et dans les mêmes conditions

73

2) Résultats des décoctions

Tableau VIII: RENDEMENTS DES DECOCTIONS DES DIFFERENTS ECHANTILLONS.

Echantillons	Décoctions	Rendements (en %)
	5g	14,20
Blendio	10g	12,70
	20g	19,25
	5g	16,40
Parana	10g	12
	20g	17,75
	5g	18,20
Bamako	10g	11,50
	20g	18,05
	5g	17
Siby (2008)	10g	16,20
	20g	19,50
	5g	21,20
Sba	10g	16,80
	20g	24
	5g	13,80
Siby (2007)	10g	16,30
	20g	17,15
	5g	20,80
Sido	10g	19,70
	20g	24
	5g	16,20
BgSS	10g	12,40
	20g	16,55
	5g	15
BgB	10g	14
	20g	17,40

Les décoctions ont été toutes effectuées dans les mêmes conditions sur les différents échantillons.

3) Résultats des infusions

Tableau IX: RENDEMENTS DES INFUSIONS DES DIFFERENTS ECHANTILLONS.

Echantillons	Infusion	Rendements (%)
	5g	12,80
Blendio	10g	21,70
	20g	16,10
	5g	13,20
Parana	10g	17
	20g	17,80
	5g	11,20
Bamako	10g	15,80
	20g	15,95
	5g	13,40
Siby (2008)	10g	17,70
	20g	17,20
	5g	16,40
Sba	10g	22,60
	20g	21,80
	5g	18,80
Siby (2007)	10g	14,30
	20g	13,60
	5g	17,60
Sido	10g	19,10
	20g	21,20
	5g	14,20
BgSS	10g	15,80
	20g	17,10
	5g	13,40
BgB	10g	17,62
	20g	16,55

Les infusions ont été toutes effectuées sur les différents échantillons et dans les mêmes conditions.

4) Résultat des substances extractives par l'éthanol à 70%

<u>Tableau X</u>: RENDEMENTS DES SUBSTANCES EXTRACTIBLES PAR L'ETHANOL A 70% DES DIFFERENTS ECHANTILLONS.

Localités	Rendements (en %)
Blendio	30,80
Parana	28,20
Bamako	28,80
Sanakoroba	27,20
Siby (2008)	31,80
Siby (2007)	22,80
BgSS	24,80
BgB	26
Sido	32

Ces extractions ont été toutes effectuées sur les différents échantillons et dans les mêmes conditions.

IV. <u>DETERMINATION DU PH DES SOLUTIONS AQUEUSES</u> (<u>DECOCTE ET INFUSE</u>):

Les différents décoctés et infusés à bases de feuilles de *Sclerocarya birrea*, à différentes doses avaient tous des pH égales à 5. La détermination a été faite avec le papier pH.

V. <u>TESTS BACTERILOGIQUES</u>:

<u>Tableau XI</u>: RESULTATS DES TESTS BACTERIOLOGIQUES

Ces deux tests ont été effectués sur les poudres de feuilles des différents échantillons et dans les mêmes conditions.

Echantillons	E. coli	Salmonelle
Blendio	absence	absence
Parana	absence	absence
Bandiagara(Bodio)	absence	absence
Siby 07	absence	absence
Siby 08	absence	absence
Sanankoroba	absence	absence
Sido	absence	absence
Bandiagara (Sibi-sibi)	absence	absence
Bamako (DMT)	absence	absence

Ces deux tests ont été effectués sur les poudres de feuilles des différents échantillons et dans les mêmes conditions.

VI. TESTS BIOLOGIQUES:

Résultats des tests biologiques (hyperglycémie temporaire)

1) Contrôle des glycémies des rats

Tableau XII: Glycémie des rats après administration des différents décoctés

Extraits	N= 5	Glyc b	T ₃₀	T ₆₀	T ₁₂₀	T ₁₈₀
		(mmol/l)				
Décocté 5%	1	5,8	7,1	7,4	6,8	7,2
Décocté 10%	1	5,5	7,3	6,5	6,6	5,6
Décocté 20%	1	4,8	6,9	6,6	5,8	5,8
Eau distillée	1	5,5	6,2	7,1	7,4	6,1
Metformine	1	5,7	7,1	6,3	5,9	5,7

Les différentes glycémies ont été obtenues après 18h de jeune, les animaux étaient tous dans les mêmes conditions.

NB: Glyc b: Glycémie de base

2) Pourcentage de réduction de la glycémie

Tableau XIII: Pourcentage d'inhibition de la glycémie

Extraits	T ₃₀	T ₆₀	T ₁₂₀	T ₁₈₀
Décocté 5%	4,05%	0%	8,11%	2,7%
Décocté10%	1,35%	12,16%	10,81%	24,32%
Décocté 20%	6,76	10,81	21,62%	21,62
Metformine	4,05	14,86	20,27	22,97

Les différents pourcentages sont obtenus en fonction du témoin qui a reçu l'eau distillée.

<u>NB:</u>

T₃₀: glycémie après 30mn T₆₀: glycémie après 60mn T₁₂₀: glycémie après 120mn T₁₈₀: glycémie après 180mn

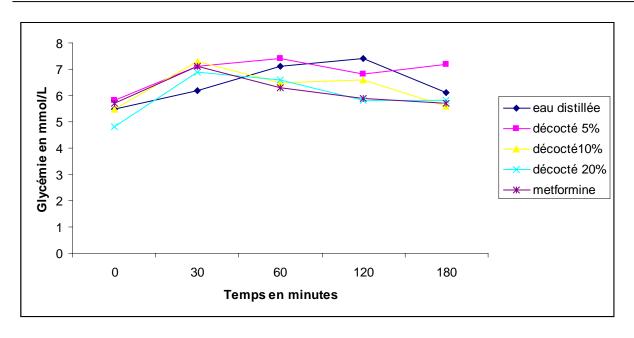


Figure N° 2: Courbe d'évolution par rapport au temps chez les rats rendus hyperglycémiques

VII. <u>IONOGRAMME</u>:

Tableau XIV: Résultats de l'ionogramme

Echantillons	Blendio	Parana	Bamako	Sba	Siby 08	Siby 07	BgSS	BgB	Sido
Sodium	0	0	0	84,33	0	0	0	0	0
Potassium	988	1573	988	1000	819	858	956	819	819
Fer	62	33	374	27	343	193	65	74	81
Calcium	31	0	12	0	0	0	0	106	182

NB: Les quantités (en mg) sont obtenues par 100g de poudres.

Le Magnésium a été dosé sur le mélange de tous les échantillons, nous avons obtenu : 80mg/100g de poudre de feuilles du *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hoscht.

VIII. CHROMMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM):

1) Calcul des facteurs de retention (Rf) :

1-1) Echantillon de Blendio:

Extraits	254	366	Godin	ALCl ₃	FeCl ₃	DPPH
Décocté 20g	0,39 vis 0,68 vis 0,79 vis 0,88 vis	0 violette 0,36 violette 0,75 violette 0,88 violette	0 rose 0,29 rose clair 0,46 rose clair 0,9 jaune clair 0,94 jaune clair	0,75 jaune 0,82 jaune	0 jaune 0,34 rose clair 0,73 grise	0 0,38
Décocté 5g	0 vis 0,16 vis 0,38 vis 0,48 vis 0,78 vis 0,90 vis	0,36 violette 0,75 violette 0,78 violet clair 0,90 violet clair	0 rose 0,28 rose clair 0,36 rose clair 0,46 rose clair 0,93 jaune clair	0,76 jaune 0,82 jaune	0 jaune 0,73 grise	0 0,38 0,75
Infusé 20g	0,76 vis 0,90 vis	0 violette 0,36 violette 0,76 violette 0,84 violet clair 0,90 violet clair	0 rose 0,28 rose clair 0,35 rose clair 0,45 rose clair 0,92 jaune clair	0,75 jaune 0,81 jaune 0,86 jaune clair	0 jaune 0,36 rose clair 0,74 grise	0 0,38
Infusé 5g	0,38 vis 0,59 vis 0,68 vis 0,76 vis 0,90 vis	0 violette 0,38 violette 0,76 violette 0,85 violet clair 0,90 violet clair	0 rose clair 0,28 rose clair 0,48 rose clair 0,92 jaune clair	0,75 jaune	0 jaune 0,35 rose clair 0,74 grise 0,83 grise	0 0,78 0,85 0,91
Méthanolique	0 vis 0,18 vis 0,39 vis 0,71 vis 0,96 vis 0,96 vis	0,32 violette 0,78 violette 0,86 violette 0,90 violette 0,96 violette	0 rose 0,36 rose clair 0,91 jaune clair 0,98 vert foncé	0,75 jaune 0,96 vert clair	0 jaune 0,73 rose clair 0,81 grise 0,96 grise	0 0,78 0,85 0,91

1-2) Echantillon de Parana:

<u>Extraits</u>	<u>254 nm</u>	<u>366 nm</u>	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃	<u>DPPH</u>
Décocté 20g	0,38 vis 0,73 vis 0,81 vis	0,73 violette 0,81 violette	0 rose 0,14 rose clair 0,36 rose clair 0,74 jaune clair 0,83 jaune clair	_	0 jaune	0 0,13 0,29 0,36 0,75 0,85
Décocté 5g	0 vis 0,38 vis 0,73 vis 0,81 vis	0,73 violette 0,81 violette	0 rose 0,15 rose clair 0,35 rose clair 0,75 jaune 0,83 jaune	_	0 jaune	0 0,21 0,29 0,38 0,75 0,84 0,90
Infusé 20g	0,38 vis 0,73 vis 0,81 vis	0,74 violette 0,81 violette	0 rose 0,15 rose clair 0,35 rose clair 0,75 jaune 0,83 jaune	_	0 jaune	0 0,13 0,21 0,29 0,48 0,75 0,85 0,90
Infusé 5g	0,73 vis 0,81 vis	0 violette 0,73 violette 0,81 violette	0 rose 0,14 rose clair 0,34 rose clair 0,74 jaune clair 0,83 jaune clair	_	0 jaune	0 0,23 0,76 0,85 0,91
Méthanolique	0 vis 0,14 vis 0,71 vis 0,81 vis 0,96 vis	0,71 violette 0,81 violette 0,96 rose	0,14 rose clair 0,73 jaune 0,83 jaune 0,97 vert clair	0,98 vert clair	0 jaune 0,10 jaune 0,79 rose clair 0,96 rose clair	0 0,23 0,34 0,75 0,85 0,93

1-3) Echantillon de Bamako:

<u>Extraits</u>	<u>254 nm</u>	<u>366nm</u>	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃	<u>DPPH</u>
Décocté 20g	0 vis 0,49 vis 0,64 vis 0,75 vis 0,84 vis 0,91 vis	0,36 violette 0,75 violette 0,84 violette 0,91 violette	0 rose 0,23 rose clair 0,40 rose clair 0,48 rose clair 0,93 jaune clair	0,76 jaune 0,83 jaune	0 jaune 0,23 jaune 0,38 rose clair 0,75 grise 0,80 grise	0 0,23 0,30 0,38
Décocté 5g	0 vis 0,38 vis 0,75 vis 0,78 vis 0,90 vis	0,38 violette 0,75 violette 0,78 violette 0,90 violette	0 rose clair 0,23 rose clair 0,50 rose clair	0,76 jaune 0,83 jaune	0,36 jaune 0,75 grise 0,81 grise	0 0,38
Infusé 20g	0 vis 0,65 vis 0,76 vis 0,85 vis 0,93 vis	0,38 violette 0,76 violette 0,86 violette 0,93 violette	0 rose 0,28 rose clair 0,39 rose clair 0,48 rose clair 0,92 jaune clair	0,75 jaune 0,85 jaune	0,38 rose clair 0,75 grise 0,83 grise	0 0,23 0,38
Infusé 5g	0,76 vis 0,86 vis	0,38 violette 0,76 violette 0,86 violette	0 rose clair 0,49 rose clair 0,91 jaune clair	0,75 jaune	0,81 grise	0 0,38
Méthanolique	0 vis 0,13 vis 0,33 vis 0,76 vis 0,80 vis 0,91 vis 0,98 vis	0,76 violette 0,80 violette 0,91 violette 0,98 rose	0 rose clair 0,29 rose clair 0,90 vert clair 0,98 vert fonçé	0,96 vert fonçé	0,74 grise 0,84 grise 0,95 grise	0

1-4) Echantillon de Sanakoroba

<u>Extraits</u>	<u>254nm</u>	<u>366nm</u>	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃	<u>DPPH</u>
Décocté 20g	0 vis 0,50 vis 0,68 vis 0,82 vis	0 violette 0,13 violette 0,82 violette	0 rose clair 0,15 rose clair 0,26 rose clair 0,75 rose clair 0,83 jaune clair	0,71 jaune clair 0,81 jaune clair 0,86 jaune clair	0 jaune 0,11jaune 0,24 rose clair 0,36 rose clair 0,72 rose clair 0,80 grise 0,86 grise	0 0,19 0,76 0,88
Décocté 5g	0 vis 0,5 vis 0,68 vis 0,82 vis	0,83 violette	0 rose clair 0,13 rose clair 0,20 rose clair 0,83 rose clair	0,71 jaune 0,86 jaune	0jaune 0,13 jaune	0 0,19 0 43
Infusé 20g	0 vis 0,15 vis 0,31 vis 0,53 vis 0,78 vis	0,10 violette 0,79 violette	0 rose 0,10 rose clair 0,15 rose clair 0,83 jaune clair	0,71 jaune 0,80 jaune 0,86 jaune	0,13 jaune 0,36 jaune 0,73 rose clair 0,81 grise 0,86 grise	0 0,43 0,86
Infusé 5g	0 vis 0,15 vis 0,23 vis 0,81 vis	0,10 violette 0,82 violette	0 rose clair	0,85 jaune	0,10 jaune 0,16 jaune 0,38 rose clair	0,44
Méthanolique	0 vis 0,15 vis 0,36 vis 0,51 vis 0,68 vis 0,85 vis 0,95 vis	0,80 violette 0,85 violette 0,95 violette	0 rose clair 0,15 rose clair 0,28 rose clair 0,79 rose clair 0,86 rose 0,96 vert clair	0,73 jaune 0,81 jaune 0,88 jaune 0,96 vert fonçé	0,16 jaune 0,24 rose clair 0,74 grise 0,83 grise 0,89 grise	0 0,10 0,21 0,78 0,88

1-5) Echantillon Sido

<u>Extraits</u>	<u>254nm</u>	<u>366nm</u>	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃	<u>DPPH</u>
Décocté 20g	0 vis 0,40 vis 0,73 vis 0,81 vis	0,72 violette 0,81 violette	0 rose 0,14 rose clair 0,21 rose clair 0,35 rose clair 0,41 jaune clair 0,81 jaune clair	_	0 jaune	_
Décocté 5g	0,73 vis 0,81 vis	0,72 violette 0,81 violette	0,14 rose clair 0,35 rose clair	_	0 jaune 0,16 jaune	-
Infusé 20g	0 vis 0,35 vis 0,71 vis 0,80 vis	0,71 violette 0,80 violette 0,73 violette 0,82 violette	0 rose 0,14 rose clair 0,71 jaune clair 0,81 jaune clair	_	0 jaune 0,18 jaune 0,23 jaune clair	-
Infusé 5g	0 vis 0,72 vis 0,81 vis	0,36 violette 0,71 violette 0,79 violette	0 rose 0,15 rose clair 0,35 rose clair 0,74 jaune clair 0,83 jaune clair	_	0 jaune 0,10 jaune	0 0,11 0,28 0,38 0,43
Méthanolique	0 vis 0,18 vis 0,61 vis 0,71 vis 0,78 vis 0,84 vis 0,96 vis	0,84 violette 0,96 rose	0 rose 0,10 rose clair 0,18 rose clair 0,29 rose clair 0,71 jaune 0,79 jaune clair 0,85 jaune clair 0,96 vert fonçé	0,98 vert clair	0 jaune 0,10 jaune clair 0,13 jaune clair 0,18 jaune clair 0,73 jaune clair	0 0,38 0,75 0,76 0,89

1-6) Echantillon de Siby 2008

Extraits	254nm	366nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃	DPPH
Décocté 20g	0 vis 0,92 vis 0,93 vis	0,38 violette 0,73 violette 0,91 violette	0 rose 0,38 rose clair 0,46 rose clair 0,91 jaune clair	_	0,35 rose clair	0 0,23 0,38 0,59 0,93
Décocté 5g	0 vis 0,85 vis 0,90 vis	0,38 violette 0,73 violette 0,85 jaune clair 0,90 violette	0 rose clair 0,36 rose clair 0,48 rose clair 0,93 jaune clair	_	0,35 rose clair 0,78 grise 0,84 grise	0 0,21 0,38 0,59 0,85
Infusé 20g	0 vis 0,43 vis 0,51 vis 0,84 vis 0,91 vis	0,38 violette 0,73 violette 0,84 violette 0,91 violette	0 rose clair 0,38 rose clair 0,48 rose clair 0,91 jaune	0,75 jaune clair	0,78 grise 0,83 grise	0 0,2 0,38 0,85 0,91
Infusé 5g	0,83 vis 0,90 vis	0,71 violette 0,83 violette 0,90 violette	0 rose clair 0,48 rose clair 0,91 jaune clair	0,75 jaune clair	0,76 grise 0,83 grise	0 0,36 0,59
Méthanolique	0 vis 0,20 vis 0,44 vis 0,58 vis 0,78 vis 0,84 vis 0,90 vis 0,98 vis	0 violette 0,26 violette 0,71 violette 0,84 violet clair 0,90 violet clair 0,98 rose	0 rose clair 0,28 rose clair 0,44 rose clair 0,94 jaune	0,80 jaune 0,88 jaune	0 jaune 0,36 rose clair 0,70 grise 0,75 grise 0,81 grise 0,94 grise	0 0,34 0,76 0,84 0,91

1-7) Echantillon de Siby 2007

<u>Extraits</u>	<u>254nm</u>	<u>366nm</u>	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃	<u>DPPH</u>
Décocté 20g	0 vis 0,60 vis 0,76 vis	0,76 violette	0 rose clair 0,78 rose clair	_	_	0,44 0,86
Décocté 5g	0,48 vis 0,60 vis 0,78 vis	0,48 violette 0,78 violette	0 rose clair 0,79 rose clair	_	0,84 grise	0,44 0,86
Infusé 20g	0 vis 0,70 vis	0,48 violette 0,79 violette	0 rose clair 0,79 rose clair	0,73 jaune 0,85 jaune	0,73 grise 0,85 grise	0,44 0,85
Infusé 5g	0 vis 0,40 vis 0,70 vis 0,80 vis	0,80 violette	0 rose clair	_	_	0
Méthanlolique	0 vis 0,69 vis 0,80 vis 0,93 vis	0,53 violette 0,80 violette 0,93 rose	0 rose 0,79 rose clair 0,86 rose clair	0,74 jaune 0,86 jaune	0,75 grise 0,81 grise	0,86

1-8) Echantillon de Bandiagara (Sibi-Sibi) :

<u>Extraits</u>	<u>254nm</u>	<u>366nm</u>	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃	<u>DPPH</u>
Décocté 20g	0 vis 0,70 vis 0,80 vis	0,70 violette 0,80 violette	0,38 rose clair 0,70 jaune clair 0,80 jaune clair	_	_	0 0,24 0,29 0,38 0,73 0,83 0,89
Décocté 5g	0,71 vis 0,80 vis	0,38 violette 0,71 violette 0,80 violette	0,38 rose clair 0,70 rose clair 0,80 jaune clair	_	_	0 0,20 0,29 0,39 0,74 0,83 0,89
Infusé 20g	0,78 vis 0,84 vis	0,38 violette 0,71 violette 0,78 violette 0,84 violette	0 rose clair 0,38 rose clair 0,74 jaune clair 0,78 jaune 0,84 jaune clair	_	_	0 0,20 0,30 0,39 0,75 0,84 0,90
Infusé 5g	0 vis 0,7 vis 0,82 vis	0,70 violette 0,81 violette	0,38 rose clair 0,71 jaune clair 0,81 jaune clair	_	_	0 0,22 0,39 0,74 0,90
Methanolique	0 vis 0,70 vis 0,78 vis 0,85 vis	0,18 violette 0,70 violette 0,78 violette 0,85 violette 0,94 rose	0,19 rose clair 0,35 rose clair 0,70 jaune clair	0,90 jaune 0,96 jaune	0,10 jaune 0,76 rose clair 0,84 rose clair	0 0,29 0,36 0,75 0,84 0,91

1-9) Echantillon de Bodio:

<u>Extraits</u>	<u>254nm</u>	<u>366nm</u>	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃	<u>DPPH</u>
Décocté 20g	0,29 vis 0,50 vis 0,68 vis 0,81 vis	0,29 violette 0,50 violette 0,68 violette 0,81 violette	0 rose clair 0,13 rose clair 0,81 rose clair	0,80 jaune	_	0,43 0,88
Décocté 5g	0 vis 0,29 vis 0,59 vis 0,81 vis	0,30 violette 0,59 violette 0,81 violette	0 rose clair 0,11 rose clair 0,81 rose clair	0,80 jaune	_	_
Infusé 20g	0 vis 0,29 vis 0,49 vis 0,70 vis 0,81 vis	0,11 violette 0,71 violette 0,81 violette	0 rose clair 0,83 rose clair	_	_	_
Infusé 5g	0 vis 0,38 vis — 0,66 vis 0,81 vis	0,13 violette 0,54 violette 0,81 violette	0 rose clair 0,81 rose clair	0,80 jaune	_	_
Méthanolique	0 vis 0,30 vis 0,51 vis 0,63 vis 0,75 vis 0,85 vis 0,95 vis	0,75 violette 0,85 violette 0,95 violette	0 rose clair 0,85 rose 0,94 vert clair	0,71 jaune 0,80 jaune 0,86 jaune 0,96 vert clair	0,76 grise 0,84 grise 0,94 grise	_

2) Résultats des extraits de dichlorométhane et d'éther de pétrole :

Extraits	254nm	366nm	Godin	AlCl ₃	DPPH
Blendio (DCM)	0,44 vis 0,65 vis 0,74 vis 0,80 vis 0,85 vis 0,92 vis 0,97 vis	0 violette 0,10 violette 0,24 violette	0 marron 0,10 marron clair 0,24 marron clair 0,44 marron clair 0,65 violet 0,74 jaune clair 0,80 bleu clair 0,85 vert 0,92 marron 0,97 marron clair	0 jaune 0,42 jaune clair 0,69 jaune clair 0,77 bleu 0,82 bleu clair	0
Blendio (éther de pétrole)	_	0,85 violette 0,90 violette	0 marron 0,74 marron clair 0,85 marron clair 0,90 violet clair 0,93 jaune clair 0,98 jaune clair	0 jaune 0,77 bleu	0
Parana (DCM)	_	0,85 violette 0,90 violet clair	0 marron 0,31 marron clair 0,75 violet clair 0,85 jaune clair 0,94 jaune clair 0,98 jaune	0 jaune	0
Parana (éther de pétrole)	0 vis 0,46 vis 0,66 vis 0,75 vis 0,86 vis 0,90 vis	0,46 violette 0,75 violette 0,86 violette 0,90 violet clair	0,10 marron 0,66 marron clair 0,75 violet clair 0,86 violette 0,90 verte 0,94 marron clair 0,98 marron	0 jaune 0,65 jaune clair 0,75 bleu clair 0,79 bleu clair 0,84 bleu clair	0

Bamako (DCM)	0 vis 0,45 vis 0,54 vis 0,69 vis 0,75 vis 0,81 vis 0,90 vis 0,97 vis	0,35 violette 0,45 violette 0,69 violette 0,75 violette 0,81 violette 0,86 violette 0,90 violet clair 0,97 rose	0 marron 0,10 marron clair 0,45 marron clair 0,69 marron clair 0,75 violet clair 0,81 jaune clair 0,86 vert 0,90 vert 0,97 jaune	0 jaune 0,66 jaune clair 0,71 bleu 0,75 bleu clair 0,82 bleu clair 0,95 bleu clair	0
Bamako (éther de pétrole)	_	0,85 violette 0,94 violet clair	0 marron 0,31 marron clair 0,75 violette 0,85 jaune clair 0,94 jaune clair 0,98 jaune	0 jaune	0
Sanankoroba (DCM)	0,73 vis 0,79 vis 0,84 vis 0,89 vis 0,98 vis	0 violette 0,49 violette 0,73 violette	0 marron 0,10 marron clair 0,49 marron clair 0,73 violet clair 0,79 jaune clair 0,84 jaune clair 0,89 vert 0,94 marron 0,98 marron clair	0 jaune 0,69 jaune clair 0,74 jaune clair 0,82 bleu clair 0,92 bleu clair	0
Sanakoroba (éther de pétrole)	0,81 vis 0,87 vis	0,98 rose	0 marron 0,74 violet clair 0,81 jaune clair 0,87 vert 0,91 marron 0,98 marron clair	0 jaune 0,79 bleu clair	0
Sido (DCM	0 jaune 0,49 vis 0 75 vis 0,76 vis 0,90 vis	0,49 violette 0,64 violette 0,76 violette 0,86violette 0,98 rose	0 marron 0,18 marron clair 0,49 marron clair 0,64 marron clair 0,75 violet 0,76 jaune clair 0,86 marron 0,94 vert 0,98 marron	0 jaune 0,52 jaune clair 0,75 jaune clair 0,81 bleu 0,94 bleu clair	0

pétrole)	0,90 vis 0,98 vis	0,80 violette 0,85 violette	0,10 marron clair	0,84 bleu	
	0,98 vis	0.85 violette	0.65	1	
		0,05 violette	0,65marron clair	0,94 bleu clair	
		0,90 violet clair	0,74 violette		
		0,98 rose	0,80 jaune clair		
			0,85 jaune clair		
			0,90 vert		
			0,98 marron		
Siby 08 (DCM)	0,75 vis	0 violette	0 marron	0 jaune clair	0
Siby 00 (BCI(I)	0,80 vis	0,65 violette	0,10 marron clair	0,67 jaune	
	0,87 vis	0,74 violette	0,75 violette	clair	
	0,97 vis	0,74 violette	0,80 jaune clair	0,72 bleu clair	
	0921 113	0,87 violette	0,87 vert clair	0,72 bleu clair	
		o,or violette	0,92 rose clair	o,oi bicu ciaii	
			0,98 jaune clair		
			o,50 Junie Clair		
Siby 08 (éther	0,74 vis	0 violette	0 marron	0 jaune clair	0
de pétrole)	0,78 vis	0,65 violette	0,10 marron clair	0,69 jaune	
	0,87 vis	0,74 violette	0,65 marron clair	clair	
	0,98 vis	0,78 violette	0,74 violet clair	0,80 bleu clair	
		0,87 violette	0,78 vert clair		
			0,87 vert clair		
			0,91 marron clair		
			0,98 marron clair		
Siby 07	0,72 vis	0 violette	0 marron	0 jaune	0
(DCM)	0,81 vis	0,67 violette	0,10 marron clair	0,79 bleu clair	
(= 02:2)	-,0- 1-0	0,72 violette	0,72 violet clair	3,	
		0,81 violette	0,81 vert clair		
		0,87 violette	0,87 rose clair		
		3,37 ,101000	0,98 jaune clair		
Siby 07(éther	_	0,84 violette	0 marron clair	0 jaune	0
de pétrole)			0,91 rose clair		
			0,98 jaune clair		

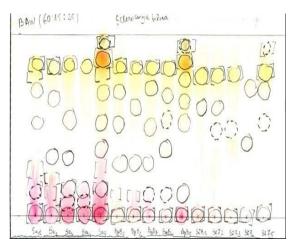
Sibi-Sibi (DCM)	0,35 vis 0,44 vis 0,55 vis 0,65 vis 0,75 vis 0,80 vis	0,55 violette 0,65 violette 0,75 violette 0,80 violette	0 marron 0,10 marron clair 0,65 violet clair 0,75 violette 0,78 jaune clair 0,85 jaune clair 0,90 vert 0,92 marron 0,98 marron clair	0 jaune 0,44 jaune clair 0,69 jaune 0,84 bleu clair	0
Sibi-Sibi (éther de pétrole)	0,75 vis 0,85 vis 0,89 vis	0,54 violette 0,71 violette 0,75 violette 0,85 violette 0,89 violette	0 marron 0,71 violet clair 0,75 violette 0,80 jaune clair 0,85 vert 0,89 vert clair 0,94 marron 0,98 marron clair	0 jaune clair 0,77 bleu clair 0,82 bleu clair	0
Bodio (DCM)	0 vis 0,36 vis 0,44 vis 0,65 vis 0,74 vis 0,79 vis 0,85 vis 0,87 vis	0,10 violette 0,22 violette 0,65 violette 0,74 violette 0,85 violette	0 marron 0,10 marron clair 0,65 violet clair 0,74 violette 0,79 jaune clair 0,84 vert clair 0,87 vert clair 0,91 marron 0,98 marron clair	0 jaune 0,41 jaune clair 0,67 jaune clair 0,75 bleu 0,82 bleu clair	0
Bodio (éther de pétrole)	0,85 vis	0,85 violette 0,87 violette	0 marron 0,10 marron clair 0,74 violette 0,85 vert clair 0,87 jaune clair 0,98 marron clair	0 jaune 0,79 bleu clair	0

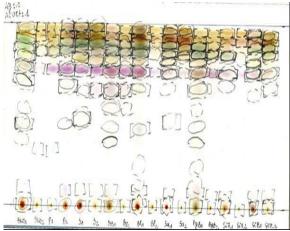
Les tâches qui donnent les différentes colorations sont obtenues après pulvérisation des différentes plaques avec les différents révélateurs. Les différents Rf (facteur de rétention) sont calculés à partir de la formule suivante :

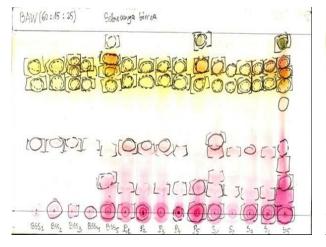
Rf = Distance parcourue par le substance / Distance parcourue par le front du solvant.

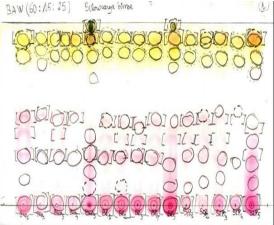
3) Plaques de CCM

3-1 Caractérisation des différents constituants (Réactif de Godin) :

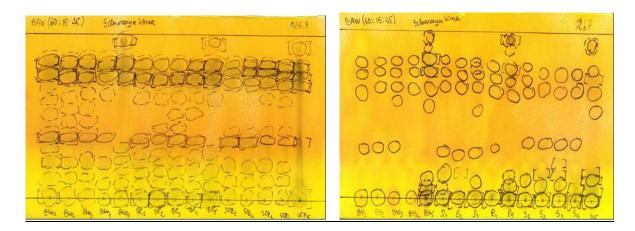


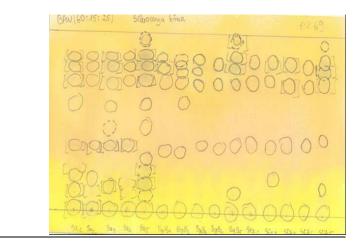




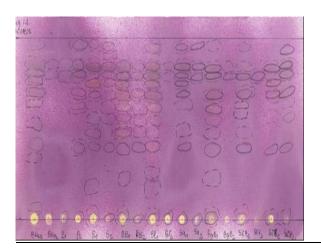


3-2 Caractérisation des tanins (solution de FeCl3) :

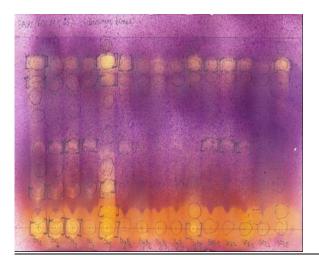


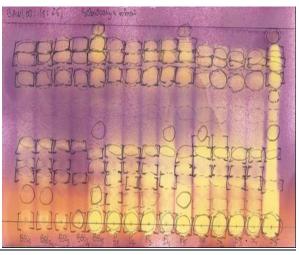


3-3 Caractérisation de l'activité antioxydante (DPPH) :

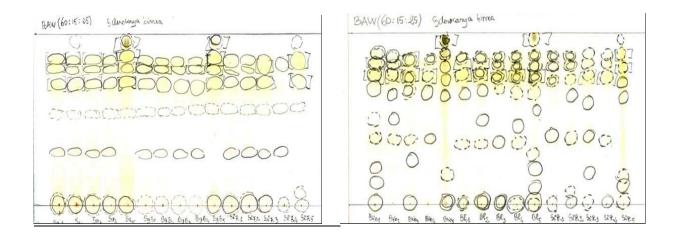


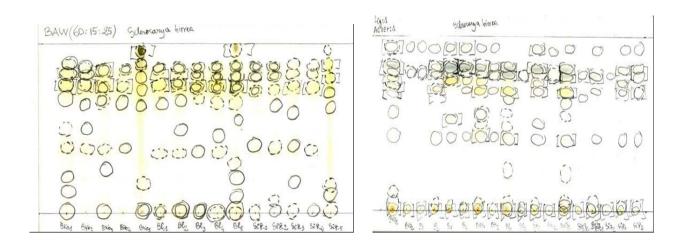






3-4 Caractérisation des flavonoïdes (AlCl3) :





Les différentes chromatographies sont toutes effectuées sur les plaques de Silicagel et dans les mêmes conditions et les plaques ont été pulvérisées avec les différents révélateurs

<u>NB:</u>

Pour les solution aqueuses :

Bl 1 : échentillon de Blendio, décocté à 20%; Bl 2 : échantillon de Blendio, décocté à 10%;

```
B13 : échantillon de Blendio, infusé à 20%;
B14 : échantillon de Blendio, infusé à 10%;
```

Bl 5 : échantillon de Blendio, extrait méthanolique ;

```
P1 : échantillon de Parana, décocté à 20%
P2 : échantillon de Parana, décocté à 10%
P3 : échantillon de Parana, infusé à 20%
```

P4: échantillon de Parana, infusé à 10%

P5 : échantillon de Parana, extrait méthanolique.

```
Bko1 : échantillon de Bamako, décocté à 20%
Bko2 : échantillon de Bamako, décocté à 10%
Bko3 : échantillon de Bamako, infusé à 20%
Bko4 : échantillon de Bamako, infusé à 10%
```

Bko5 : échantillon de Bamako, extrait méthanolique

```
Sa1 : échantillon de Sanakoroba, décocté à 20%
Sa2 : échantillon de Sanakoroba, décocté à 10%
Sa3 : échantillon de Sanakoroba, infusé à 20%
Sa4 : échantillon de Sanakoroba, infusé à 10%
```

Sa5 : échantillon de Sanakoroba, extrait méthanolique.

```
Si7.1 échantillon de Siby (2007), décocté à 20% Si7.2 : échantillon de Siby (2007), décocté à 10% Si7.3 : échantillon de Siby (2007), infusé à 20% Si7.4 : échantillon de Siby (2007), infusé à 10% Si7.5 : échantillon de Siby (2007), extrait méthanolique.
```

Si8.1 : échantillon de Siby (2008), décocté à 20% Si8.2 : échantillon de Siby (2008), décocté à 10% Si8.3 : échantillon de Siby (2008), infusé à 20% Si8.4 : échantillon de Siby (2008), infusé à 10% Si8.5 : échantillon de Siby (2008), extrait méthanolique.

BgB1 : échantillon de Bandiagara (Bodio), décocté à 20% BgB2 : échantillon de Bandiagara (Bodio), décocté à 10% BgB3 : échantillon de Bandiagara (Bodio), infusé à 20% BgB4 : échantillon de Bandiagara (Bodio), infusé à 10%

BgB5 : échantillon de Bandiagara (Bodio), extrait méthanolique.

Bss1 : échantillon de Bandiagara (Sibi-Sibi), décocté à 20% Bss2 : échantillon de Bandiagara (Sibi-Sibi), décocté à 10% Bss3 : échantillon de Bandiagara (Sibi-Sibi), infusé à 20% Bss4 : échantillon de Bandiagara (Sibi-Sibi), infusé à 10%

Bss5 : échantillon de Bandiagara (Sibi-Sibi), extrait méthanolique.

S1: échantillon de Sido, décocté à 20%

S2 : échantillon de Sido, décocté à 10%

S3: échantillon de Sido, infusé à 20%

S4: échantillon de Sido, infusé à 10%

S5 : échantillon de Sido, extrait méthanolique.

Pour <u>les extraits Dichlorométhane (DCM) et éther de pétrole (EP) :</u>

Bl1 : échantillon de Blendio, extrait DCM Bl2 : échantillon de Blendio, extrait EP P1 : échantillon de Parana, extrait DCM P2 : échantillon de Parana, extrait EP

Bko1 : échantillon de Bamako, extrait DCM Bko2 : échantillon de Bamako, extrait EP.

Sa1 : échantillon Sanakoroba, extrait DCM Sa2 : échantillon de Sanakoroba, extrait EP.

Si7.1 échantillon de Siby (2007), extrait DCM Si7.2 : échantillon de Siby (2007), extrait EP.

Si8.1 : échantillon de Siby (2008), extrait DCM Si8.2 : échantillon de Siby (2008), extrait EP.

BgB1 : échantillon Bandiagara (Bodio), extrait DCM BgB2 : échantillon Bandiagara (Bodio), extrait EP

Bss1 : échantillon de Bandiagara (Sibi-Sibi), extrait DCM Bss2 : échantillon de Bandiagara (Sibi-Sibi), extrait EP.

S1 : échantillon de Sido, extrait DCM S2 : échantillon de Sido, extrait EP.

RESUME DES DIFFERENTS RESULTATS

<u>Tableau XV</u>: TALEAU RECAPITULATIF DU CONTRÔLE DE QUALITE EFFECTUE SUR LA POUDRE DE FEUILLES DE *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hoscht.

Eléments de contrôle de qualité	Normes dégagées		
Teneur en eau	≤ 10%		
Teneur en cendres totales	≤ 7,20%		
Teneur en cendres chlorhydriques	≤ 0,46%		
Teneur en cendres sulfuriques	≤ 10,80%		
Substances extractibles par éthanol à 70%	≥ 21%		
Dosage des tanins	≥ 5,54%		
Dosage de calcium	≥ 182mg/100g de poudre		
Dosage de magnésium	≥ 80mg/100g de poudre		
Dosage de potassium	≥ 1573mg/100g de poudre		
Dosage du fer	≥374mg/100g de poudre		
Dosage en sodium	Traces		
pH des décoctés et infusés	5		
Arabinose	≥ 6,5%		
Rhamnose	≥ 42%		
Galactose	≥ 49,80%		
Acide glucuronique	traces		
Glucose	≥ 61,70%		
Escherichia coli	0 bactéries /g de poudre		
Salmonelles	0 bactéries /g de poudre		

Ce tableau est un résumé des différents résultats du contrôle de qualité obtenus sur les poudres des différents échantillons.

98

CHAPITRE V: COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Commentaires et discussion

Le Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) du Mali travaille dans la recherche phytochimique et pharmacologique sur les plantes médicinales maliennes.

Notre étude qui a été réalisée dans ce cadre, a porté sur le contrôle de qualité botanique de la poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hoscht (Anacardiaceae). Cette étude a porté sur le contrôle de qualité botanique, phytochimique et biologique de 9 échantillons de feuilles récoltées dans différentes zones du Mali à savoir la zone de Bamako, Siby, Parana, Sido, Sanakoroba, Bandiagara, et de Blendio.

La littérature scientifique nous a permis de passer en revue un grand nombre de données bibliographiques sur la plante notamment la systématique de la plante, les différentes utilisations domestiques et en médecine traditionnelle, les données pharmacologiques et ses différents composants chimiques.

L'étude phytochimique nous a permis de révéler la présence de composés polyphénoliques à savoir les tanins et les flavonoïdes.

Les tanins sont fortement présents dans tous nos échantillons, avec une prédominance des tanins catéchiques dans tous nos échantillons, par contre les tanins galliques y sont présents mais en faible proportion. Les tanins sont des composés polyphénoliques reconnus pour leur pouvoir de fixation aux protéines avec tendances à l'imperméabilité des couches sous-jacentes (Sambo, 2006).

D'après Iserin en 2001, les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitants, permettant de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. De ce fait, nous pouvons dire que les tanins contenus dans nos échantillons pourraient prévenir et guérir les infections qui sont susceptibles de survenir chez le diabétique, ce qui pourrait justifier l'utilisation traditionnelle du *Sclerocarya birrea* dans le traitement du diabète de type II.

Les tanins sont également reconnus pour leur propriété antioxydante, et, des études In vivo et In vitro nous ont montré que les radicaux réactifs contribuent à la destruction des cellules pancréatiques

On note aussi la présence de flavonoïdes dans tous nos échantillons. En effet les flavonoïdes possédant des activités antioxydantes, plus précisément la propriété de diminuer la perméabilité capillaires et de renforcer leur résistance (Bruneton, 1993). Cette propriété pourrait aider à prévenir les complications du diabète telles que l'artériosclérose. (Perez, 1998).

On a noté aussi la présence dans certains de nos échantillons, la présence des saponosides en particulier dans les échantillons de Siby et de Sanakoroba.

Les saponosides pourraient aider à prévenir les complications dégénératives (cécité, neuropathie des jambes) chez le diabétique. (Adiza, 2007).D'autres groupes chimiques comme les hétérosides cardiotoniques, les hétérosides cyanogénétiques, les anthracénosides combinés libres, les alcaloïdes, les composés réducteurs, les anthocyanes, et les stérols et triterpènes n'ont pas été retrouvés dans nos échantillons.

Nos études nous ont également permis de mettre en évidence la présence de Leucoanthocyanes (en forte proportion), d'oses et holosides, et de caroténoïdes dans tous nos échantillons.

Par contre, nous avons noté la présence de coumarines dans quelques uns de nos échantillons, précisément dans les échantillons de Bamako, Sanakoroba et Siby et aussi, de mucilages dans tous les échantillons, sauf dans les échantillons de Sido, de Sibi-Sibi et de Sanankoroba. Ce constituant pourrait jouer un rôle dans la prise en charge du diabète. Des études ont montré que les constituants chimiques isolés de plantes utilisées dans le traitement du diabète sont principalement des polysaccharides, comme les glycanes, les mucilages et les pectines (Perez et al, 1998).

En matière de contrôle de qualité, les teneurs en eau de certains de nos échantillons ont des taux inférieurs à 10%, respectant ainsi les normes établies par la pharmacopée internationale cela empêcheraient les réactions d'oxydation, de fermentation et la formation de moisissures dans les drogues (OUA/CSTR, 1988). Pour une bonne conservation des médicaments fabriqués avec les feuilles de *Sclerocarya birrea*, il faudra utiliser celles dont la teneur est inférieure ou égale à 10%. Le pourcentage en corps étrangers a donné des taux compris entre 0,17% et 2% avec le taux le plus élevé dans l'échantillon de Parana avec 2%. Le pourcentage en corps étrangers de la poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea* devrait être fixé à un taux inférieur ou égal à 2%.

Le dosage des cendres totales nous a donné des taux compris entre 6,52 et 7,83% avec un plus grand taux dans l'échantillon de Sanankoroba avec un taux de 7,83%. Le taux moyen est de 7,20%, nous pouvons dire que le dosage des cendres totales effectué sur la poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea* devrait être inférieur ou égale à 7,20%.

Les cendres chlorhydriques ont donné des taux compris entre 0,10 et 0,97% avec le taux le plus élevé dans l'échantillon de Siby récolté en 2007. La teneur maximale des cendres chlorhydriques doit être inférieure ou égale à 0,97% pour la poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea*.

Les cendres sulfuriques quant à elles sont comprises entre 10,5 et 11,25%, avec les taux le plus élevé dans l'échantillon de Siby récolté en 2007 avec un taux moyen de 10,80%, le taux de cendres

sulfuriques devrait alors être inférieur ou égal à 10,80% pour la poudres de feuilles de *Sclerocarya* birrea.

Les cendres totales renseignent sur la charge en éléments minéraux de la matière végétale.

Les cendres chlorhydriques nous renseignent sur la contamination de la drogue par les éléments silicieux. Les cendres sulfuriques quant à elles résultent de la conversion des sels organiques en sulfates (Sambo, 2006).

Les substances extractibles par l'éthanol à 70% nous ont donné des rendements compris entre 21 et 32% avec le taux le plus élevé obtenu avec l'échantillon de Sido qui a donné 32%, nous pouvons donc dire, qu'avec une teneur minimale de 21%, une solution hydroalcoolique permet d'extraire les composés polytphénoliques.

Les extractions au Soxhlet avec des solvants à polarité croissante, comme l'éther de pétrole, le dichlorométhane, et l'extrait méthanolique, effectuées sur nos différents échantillons nous ont donné des rendements compris entre 3 et 6,6% avec un rendement maximale de 6,6% avec l'échantillon de Parana pour l'éther de pétrole; et un rendement compris entre 0,75 et 2% pour le dichlorométhane avec le plus grand rendement observé dans l'échantillon de Sanakoroba avec comme rendement 2%. Le rendement des extraits méthanoliques présentent un maximum de 7,8% pour l'échantillon de Blendio contre 4,35% comme minimum pour l'échantillon de Sibi-Sibi, et un rendement maximum de 6,8% pour les extraits d'éther de pétrole. Le rendement maximal étant de 2% avec les extraits de dichlorométhane, nous constatons alors que les solvants organiques ne permettent pas d'extraire un grand nombre de substances

Les extractions avec l'eau nous ont donné des résultats importants avec les décoctés et les infusions à différents pourcentages. Concernant les extractions des décoctés qui ont été effectués sur 5g; 10g et 20g de poudres de feuilles, nous avons obtenu des rendements compris entre 13,80 et 21,20% pour le décocté a 5%, avec un rendement moyen de 15%. Le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'échantillon de Sanakoroba (21,20%). Le décocté à 10% nous a donné des rendement compris entre 11,5 et 19,70% avec un rendement moyen de 14,62%, le plus grand rendement observé avec l'échantillon de Sido (19,70%). Le décocté à 20% nous a donné des rendements compris entre 16,50 et 24%, avec un rendement moyen de 17,13%, le rendement maximal obtenu avec l'échantillon de Sido (24%). Nous remarquons à partir de ces résultats que les rendements ne dépendent pas de la concentration de la solution, le taux moyen du décocté à 5% étant un peu plus élevé que celle du décocté à 10%.

Les infusions à 5% ont donné des rendements compris entre 11,20 et 18,80% avec un rendement moyen de 14,5%, le rendement le plus élevé avec l'échantillon de Siby récolté en 2007 (18,80%). Les infusés à 10% ont donné des rendements compris entre 14,30 et 22,60% avec un rendement moyen de 18%, le rendement maximal obtenu avec l'échantillon de Sanakoroba (22,60%). Les infusés à 20% ont donné à leur tour, des rendements compris entre 13,60 et 21,80% avec un rendement moyen de 17,5%, le rendement le plus élevé obtenu avec l'échantillon de Sanakoroba (21,80%). Le maximum de taux est obtenu par l'infusé à 10% avec 18% comme rendement moyen.

Partant de ces résultats on constate qu'un maximum de substances est extractible par l'eau. Ceci pourrait expliquer l'utilisation du décocté par les thérapeutes pour le traitement du diabète sucré. Cependant, nous constatons que le rendement est important aussi bien avec les décoctés que les infusés, cela pourrait nous amené à dire qu'on pourrait consommer le médicament en infusé.

Par ailleurs, le pH des différentes solutions aqueuses à savoir le décocté et l'infusé à différentes concentrations sont toutes égales à 5, nous constatons que ces solutions sont légèrement acides, ceci expliquerait la difficulté à consommer le décocté à base de Diabétisane 1 par les patients (Samba, 2008).

Nous avons au cours de notre travail, des tests bactériologiques ont été menés sur nos échantillons plus précisément à l'INRSP (Institut Nationale de Recherche en Santé Publique), dans le but de rechercher des germes pathogènes comme *Eschericha coli* et les Salmonelles.

Les résultats obtenus n'ont donné aucune présence de ces deux bactéries pathogènes dans nos différents échantillons. La poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea* ne devrait pas contenir des germes comme *Eschericha coli* et les Salmonelles.

Le dosage des substances polyphénoliques notamment les tanins par la méthode de la peau chromée dans nos différents échantillons, nous a permis d'obtenir des taux variables compris entre 0,39 et 10,49%, avec un taux moyen de 5,54%. Le taux le plus élevé a été obtenu avec l'échantillon de Sido (10,49%) contre 0,39% dans l'échantillon de Siby 2007.

Ces variations pourraient s'expliquer par les différences d'âge des feuilles.

Nos résultats confirment les études effectuées par Caroline 2001, cependant les taux que nous avons obtenus sont inférieurs à celui de Caroline qui a obtenu 18,38% de tanins dans les feuilles de *Sclerocarya birrea* récoltées à Bamako (Sotuba) contre 4,11% de tanins dans l'échantillon de Bamako.

La microscopie effectuée sur les différentes poudre a permis de mettre en évidence un certain nombre d'éléments caractéristiques à savoir : des fragments de bois, des fragments de fibres sclerenchymateuses, des cristaux d'oxalate de calcium, les poils tecteurs, des fragments de vaisseaux, des stomates et des grains d'amidons. Cependant la fréquence de ces éléments varie d'un échantillon à un autre.

La détermination des teneurs en monosaccharides des polysaccharides a permis d'identifier les sucres comme l'arabinose, le rhamnose, le galactose, et l'acide glucuronique et le Glucose. Les pourcentages sont compris entre 3,2 et 6,5% pour l'arabinose, et 4,2 et 7% pour le rhamnose; les taux les plus élevés on été obtenus dans l'échantillon de Blendio avec respectivement 6,5 et 7%. L'acide glucuronique n'a été retrouvé que dans un seul échantillon (Bandiagara route de Sibi-Sibi) avec un taux de 10,7%. Ce résultat nous permet de dire que l'acide glucuronique est présent dans la poudre de Sclerocarya birrea sous forme de traces. Le Glucose a donné des taux compris entre 43 et 61,70% avec le plus élevé obtenu avec l'échantillon de Sido (61,70%).

Pour le galactose on a obtenu 33,9 et 49,80% présent dans tous nos échantillons, avec le taux le plus élevé 49,80% obtenu dans l'échantillon de Siby récolté en 2007.

Les sucres peuvent stimuler la sécrétion d'insuline (Sambo, 2006).

Par ailleurs, nos études nous ont permis de mettre en évidence la présence des ions comme le potassium, le fer, le magnésium, le calcium. Par compte le sodium n'a été retrouvé dans aucun de nos échantillons. Les autres ions y sont présents ; le fer a donné des quantités comprises entre 33 et 374mg par 100g de poudre avec la plus grande quantité obtenue dans l'échantillon de Bamako avec 374mg.

Le calcium a été seulement retrouvé dans les échantillons de Blendio, Bamako, Bodio et Sido à des quantités comprises entre 12 et 182mg; avec la plus grande quantité obtenue dans l'échantillon de Sido (182 mg). Concernant le magnésium, on a obtenu 80mg sur l'ensemble des échantillons. Le sodium, n'a été retrouvé que dans l'échantillon de Sanakoroba (84,33mg).

L'apport en potassium et en magnésium pourrait augmenter l'effet hypoglycémiant de l'insuline chez le diabétique (www.pharmacorama.com).

La recherche de certains ions comme le sodium et le potassium sont très important dans le suivi biologique d'un diabétique. L'insuline augmente la captation de potassium à travers les cellules et va entraîner une hypokaliémie. Une déficience en potassium diminue l'effet hypoglycémiant de l'insuline.

La poudre de feuille de Sclerocarya birrea devrait contenir au moins 374mg de fer, 182mg de calcium, 80mg de Magnésium et 1573mg de potassium, le sodium ne devrait pas être retrouvé en grande quantité dans la poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea*.

Les CCM réalisés sur tous nos échantillons à des concentrations variables à savoir le décocté 5%, décocté 20%, infusé 5%, infusé 20% et les extraits méthanoliques dans un système de solvants BAW (60 : 15 : 25); et les extraits de dichlorométhane et d'éther de pétrole dans le système Ligroïne- Acétate d'éthyle (1 : 1).

Nous pouvons clairement remarquer qu'un grand nombre de substances ont migré aussi bien pour le décoté que pour l'infusé aux différents concentrations utilisées. Cet aspect est mis en évidence par la présence de nombreuses tâches sur nos plaques de Silicagel révélé avec le réactif de Godin. Nous ne notons aucune différence significative pour les décoctés et infusés à différentes concentrations (5% et 20%), ce qui pourrait signifier que les mêmes substances sont obtenues aussi bien en infusion qu'en décoction. Partant de ce résultat, on pourrait proposer une nouvelle forme d'utilisation notamment l'infusé pour l'utilisation du Diabétisane par les patients.

Nous constatons également une activité antioxydante importante dans tous nos échantillons pour les extraits aqueux et méthanoliques, qui est caractérisée par de nombreuses tâches jaunes sur fond violet sur nos plaques (révélé avec le DPPH). On note aussi une activité antioxydante dans les extraits dichlorométhane et éther de pétrole. Cependant cette activité est moins prononcée avec ces extraits, car nos substances n'ont pratiquement pas migré (Rf = 0).

Nous pouvons alors dire que pour l'étude chromatographique (CCM) effectuée sur la poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea*, le meilleur système de solvant qu'il faudrait utilisé pour une bonne migration et séparation de nos différents constituants est le BAW (60 : 15 : 25) pour les extraits aqueux et méthanoliques, et pour les extraits organiques le système Ligroïne- acétate d'éthyle (1:1).

Au cours de notre étude, nous avons effectué des tests d'hyperglycémie provoquée par voie orale sur des rats. Des décoctés à base de *Sclerocarya birrea* ont été administrés à nos rats à différentes doses.

Une réduction de la glycémie a été observée avec ces décoctés surtout avec le décocté à 10% et 20%. Cependant le décocté à 5% a donné une réduction de la glycémie à T_{120} .

Selon Fomba en 2001, des tests sur l'hyperglycémie effectuée sur les lapins avec des décoctés aqueux à base de feuilles de *Sclerocarya birrea* a obtenu une activité maximale de 62,04% à la dose de 25mg/kg à T₁₂₀. A cette même dose, nous obtenons, une réduction de 8,11% au même

temps. Le maximum d'activité a été cependant obtenu avec une dose de 100 mg/kg avec 21,62% de réduction à T_{120} . Nous constatons alors que la sensibilité à l'activité antihyperglycémiante des feuilles de *Sclerocarya birrea* varie d'un animal à un autre.

Pour Haidara en 1999, l'extrait butanolique des feuilles de *Bridelia ferruginea*, à la dose de 10mg/kg abaissait la glycémie 4,12% au temps T₃₀ et l'extrait éthanolique des feuilles de *Sclerocarya birrea* diminue la glycémie de 10,59% au même moment.

Selon Coulibaly en 1988, des tests sur l'hyperglycémie effectués sur des lapins ont montré que le décocté à 6% des graines de *Cassia occidentalis* avait une activité de 51,84% au temps T₃₀ à la dose de 3mg/kg.

Yasambou en 2002, a obtenu lors de ses tests sur l'hyperglycémie temporaire une diminution de la glycémie au bout de 30mn du macéré des feuilles de *Zizyphus mauritiana* un taux de réduction de 56,02% à la dose de 150mg/kg.

Gidao et col. ont obtenu en 2004 un pourcentage de diminution de l'ordre de 45% en comparaison a leur lot témoin de l'hyperglycémie permanente des rats au bout de 4h après traitement avec l'extrait aqueux des feuilles de *Nauclea latifolia*, à la dose de 200mg/kg.

Togora en 2005 a eu une diminution de la glycémie après traitement de l'hyperglycémie permanente avec l'infusé de la recette avec le taux de 33,33% à la 3° heure à la dose de 15mg/kg et sa référence (Metformine 500mg à 21mg/kg) aussi à la même heure, il a eu un taux de diminution de 41,89%.

Tous ces travaux ont montré une réduction de la glycémie à différentes doses avec des taux variables d'une plante à une autre. En comparant nos résultats à toutes ces études effectuées antérieurement, nous pouvons confirmer l'effet antihyperglycémiant de nos extraits aqueux à base des feuilles de *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hoscht.

CHAPITRE VI: CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Conclusion

Notre étude réalisée au Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) de Bamako nous a permis de mettre en évidence la présence des différents groupes chimiques dans nos échantillons.

Les études phytochimiques réalisées sur les échantillons, nous ont permis de mettre en évidence des groupes chimiques doués d'activité antidiabétique notamment les tanins, et des flavonoïdes, les coumarines, et bien d'autres constituants chimiques.

Les dosages des éléments minéraux et des polysaccharides nous ont donné des teneurs considérables dans nos extraits. Ces éléments étant importants dans la régulation de la glycémie chez le diabétique.

La microscopie nous a révélé la présence d'éléments caractéristiques tels que les cristaux d'oxalate de calcium, des fragments d'épiderme, des fragments de vaisseaux, des fragments de bois, des grains d'amidons, fragments de fibres sclerenchymateuses, et des poils tecteurs.

L'activité antioxydante nous a donné un résultat caractérisé par des spots jaunes sur fond violet, représente un intérêt considérable dans la prévention de la destruction des cellules pancréatiques.

Le dosage des ions a permis la mise en évidence de certains ions tels que le potassium, le fer, le calcium et le magnésium.

Les différentes extractions nous ont donné des rendements très importants avec l'eau sous forme de décocté et d'infusé par compte, les pourcentages obtenus avec les solvants à polarité croissante sont faibles. Les substances extractibles par l'alcool à 70% nous ont aussi donnés des rendements importants.

La microscopie a permis de mettre en évidence les éléments caractéristiques de la poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea*.

Le dosage des tanins a donné des taux compris entre 0,39 et 10,49%.

Par ailleurs des tests sur l'hyperglycémie temporaire ont été effectués sur les rats. Le but de ces tests était de vérifier si nos échantillons à base de poudres de feuilles de *Sclerocarya birrea* à différentes concentrations (décocté à 5%,10% et 20%), étaient favorables à une diminution de la glycémie. Les résultats obtenus nous ont donné une réduction maximale de la glycémie de 21,62% à T_{120} avec le décocté à 20%.

Nous espérons par ce travail, que les données que nous avons obtenues du contrôle de qualité phytochimique et botanique pourront aboutir à l'autorisation de mise sur le marché d'un MTA.

Il serait donc intéressant de continuer l'étude biologique du Diabétisane N°1 à des concentrations différentes et sur une longue durée notamment une étude de toxicité chronique, et les effets secondaires du Diabétisane N°1, afin de trouver la posologie la mieux adaptée avec moins d'effets secondaires.

Suite à ce travail nous recommandons au :

> DMT:

- De se référer aux différentes normes du contrôle de qualité botanique et phytochimiques dégagés après notre étude, sur les feuilles de *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hoscht.
- D'effectuer une étude de qualité sur toutes les matières premières utilisées pour la fabrication des MTA, car pour une meilleure formulation des médicaments, il est indispensable de procéder à un contrôle de qualité botanique, chimique et biologique sur les drogues utilisées.
- De continuer les études sur le Diabétisane qui s'avère être une plante réputée pour ses vertus antidiabétiques, et sur d'autres plantes antidiabétiques africaines vu le nombre de diabétiques qui ne cessent de croître de nos jours

Aux diabétiques :

- De maintenir une surveillance biologique, qui est un élément essentiel dans le suivi du diabétique
- D'observée une ligne de vie saine a savoir : avoir une alimentation équilibrée;
- De pratiquer l'effort physique
 - Aux autorités en particulier à l'INRSP: (Institut National de Recherche en Santé Publique):
- De mettre des moyens matériels et financiers à la disposition du DMT, pour financer les recherches sur nos plantes médicinales, recherches qui méritent d'être encourager vu le coût élevé des médicaments modernes notamment les antidiabétiques oraux.

Et enfin à la population :

- D'observer une bonne conservation de la nature (la flore), car une utilisation abusive des plantes pourrait entraîner la disparition de certaines espèces

FICHE SIGNALETIQUE

<u>Titre</u>: Etude de la qualité des feuilles de *Sclerocarya birrea* (A Rich) Hoscht utilisées dans le traitement du diabète.

Nom: Dagnoko

Prénom : Salimata

Année: 2008-2009

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Côte d'ivoire

<u>Lieu de dépôt</u> : Bibliothèque de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'odontostomatologie

(FMPOS).

<u>Secteur d'intérêt</u> : Recherche en Médecine Traditionnelle

Résumé:

Ce travail qui a été réalisé au Département de Médecine Traditionnel (DMT), a porté sur l'étude du *Sclerocarya birrea*, qui est une plante utilisée traditionnellement dans le traitement du diabète.

Cette étude qui avait pour objectif premier d'étudier la phytochimie et d'effectuer un contrôle de qualité sur la plante a permis de mettre en évidence la présence de nombreux groupes chimiques à savoir les tanins, les flavonoïdes, les coumarines, les leucoanthocyanes, les caroténoïdes, et de saponosides dans nos différents échantillons. Des extractions ont été faites notamment les décoctés, des infusés et avec des solvants à polarité croissante à différentes doses : 5%,10%, et 20%. Les meilleurs rendements ont été obtenus avec les extractions des solutions aqueuses et les substances extractibles par l'éthanol à 70%. Les pH des solutions aqueuses étaient tous égales à 5. Les polysaccharides ont été également dosés dans nos différents échantillons.

Le contrôle de qualité nous a amené à faire tout d'abord la microscopie, qui a permis la mise en évidence d'éléments caractéristiques dans tous nos échantillons. De nombreux dosages ont été effectués à savoir la teneur en eau, les pourcentages en corps étrangers, les cendres totales, les cendres chlorhydriques et sulfuriques, la détermination du pH des différents solutions aqueuses, la détermination des ions, et enfin le dosage des tanins sur nos différents échantillons.

Tous ces résultas nous ont permis de dégager des différentes normes relatives au contrôle de qualité de la poudre de feuilles du Sclerocaya birrea (A. Rich) Hoscht.

Enfin, un test biologique à savoir le test de l'hyperglycémie provoquée par voie orale a été réalisé sur les rats. Ce résultat nous a permis de vérifier l'effet antihyperglycémiant de nos décoctés à bases de poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea* favorable à l'utilisation de la plante dans le traitement du diabète sucré.

Mots clés : Diabète, antihyperglycémiant, antioxydant, Sclerocarya birrea, contrôle, qualité.

ANNEXES

Composition des réactifs :

Réactif de Dragendorff:

Nitrate de Bismuth pulvérisé	20,80 g
Iode	38,10 g
Iodure de sodium anhydre	200 g
Eau distillée	.600cc
Agiter pendant 30mn.	

Réactif de Godin :

Solution A

Vanilline 1g + 1000ml d'éthanol

Solution B

Acide perchlorique 3cc + eau distillée 100cc

Mélanger les 2 solutions au moment de l'emploi

Ensuite pulvériser les plaques avec une solution de H₂SO₄ à 10%

<u>Liqueur de Fehling:</u>

Solution A

CuSO₄......35 g

Eau distillée......500 cc contenant 5cc d'H₂SO₄

Laisser refroidir puis compléter à un litre avec de l'eau distillée.

Solution B

Sel de Seignette......150 g

Eau distillée.....500cc

Refroidir puis ajouter 300 cc de lessive de soude non carbonatée, compléter à un litre avec de l'eau distillée.

NB: mélanger deux solutions à volume égal au moment de l'emploi.

Réactif de Guignard:

Raymond Marthoud:

Réctif de Kedde :

Acide dinitro 3-5 benzoïque......25 g
Ethanol 96° QSP......100cc

Réactif de Baljet :

Réactif de Valser Meyer :

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Kerharo J. et Adams J. G. (1974). La pharmacopée sénégalaise traditionnelle : Plantes médicinales et toxiques. Ed. Vigot Frères, Paris, 1011 p, pp 343-345.

Adjanahoun, E. J., Ahyi, A; Aké Assi L; Dan Dicko, L; Daouda, H; Delmas, M; Souzade, S; Garba, M; Guindo, S; Koyong, A; N'Golo, D; Raynal, J.L; Saadatou, M. (1980). et al. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger, Médecine traditionnelle et pharmacopée ACCT, Paris. 250p.

Malgras D. (1992). Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. Ed. Karthtala et ACCT, 478 p, pp 128-129.

Cavin A. (1999). Investigation phytochimique des trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydanteet antiradicalaire: *Tinospora crisp*(Menispernaceae), *Merremia emarginata* (convovulaceae) et *Orephea eneandra* (annonaceae). Thèse de doctatorat, Lausane, 243p.

Brunneton J. (1993). Pharmacologie, phytochimie, plantes médicinale. Deuxième Ed. Technique et documentation, Lavoisier, Paris. P 915.

Ravinovicth A Suarez W. L., Thomas P. D., Strynadka K., and Simpson I. (1992) cytotoxic effect of cytokines on rat islets: Evidence for involvement of free peroxydate radicals in lipid peroxidation- diabetologia.

Yvan Touitou (2000). Pharmacologie diplôme d'état d'infirmier (e). Ed. masson. 400p.

Iserin P. (2001). Encyclopedie des plantes médicinales. LAROUSSE/VUEF, Paris.

R.M. Perez G1., M.A. Zavala S2, Perez G2., C. Perez G2. (1998) antidiabetic effet of compounds ed Gustav Fisher Veragisolated from plants in phytomedecine, vol.5(1).

Organisation de l'unité africaine/commission scientifique technique et de la recherche (OUA/CSTR). (1998). Pharmacopée africaine, méthodes générales d'analyses. Première Ed., Lagos, Nigéria, 206p, 254p.

Picards, (1995). Lipoprotein glyco-oxydatio (Glyco-oxdation des lipoprotéines). Diabète Metab, vol 21, pp 89-94.

Grankvitst K., Marklund S. L. and Talledal I. B. (1981). CaZn-Superoxidase in pancreatic islets and other tissues of thes mousse. Biochem. J. <u>199</u>. 393-398.

Malaisse W. J. Malaisse Lagae F., Sener A., Pipeleers D. G. (1992). Determinants of the selective toxicity of alloxan to the pancreatic β cell. Proc. Nati.

Gidao, A., Ameh, D. A. and Atawodi, S.E. (2005). Effect of Nauclea latifolia leaves aqueous extracts on blood glucose levels of normal and alloxan-induced diabetic rats.

Laurens A. (1976). Anacardiacées africaines et malgaches: *Pourpatia birrea*, *Pourpatia caffra* et *Anacardium occidentale* (Etude particulière des polyphénols des feuilles). Thèse de doct. Pharm., Paris.

Grimaldi André. Philippe Cornet. Nathalie Masseboeuf. Marc Popelier. Claude Sachon (1998). Guide pratique du diabète. Editions médiacales spécialisées. Directeur éditions et multimédia : José Vieira. 376p.

Paris R.R., NOTHIS A. (1970). « Plantes à derives phénoliques. » Plantes médicinales et Phytothérapie, vol.4 n°1, pp.63-74.

Galvez et Coll.(**Galvez. J. et al. (1992).** (-) Epicatechin . S. galloyl ester : A secretagogue coumpond from. The Bark of *Sclerocarya birrea*. Planta Medica ; vol 58 ; P 174-175).

Pharmacopée Africaine, 1988 (Méthodes d'analyses) (OUA/CSTR) 1^{ère} édition vol.2., 142p, 143p, 144p, 206p

(http//www.chbc.qc.ca/diabète/diabète).

www.sante-securite.com/conso-the-htm

www.randox.com/french/products.cfm ?ccs=44).

www.doctissimo.fr.

www.pharmacorama.com.

www.who.int.

<u>www.pharcorama.com</u> (extrait de « Les médicaments » 3e édition- P. Allain avec mise à jour Août 2008 par P. Allain)

Togora yaya (2005). Etude phytochimique et de l'activité antihyperglycémiante de deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement du diabète. Thèse de doctorat en pharmacie. 95P.

Yasambou Hamsétou (2002). Etudes phytochimiques et des activités hypoglycémiantes de *Ziziphus mauritana* lam. (rhamnaceae). Thèse de pharmacie.

Samaké B. F. (1999). Etudes des plantes utilisées dans le traitement des plaies, polysaccharides, et leurs activités sur le complément. Thèse de pharmacie. 138p.

Boubou Coulibaly (1988). Contribution a l'étude des remèdes traditionnels utilisés dans le traitement du diabète au Mali. Thèse de pharmacie. 113p.

Boureima Yaro (1992). Contribution a l'étude du traitement traditionnel du diabète au Mali. Thèse de pharmacie. 133p.

Haïdara Tatou (1999). Etude botanique, phytochimique et pharmacologique de trois plantes utilisées dans le traitement du diabète *Bridelia ferruginea* Benth, *Sclerocarya birrea* Hochst, *Terminalia macroptera* Guill et Perr. Thèse de Pharmacie. 83p.

Fomba Mama (2001). Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémiante des feuilles d'une plante antidiabétique (*Sclerocarya birrea*) (A. Rich). Hochst. Anacardiaceae. Thèse de pharmacie. 63p.

Amadou Adiza, 2007. Etude d'une recette traditionnelle, des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* Hosch et de *Uapaca togoensis* Pax utilisées dans le traitement du diabète. Thèse de pharmacie, 101P.

Sambo Moumouni Halimatou, (2006). Etude du traitement traditionnel du diabète par une recette et les écorces de tronc de *Manilkara multinervis* Dub (Sapotaceae). 41p. Thèse de pharmacie.

Sira G. Ba. (2005). Etude de la phytochimie et de ses activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L. (Balanitaceae). Thèsede pharmacie, 120p.

Salamatou, (2003). Etude phytochimique et des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L. (Balanitaceae). Thèse de pharmacie. 117p.

Caroline Ignegongba Layébé, (2001). Extraction de la quercétine à partir des feuilles de Sclerocarya birrea (A. Rich.) Hochst (Anacardiaceae). 64p.

Gueye M. (1973). Contribution à l'étude pharmacodynamique d'une plante antidiabétique (Sclerocarya birrea). Thèse de doctorat pharmacie, Dakar Sénégal.

Dao, A. (1998). Etudes botaniques et phytochimiques de *Sclerocarya birrea* (A. Rich). Hochst (Anacardiaceae). Thèse de pharmacie.

Yaro B. (1992). Contribution à l'étude du traitement traditionnel du diabète au Mali, Thèse de pharmacie, 133p.

Samba Sanogo, (2008). Etude de la phytochimique et de l'effet hypoglycémiant de trois (3) plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnel au Mali.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement;

D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique ma profession, avec conscience et de respecter non seulement la l législation en vigueur mais aussi las règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé par mes confrères si j'y manque.

Je le jure!