

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple - Un But - Une Foi

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI
E.N.M.P

année 1999

N° 15

**CONTRIBUTION A L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET
PHARMACOLOGIQUE DE
Acacia seyal Del. (Mimosaceae)**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le.....
devant l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali

Par

Soumana FOFANA

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie
(DIPLOME D'ETAT)

Jury

Président : Professeur Boubacar Sidiki CISSE
Membres : Docteur Elimane MARIKO
Docteur Ousmane DOUMBIA
Directeur : Professeur Arouna KEITA

LISTE DES PROFESSEURS DE L'E.N.M.P. ANNEE UNIVERSITAIRE 1992 - 1993

DIRECTION

Professeur Issa TRAORE	Doyen
Professeur Boubacar CISSE	Premier Assesseur
Professeur Amadou DOLO	Deuxième Assesseur
Docteur Chanfreau	Conseiller Technique
Dr Bakary M. CISSE	Sécrétaire Général

D.E.R DE CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. Professeurs agrégés

Professeur Abdel Karim KOUMARE	Chef de D.E.R Chirurgie
Professeur Mamadou Lamine TRAORE	Chirurgie Générale
Professeur Aliou BA	Ophtalmologie
Professeur Bocar SALL	Ortho. traumatol.Secourisme
Professeur Sambou SOUMARE	Chirurgie générale
Professeur Abdou Alassane TOURE	Orthopédie-traumatologie
Professeur Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Professeur Djibril SANGARE	Chir.gnrleSoins.infirmiers

2. Assistants chefs de clinique

Docteur Madame SY Aïda SOW	Gnéco-Obstétrique
Docteur Kalilou OUATTARA	Urologie
Docteur Mamadou Lamine DIOMBANA	Odonto-stomatologie
Docteur Salif DIAKITE	Gynécologie-obstétrique
Docteur Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Docteur Alhousseïni AG MOHAMED	O.R.L
Docteur Madame DIANE F.S. DIABATE	Gynécologie-obstétrique
Docteur Abdoulaye DIALLO	Anesthésie Réanimation
Docteur Sidi Yaya TOURE	Anesthésie Réanimation
Docteur Gangaly DIALLO	Chirurgie Générale
Docteur A.K. TRAORE dit DIOP	Chirurgie Générale

D.E.R DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. Professeurs agrégés

Professeur Bréhima KOUMARE	Microbiologie
Professeur Siné BAYO	Anatomo-Pathologie
Professeur Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique
Professeur Yaya FOFANA	Hématologie
Professeur Ogobara DOUMBO	Parasitologie

2. Docteurs D'Etat

Professeur Amadou DIALLO	Chef de D.E.R Sciences Fond.
Professeur Yéya Tiémoko TOURE	Biologie

3. Docteurs 3ème cycle

Professeur Moussa ARAMA	Chimie Organique
Professeur Massa SANOGO	Chimie Analytique
Professeur Bakary M. CISSE	Biochimie
Professeur Sékou F.M. TRAORE	Entomologie Médicale
Professeur Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Professeur Mamadou CISSE	Biologie
Professeur N'yenigue S. KOITA	Chimie organique

4. Assistants chefs de clinique

Docteur Abderhamane Sidèye MAIGA	Parasitologie
Docteur Anatole TOUNKARA	Immunologie
Docteur Amadou TOURE	Histo-Embryologie

5. Maîtres Assistants

Docteur Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Docteur Flabou BOUGOUDOOGO	Bactériologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. Professeurs agrégés

Professeur Abdoulaye AG RHALY	Chef de D.E.R Médecine
Professeur Souleymane SANGARE	Pneumo-Phtisio
Professeur Aly GUINDO	Gastro-Entérologie
Professeur Mamadou Koreïssi TOURE	Cardiologie
Professeur Mahamane MAIGA	Néphrologie
Professeur Ali Nouhoum DIALLO	Médecine Interne
Professeur Baba KOUMARE	Psychiatrie
Professeur Moussa TRAORE	Neurologie
Professeur Issa TRAORE	Radiologie
Professeur Mamadou Marouf KEITA	Pédiatrie
Professeur Eric PICHARD	Médecine interne
Professeur Toumani SIDIBE	Pédiatrie

2. Assistants chefs de clinique

Docteur Balla COULIBALY	Pédiatrie
Docteur Boubacar DIALLO	Cardiologie
Docteur Dapa Ali DIALLO	Hématologie - Médecine Interne
Docteur Sominta M. KEITA	Dermato-Léprologie
Docteur Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Docteur Hamar A. TRAORE	Médecine Interne

D.E.R DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. Professeurs agrégés

Professeur Boubacar CISSE	Toxicologie
Professeur Arouna KEITA	Matières Médicales

2. Maîtres Assistants

Docteur Boulkassoum HAIDARA	Législation et Gestion Pharma.
Docteur Elimane MARIKO	Pharmacodynamie
Docteur Ousmane DOUMBIA	Chef de D.E.R Sciences Pharm.

D.E.R DE SANTE PUBLIQUE

1. Professeurs agrégés

Professeur Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique - Chef de D.E.R
Docteur Hubert BALIQUE	Maître de conf. Santé Publique
Professeur Moussa A. MAIGA	Santé Publique

2. Assistants chefs de clinique

Docteur Bernard CHANFREAU	Santé Publique
Docteur Pascal FABRE	Santé Publique
Docteur Bocar Garba TOURE	Santé Publique

CHARGES DE COURS

Docteur Madame CISSE A. GAKOU	Galénique
Professeur N'Golo DIARRA	Botanique
Professeur Bouba DIARRA	Bactériologie
Professeur Souleymane TRAORE	Physiologie Générale
Professeur Salikou SANOGO	Physique
Professeur Daouda DIALLO	Chimie Générale et Minérale
Professeur Bakary I. SACKO	Biochimie
Professeur Yoro DIAKITE	Maths
Professeur Sidiki DIABATE	Bibliographie
Docteur Aliou KEITA	Galénique
Docteur Boubacar KANTE	Galénique
Docteur Souleymane GUINDO	Gestion
Docteur Madame Sira DEMBELE	Maths
Monsieur Modibo DIARRA	Nutrition
Madame MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du milieu

ASSISTANTS

Docteur Moussa Y. MAIGA	Gastro-Entérologie
Docteur Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Docteur Drissa DIALLO	Matières Médicales
Docteur Nouhoum ONGOIBA	Chirurgie Générale
Docteur Sahari FONGORO	Néphrologie
Docteur Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Docteur Benoît KOUMARE	Chimie Analytique

C.E.S

Docteur Filifing SISSOKO	Chirurgie générale
Docteur Daba SOGODOGO	Chirurgie générale
Docteur Georges YAYA (Centrafrique)	Ophtalmologie
Docteur Abdou ISSA (Niger)	Ophtalmologie
Docteur Amadou NDéné DIALLO (Sénégal)	
Ophtalmologie	
Docteur Askia Mohamed (Niger)	Ophtalmologie
Docteur Oumar BORE	Ophtalmologie
Docteur N'DJIKAM Jonas (Cameroun)	Ophtalmologie
Docteur DEZOMBE Djoro (Tchad)	Ophtalmologie
Docteur Aboubacrine A. MAIGA	Santé Publique
Docteur Dababou SIMPARA	Chirurgie
Docteur Mahamane TRAORE	Chirurgie
Docteur Mohamed AG BENDECH	Santé Publique
Docteur Mamadou MAIGA	Dermatologie

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Professeur J. P. BISSET	Biophysique
Professeur F. ROUX	Biophysique
Professeur G. FARNARIER	Physiologie
Professeur G. GRAS	Hydrologie
Professeur E. A. YAPPO	Biochimie
Professeur Ababacar FAYE	Pharmacodynamie
Professeur Mamadou BADIANE	Pharmacie Chimique
Professeur Issa LO	Législation

PERSONNELS RESSOURCES

Docteur Madani TOURE	H.G.T.
Docteur Tahirou BA	H.G.T.
Docteur Amadou MARIKO	H.G.T.
Docteur Badi KEITA	H.G.T.
Docteur Antoine NIANTAO	H.G.T.
Docteur Kássim SANOGO	H.G.T.
Docteur Yéya I. MAIGA	I.N.R.S.P.
Docteur Chompéré KONE	I.N.R.S.P.
Docteur Adama S. SANOGO	I.N.R.S.P.
Docteur Ba Marie P. DIALLO	I.N.R.S.P.
Docteur Almahdy DICKO	P.M.I. Sogoniko
Docteur Mohamed TRAORE	Kati
Docteur Arkia DIALLO	P.M.I. Centrale
Docteur Reznikoff	I.O.T.A.
Docteur TRAORE J. THOMAS	I.O.T.A.
Docteur Pierre BOBIN	MARCHOUX
Docteur Alain DELAYE	H.P.G.

DEDICACES

A mon Père Maciré FOFANA

Vous nous avez inoculé les vertus de la proébité et l'amour du travail bien fait. Durant notre long parcours scolaire, jamais vous n'avez failli à vos devoirs de père et d'éducateur.

Je serai sincèrement fière si, un jour, mon fils pense de moi ce que je pense de vous aujourd'hui. Puisse ce travail, votre travail constituer un motif de légitime fierté pour vous.

A ma Mère Fatoumata NIMAGA

Je ne trouve pas de mots pour exprimer ma profonde reconnaissance pour la tendresse et toute l'affection que tu n'as cessé de nous apporter. Tu as montré tout l'intérêt que tu accorde aux études médicales et m'as encouragé dans ce sens.

Que ce travail puisse être le témoignage de mon amour profond à ton égard.

A mes Frères - Sœurs - Cousin et Cousines : Mamadou FOFANA, Fatoumata FOFANA, Adrahamane FOFANA, Mohamed FOFANA, Assa FOFANA, Soumana FOFANA, Sadian FOFANA, Aboubacar, Awa CISSE etc...

Votre affection ne m'a jamais fait défaut, que le sentiment de parenté qui nous lie se resserre davantage.

A mes Oncles et Tantes

Merci pour tout le service rendu.

A Monsieur et Madame CISSE

Soyez rassuré de ma reconnaissance sans faille. pour tous les efforts consentis à notre égard. Au Professeur Boubacar S. CISSE j'avoue sincèrement avoir été impressionné par vos qualités tant sociales que professionnelles. Vous êtes un homme exemplaire, et ce serai un grand honneur pour moi de pouvoir suivre vos traces ; voilà une des raisons qui justifie mon choix pour les études pharmaceutiques.

A mes Belles-sœurs et Beaux-frères

Vous n'avez ménagé aucun effort pour me permettre de réaliser ce travail qui est aussi le votre.

A Monsieur Boubou CISSE

Soyez rassuré de ma profonde reconnaissance

A mes Neveux et Nièces : Mami, Daly.....

Je vous souhaite bon courage

A tous mes amis et amies

Ibrim DIARRA, Boubacar DIARRA, Alou Kayo, Moustapha DANTE (in mémorium)...

J'accorde la plus haute importance aux liens qui nous lient. En témoignage de ma sincère amitié.

REMERCIEMENTS

Au Docteur Drissa DIALLO

Vos sages conseils ne nous ont jamais fait défaut au cours de ce travail. Votre dévouement pour la recherche en Médecine Traditionnelle, vos qualités scientifiques et humaines vous valent l'estime tant de vos collaborateurs que de vos supérieurs hiérarchiques.

Trouvez ici l'expression de notre profonde admiration.

Aux Docteurs El Mehdi et Djimé

Vos apports pour la réalisation de cette thèse sont inestimables. Vous n'avez ménagé aucun effort pour me rassurer et m'encourager pendant mes études pharmaceutiques.

Trouvez ici l'expression de notre reconnaissance éternelle.

Au Docteur Mme DIALLO et famille ainsi qu'à tout le personnel de l'Officine Hirondelle

Je vous adresse mes sincères remerciements.

Docteur Mme DIALLO, vos grandes qualités professionnelles, votre sens élevé de l'humanité n'ont cessé de m'étonner.

Soyez rassuré de ma reconnaissance.

A tous les camarades de la promotion 1985-1991 ;

Au Dr. Sadia KOUMA, Dr. BABY Mounirou, Dr. Moriba SIDIBE, Dr. Alimatou DIALLO, Dr. Mme TOUNKARA, Dr. Djibril KEITA, Dr. KOURIBA et tous les amis du Club UNESCO

Nous souhaitons bonne chance à chacun. Puisse nous demeurer unis et solidaires, malgré les vicissitudes de la vie.

A Mrs. Kassim COULIBALY, Fagnan SANOGO, Dr. Fatou PLEA, Seïnabou TRAORE et à tout le personnel de la DMT/INRSP.

Votre ardeur au travail et vos éminentes qualités de chercheurs ont forcé notre admiration. C'est le lieu de vous exprimer toute notre gratitude.

A Mme COULIBALY Fatou SALL, Mme TRAORE Mariam SALL et à Mr. SISSOKO Kalilou

Votre ardeur et votre amour pour le travail bien fait n'ont cessé de m'étonner.

Veillez accepter mes remerciements les plus sincères.

A tous ceux qui n'ont pas été cités dans ce travail, je veux qu'ils sachent qu'ils ne sont pas oubliés. Qu'ils soient tous remerciés.

A NOTRE JURY

Au Pr Boubacar S.CISSE :

- Professeur de toxicologie à l'E.N.M.P
- 1er Assesseur à l'E.N.M.P.
- Chef de la mission universitaire
- Chef de section Toxicologie -Bromatologie de l'I.N.R.S.P.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce Jury de Thèse.

Nous nous réjouissons de compter parmi les bénéficiaires de vos cours de toxicologie ; cours que vous avez toujours dispensés avec amour , abnégation et efficacité.

Par ailleurs votre disponibilité, votre souci constant pour notre formation, votre lutte pour la cause des études et la profession pharmaceutique au Mali forcent notre admiration.

Permettez moi ici de vous exprimer notre attachement respectueux.

Au Dr Ousmane DOUMBIA

- Maître Assistant de chimie thérapeutique à l'E.N.M.P.
- Chef de DER des sciences pharmaceutiques
- Directeur général du Laboratoire National de la Santé

Nous avons toujours admiré votre sens aigu de la rigueur scientifique et du travail bien fait.

Pendant votre séjour à la Division Médecine Traditionnelle, vous n'avez cessé d'exprimer votre intérêt pour la revalorisation de la Médecine traditionnelle.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de participer à notre jury de thèse.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

Au Dr Elimane MARIKO

- Maître assistant de pharmacodynamie à l'E.N.M.P.

Permettez nous de dire combien nous admirons votre sympathie envers vos étudiants. Votre abord facile, votre contact chaleureux et votre sens élevé de l'humilité ont forcé notre admiration.

Par ailleurs votre intégrité morale, vos prises de positions franches vous valent le respect de votre entourage.

Je suis votre élève et je suis fier de vous compter parmi le jury de cette thèse.

Veillez trouver ici toute ma reconnaissance.

Au Professeur Arouna KEITA

- Professeur de pharmacognosie à l'E.N.M.P.

- Chef de la Division Médecine Traditionnelle de l'I.N.R.S.P.

Vous nous avez chaleureusement accueilli dans votre laboratoire. Vos éminentes qualités scientifiques, votre endurance, votre dévouement et votre haute compétence n'ont cessé de nous étonner;

Par ailleurs votre lutte pour la revalorisation de la médecine traditionnelle forcent notre admiration.

vous appartenez à cette classe de chercheurs qui allient le savoir au savoir faire et au savoir être.

Veillez trouver ici l'expression de notre profond attachement.

SOMMAIRE

	Pages
I. INTRODUCTION	1
II. MOTIVATIONS DE LA RECHERCHE	4
III. TRAVAUX ANTERIEURS	5
III.1. ETUDE PHYTOCHIMIQUE	5
III.2. ETUDE PHARMACOLOGIQUE	9
III.2.1. Etude toxicologique	9
III.2.2. Etude pharmacodynamique	9
III.2.2.1. Action sur la cholérèse chez le lapin	9
III.2.2.2. Activité molluscicide	10
IV. ETUDE BOTANIQUE	11
IV.1. GÉNÉRALITÉS SUR LES LÉGUMINEUSES	12
IV.2. FAMILLE DES MIMOSACEAE	12
IV.3. GENRE ACACIA	13
IV.4. ACACIA SEYAL DEL	13
IV.4.1. Synonymies	13
IV.4.2. Noms vulgaires	13
IV.4.3. Description botanique	13
IV.4.4. Distribution géographique -Stations	16

IV.4.5. Utilisations en médecine traditionnelle	18
IV.4.6. Caractères de la drogue	18
IV.4.6.1. Caractères morphologiques et organoleptiques	18
IV.4.6.2. Caractères microscopiques	19
V. TRAVAUX PERSONNELS	
A. MÉTHODOLOGIES	21
I. MÉTHODOLOGIE DE L'ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE	21
I.1. Techniques générales d'étude	21
I.1.1. Récolte de la matière première	21
I.1.2. Séchage et pulvérisation	21
I.1.3. Dosages	21
I.1.3.1 Eau	21
I.1.3.1.1. Dessiccation à l'étuve	21
I.1.3.1.2. Entraînement azéotropique	22
I.1.3.2. Cendres	25
I.1.3.2.1. Cendres totales	25
I.1.3.2.2. Cendres sulfuriques	25
I.1.3.2.3. Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique	26
I.1.4. Extraction	27
I.1.4.1 Macération	27

I.1.4.2. Extraction au soxhlet	27
I.1.4.3. Chromatographie sur couches minces (c.c.m)	27
I.1.4.4. Séparation - purification	29
I.1.4.4.1. Chromatographie sur couches minces (c.c.m)	29
I.1.4.4.2. Chromatographie sur colonne	29
I.1.4.4.3. Chromatographie préparative sur plaque	30
I.1.4.5. Identification	31
II. METHODOLOGIE DE L'ETUDE PHARMACOLOGIQUE	32
II.1. MÉTHODES D'EXPLORATIONS FONCTIONNELLES HÉPATIQUES	32
II.1.1. Méthodes indirectes	32
II.1.1.1. Epreuve à la bromo-sulfone phtaleine (B.S.P) : clairance hépato-biliaire de la B.S.P	32
II.1.1.2. Fonctions excréto-biliaire	34
II.1.1.2.1. Bilirubinémie	34
II.1.1.2.2. Cholestérol total et cholestérol estérifié	36
II.1.1.2.3. Phosphatases alcalines (P.A)	38
II.1.1.3. Test de la cytolyse : les transaminases (SGOT-SGPT)	39
II.1.1.4. Fonctions hépato-cellulaires	40
II.1.1.4.1. Temps de QUICK	40
II.1.1.4.2. Protéines sériques totales	42
II.1.2. Méthodes directes	43
II.1.2.1. Débit biliaire et extrait sec	43
II.1.2.3. Etude qualitative de la bile	44
II.1.3. Choix d'une méthode	44

II.2. ETUDE DE LA CHOLERESE CHEZ LE LAPIN	45
II.2.1. Matériel et méthodes	45
II.2.1.1. Matériel	45
II.2.1.1.1. Matériel végétal	45
II.2.1.1.2. Animaux et anesthésique	45
II.2.1.1.3. Collecte biliaire	45
II.2.1.1.4. Dessiccateur	46
II.2.1.2. Méthodes	46
II.2.1.2.1. Mise en évidence de l'activité cholérétique	46
II.2.1.2.2. Protocoles expérimentaux	46
B. RESULTATS ET COMMENTAIRES	49
I. RESULTATS DE L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE	49
I.1. DOSAGES	49
I.1.1. Teneur en eau	49
I.1.1.1. Par dessiccation à l'étuve	49
I.1.1.2. Par entraînement azéotropique	49
I.1.2. Teneur en cendres	50
I.1.2.1. Cendres totales	50
I.1.2.2. Cendres sulfuriques	50
I.1.2.3. Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %	51
I.2. EXTRACTIONS	51

I.2.1. Macérations	51
I.2.2. Extraction au soxhlet	53
I.2.3. Préparation des extraits à injecter aux lapins	55
I.3. PURIFICATION DE L'EXTRAIT D'ACETATE D'ETHYLE	56
I.3.1. Chromatographie sur colonne	56
I.3.2. Chromatographie préparative sur plaque	56
I.4. SPECTROMETRIE DANS L'ULTRA-VIOLET DU COMPOSE FLUORESCENT BLEU DE L'EXTRAIT D'ACETATE D'ETHYLE	60
II. RESULTATS ET COMMENTAIRES DE L'ETUDE PHARMACOLOGIQUE	62
II.I. MATERIEL ET METHODES	62
II.1.1. Matériel	62
II.1.1.1. Animaux	62
II.1.1.2. Anesthésique	62
II.1.1.3. Drogue	63
II.1.2. Méthode : action sur la cholérèse	63
II.2. RESULTATS ET INTERPRETATION DE LA MISE EN EVIDENCE DE L'ACTIVITE CHOLERETIQUE	64
II.2.1. Evolution du volume moyen d'excretion biliaire en fonction du temps	64
II.2.2. Evolution du poids moyen d'extrait sec biliaire en fonction du temps	80
II.2.3. Conclusion	94
VI. DISCUSSIONS	105
VII. CONCLUSION GENERALE	106
VIII. BIBLIOGRAPHIE.	107

LISTE DES ABREVIATIONS

- S.S.P. Soins de Santé Primaire
- O.M.S. Organisation Mondiale de la Santé
- C.E.I. Communauté des Etats Indépendants
- I.N.R.P.M.T Institut National de Recherche sur la Pharmacopée et la Médecine Traditionnelle
- D.M.T. Division Médecine Traditionnelle
- I.N.R.S.P. Institut Nationale de Recherche en Santé Publique
- M.T.A. Médicament Traditionnel Amélioré
- B.A.W. Butanol-Acide acétique - Eau.
- C.C.M. Chromatographie sur Couches Minces.
- h = heure
- mn = minute
- s = seconde
- ml = millilitre
- mg = milligramme
- g = gramme
- Cm = Centimètre
- mm = millimètre
- nm = nanomètre
- ϵ = Constante diélectrique
- u.v = Ultra-violet

- R_f = $\frac{\text{distance du point milieu de la tache au point de départ}}{\text{distance du front du solvant au point de départ}}$
- P/V = poids par volume
- % = pourcent
- ml/g = millilitre par gramme
- B.S.P = Bromo-Sulfone-Phtaleine
- TGP = Transaminase glutamique Pyruvic
- TGO = Transaminase glutamique oxaloacétique.

I. INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

L'instinct profond de survie, propre à tout individu a conduit les hommes à se servir de substances médicamenteuses d'origine naturelle à leur portée, en particulier de plantes médicinales dont notre continent peut être fier d'être l'une des pépinières les plus riches.

La santé de l'homme est restée largement tributaire des plantes.

La première source thérapeutique chez l'africain fut la phytothérapie et de nos jours, elle demeure encore car malgré l'introduction massive de spécialités pharmaceutiques chimiques, 90 à 95 % des populations du Tiers Monde en général et en particulier africaines se soignent avec les plantes (12).

Les plantes médicinales ont au cours des temps fait leurs preuves car leurs vertus curatives séculaires étaient déjà connues de nos ancêtres.

Il serait louable que nos chercheurs africains (pharmaciens, médecins botanistes et spécialistes des disciplines concernées) fassent des investigations scientifiques sur les plantes reconnues pour leurs vertus thérapeutiques afin de permettre leurs utilisations plus rationnelles, plus pratiques et judicieuses.

Sur le plan sanitaire, le Mali a opté pour la stratégie des Soins de Santé Primaires (S.S.P) pour atteindre l'objectif de la "santé pour tous en l'an 2000". Cet objectif est ainsi défini en 1977 par la XIII^è assemblée mondiale de la santé "faire accéder d'ici l'an 2000 tous les habitants du monde à un niveau de santé qui leur permet de mener une vie socialement et économiquement productive". L'O.M.S emploie, pour décrire la méthode de base qui doit permettre d'atteindre cet objectif, l'expression "Soins de Santé Primaires".

Le concept S.S.P a été accepté par l'ensemble des états membres de l'O.M.S. en 1978 lors d'une conférence internationale tenue à Alma Ata (C.E.I). Huit composantes ont été identifiées parmi lesquelles la protection de la santé maternelle et infantile, la planification familiale. L'utilisation de ressources de la Médecine Traditionnelle figure en bonne place (4) dans les recommandations.

L'O.M.S définit la Médecine Traditionnelle comme "l'ensemble de toutes les pratiques explicables ou non, basées sur les fondements socio-culturels et religieux d'une collectivité donnée, s'appuyant par ailleurs exclusivement sur les expériences vécues et les observations transmises de génération en génération, oralement ou par écrits et utilisées pour diagnostiquer, prévenir ou éliminer un déséquilibre du bien être physique, mental, ou social (6).

Le Mali fut l'un des premiers pays à institutionnaliser cette médecine par la création d'un Institut National de Recherche sur la Pharmacopée et la Médecine Traditionnelle (I.N.R.P.M.T) en 1973.

Cet institut était auparavant "Institut de Phytothérapie et de Médecine Traditionnelle" en 1968. EN 1986 il devient la Division Médecine Traditionnelle (D.M.T) rattachée à l'Institut National de Recherches en Santé Publique (INRSP).

Au Mali, 80 % de la population ont recourt à la Médecine Traditionnelle (5) et 20 % seulement bénéficient d'une couverture sanitaire par la médecine moderne (5). A partir des travaux de recherche entrepris, une attention particulière devrait être accordée à certains remèdes tels que les laxatifs, les cholérétiques, les antitussifs et les antipaludiques, compte tenu des résultats déjà obtenus.

En effet une autonomie pharmaceutique, même partielle épargnerait une partie non négligeable des budgets accordés à la santé. Seulement la Médecine Traditionnelle et les possibilités qu'offrent les plantes médicinales sur le plan thérapeutique restent encore peu exploitées dans nos pays.

Cependant, le Mali à travers la D.M.T. compte à son actif, dans ce domaine quelques réalisations importantes, relativement à notre sous continent francophone.

La D.M.T. est centre collaborateur de l'O.M.S. depuis 1983.

Le caractère empirique de cette médecine serait-il suffisant pour nous dispenser des recherches scientifiques (toxicité, mécanisme d'action, études phytochimiques) ?

Devrons nous nous laisser aller par la facilité d'utilisation du "totum" ?

Certes, l'utilisation des principes actifs extraits des plantes revêt un avantage car évite entre autres l'administration de grandes quantités de matière première.

A cela s'ajoute le problème de stockage qui est beaucoup plus facile avec les extraits qu'avec la matière première brute. Il est cependant difficile d'isoler et d'identifier tous les constituants d'une plante, ce qui rend laborieuse la tâche du phytochimiste.

Les études phytochimique et pharmacologique constituent des étapes indispensables pour définir un médicament traditionnel amélioré suivant des critères scientifiques bien déterminés.

La D.M.T a mis sur le marché une gamme de 4 médicaments traditionnels améliorés (M.T.A.) : Dysentéral, Laxa-cassia, Hépatisane, Balembo adulte et enfant.

C'est dans l'espoir d'apporter notre contribution à une meilleure connaissance scientifique de Acacia seyal Del., que nous avons entrepris nos travaux au laboratoire de la DMT sous l'autorité du Pr. Arouna KEITA.

les objectifs que nous nous sommes assignés se regroupent sous deux entités :

1. Procéder à des fractionnements de la drogue et tester l'activité cholérétique de chaque fraction chez le lapin ;

Les résultats obtenus en pharmacologie nous ont guidé dans nos recherches phytochimiques.

2. Déterminer la fraction possédant l'activité cholérétique la plus élevée et tenter d'isoler le (s) principe (s) actif (s) ;

II. MOTIVATIONS DE LA RECHERCHE

II. MOTIVATIONS DE LA RECHERCHE

Plusieurs raisons ont motivé notre recherche. Les principales sont :

1- la nécessité de révaloriser le patrimoine médical ancestral afin de le sortir de son aspect purement empirique ;

2- la canalisation des efforts autour des affections de la sphère hépatique pour les différentes entités nosologiques incluses dans la dénomination "sayi" en rapport avec l'ictère qui, au Mali est un problème de santé publique ;

3- la nécessité de la perception du caractère pluridisciplinaire de la recherche en médecine traditionnelle et de l'intérêt particulier à accorder à l'expérimentation pharmacologique ;

4- la thèse effectuée par DJIMDE A. intitulée "Contribution à l'Etude du Traitement Traditionnel du Syndrome Ictérique (Asthénie, Anorexie, Constipation, Fièvre)" (12), a donné des résultats fort encourageants sur Acacia seyal Del.

L'approfondissement des résultats de la précédente thèse va permettre à la D.M.T., je l'espère de faire avancer le dossier scientifique de Acacia seyal Del. retenu comme élément de la future pharmacopée malienne.

III. TRAVAUX ANTERIEURS

III. TRAVAUX ANTERIEURS

III.1. Etudes phytochimiques

La thèse de DJIMDE (12) nous donne les résultats des études chimiques préliminaires (réactions en tubes) et ceux de la CCM portant sur la poudre de racine entière de Acacia seyal Del.

Ces résultats sont consignés dans les tableaux qui suivent (tableaux 1 et 2).

La chromatographie sur couches minces a été effectuée sur des plaques de silice G et de cellulose F.

- Recherche des flavonoïdes :

Phase stationnaire : plaque de cellulose F 0,1 mm

phase mobile = B.A.W : Butanol - Acide acétique - Eau (4/1/5 , V-V)

Réactif de révélation : Réactif citro-borique

- Recherche des alcaloïdes

Phase stationnaire = plaque de silice G F 254 0,2 mm

phase mobile = Chloroforme - Méthanol-Eau (65/25/4 ; V-V)

Réactif de révélation : Réactif de dragendorff.

- Recherche des composés aminés :

Phase stationnaire = plaque de cellulose F 0,1 mm

Phase mobile = Isopropanol - eau (8/2 ; V-V)

Réactif de révélation : Ninhydrine butanolique

- Recherche de stérols et terpènes

Phase stationnaire = plaque de silice G

Phase mobile = Chloroforme pur

Réactif de révélation = vanilline sulfurique

- Recherche des coumarines

Phase stationnaire = plaque de silice G

Phase mobile = Chloroforme - Méthanol (2/10,V-V)

Réactif de révélation = Potasse alcoolique

- Recherche des saponosides

Phase stationnaire = plaque de silice G

Phase mobile = chloroforme - Méthanol - Eau (65/25/4 ; V-V)

Réactif de révélation = Trichlorure d'antimoine à saturation dans le Chloroforme.

TABLEAU N° 1. Résultats des recherches chimiques préliminaires en tubes (12).

Paramètres			Résultats	
Eau			4,35 %	
Cendres totales			4,73 %	
Hétérosides cardiotoniques (papier micro-sodé)			0	
Coumarines (fluorescence U.V. à 366 nm)			++	
Caroténoïdes (Carr et Price)			0	
Composés réducteurs			+	
Oses et holosides			+++	
Polyuronides			+++	
Dérivés soufrés			+++	
Saponosides	Mousse		+	
	Indice de mousse		66,67 %	
Alcaloïdes	Bases (Boucharda - Mayer - Dragendorff)		0	
	Sels (Boucharda - Mayer - Dragendorff)		0	
	Structure dérivée du tropane		0	
Anthracéno-sides	Libres		0	
	Combinés	O-Hétérosides	0	
		C-Hétérosides	0	
Stérols et Terpènes	Stérols ou Triterpènes		++	
	Hétérosides Stéroidiques et Triterpéniques	Triterpéniques ou Stéroidiques (Lieberman)		+
		Cardiotoniques	Raymond-Marthoud	++
			Keede	++
			Baljet	++
Substances polyphénoliques	Tanins	Réaction avec FeCl ₃		++
		Réaction avec HCl		++
		Réaction de Stiasny	Catechiques	++
			Galliques	+
	Flavonoïdes	O Anthocyanes		0
		Hétérosides flavoniques (Shibata)		0
		Génines flavoniques (Shibata)		0
Leucoanthocyanes			++	

(0 = recherche négative ; + = recherche positive)

Tableau N°2 : Résultats des recherches par C.C.M (12)

Composés Recherchés	Solvant d'extraction	Résultats
Flavonoïdes	Ether éthylique Acétate d'éthyle Butanol Eau	Négatif
Alcaloïdes	Eau-acide Ether - chloroforme	
Composés aminés	Eau Butanol	Positif
Stérols et Terpènes	Ether de pétrole	
Coumarines	Ether de pétrole	
	Butanol	
	Ether éthylique	
Saponosides	Eau	
	Chloroforme	

La poudre d'écorce de tige de Acacia seyal Del. ne renferme pas de glycosides cyanogéniques (7) ; par contre, certaines espèces d'Acacia en renferment ; le principe de la réaction est le suivant :

Le picrate de sodium (jaune) en présence d'acide hydrocyanique libre conduit à la formation d'isopurpurate de sodium de coloration rouge brique (7)

Des auteurs comme ANDERSON, BRIDGEMAN et DE PINTO ont effectué une étude analytique sur la gomme de différentes espèces dont Acacia seyal Del. (2) ; les résultats sont présentés dans le tableau n° 3. La gomme exude après blessure de la tige.

Tableau N° 3 :Teneur en gomme polysaccharidique de Acacia seyal Del. (2).

Paramètres	Teneur
Taux d'humidité (%)	13,4
Taux en cendres (%)	2,8
Produits azotés (%)	0,14
Protéines (%) (X 6,25)	0,9
Méthoxyle (%)	0,94
(α) D dans l'eau (degré)	+51
Viscosité intrinsèque (ml /g)	12
Poids moléculaire (X10 ⁵)	8,5
Poids équivalent	1470
Anhydride uronique (%)	12
Composition en sucre après hydrolyses (%)	
Acide 4-O-Méthylglucuronique	5,5
Acide glucuronique	6,5
Galactose	38
Arabinose	46
Rhamnose	4

III.2. ETUDES PHARMACOLOGIQUES

III.2.1 Etude toxicologique

DJIMDE, 1988 (12) a mené des travaux sur la détermination de la toxicité aiguë du décocté aqueux de la poudre de racine entière de Acacia seyal Del. chez la souris blanche.

Des lots de six souris, toutes mâles, de poids compris entre 18 et 23 g ont été constitués.

Des concentrations croissantes du décocté aqueux (2, 4, 8, 16 et 30 %) ont été administrées aux souris des lots tests. Les souris des lots essais N° 1, 2, 3 et 4 ont reçu respectivement per-os le décocté aqueux à 2, 4, 8 et 16 % à la dose de 6,9 ml / kg de poids corporel. Celles du lot essai N° 5 ont reçu le décocté à la dose maximale de 30 g / kg, soit 53 fois la dose thérapeutique.

Pendant trois jours, aucun décès n'a été enregistré ; toutes les souris avaient une vivacité et un pelage normal, ne présentaient aucun signe particulier décelable à l'œil nu.

Il a été conclu que la recette, pour la posologie proposée par le thérapeute traditionnel n'est pas dangereuse per-os.

III.2.2. Etudes Pharmacodynamiques

III. 2.2.1. Action sur la cholérèse chez le lapin

L'activité de la poudre de racine entière de Acacia seyal Del. sur la cholérèse chez le lapin a été testée par DJIMDE (12).

Deux lots de trois lapins ont été constitués : un lot témoin et un lot test.

La drogue a été injectée par voie veineuse à la 60^è mn du début de la collecte biliaire. L'administration du décocté aqueux à 7 % à la dose de 1ml / kg de poids corporel a entraîné une augmentation du débit biliaire et du poids d'extrait sec. Chaque lapin du lot test a reçu en moyenne 1,724 ml d'extrait , soit 120 mg de drogue.

Ces résultats indiquent que la drogue est douée de propriété cholérétique vraie.

III.2.2.2. Activité molluscicide

Des auteurs comme AYOUB et YANKOV (7) ont effectué des travaux sur l'activité molluscicide de 17 espèces d'Acacia du Soudan.

Deux types de mollusque ont été utilisés pour l'expérimentation: il s'agit du Bulinus truncatus et de Biomphalaria pfeifferi:

Le fruit ou l'écorce de tige constitue la drogue.

L'extrait acétate d'éthyle de l'écorce de la tige ou du fruit permet de rompre la transmission de la schistosomiase par ces mollusques aux doses comprises entre 100 et 200 ppm.

L'extrait acétate d'éthyle du fruit de quelques espèces d'Acacia à savoir : Acacia albida, A. nubica; A seyal et A. saligna ont été testés pour leur activité molluscicide sur Bulinus truncatus et Biomphalaria pfeifferi. La létalité est de 100 % à la dose de 100 ppm.

Tableau N°4 Activité Molluscicide de l'extrait acétate d'éthyle de l'écorce de tige de Acacia seyal Del. (7).

Dénomination Scientifique	% en Tanin	Type de Mollusque	Concentration en ppm		
			200	100	50
<u>Acacia seyal</u> Del	21	A	+	+	+
var. seyal		B	+	+	+
<u>Acacia seyal</u> Del	19	A	+	+	±
var. fistula		B	+	+	±

Période d'exposition = 24 h

Nombre de mollusque par espèce = 10

A = Bulinus truncatus

B = Biomphalaria pfeifferi

IV.ETUDES BOTANIKUES

IV ETUDE BOTANIQUE

Acacia seyal Del. occupe la position suivante dans la systématique :

Embranchement :	SPERMATOPHYTES
Sous Embranchement :	ANGIOSPERMES
Classe :	DICOTYLEDONES
Sous Classe :	DIALYPETALES
Série :	CALCIFLORES
Sous Série :	DIPLO-MERISTEMONES
Ordre :	ROSALE
Sous Ordre :	LEGUMINEUSES
Famille :	MIMOSACEAE
Genre :	ACACIA
Espèce :	SEYAL.

IV₁. GÉNÉRALITÉS SUR LES LÉGUMINEUSES

Le genre *Acacia* appartient à la sous famille des Mimosaceae le grand groupe des Légumineuses.

Les Légumineuses (Fabales), qui comprennent environ 13.000 espèces, repandues dans le monde entier, sont après les Composées, la seconde famille des Phanérogames du point de vue du nombre des espèces constitutives.

Les formes arborescentes prédominent dans les pays chauds et les formes herbacées dans les régions tempérées.

L'origine de cette famille doit être cherchée chez les Rosaceae à gousse. Chez les Légumineuses, seul un carpelle va persister : il est à l'origine d'une gousse appelée par les premiers botanistes <<légumes>> d'où le nom donné à la famille.

Les Légumineuses ont subi une évolution selon des voies qui leur sont propres :

- réduction du nombre des étamines,
- et surtout création d'une fleur à corolle zygomorphe.

Ces tendances évolutives, plus ou moins synchrones, conduisent à de très nombreux types floraux, des plus archaïques aux plus évolués.

Chez les Mimosaceae encore proches des Rosaceae primitives, les étamines sont généralement très nombreuses et les fleurs sont toujours régulières.

Chez les Ceasalpiniaceae et les Papilionaceae, le nombre des étamines se réduit en général à 10 (2 verticilles de 5 étamines). Ce nombre, encore sujet à quelques variations chez les Ceasalpiniaceae, est constant chez les Papilionaceae ; et surtout la fleur acquiert une corolle zygomorphe (17).

La zygomorphie est marquée par une corolle asymétrique à préfloraison carénale ascendante, le pétale supérieur interne étant recouvert par deux pétales latéraux.

Le calice souvent très réduit est remplacé par une paire de bractéoles opposées qui enveloppe la fleur dans le bouton (9).

IV₂ FAMILLE DES MIMOSACEÆ

Cette famille est encore appelée Légumineuses Mimosées. Importante famille tropicale et subtropicale représentée au Sénégal par 12 genres dont le genre *Acacia* (qui caractérise la région sahélienne) avec 16 espèces.

Ce sont des arbres ou arbustes sarmenteux.

Les Mimosaceae sont facilement reconnaissables par leurs feuilles, habituellement bipennées et à foliolules souvent très fines.

L'inflorescence est en épis ou en glomérules, simples ou composées.

Fleurs petites, souvent blanches ou jaunes rarement rouges ; pétales valvaires ; ovaire super unicarpellés ; fruits en gousse souvent déhiscente (19). Au point de vue de la matière médicale, les Mimosaceae sont principalement caractérisées par les plantes à gommés et à tanins parmi lesquelles les Acacia occupent la première place.

IV3. GENRE ACACIA

Chez le genre Acacia, on observe 25 paires de foliolules ou plus sur chaque pinnule, longues de 4 mm et larges de 1,25 mm, pubescentes.

Les étamines sont de plus de deux fois plus nombreuses que les pétales, les fleurs sont en épis ou en capitules.

Les branches sont couvertes d'épines ; elles sont infra-stipulées seulement au niveau des nœuds des rameaux ; les épines latérales sont courbées vers le haut et l'épine centrale courbée vers le bas.

Les fruits sont plats et relativement minces, oblongs, déhiscent, par une marge seulement ; ils sont longs de 4-14 cm et larges de 2-2,5 cm (10).

IV4. Acacia seyal Del.

IV4.1. Synonymies

- Acacia stenocarpa Hoechst. ex. A. Rich.,
- Acacia hockii De Willd.

IV4.2. noms Vulgaires

- a) Français
Mimosa épineux
- b) Bambara
n'zajɛ

IV4.3. Description botanique

De nombreuses variétés régionales ont été décrites. Acacia seyal Del. est un arbuste ou un arbre allant de 6 à 17 m de haut ; le tronc peut atteindre 60 cm de diamètre (31,19). La cime en parasol typique se retrouve chez la plante adulte (31).

La tige jeune est verdâtre, se recouvrant d'une poudre de couleur jaune à rouge ; l'écorce se soulève en pièces rectangulaires typiques, ondulées sur les bords et de couleur gris noir (10,31).

Planche N°1 : Acacia seyal Del.- Rameau feuillé florifère (23)

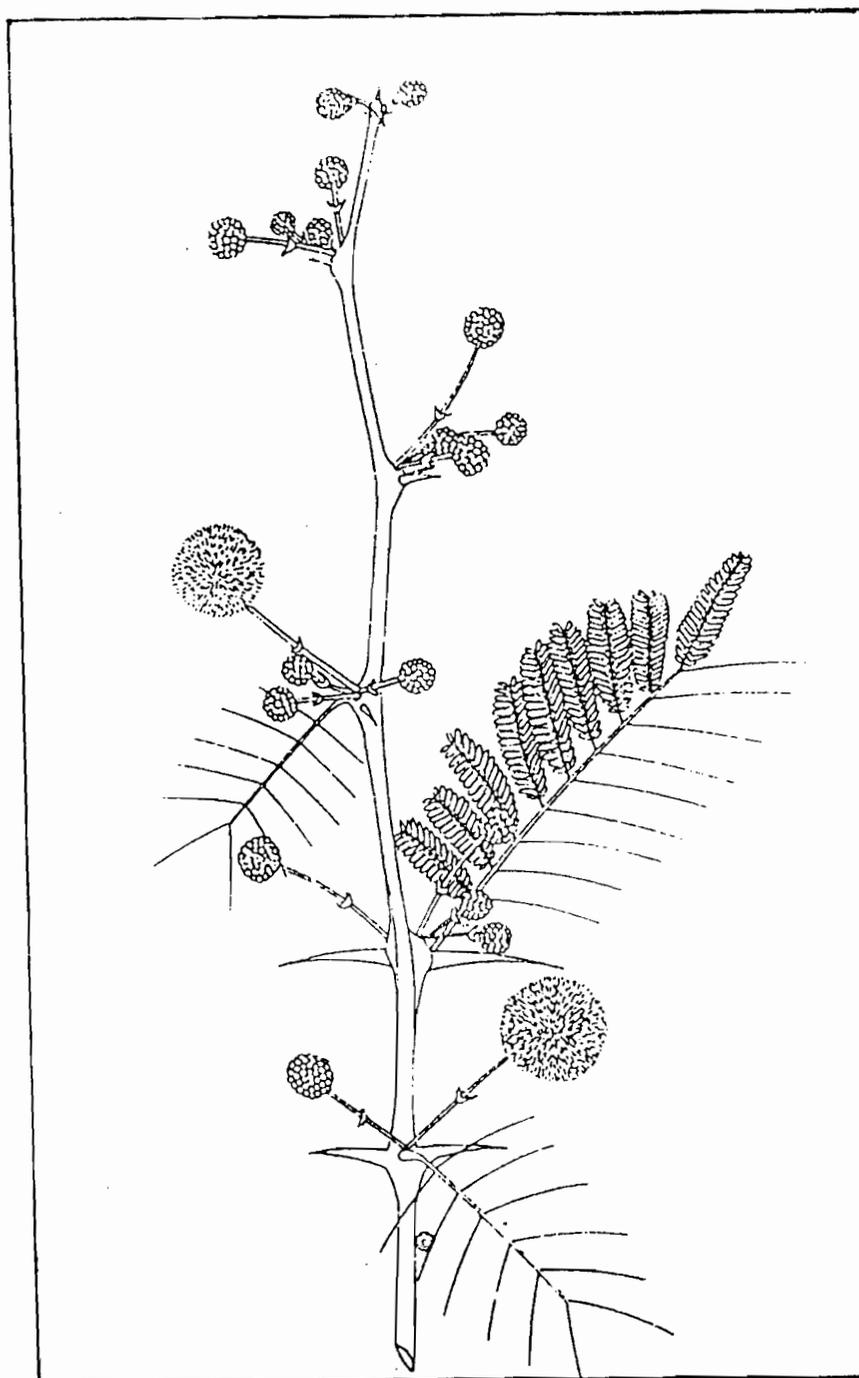
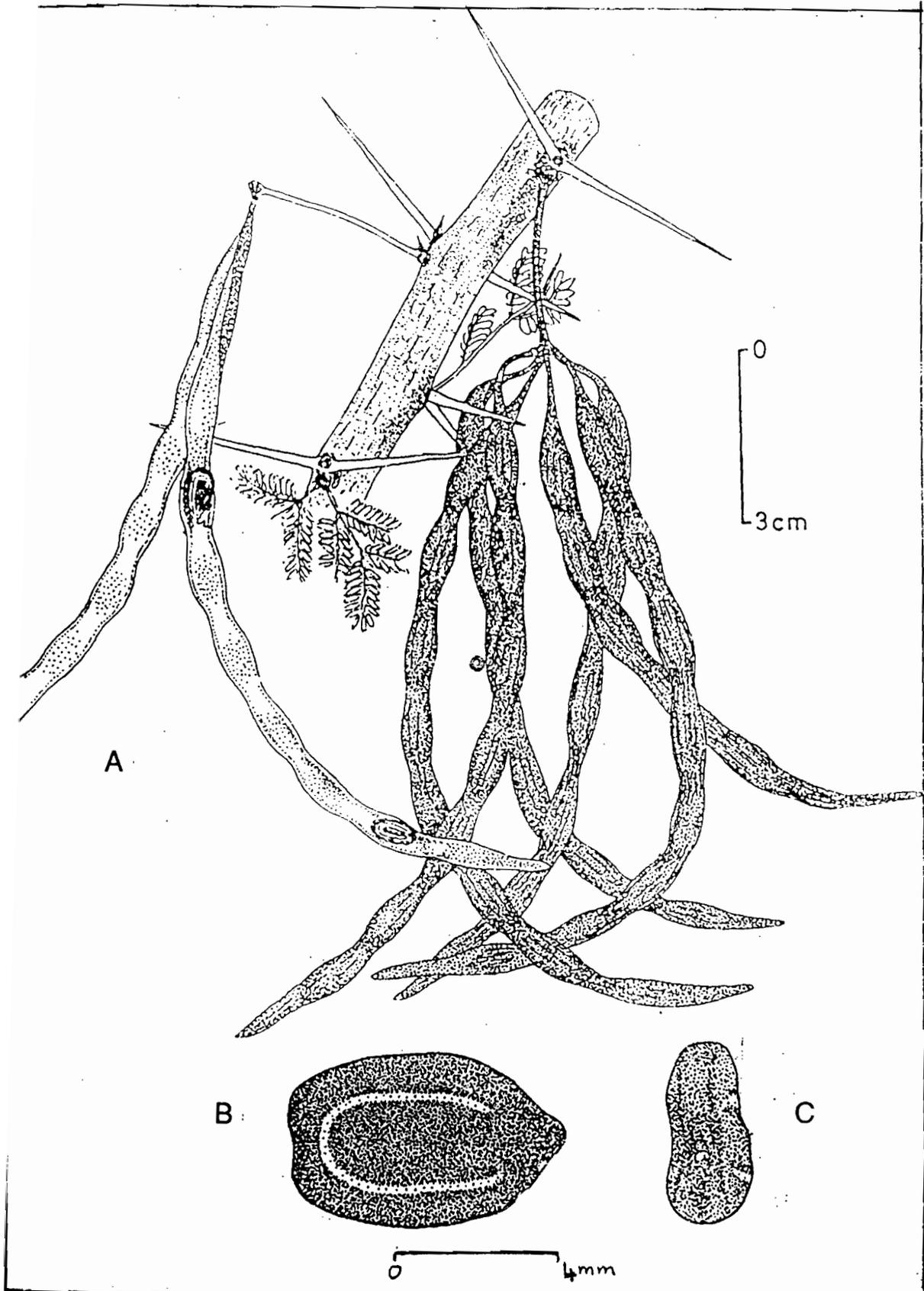


Planche N° 2 : *Acacia seyal* Del. (23)

A = Rameau feuillé fructifère

B = Graine vue de face

C = Graine vue de profil



La tige est flammée rouge vif et exsude une gomme jaunâtre, de même que les fentes de sécheresse et autres blessures (31) :

Les feuilles vert foncé sont pétiolées, alternes bipennées avec 4 à 12 paires de pinnules comprenant chacune 10 à 20 paires de foliolules de 5 mm de long sur 1 mm de large (19).

Le rachis peut atteindre 8 cm.

Des épines axillaires en paire à l'aisselle du pétiole mesurent 2 à 7 cm de long (19, 31) ; elles sont élancées, droites, pointues et gris clair (31).

On distingue des fascicules de glomérules axillaires de 1,5 cm de diamètre à l'extrémité de pédoncules de 3 cm avec des fleurs jaune vif, très finement et fortement parfumées (19) (Voir planche N° 1).

Les fruits sont des gousses légèrement courbées, brun clair à maturité, glabres, de 10 cm de long sur 9 mm d'épaisseur, (voir planche N° 2) laissant apparaître à la déhiscence des graines ovales et pendantes à maturité à l'extrémité du funicule.

Nous distinguons plusieurs variétés : variété seyal, variété fistula (23). (voir planche N° 1).

IV4.4. Distribution géographique-Stations

Acacia seyal Del. est un arbre typique des régions sémi-arides africaines, du Sénégal à travers tout le sahel jusqu'au Soudan et l'Egypte, en Afrique orientale de la Somalie au Mozambique et en Namibie. C'est une espèce sahélienne et soudanienne.

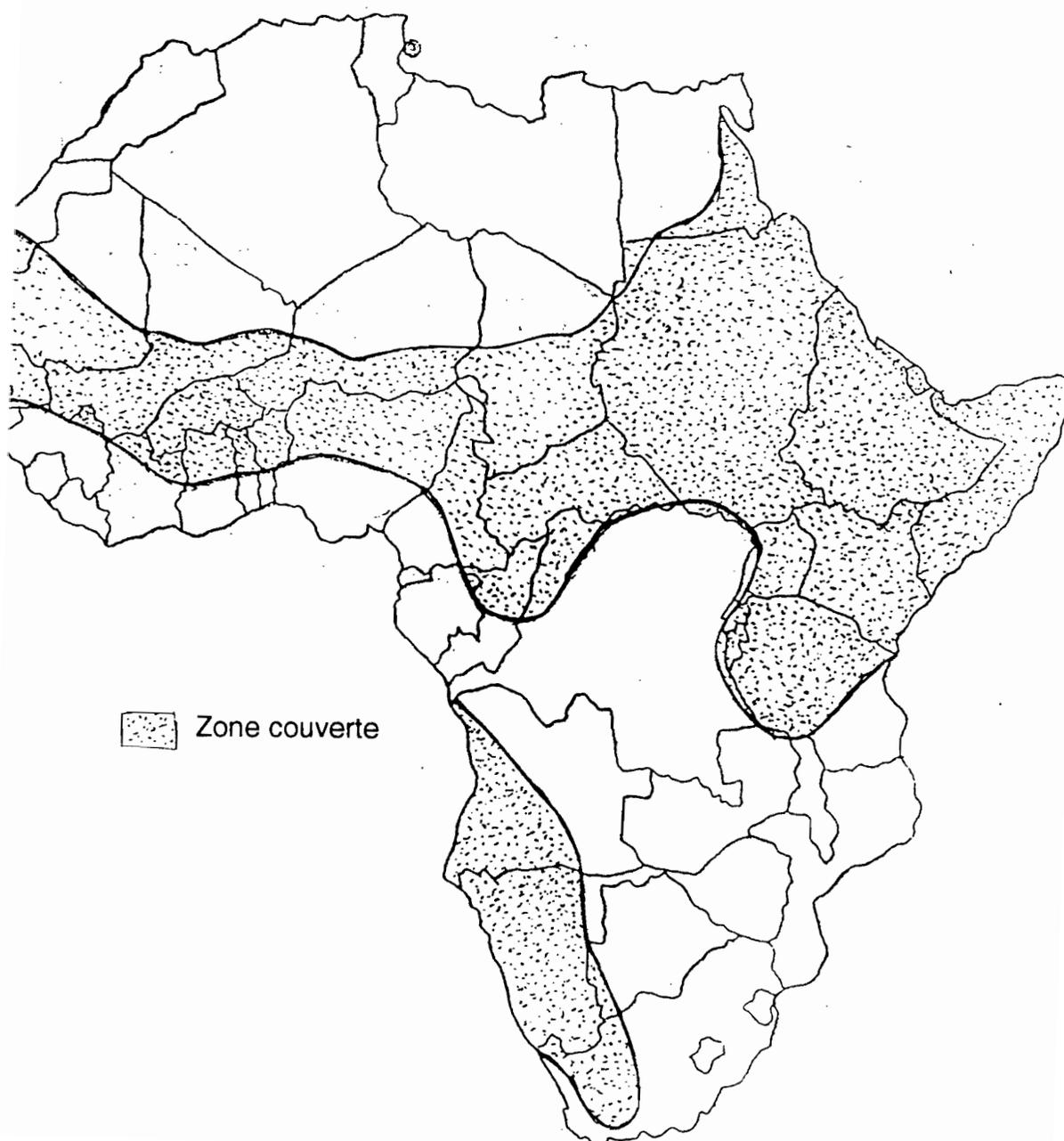
Elle a besoin de 250 à 1000 mm de précipitations par an. Il pousse mieux sur les sols argileux et supporte aussi bien les inondations que les sécheresses périodiques avec un craquelage de la surface du terrain.

Acacia seyal croît aussi sur les sols pierreux, dans les plaines, mais en général pas sur les versants des crêtes.

On le rencontre au bas des pentes ou au voisinage des cours d'eau (marigots), des stations alluviales ou sur les sols humides des vallées, près des mares ou dans les bas-fonds.

Dans des conditions favorables, la croissance est rapide dans la jeunesse (plus de 1m par an) et atteint sa taille adulte en 8 à 10 ans (31).

Figure N° 1 : Répartition géographique de *Acacia seyal* Del. (23)



IV4.5. Utilisations en médecine traditionnelle

Les écorces de tige de Acacia seyal entrent dans le traitement spécifique de la lèpre et de la syphilis ; on les conseille aussi sous forme de décocté pour leur actions purgatives.

Les écorces et racines, en décoction, sont administrées pour traiter les infections de l'arbre urogénital.

La tige séchée et pilée est administrée également per-os comme anti-asthénique physique surtout pour les vieillards.

L'espèce est signalée pour le traitement des ictères et des fièvres bilieuses en association avec le combretum glutinosum : les yeux sont lavés avec le décocté encore chaud de racine d'Acacia seyal et de feuilles de combretum glutinosum

La poudre de racine mélangée à celle de la partie ventrale desséchée d'un hérisson bien gras sert comme aphrodisiaque (31).

Outre les utilisations en médecine traditionnelle, la médecine conventionnelle fait plutôt recours à la gomme en raison de ses propriétés émoullientes et béchiques. Elle entre dans la composition des pâtes officinales, de tablettes et de sirops. Ses propriétés rhéologiques, en particulier la viscosité de ses solutions, ont fait qu'elle a été très utilisée en pharmacotechnie : stabilisant des suspensions, émulsionnant, additif pour la préparation de formes solides per-os, l'encapsulation d'arômes par nébulisation (8) ;

IV4.6. Caractères de la drogue

La poudre de racine constitue la drogue.

IV4.6.1. Caractères morphologiques et organoleptiques

L'écorce desséchée se présente en fragments recourbés de 1 mm d'épaisseur, de longueurs et de largeurs variables selon nos coupes. La surface externe est brune ; la surface interne jaune brun.

Les caractères organoleptiques concernent :

* l'odorat

la drogue a une odeur caractéristique

* le goût

légèrement astringent

* l'aspect

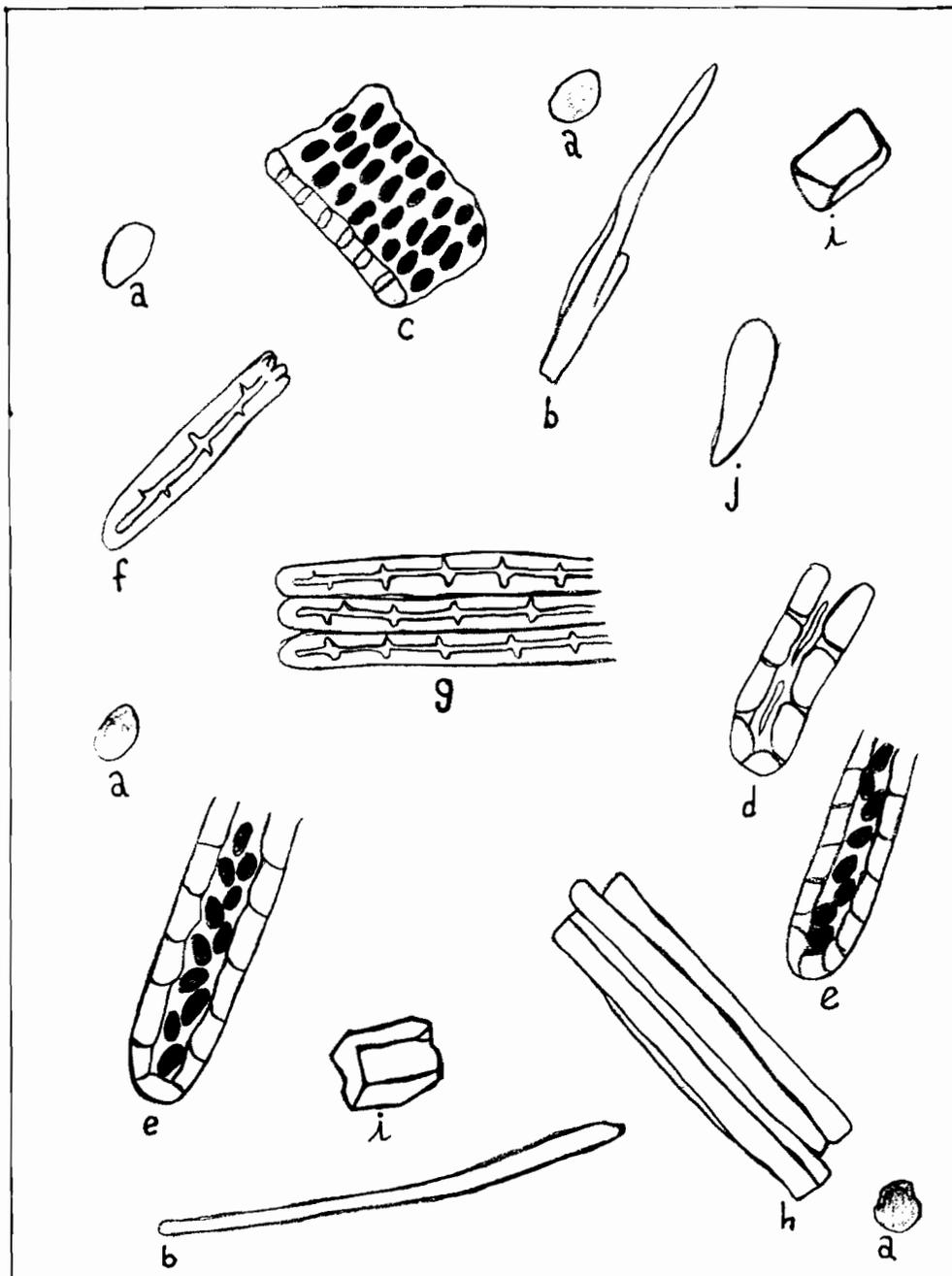
poudre fibreuse

IV 4.6.2. Caractères microscopiques

L'observation microscopique de la poudre de racine entière d'Acacia seyal révèle les éléments suivants : (voir planche N° 3)

- De nombreux grains d'amidon, de forme ovoïde ;
- des poils tecteurs unicellulaires ;
- des fragments de bois réticulés ;
- des fragments de tissus lignifiés ;
- des tissus cristalophères ;
- des cellules sclérifiées ;
- des tissus sclérifiés ;
- des fragments de fibres ;
- des cristaux d'oxalate de calcium ;
- poils tecteurs courts et trapus.

**Planche N° 3 : Observation microscopique de la poudre de racine de
Acacia seyal Del.**



a - grain d'amidon, de forme ovoïde ;
 b - poil tecteur unicellulaire ;
 c - fragment de bois réticulé ;
 d - fragment de tissus lignifié ;
 e - tissus cristalophère ;

f - cellule sclérifiée ;
 g - tissus sclérifié ;
 h - fragment de fibre ;
 i - cristaux d'oxalate de calcium ;
 j - poil tecteur court et trapu.

V. TRAVAUX PERSONNELS

A. METHODOLOGIES

A. METHODOLOGIES

I. MÉTHODOLOGIE DE L'ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE

I.1 Techniques générales d'étude

I.1.1 Récolte de la matière première

La récolte intéresse le système racinaire secondaire. Elle a été faite à FARABOUGOU, village situé à 65 Km de SEGOU. Nous avons récolté les racines entières qui constituent la drogue de même que les feuilles et l'écorce de tronc. L'écorce de tronc et les feuilles ont servi d'éléments d'identifications (herbier) déposés à la Division Médecine Traditionnelle (DMT).

I.1.2 Séchage et pulvérisation

Les racines sont d'abord lavées à l'eau avant d'être fendillées en petits morceaux. Ceux-ci sont étalés sur une claie à l'ombre. Les morceaux obtenus secs ont une cassure nette.

La pulvérisation a été réalisée dans un moulin électrique (Forplex type F1)

Afin de faciliter l'opération, la drogue est préalablement réduite en fins morceaux dans le moulin sans tamis. Les fragments fins recueillis sont divisés en poudre fine dans le moulin muni d'un tamis de 1mm de maille. La poudre obtenue est d'odeur caractéristique.

I.1.3 Dosages

I.1.3 1.EAU

I.1.3.1.1. Dessiccation à l'étuve (3)

Méthode gravimétrique dont le principe consiste à chauffer jusqu'à dessiccation dans un creuset taré une prise d'essai de la poudre de poids déterminé.

Le creuset est de nouveau pesé avec son contenu après refroidissement dans un dessiccateur renfermant un desséchant (chlorure de calcium, anhydride phosphorique). La différence de poids constitue la quantité d'eau contenue dans la prise d'essai.

Mode opératoire : mettre la prise d'essai P dans un creuset en platine sec. Le poids total est évalué à P'. Placer le creuset contenant la poudre à l'étuve à 100° c ± 3°c pendant une durée de 24 heures. Peser de nouveau, soit P" ce poids. La différence P' - P" détermine la quantité d'eau contenue dans la prise d'essai P.

Cette quantité est évaluée pour 100 g de poudre.

La formule est la suivante :

$$\% \text{ en eau} = \frac{(P' - P'') \times 100}{P}$$

P = poids de la prise d'essai

P' = Poids du creuset + prise d'essai avant dessiccation

P" = Poids du creuset + prise d'essai après dessiccation

P' - P" = Perte de poids ou poids d'eau contenue dans la prise d'essai.

I.1.3.1.2 Entraînement azéotropique :

Méthode volumétrique dont le principe consiste à entraîner l'eau par distillation d'un solvant qui ne lui est pas miscible. La réaction azéotropique se passe à une température constante, on utilisera préférentiellement un chauffage électrique avec un contrôle à rhéostat ou un bain d'huile.

L'appareil (voir figure N° 2) est constitué d'un ballon de verre (A) relié par un tube de raccordement (D) à un tube cylindrique de condensation (B) avec un tube collecteur gradué (E).

Le réfrigérant (C) est placé sur le tube cylindrique (B). Le tube collecteur (E) est gradué en 0,1ml de telle façon que l'erreur de lecture ne dépasse pas 0,05 ml.

Mode opératoire

Dans un ballon sec, introduire 200 ml de Toluène et 2 ml d'eau environ ; distillez pendant 2 heures, laissez refroidir pendant une demi-heure et lisez le volume d'eau avec précision de 0,05 ml. Soit n ce volume.

Introduire ensuite dans le ballon une prise d'essai de la substance à examiner, chauffez.

lorsque toute l'eau a été entraînée, rincez au toluène l'intérieur du tube réfrigérant. Continuez la distillation pendant 5mn, arrêtez le chauffage et laissez refroidir le tube collecteur à la température ambiante. Lorsque l'eau et le toluène se sont séparés, lisez le volume d'eau (soit n') et calculez en pourcentage la teneur en eau de la substance à examiner selon la relation $\frac{(n'-n) \times 100}{P}$

P

P = poids en g de la prise d'essai de la substance à examiner

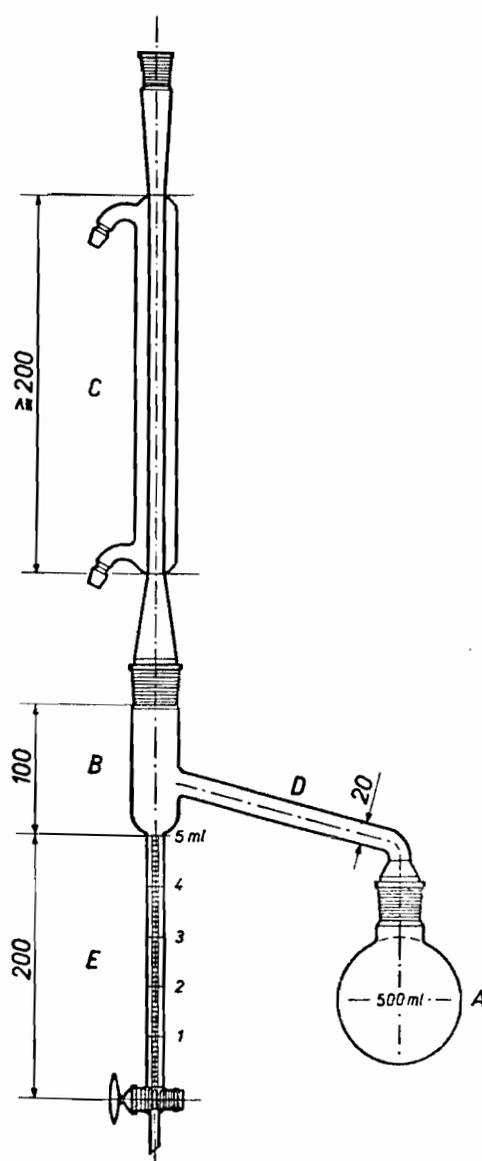
n = nombre de ml d'eau obtenu dans la première distillation

n' = nombre total de ml d'eau obtenu dans les deux distillations

Toluène : point d'ébullition = 110°C

**Figure N° 2 : Appareil pour le dosage de l'eau par entraînement
Azéotropique (3)**

Dimension en mm



I.1.3.2. Cendres

I.1.3.2.1 Cendres totales (3)

Les cendres totales résultent de la calcination complète à l'air. Dans un creuset de quartz à fond plat préalablement calciné au rouge et taré, placez une prise d'essai de 1 à 5 g, exactement pesée, de drogue concassée ou pulvérisée. incinérez d'abord doucement, puis jusqu'au rouge sans dépasser 800° c, au four à moufle. Après disparition de toute particule noire, laissez refroidir dans le dessiccateur et pesez.

Rapportez les cendres à 100 g de substance.

La teneur en cendres totales est déterminée par la formule suivante :

$$\% \text{ cendres totales} = \frac{(P3 - P1) \times 100}{P}$$

P1 = poids du creuset

P2 = Poids du creuset + prise d'essai

P = poids de la prise d'essai = P2 - P1

P3 = poids du creuset + cendres de la prise d'essai

P3 - P1 = poids des cendres.

I.1.3.2.2 Cendres sulfuriques

Les cendres résultent de la calcination au contact de l'air après attaque par l'acide sulfurique.

Mode opératoire : chauffez au rouge pendant 10 mn un creuset de silice ou de platine. Laissez refroidir dans un dessiccateur, puis pesez. Placez dans le creuset la substance à examiner exactement pesée (2-3 g) et ajoutez 2 ml d'acide sulfurique dilué. Chauffez d'abord au bain marie, puis prudemment à feu nu, et finalement avec précaution au rouge sombre (600° c). Continuez l'incinération jusqu'à ce que les particules noires aient disparues, laissez refroidir le creuset, ajoutez quelques gouttes de solution de carbonate d'ammonium, évaporez le liquide et incinérez prudemment.

Laissez refroidir et pesez. Le résultat est rapporté à 100 g de substance.

Recommencez l'incinération pendant 5 mn jusqu'à ce que 2 pesées successives ne diffèrent pas de plus de 0,5 mg.

La formule appliquée est la suivante :

$$\% \text{ cendres sulfuriques} = \frac{(P3 - P1) \times 100}{P}$$

P1 = poids du creuset

P2 = Poids du creuset + prise d'essai

P = poids de la prise d'essai

P3 = poids du creuset + cendres de la prise d'essai

P3 - P1 = poids des cendres

Réactifs : - H₂SO₄ concentré - H₂O 1 - 1 / V- V.

- Carbonate d'ammonium.

I.1.3.2.3 Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique (3)

Les cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique sont constituées par le résidu obtenu après extraction des cendres sulfuriques ou des cendres totales par l'acide chlorhydrique et rapportez à 100 g de drogue.

Mode opératoire : Ajoutez au résidu obtenu lors de la détermination des cendres sulfuriques ou totales, 15 ml d'eau et 10ml d'acide chlorhydrique. Recouvrez d'un verre de montre, faites bouillir doucement pendant 10 mn ; laissez refroidir. Filtrez le résidu sur un filtre sans cendre et lavez à l'eau chaude jusqu'à ce que le filtrat soit neutre. Desséchez, incinérez jusqu'à rouge sombre, laissez refroidir au dessiccateur et pesez. Recommencez l'incinération jusqu'à ce que la différence entre deux pesées consécutives n'excède pas 1 mg.

Réactif HCl à 10 %

$$\% \text{ cendres insolubles dans HCl} = \frac{(P3 - P1) \times 100}{P}$$

P1 = poids du creuset

P2 = poids du creuset + prise d'essai

P = poids de la prise d'essai = P2 - P1

P3 = poids du creuset + cendres

P3 - P1 = poids des cendres

Le dosage des cendres permet de mettre en évidence les charges minérales des drogues. Certains éléments peuvent être caractérisés et éventuellement dosés par les méthodes classiques (colorimétrie, complexométrie, photométrie de flamme).

I.1.4 Extraction

I.1.4.1 Macération

Elle consiste à laisser séjourner successivement la drogue durant 72 heures dans différents solvants : cyclohexane, méthanol, eau-méthanol.

Après filtration, le marc est séché avant d'être repris par un autre solvant. Les macérés obtenus sont concentrés et réduits en petits volumes.

I.1.4.2 Extraction au soxhlet

Introduire une certaine quantité de drogue dans la cartouche et mouillez avant de mettre dans le soxhlet. Versez le solvant extracteur dans le ballon le système de réfrigérant étant en marche, chauffez doucement jusqu'à épuisement.

Ce procédé a été utilisé pour l'extraction des fractions éther éthylique, acétate d'éthyle, n-butanol et eau.

Les fractions recueillies sont concentrées au Rotavapor.

I.1.4.3. Chromatographie sur Couches Minces (C. C. M)

C'est une méthode de séparation physico-chimique rapide. La phase stationnaire (couches minces) utilisée durant tout le long de nos travaux est le silicagel (Référence : gel de silice pour plaque-kieselgel 60 HF 254 Art 7739)

La chromatographie sur couches minces nous a servi à chaque stade de la séparation des composés isolés. Elle permet :

- la comparaison des différentes fractions obtenues au cours des séparations
- le meilleur choix des solvants d'élution des colonnes
- la vérification de la pureté des produits isolés.

Nous avons utilisé en plus des plaques industrielles, des plaques localement préparées au Laboratoire de Médecine Traditionnelle.

a) Préparation des plaques

A 60 g de silice dans un Erlenmeyer, ajouter 120 ml d'eau distillée. Mélanger lentement de façon à obtenir une suspension homogène exempte de bulles d'air et de grumeaux. Les plaques de verre préalablement lavées et séchées sont dégraissées à l'éther.

verser la suspension dans un applicateur bien sec et l'étaler sans interruption sur 5 plaques (20 cm x 20 cm) disposées côte à côte. Laisser sécher à l'air puis placer à l'étuve pendant 1 heure à 100 -105° c.

Avant emploi réactiver les plaques à 100 -105°, enlever une étroite bande de l'adsorbant de chaque côté de la plaque. Elles sont ainsi prêtes à l'emploi.

La phase stationnaire a une épaisseur variant de 0,25 -0,30 mm

b) Dépôts

La substance à étudier est déposée sur la ligne de départ en forme de trait continu ou de point de 6 mm de diamètre, distant de 1,5 cm.

Les dépôts sont faits à 2,5 cm du bord inférieur et 2 cm au moins des bords latéraux de la plaque.

A l'aide de micropipette, déposer en petit volume de 1 -10 μl la substance à analyser.

Après chaque dépôt, évaporer le solvant avec un sèche-cheveux. La plaque est alors prête pour le développement.

c) Développement

Préparer une cuve bien sèche et munie d'un couvercle étanche. Elle doit contenir une quantité suffisante d'éluant approprié (5-8 mm) constituant la phase mobile. Laisser la cuve hermétiquement close pendant un certain temps afin qu'elle soit saturée de vapeur d'éluant. Ce qui influe considérablement sur la séparation.

Introduire la plaque dans la cuve pour le développement tout en s'assurant que les dépôts ne touchent pas l'éluant.

Retirer la plaque après élution et laisser sécher à l'air. La séparation des constituants du mélange s'effectue grâce à l'ascension par adsorption le long de la phase mobile constituée d'un ou de plusieurs solvants. Un choix judicieux de l'éluant s'impose et dépend de la nature des substances à analyser.

Le pouvoir d'élution augmente avec la polarité du solvant.

La constante diélectrique ϵ fournit une mesure de la polarité du solvant. La vitesse d'élution est fonction de la viscosité du solvant et de la structure de la couche (29).

Série éluotrope : (Pouvoir d'élution croissant de haut en bas) (29).

Solvants	ϵ
n- heptane	1,890 à 20°C
cyclohexane	2,023 à 20°C
benzène	2,284 à 20°C
chloroforme	4,806 à 20°C
acétate d'éthyle	6,02 à 25° c
éthanol	24,30 à 25° c
méthanol	33,62 à 20°C
eau	80,37 à 20°C

d) Révélation

Certaines substances sont invisibles à l'œil nu. elles sont détectées grâce à des révélateurs. En l'absence de révélateur spécifique, nous avons le plus souvent eu recours à la lampe UV à 254 nm et à 366 nm.

I.1.4.4. Séparation - Purification

I.1.4.4.1 Chromatographie sur couches minces

(cf. I.1.4.3)

I.1.4.4.2 Chromatographie sur colonne

a) Préparation de la colonne

Utiliser une quantité de support comprise entre 30 et 100 fois le poids du mélange à chromatographier. Nous avons utilisé une colonne de silice dont les références sont les suivantes : kieselgel 60 granulométrie 0,063 - 0,200 mm (70 - 230 mesh ASTM).

Activer préalablement la silice par passage à l'étuve à 100° c et agiter vigoureusement avec 2 fois son poids de solvant, verser le mélange dans une colonne à chromatographier de taille appropriée. Laisser la silice se tasser jusqu'à stabilisation du niveau supérieur afin d'éviter les effets de bord.

b) Dépôt

Dissoudre les produits à chromatographier dans une petite quantité de solution organique et triturer dans un mortier avec un minimum de support utilisé pour la colonne. Poursuivre l'homogénéisation jusqu'à l'évaporation complète du solvant. Déposer le mélange pulvérulent obtenu sur la colonne par petites fractions. Couvrir le mélange d'une couche de support d'environ 2 cm, puis de coton permettant d'amortir la chute du solvant. Remplir ensuite la colonne de solvant d'élution.

c) Elution de la colonne

Ouvrir le robinet en maintenant le débit plus ou moins lent et commencer à recueillir l'éluat. La colonne est ainsi lancée.

Nous avons préféré utiliser des gradients de polarité croissante, après un essai de solvant en C.C.M.

L'extrapolation du solvant utilisé en chromatographie sur couches minces à la chromatographie sur colonne nous a permis de :

- * Prévoir l'ordre de sortie des substances de la colonne, connaissant leur affinité et leur Rf. en C C M avec un solvant donné.

- * Réaliser des éluions dans des temps relativement courts.

Suivre l'éluion avec une lampe U.V (254 - 366 nm). Recueillir l'éluat par petites fractions.

Analyser les fractions par chromatographie sur couches minces.

Réunir les fractions identiques en CCM et concentrer.

Les fractions sont très souvent des mélanges de deux ou plusieurs substances. Dans ces cas les soumettre à une nouvelle chromatographie sur colonne ou à une chromatographie préparative jusqu'à isolement d'un produit chromatographiquement pur.

I.1.4.4.3. Chromatographie préparative sur plaque

Utiliser des plaques dont la phase stationnaire (silice gel 60 HF 254 Art 7739) mesure 2 mm d'épaisseur. Ce qui permet le dépôt d'un volume plus important de produit car sa capacité d'adsorption est plus élevée.

Procéder à des dépôts en ligne ou en point et passer à la migration dans un solvant approprié. Après éluion, sortir la plaque de la cuve, sécher et délimiter les différentes fractions à l'aide d'un crayon sous lampe U.V à une longueur d'onde convenable. Gratter soigneusement les différents spots (ou bandes) afin de ne pas les salir et procéder ensuite à une éluion sur petite colonne.

Placer une couche de coton au bas de la colonne et l'imbiber de solvant éluant ; nous avons utilisé tantôt le méthanol tantôt l'éthanol au cours de nos travaux.

Verser le mélange (silice + fraction) dans la colonne par petites portions et y ajouter l'éluant. Récupérer l'éluat, concentrer, soumettre à une chromatographie de contrôle sur couches minces et apprécier la pureté des fractions.

Tout comme la chromatographie sur colonne, la chromatographie préparative est une méthode de séparation et de purification laborieuse ; elle demande l'utilisation de plusieurs plaques pour obtenir des quantités de produits suffisantes permettant de poursuivre des études ultérieures.

I.1.4.5. Identification

Spectrométrie dans l'ultra-violet

Les spectres dans l'ultra-violet des composés purifiés ont été réalisés dans le méthanol sur spectrophotomètre UVIKON 930 (KONTRON INSTRUMENTS).

II. METHODOLOGIE DE L'ETUDE PHARMACOLOGIQUE

II.1. Methodes d'explorations fonctionnelles hépatiques

A chaque fonction correspond une batterie de tests plus ou moins spécifiques et sensibles.

Ces tests incorporés aux autres examens complémentaires et tous placés dans un contexte clinique permettent le diagnostic de nombreuses maladies hépatiques.

C'est ainsi que nous distinguons les méthodes d'explorations fonctionnelles hépatiques directes et indirectes.

II.1.1. Méthodes indirectes

II.1.1.1. Epreuve à la Bromo-sulfone phtaleine (B.S.P) : clairance hépatobiliaire de la B.S.P

L'introduction des colorants dans l'exploration fonctionnelle hépatique remonte à très longtemps.

Déjà en 1898, le bleu de méthylène et le rose de Bengale étaient utilisés. En 1924, ROSENTHAL et WHITE ont introduit la B.S.P. qui est la disulfonate de Na de la phénol tétrabromophtaleine.

a). Principe et intérêt de l'épreuve à la B.S.P

*** Principe de l'épreuve**

La BSP administrée par voie I.V se fixe sur les molécules d'albumine. Ainsi véhiculée jusqu'au foie, elle est captée non par les cellules de Kupffer mais par l'hépatocyte lui-même qui le déverse ensuite dans la bile après conjugaison (sulfoconjugaison).

PLAA (14) indique que le rat et le lapin excrètent 1 mg de B.S.P /mn /kg

*** Intérêt de l'épreuve**

Malgré son ancienneté, l'épreuve demeure très sensible.

NATAF (22) faisant une observation sur les hépatites aiguës ou asymptomatiques dues à l'alcoolisme constate que seule la B.S.P est et reste perturbée respectivement avant l'apparition et la disparition des signes cliniques et biologiques.

b) Variations

CANTAROW et WIRTZ trouvent une corrélation entre la vitesse d'apparition de la B.S.P dans la bile et le bon état du parenchyme hépatique. En effet elle traduit le temps de sensibilisation de la cellule hépatique à la molécule de B.S.P.

- **Une clairance normale de la B.S.P** atteste un débit hépatique et une efficacité d'épuration normaux. Il en résulte que la cellule hépatique fonctionne normalement (captation de la B.S.P) et que les voies biliaires sont libres (afin que la B.S.P puisse être éliminée).

Les cholérétiques en favorisant le drainage biliaire diminuent la rétention sanguine de la B.S.P. (26).

- **Une diminution de la clairance de la B.S.P** est la conséquence d'une diminution du débit sanguin hépatique (comme dans l'insuffisance cardiaque), d'une insuffisance cellulaire hépatique (comme dans l'hépatite virale) ou d'une obstruction des voies biliaires.

Chez le cirrhotique, la clairance à la B.S.P est particulièrement perturbée, par diminution du débit sanguin hépatique et par insuffisance cellulaire (26).

- **Une augmentation de la clairance** chez certains sujets porteurs d'une splénomégalie est due à une élévation du débit sanguin hépatique (26).

c) Conclusion

La clairance hépatique de la B.S.P. permet l'exploration du métabolisme cellulaire (captation, conjugaison, et excrétion) et le transit cholédocien. Il est plus sensible que le dosage du cholestérol et de la bilirubine (22).

II.1.1.2. Fonctions excréto-biliaires

II.1.1.2.1. Bilirubinémie

La bilirubine est un pigment tétrapyrrolique qui provient chez un sujet normal pour 80 à 90 % du catabolisme de l'hème dans le système réticulo-endothélial à partir de l'hémoglobine des hématies et pour 10 à 20 % du catabolisme des érythroblastes et érythrocytes.

Elle provient également du catabolisme de certains enzymes héminiques dans l'hépatocyte (28)

a) Principe :

Le principe repose sur la réaction de diazotation d'HIJMANS VAN DEN BERG (méthode colorimétrique).

Le dosage de la bilirubine conjuguée (BC) (soluble dans l'eau) se fait directement (bilirubine directe) ; celui de la bilirubine totale (BT) (bilirubine libre insoluble + bilirubine conjuguée) s'effectue de façon indirecte en présence de solubilisateur qui est la caféïne.

La bilirubine libre (BL) est déduite de la différence des deux précédentes c'est à dire $B_L = B_T - B_C$

b) Variations

*** La bilirubine libre augmente en cas d'ictère hémolytique et hépatique.**

*** L'accroissement de la bilirubine conjuguée** est observé dans les cas suivants :

- les ictères par rétention
- les ictères par hépatite (ictère catarrhal)
- les ictères par cirrhose

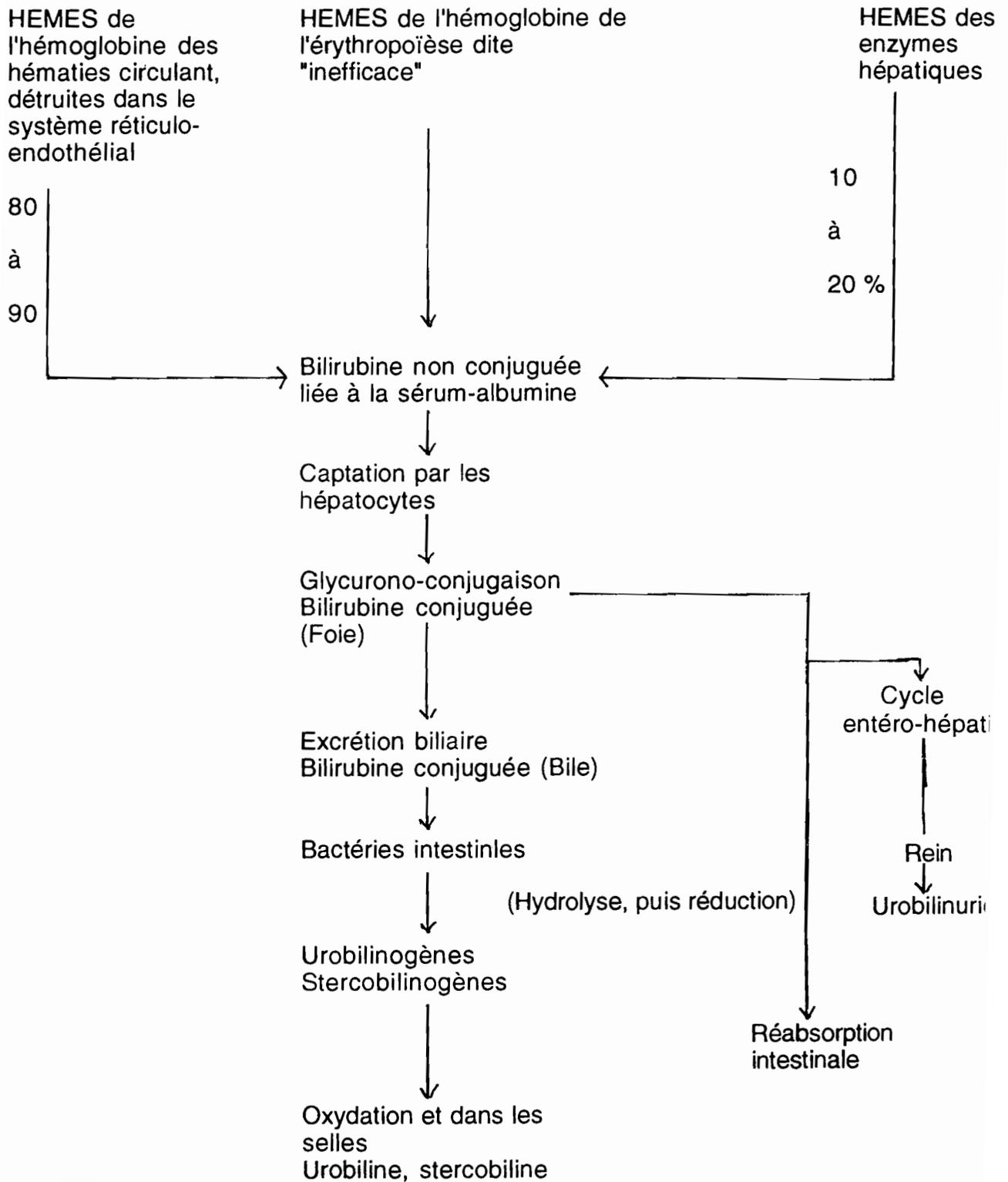
Les cholérétiques diminuent cette bilirubinémie.

Valeurs usuelles

B_T : < 17 $\mu\text{mol/l}$ (< 10 mg/l)

B_C : < 4,2 $\mu\text{mol/L}$ (< 2,5 mg/l).

Schéma N° 1 : Origine de la bilirubine et transformation dans l'organisme (4)



II.1.1.2.2. Cholestérol total et cholestérol estérifié

Le cholestérol existe sous deux formes :

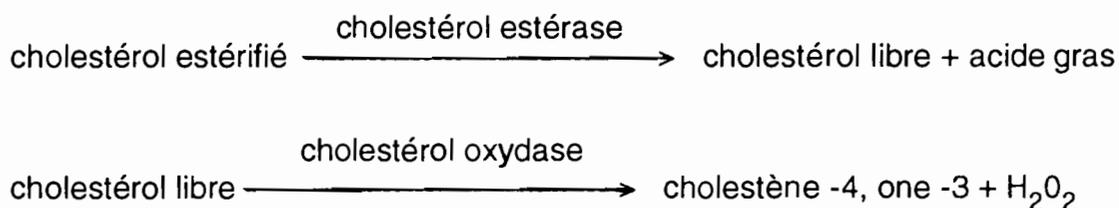
- la forme libre ou cholestérol libre et
- la forme estérifiée ou cholestérol estérifié (l'estérification se fait uniquement dans le foie).

a) Principe

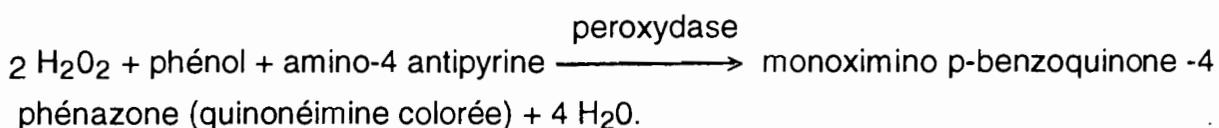
Il existe deux grandes méthodes de dosage :

- les méthodes réductimétriques avec comme variante :
 - * la réaction de LIEBERMANN-BURCHARD (27)
 - * La réaction de ZAK ZLALKIS et BOYLE
- et les méthodes enzymatiques parmi lesquelles nous retiendrons celle d'ALLAIN et collaborateurs (1).

C'est une méthode colorimétrique dont le Schéma réactionnel est le suivant :



Une peroxydase qui en décomposant le peroxyde d'hydrogène en présence d'un chromogène (amino-4 antipyrine + phénol) va aboutir à la formation d'un complexe coloré en rose. La réaction est la suivante :



L'intensité de la coloration du chromogène oxydé à 546 nm est proportionnelle à la concentration du cholestérol initial.

b) variations -Interêt diagnostic et limites

- Dans les insuffisances hépatocellulaires, le rapport cholestérol esterifié est abaissé, 0,65 chez l'homme.
cholestérol total

Le rapport est de 0,70 chez un individu normal.

- Dans les hépatites virales malignes et autres affections graves, le cholestérol total est très abaissé ainsi que le rapport d'estérification (0,30). Il est d'un intérêt pronostic considérable.

- Dans les rétentions biliaires pures, la cholestérolémie est augmentée mais sans indication spéciale. Cependant, cette augmentation est plus considérable dans les cholestases intrahépatiques et devient supérieure à 3 g/l (soit 7,75 mmol/l) dans 50 % des cas.

Valeurs usuelles.

Tableau N°5 cholestérolémie normale (26)

	g/l	mmol (SI)
Cholestérol total (homme)	2,2 ± 0,2	5,5 ± 0,5
Femme	2,0 ± 0,2	5,2 ± 0,5
Enfant	1,7 ± 0,1	4,38 ± 0,25
Cholestérol non estérifié	0,65 ± 0,17	1,65 ± 0,25
Cholestérol estérifié	1,68	4,4 ± 0,5

On considère qu'une valeur de 3 g / l (7,75 mmol/l) constitue une zone dangereuse et entre 2,4 et 3 g/l (6,2 - 7,7 mmol/l) une zone d'insécurité.

Tableau N°6 : Variations du cholestérol en pathologie hépatique (26)

	Cholestérol total		Cholestérol estérifié		P.100 D'estérification
	g / l	mmol / l	g / l	mmol / l	
Valeurs moyennes normales	1,85	4,78	1,30	3,36	70
Stéatose vésiculaire (non compliquée)	3,00	7,75	2,10	5,43	70
Stéatogénose hépatique	4,00	10,34	2,50	6,46	60
Cholestase par obstruction	4,5	11,64	2,00	5,17	44
Cholestase par angiocholite :					
au début	4,00	10,34	2,00	5,17	50
prolongé	8,00	20,68	3,00	7,75	37
Hépatites infectieuses					
modérées	3,00	7,76	1,50	3,88	50
sévères	2,25	5,82	0,75	1,94	33
fatales	1,00	2,58	0,20	0,51	20

II 1.1.2.3 Phosphatases alcalines (P.A.)

Il existe deux types de phosphatases :

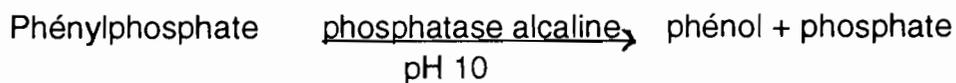
- Les phosphomonoestérases II ou P.A. acides ont une activité maximale environ au pH de 5,3 - 5,6.

- Les phosphomonoestérases I ou P.A. alcalines ont un optimum situé environ au pH de 9,2 - 9,6.

Ce sont ces dernières que nous avons exploitées dans le cadre de l'exploration fonctionnelle hépatique.

a) Principe

Il consiste à la détermination colorimétrique de l'activité des phosphatases alcalines selon la réaction suivante :



Le phénol ainsi libéré est dosé en présence d' amino 4-antipyrine et de ferricyanure de potassium (20).

b) Variations

Valeurs usuelles :

enfant : 71 - 142 UI / l soit 10-20 U Kind et King / 100 ml

adulte : 21 - 92 UI / l soit 3 - 13 U Kind et King / 100 ml

L'obstruction des voies biliaires entraîne une augmentation du taux des phosphatases alcalines tandis qu'il reste normal ou légèrement augmenté en cas d'hépatite.

Les cholérétiques, en favorisant le drainage biliaire, abaissent le taux de ces paramètres.

II.1.1.3. Test de la cytolyse

LES TRANSAMINASES : SGOT- SGPT

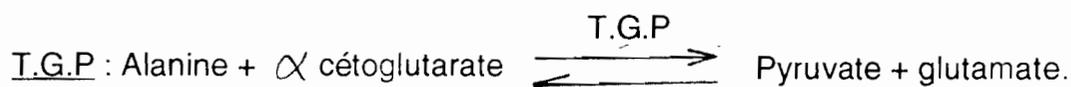
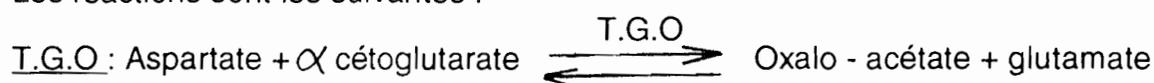
Les transaminases sont des enzymes spécifiques qui activent le transfert réversible du radical aminé d'un acide α aminé sur un acide α cétonique.

La détermination des transaminases sériques porte le plus souvent sur la transaminase glutamique pyruvique (T.G.P.) et la transaminase glutamique oxaloacétique (T.G.O).

a) Principe

Il consiste à la détermination colorimétrique de l'activité T.G.O et T.G.P par la méthode de Reitman et Frankel (24).

Les réactions sont les suivantes :



Le pyruvate et l'oxaloacétate formés, en présence de la 2-4-Dinitrophényl hydrazine (DNPH) développent en milieu alcalin une coloration brune dosable par spectrophotométrie.

b) Intérêts diagnostics et limites

Dans le sérum normal, la transaminasémie est relativement basse. Elle devient élevée par suite de lésion de certains organes ou tissus (foie, cœur, rein, muscle,...). Donc contrairement à l'O.C.T (ornithyl-carbamyl transférase) les transaminases ne sont pas spécifiques du foie car on les retrouve dans plusieurs tissus.

La transaminasémie est pathognomonique dans certaines affections telles que les hépatites aiguës, virales ou toxiques.

Le dosage des transaminases permet le diagnostic précoce et précis de l'infarctus du myocarde (T.G.O) et constitue un test précoce de toutes les affections hépatiques entraînant une nécrose cellulaire (T.G.P) car elles augmentent bien avant la phase ictérique.

c) Variations :

Dans les cas de nécrose hépatique, on observe une forte élévation de T.G.P par rapport à la T.G.O ; elle revient très rapidement vers la normale quand on s'approche de la guérison.

Valeurs usuelles dans le sérum :

T.G.O : <40 unités/ml

T.G.P : <45 unités/ml.

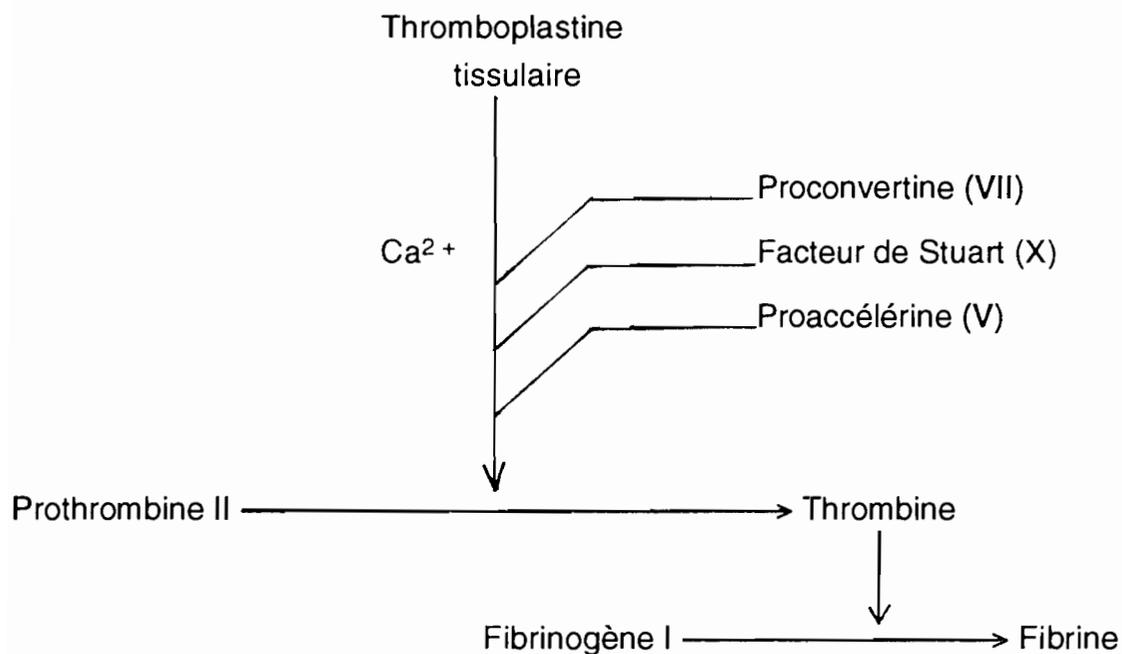
Certains laboratoires préconisent par ailleurs le dosage de l'OCT, de la Lactico-deshydrogénase (L.D.H), de la Sidéremie et de la vitamine B1 sérique.

II 1.1.4 Fonctions hépato-cellulaires :**II-1.1.4.1. Temps de Quick :****a) Principe**

Le temps de Quick est le temps de Coagulation d'un plasma décalcifié (1 ml) auquel on ajoute de la thromboplastine calcique (Facteur III tissulaire).

Il permet d'apprécier la valeur globale du complexe prothrombinique : facteur de Stuart (facteur X), facteur V (proaccélélerine), facteur VII (proconvertine), facteur II (prothrombine).

SCHEMA N° 2 : FACTEURS DE LA COAGULATION INTERVENANT DANS LE TEMPS DE QUICK (13)



b) Variations:

Le temps de Quick est allongé par l'insuffisance hépatique. Ce test ne permet pas de distinguer une insuffisance hépatique d'une insuffisance en vitamine K.

Dans l'ictère par obstruction, l'allongement n'atteste pas une insuffisance hépatique mais plutôt une carence en vitamine K, qui n'est plus absorbée suite à un défaut d'écoulement biliaire. C'est un bon moyen pour le pronostic.

Le test de confirmation est celui de Koller.

Il consiste à administrer à un sujet ictérique dont le temps de Quick est abaissé de la vitamine K.

Il redevient normal dans les cas d'ictère par obstruction, sinon le sujet présente une insuffisance hépatique.

Valeurs usuelles :

Homme > 70 s

Chien : 6,5 s - 8,5 s

II-1.1.4.2 Proteines Sériques Totales :

a) Principe :

Le dosage des protéines sériques utilise deux grandes méthodes :

- les méthodes physiques (densimétrie, refractométrie, spectrophotométrie vraie)
- les méthodes chimiques (précipitation et pesée, précipitation et néphelométrie, minéralisation puis dosage de l'ammoniaque formé enfin colorimétrie).

La colorimétrie utilise la réaction classique du Biuret.

Taux normaux

Homme = 72-78 g/l

Chat = 54-80 g/l

Chien = 63-89 g/l

Cheval : 66-82 g/l

Les protéines totales sont constituées d'albumines et de globulines.

L'albumine est presque entièrement synthétisée par l'hépatocyte et constitue plus de la moitié des protéines totales.

b) Variations :

L'abaissement du taux d'albumine conditionne, en cas d'insuffisance hépatique, l'apparition d'ascite.

Les tests de floculations bien que pouvant mettre en évidence un déséquilibre dans la fraction globulinique des protéines sanguines, ne sont pas spécifiques du foie.

Le dosage chimique devrait être complété par une étude électrophorétique et même immunoelectrophorétique.

Les cholérétiques auraient un effet hépatoprotecteur d'où leur influence sur ces paramètres. L'évolution de ces derniers sert à apprécier les capacités fonctionnelles du foie

II-1.2. Méthodes Directes :

Elles étudient directement la cholérèse sur les animaux de laboratoire grâce à une fistule cholédocienne.

Les cholérétiques sont des substances qui induisent la sécrétion biliaire suite à leur activité sur les hépatocytes. De part leur activité, nous distinguons les cholagogues et les cholérétiques.

- **les cholérétiques** Augmentent la cholérèse par action au sein de l'hépatocyte.

Suivant la qualité de la bile, les cholérétiques recouvrent deux entités :

- **Les hydrocholérétiques** : augmentent le volume hydrique biliaire (bile diluée)
- **Les cholérétiques vrais** : favorisent l'excrétion d'une bile concentrée ou tout au moins de qualité identique à celle des animaux non traités.

- **Les cholagogues** : facilitent l'évacuation, c'est à dire la vidange de la vésicule biliaire par une contraction vésiculaire harmonieusement coordonnée avec l'ouverture du sphincter d'Oddi. Physiologiquement cette vidange vésiculaire est sous la dépendance de la cholécystokinine-pancréatozine (CCK-PZ) dont la sécrétion duodénale est normalement déclenchée par l'arrivée de lipides, et plus accessoirement de peptides, à ce niveau : les cholagogues semblent tous agir en provoquant une sécrétion de CCK-PZ (telle le sorbitol) (21).

Ces méthodes envisagent l'étude du débit de l'extrait sec et des constituants biliaires.

II-1.2.1 Débit biliaire et extrait sec

La bile est collectée selon une périodicité constante durant des heures voire des jours.

Le débit biliaire est exprimé en ml, nombre de gouttes ou en mg par unité de temps.

ROZE (25) étudie la variation du débit biliaire chez le rat à des intervalles réguliers de 30 mn.

Cette étude considère donc le débit biliaire et le poids de l'extrait sec. Elle permet déjà la mise en évidence d'une activité, de différencier une activité cholérétique vraie d'une activité hydrocholérétique, voire de comparer une nouvelle substance hépatoprotectrice à un médicament à activité confirmée (l'acide déhydrocholique par exemple).

Notons que cette étude peut être complétée par une étude qualitative de la bile.

II-1.2.2. Etude qualitative de la bile

Notons qu'il n'est pas facile de doser toutes les composantes de la bile vue leur grande diversité.

On effectue surtout le dosage de la bilirubine (sous forme conjuguée).

Les cholérétiques augmentent le taux biliaire de la bilirubine.

En plus de la bilirubine, la détermination du taux d'acides biliaires reste possible.

A cause de leur multiplicité, il est pénible de trouver une méthode simple et précise permettant de déterminer directement la totalité des acides biliaires. Mais il existent néanmoins quelques alternatives à savoir (11) :

- estimer grossièrement en poids les sels biliaires en fonction de l'extrait sec (60% de l'extrait sec). (11)
- doser directement après séparation par chromatographie sur couches minces (CCM).

Ces dosages permettront surtout d'élucider le mécanisme d'action de la drogue et nécessitent un matériel plus sophistiqué et coûteux.

II-1.3.Choix d'une méthode

Un choix judicieux s'impose entre les deux grandes méthodes. Ce choix doit tenir compte de la simplicité des techniques, de la rapidité d'exécution et de la signification des protocoles.

Les méthodes indirectes faisant intervenir une multitude de paramètres sont difficiles à étudier dans leur totalité.

De ce fait, nous avons choisi les méthodes directes car il faut des protocoles expérimentaux simples, rapides, peu onéreux mais significatifs pour la mise en œuvre de l'étude pharmacodynamique des drogues nouvelles.

Nos études pharmacodynamiques ont porté sur l'étude de la cholérèse à travers l'évaluation du débit biliaire, du poids de l'extrait sec biliaire et du poids biliaire.

II-2. Etude de la Cholérèse chez le lapin :

Elle constitue une méthode d'exploration de la fonction exocrine hépatique.

II-2.1. Matériel et Méthodes :

II-2.1.1. Matériel

II-2.1.1.1. Matériel végétal

La poudre de racine entière d'Acacia seyal Del. constitue la drogue.

Elle est soumise à l'extraction par différents solvants à savoir :

- le cyclohexane
- le méthanol
- le mélange eau-méthanol (50-50/V-V)
- le butanol
- l'éther
- l'acétate d'éthyle et
- l'eau.

Les extraits obtenus sont destinés à l'administration à l'animal.

II-2.1.1.2. Animaux et anesthésique

- Aucune discrimination de sexe ou de race n'a été faite chez les lapins utilisés.

Le protocole exclut les femelles gestantes.

Les lapins n'ont pas séjourné dans le laboratoire et n'ont point été soumis à un régime diététique spécial avant l'expérimentation.

- Poids moyen : 1,765 kg
- L'URETHANE à 50 % (P/V) a été utilisé pour l'anesthésie.

II-2.1.1.3. Collecte biliaire

Des cathéters transparents en polyéthylène de diamètres intérieur et extérieur respectifs 0,5 mm et 1 mm drainent la bile dans des flacons tarés non gradués d'environ 6 ml.

Un flacon du même calibre que nous avons gradué permet par juxtaposition une mesure volumétrique de la bile collectée ; cela évite le transvasement pouvant entraîner une déperdition de volume.

II-2.1.1.4. Dessiccateur :

La bile est mise à sécher dans une étuve de température intérieure voisine de 100°C.

N.B En plus du matériel sus-cité, nous avons utilisé le matériel indispensable à une dissection.

II.2.1.2. Méthodes

II.2.1.2.1. Mise en évidence de l'activité cholérétique

Grâce à une fistule cholédocienne la bile est collectée dans des flacons tarés, changés chaque 30 mm.

La cholérèse est appréciée grâce à l'évolution du poids biliaire, du poids de l'extrait sec et du volume biliaire en fonction du temps.

II-2.1.2.2. Protocoles expérimentaux

a) Préparation des lots d'animaux.

- **Lots Témoins** : Deux lots témoins ont été constitués à savoir un lot auquel il a été injecté de l'huile d'arachide et un lot n'ayant rien reçu. Ces lots se composent de 3 lapins chacun.

La constitution du lot huile d'arachide se justifie par l'utilisation de ce solvant comme véhicule de certains extraits secs (extrait cyclohexane, et extrait éther) liposolubles.

Les autres extraits ont été solubilisés dans l'eau physiologique.

Leur activité est comparée à celle du lot témoin n'ayant rien reçu ; tandis que l'activité des extraits liposolubles est comparée au lot huile d'arachide.

Poids moyen Témoin : 1,603 kg

- **Lots tests** : ils sont constitués chacun de 3 lapins de poids moyen : 1,7935 kg

- Epiler les régions à inciser. Les animaux sont pesés au préalable afin de pouvoir déterminer la dose d'anesthésique.

b) Préparation de la substance à injecter :

Procéder à une macération ou à une extraction au Soxhlet.

Mettre les extraits obtenus à sécher dans l'étuve et peser.

Reprendre les résidus sec par 10 ml de solvant (eau physiologique ou huile d'arachide neutre). Après solubilisation, passer à une filtration sur papier.

c) Anesthésie :

Soumettre les lapins à une anesthésie générale à l'uréthane (solution aqueuse à 50 % P/V) après pesée.

La dose d'administration que préconise Hoffman (18) est de 4 ml/kg de poids avec une solution d'uréthane à 25 %. Cette dose n'ayant pas été satisfaisante et afin d'éviter d'injecter une grande quantité de liquide anesthésique nous avons modifié ce protocole.

La dose était de 2,5 ml/kg de poids corporel avec une solution concentrée d'uréthane à 50 % (P/V).

La voie d'administration est la voie intrapéritoniale (I.P).

d) Fistule cholédocienne :

d1. Opérations préliminaires :

- Préparer extemporanément la solution aqueuse d'uréthane à 50 % (P/V).

Etaler le lapin anesthésié en décubitus dorsal sur une table à dissection, la lampe l'éclairant au-dessus.

- Remplir le cathéter de sérum physiologique et une seringue de Na F à 0,1 %.

Tailler en biseau l'une des extrémités du cathéter (afin de faciliter son introduction dans le canal cholédoque) et boucher l'autre à la flamme.

- disposer de tout le matériel nécessaire pour l'opération.

d.2. Cathétérisation du canal cholédoque :

- Inciser l'abdomen sur une longueur de 5-7 cm ;

- Ecarter les bords de la plaie opératoire à l'aide de pinces ;

- Oter le canal cholédoque des viscères et isoler soigneusement ;

- Ligaturer au niveau du duodenum afin d'éviter l'arrivée des sécrétions pancréatiques ;

- Poser un clamp sur le canal cholédoque à quelques mm du foie pour bloquer l'arrivée de la bile ;

- Effectuer une hémisection en V sur le canal à l'aide de petits ciseaux courbes, introduire le cathéter (bout en biseau) sur quelques mm et ligaturer ;

- Enlever le clamp et sectionner l'autre extrémité du cathéter : la bile jaillit ;

- Commencer à récupérer la bile dans un flacon numéroté et taré après avoir laissé couler l'eau préalablement contenue dans le cathéter;

- Chronométrer.

e) Administration des extraits :

Administer les extraits par voie intraveineuse (I.V). Utiliser principalement la veine fémorale et accessoirement la veine marginale de l'oreille du lapin.

e.1.Cathétérisation de la veine fémorale :

- Epiler au niveau de la cuisse la face intérieure de la patte, puis inciser ;
- Dégager soigneusement la veine ;
- Ligaturer l'extrémité distale ;
- Faire une hémisection à quelques mm de la ligature ;
- Un cathéter à extrémité taillée en biseau est monté sur une seringue contenant une solution anticoagulante de Fluorure de sodium à 0,1 % (NaF 0,1-Eau physiologique qsp 100 ml).
- Introduire et ligaturer sur le cathéter.

e.2.Injection de l'extrait :

Injecter l'extrait exactement à 90 mn du début de la collecte biliaire.

- Enlever la seringue contenant la solution de NaF, le cathéter surmonté de l'aiguille reste en place ;
- Appliquer sur l'aiguille la seringue contenant 0,5 ml d'extrait ;
- Injecter lentement puis enlever la seringue ;
- Replacer la seringue contenant le NaF, pousser légèrement.

N.B : L'injection par la veine marginale de l'oreille se fait directement en introduisant l'aiguille dans la veine ; épiler la région d'injection.

f.Collecte de la bile :

Collecter la bile dans des flacons numérotés et tarés, changer chaque 30 mn et cela pendant 6 heures.

Placer ensuite les flacons dans l'étuve réglée à 100° c après avoir mesuré le volume biliaire et le poids de la bile fraîche.

La bile est ainsi mise à sécher.

Procéder à la détermination du poids de l'extrait sec biliaire.

Conclusion : Cette méthode vise à mettre en évidence, l'effet cholérétique des différents extraits.

B. RESULTATS ET COMMENTAIRES

B. RESULTATS ET COMMENTAIRES

I. RÉSULTATS DE L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE

I.1 DOSAGES

I.1.1 Teneur en eau

I.1.1.1. Par dessiccation à l'étuve

Afin d'obtenir des résultats fiables, l'opération a été répétée 4 fois ; la teneur en eau est déterminée par la moyenne des 4 essais.

La formule appliquée est la suivante :

$$\text{Teneur en eau} = \frac{(P' - P'') \times 100}{P}$$

P = poids de la prise d'essai

P' = poids du creuset + prise d'essai avant dessiccation

P'' = poids du creuset + prise d'essai après dessiccation

P' - P'' = perte de poids ou poids d'eau contenue dans la prise d'essai.

Teneur en eau = 1,3 %

I.1.1.2. Par entraînement azéotropique

$$\text{Teneur en eau} = \frac{(n' - n) \times 100}{P}$$

P = poids en gramme de la prise d'essai = 10 g

n = nombre de ml d'eau obtenus dans la première distillation = 0,90 ml

n' = nombre de ml d'eau obtenus dans la seconde distillation = 1,15 ml

n' - n = nombre de ml d'eau contenus dans la prise d'essai = 0,25 ml

$$\text{Teneur en eau} = \frac{0,25 \times 100}{10} = 2,50 \%$$

Teneur en eau = 2,5 %

I.1.2. Teneur en cendre

I.1.2.1 Cendres totales

La teneur en cendres totales a été déterminée par la moyenne de 4 prises d'essais.

$$\text{Teneur en cendres totales} = \frac{(P3 - P1) \times 100}{P}$$

P1 = poids du creuset

P2 = Poids du creuset + prise d'essai

P = poids de la prise d'essai = P2 - P1

P3 = poids du creuset + cendres de la prise d'essai

P3 - P1 = poids des cendres

Teneur en cendres totales = 3,71%

Les cendres totales résultent de la calcination complète de la drogue à l'air. Elles n'ont pas un grand intérêt interprétatif mais caractérisent néanmoins la drogue.

I.1.2.2 Cendres sulfuriques

La teneur en cendres sulfuriques est donnée par la formule ci-dessous :

$$\text{Teneur en cendres sulfuriques} = \frac{(P3 - P1) \times 100}{P}$$

P1 = poids du creuset = 20,6990 g

P2 = poids du creuset + prise d'essai = 23,1545 g

P = poids de la prise d'essai = P2 - P1 = 2,4555 g

P3 = poids du creuset + cendres de la prise d'essai = 20,8230 g

P3 - P1 = poids des cendres = 0,1240 g.

$$\text{Teneur en cendres sulfuriques} = \frac{0,1240 \times 100}{2,4555} = 5,05 \%$$

Teneur en cendres sulfuriques = 0,05 %

Les cendres sulfuriques sont obtenues par calcination après attaque sulfurique. Le taux élevé par rapport aux cendres totales traduit la présence dans la drogue d'oxydes ou de carbonates volatils qui sont transformés en sulfates non volatils.

I.1.2.3. Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %

$$\text{Teneur en cendres insolubles dans HCl} = \frac{(P3 - P1) \times 100}{P}$$

P1 = poids du creuset = 29,3710 g

P2 = poids du creuset + prise d'essai = 30,3592 g

P = poids de la prise d'essai = P2 - P1 = 0,9882 g

P3 = poids du creuset + cendres = P2 - P1 = 29,5363 g

P3 - P1 = poids des cendres = 0,1653 g

Teneur en cendres insolubles dans HCl à 10 % = 16,73 %.

La teneur élevée des cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique traduit la présence importante d'éléments silicieux dans la poudre de racines de Acacia seyal Del.

I.2. EXTRACTIONS

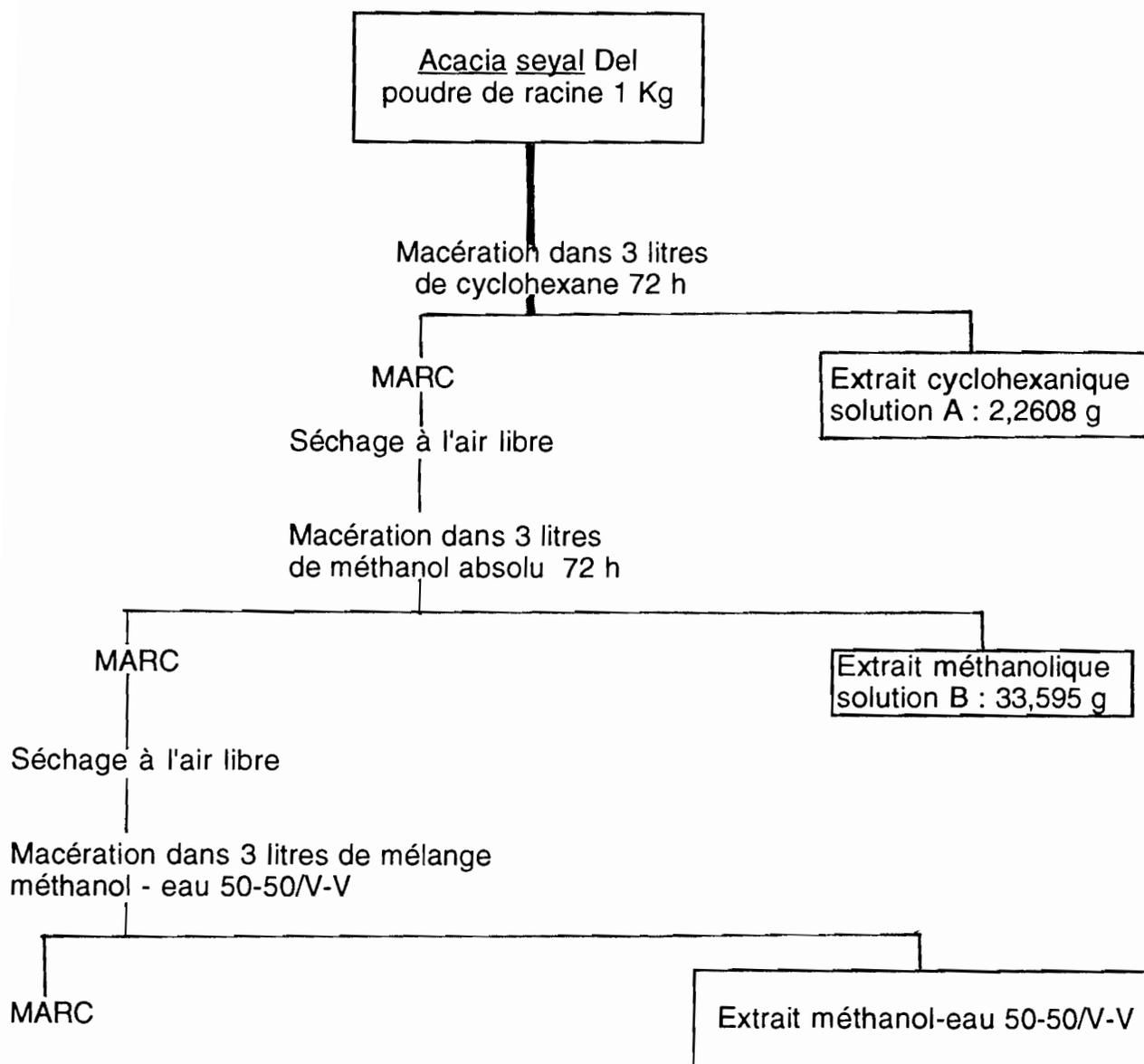
I.2.1. Macérations

Un Kg de poudre de drogue est épuisée successivement par le cyclohexane, le méthanol puis le mélange solvants méthanol-eau 50 - 50 /V-V . Le temps de macération est de 72 heures par solvant. Les macérats filtrés ont été concentrés séparément au Rotavapor, à faible température (50°C et sous pression réduite).

Le marc résiduel a été à chaque étape d'extraction séché avant le passage au solvant qui suit.

Nous avons ainsi obtenu les extraits cyclohexanique (solution A), méthanolique (solution B) et hydrométhanolique (solution C). (Voir Schéma N° 3).

SCHEMA N° 3 : EXTRACTION DE LA POUDRE DE RACINES D'Acacia seyal Del. PAR MACERATIONS



Le tableau ci-dessous indique le volume et le poids du résidu sec des différents extraits.

Tableau N° 7 : Volume des solutions et poids des extraits secs

SOLUTIONS	VOLUMES ml	POIDS D'EXTRAITS SECS g
Solution A	48	2,2608
Solution B	82	33,5954
Solution C	118	16,9802

Nous avons retenu pour la suite de notre travail l'étude de l'extrait méthanolique (solution B).

I.2.2. Extraction au soxhlet

L'extrait méthanolique a été soumis à une série d'extractions au soxhlet respectivement par l'éther éthylique, l'acétate d'éthyle, le butanol puis l'eau (voir schéma N°4)

Extrait éther éthylique . solvant 1

Extrait acétate d'éthyle : solvant 2

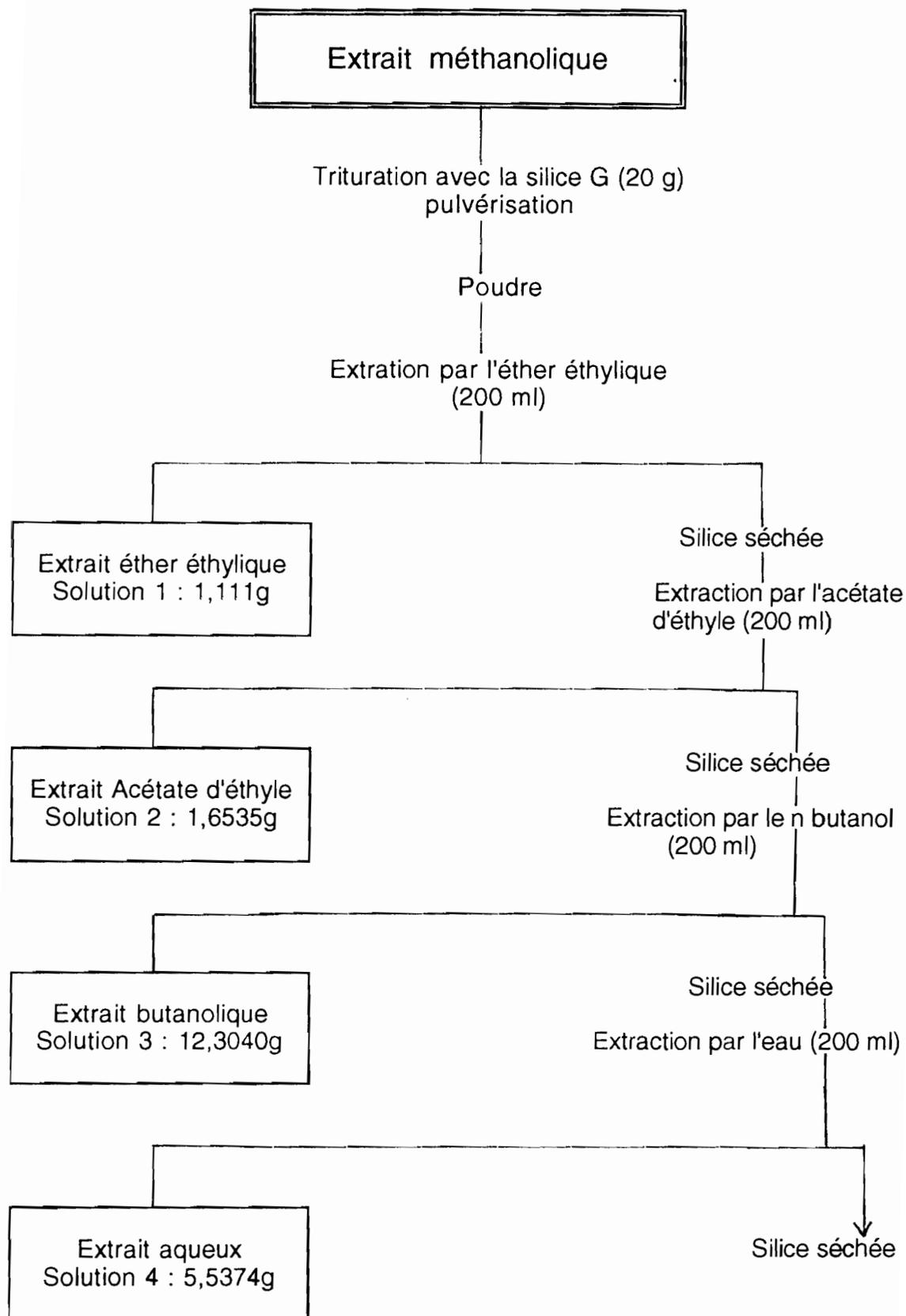
Extrait butanolique : solvant 3

Extrait aqueux : solvant 4

Ce procédé d'extraction permet une exploitation rationnelle des solvants car utilise de petits volumes (200 ml) et dispense de la filtration (évitant la déperdition des substances).

Avant de passer à l'extraction suivante, la cartouche contenant la drogue est séchée à l'air libre à la température du laboratoire.

SCHEMA N° 4 : EXTRACTION AU SOXHLET DE L'EXTRAIT METHANOLIQUE



Le tableau N°8 donne le volume des solutions et le poids du résidu sec des différents extraits.

Tableau N° 8 : Volume des solutions et poids des extraits secs :

SOLUTIONS	VOLUMES ml	POIDS D'EXTRAIT SECS g
Solution 1	30	1,111
Solution 2	60	1,6535
Solution 3	70	12,3040
Solution 4	70	5,5374

L'extrait acétate d'éthyle s'est révélé actif lors du screening pharmacologique (cf II.2.1).

La chromatographie de contrôle sur couches minces nous a permis d'y déceler plusieurs composés, dont un fluorescent bleu à 254 - 366 nm (cf chromatogrammes N° I et II).

Nous avons choisi de purifier ce composé et de tester son activité.

I.2.3. Préparation des extraits à injecter aux lapins

Une partie de chaque extrait est reprise par 10 ml de solvant. Le NaCl à 0,9 % a été utilisé pour les extraits hydrosolubles et l'huile d'arachide pour ceux liposolubles (extrait cyclohexanique , extrait éther éthylique).

Nous avons injecté à chaque lapin 0,5 ml d'extrait.

1ère phase d'expérimentation

**Tableau N° 9 : Dose d'extrait injecté par lapin
(cyclohexanique, méthanolique et hydrométhanolique)**

	Extrait cyclohexanique	Extrait méthanolique	Extrait hydrométhanolique
mg /0,5 ml	23,55	23,60	21,58

2ème phase d'expérimentation

La dose d'extrait administré par lapin des lots éther éthylique, acétate d'éthyle, butanolique et aqueux est de 25 mg /0,5 ml.

3ème phase d'expérimentation

Extrait acétate d'éthyle : fraction contenant le composé fluorescent bleu à 254 - 366 nm.

Dose administrée par lapin = 08,13 mg/0,5 ml de NaCl à 0,9 %.

I.3. PURIFICATION DE L'EXTRAIT ACETATE D'ETHYLE

I.3.1. Chromatographie sur colonne

Nous avons mélangé l'extrait acétate d'éthyle avec 2 g de silice pour le sécher. Le mélange pulvérulent est déposé au sommet d'une colonne de silice G.

La colonne est éluée par le mélange solvant cyclohexane - diéthylamine 80-20 V-V.

Les fractions collectées sont passées en chromatographie de contrôle sur couches minces avec comme support la silice G et comme solvant de migration le mélange solvant cyclohexane-diéthylamine 50-50/V-V. La fraction acétate d'éthyle contenant le composé fluorescent bleu est relativement propre.

I.3.2. Chromatographie préparative sur plaque

La fraction contenant le composé fluorescent bleu est concentrée au Rotavapor jusqu'au volume de 1ml. Elle est déposée en bande sur des plaques de silice G 60 HF 254 Art 7739 de 0,25 mm d'épaisseur.

Le solvant de migration est constitué par le mélange chloroforme-éthanol 95 - 5 / V-V. Les bandes séparées sont grattées. La bande fluorescente bleue est éluée sur une petite colonne avec du méthanol.

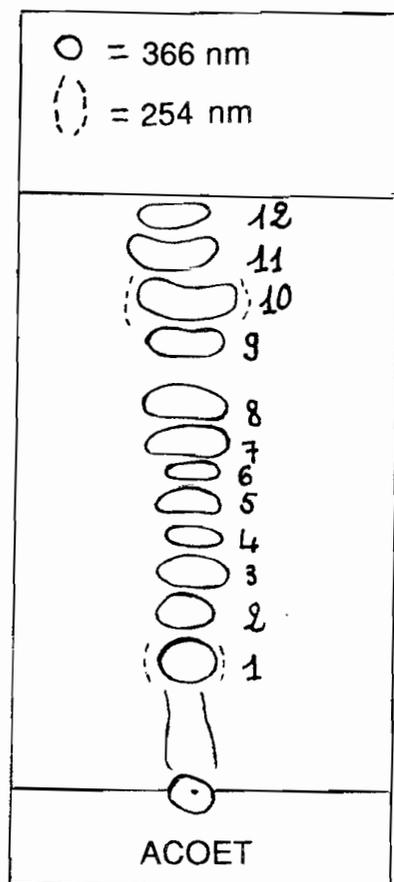
Après C.C.M sur silice G 60 HF 254 - Art 7739, les Rf. du composé ainsi purifié sont données dans le tableau N° 10.

Tableau N°10 : Rf. dans différents solvants de la fraction acétate d'éthyle : composé fluorescent bleu

SOLVANTS V-V		Rf
Cyclohexane	80	0,60
Acétate d'éthyle	20	
Cyclohexane	90	0,39
Acétate d'éthyle	10	
Benzène	90	0,54
Acétate d'éthyle	10	
Chloroforme	95	0,58
Ethanol	05	
Chloroforme	80	1
Ethanol	20	
Benzène pur		0

Pour la révélation, nous avons utilisé la lampe U.V à 254 - 366 nm et du KOH à 50 % :

- U.V à 254 -366 nm : fluorescence bleue
- KOH à 50 % : la tache correspondant à la fluorescence bleue prend une coloration jaune à 366 nm.



N° de spot	Rf	Couleurs	
		366 nm	254 nm
1	0,21	Sombre	Sombre
2	0,30	orangé	"
3	0,36	"	"
4	0,42	"	"
5	0,48	"	"
6	0,53	"	"
7	0,58	Sombre	"
8	0,65	Jaune	"
9	0,75	Sombre	"
10	0,81	Bleu	Bleu
11	0,90	Sombre	Sombre
12	0,96	Rouge	"

Chromatogramme I

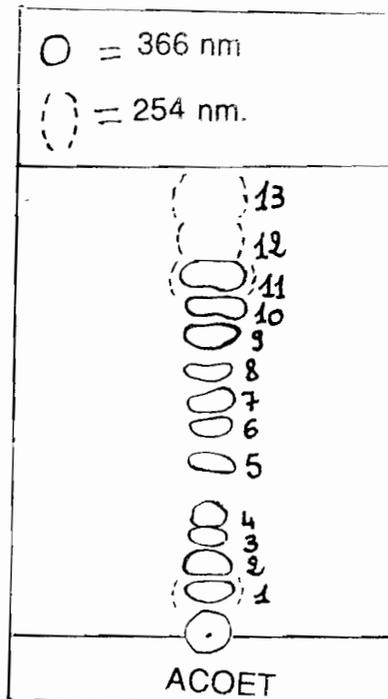
ACOET = Extrait acétate d'éthyle

Adsorbant = Silice G 60 HF254

Solvant = Dichlorométane 95

Ethanol 05

Révéléteur = Lampe uv 254 - 366 nm



N° de spot	Rf	Couleurs	
		366 nm	254 nm
1	0,09	Sombre	Sombre
2	0,15	"	"
3	0,20	"	"
4	0,26	"	"
5	0,36	"	"
6	0,44	Jaune foncé	"
7	0,50	Violet	"
8	0,55	Sombre	"
9	0,63	"	"
10	0,69	"	"
11	0,76	Bleu	Bleu
12	0,82	Sombre	Sombre
13	0,92	Rouge	"

Chromatogramme II

ACOET = Acétate d'éthyle

Adsorbant = Silice G 60 HF 254

Solvant = Chloroforme 95

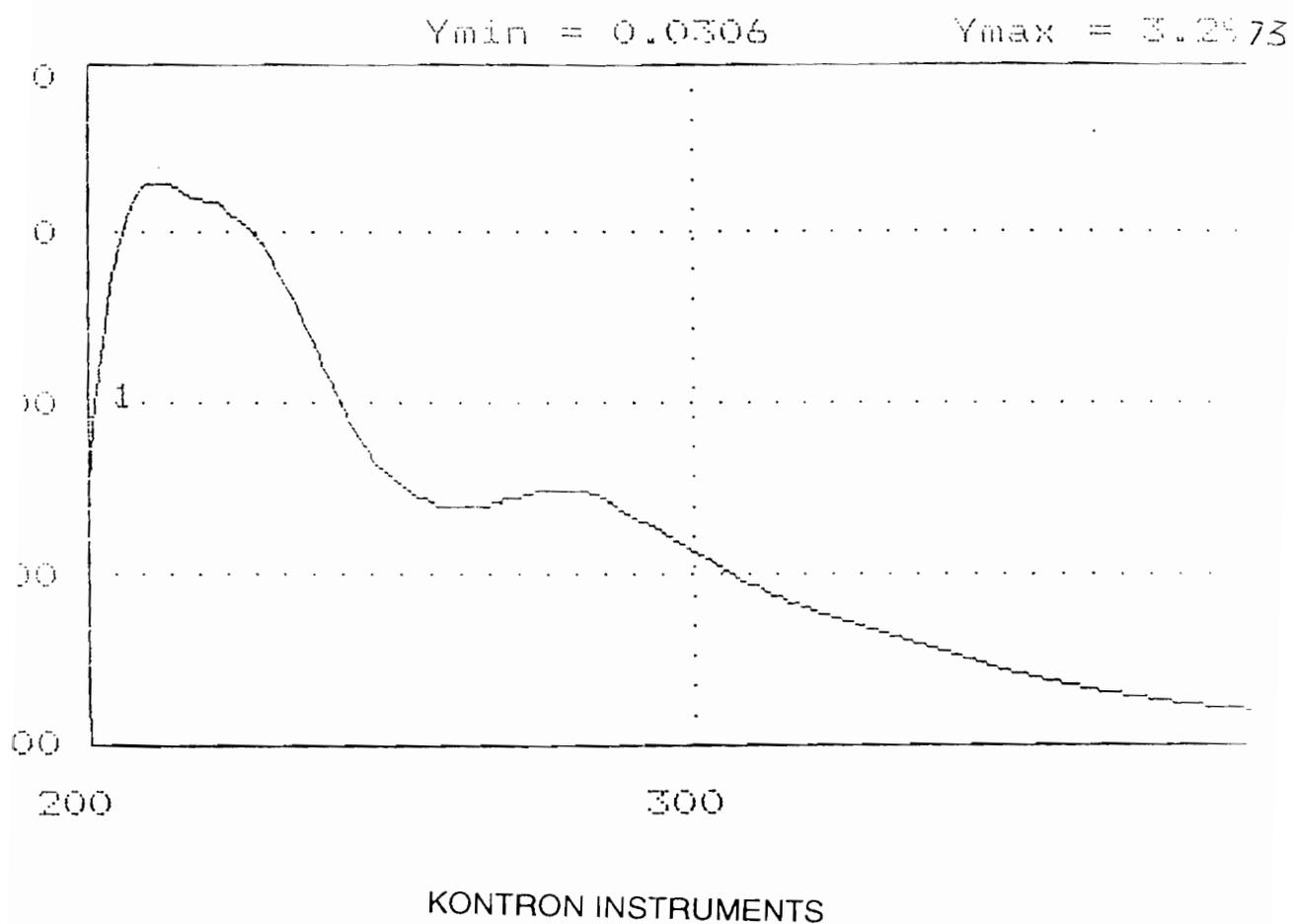
Ethanol 05

Révéléateur = Lampe uv 254 - 366 nm.

1.4. SPECTROMETRIE DANS L'ULTRA-VIOLET DU COMPOSE FLUORESCENT BLEU DE L'EXTRAIT ACETATE D'ETHYLE

Nos moyens d'investigation étant limités, nous ne pensons pas accéder à l'identification du composé fluorescent bleu purifié. Nous avons cependant pu réaliser le spectre ultra-violet de ce composé dans le méthanol pour le caractériser et permettre son extraction et son identification ultérieures.

Figure N° 3 : Spectre Ultra-violet du composé fluorescent bleu à 366 nm dans le méthanol



Le spectre dans l'ultra-violet du produit dissout dans le méthanol a été réalisé sur spectrophotomètre KONTRON INSTRUMENTS. Il présente deux maximums d'absorption à 230 et 280 nm.

II RESULTATS ET COMMENTAIRES DE L'ETUDE PHARMACOLOGIQUE

II.1. Matériel et Méthodes

II 1.1. Matériel

II. 1.1.1. Animaux

Le lapin est l'animal utilisé au cours de notre expérimentation. Cependant, il fournit des réponses assez irrégulières (30) à cela s'ajoute le problème d'extrapolation à l'homme, car il est impossible d'affirmer qu'un produit inefficace sur la cholérèse du lapin soit inopérant chez l'homme (11).

Le rat blanc est l'animal le plus indiqué pour l'étude de la cholérèse à cause des raisons suivantes :

- le débit biliaire stable dans le temps ;
- la similitude de réponse à l'action des cholérétiques entre le rat et l'homme (16)
- le cycle de reproduction court ;
- l'absence de vésicule biliaire qui facilite la collecte biliaire ;
- les sujets âgés de 3 mois sont utilisables pour l'expérimentation
- le coût est relativement faible et l'entretien facile. A défaut du rat blanc qui n'a nullement été retrouvé sur le marché, nous nous sommes contenté d'utiliser le lapin.

II.1.1.2. Anesthésique

L'uréthane est fréquemment utilisé en physiologie et en pharmacologie. Il agit sans altérer la respiration, la circulation ou les réflexes (15).

L'anesthésie et le traumatisme opératoire ne sont pas sans influence sur le rythme de la sécrétion biliaire (11, 30).

En effet, les barbituriques (Phénobarbital, Nembutal) entraînent une élévation de la concentration de sels biliaires et provoquent une augmentation du flux biliaire (11, 30).

Nous constatons un niveau élevé du débit biliaire à la première heure de l'expérimentation. Ce niveau serait dû à l'effet de l'anesthésie et/ou du traumatisme opératoire.

L'anesthésique, en abaissant la température centrale, influence la cholérèse (11). Une table chauffante limiterait mieux les variations thermiques.

II.1.1.3. Drogue

La récolte doit se faire en préservant la racine principale afin d'assurer la survie de l'espèce.

La lyophilisation permet la bonne conservation des extraits. Par ailleurs, elle facilite l'administration de grande quantité d'extrait et à des doses constantes.

II 1.2. Méthode : Action sur la cholérèse

La fistule biliaire permet de disposer de résultats préliminaires qui autorisent à trier lors d'un "Screening" un extrait dont l'étude pourra être approfondie ultérieurement.

La méthode directe que nous avons utilisée, à savoir l'étude de la cholérèse à travers l'évaluation du débit biliaire et du poids de l'extrait sec est certes une méthode simple, facile à réaliser et significative mais ne permet pas à elle seule de tirer une conclusion rigoureuse sur une activité cholérétique.

Il serait souhaitable, n'eut été le coût élevé, d'y associer les méthodes indirectes d'exploration fonctionnelle hépatique (bilirubinémie, cholestérolémie, transaminase, etc...) ; ce qui permettrait non seulement une étude quantitative mais aussi qualitative de la sécrétion biliaire.

Une autre alternative reste possible car peu onéreuse. Il s'agit de coupler à l'étude précédente, la détermination de la clairance hépatobiliaire par excrétion de B.S.P. La détermination de la clairance hépatique par le biais de la B.S.P excrétée permet l'exploration du métabolisme cellulaire (captation, conjugaison et excrétion) et le transit cholédocien.

En rapportant le volume biliaire à la quantité de B.S.P éliminée, il est possible d'établir une corrélation avec l'activité hépatique.

L'étude de la vitesse d'excrétion de la B.S.P est plus sensible que le dosage du cholestérol et de la bilirubine (22).

Concernant la constitution des lots d'animaux d'expérimentation, un gros effort doit être fourni :

- l'utilisation d'un nombre élevé d'animaux par lot ;
- l'homogénéité des lots demande l'utilisation d'animaux de même souche, d'une même portée, de même sexe et de poids corporel voisin ;
- la diète complète met à l'abri de l'influence d'une digestion plus ou moins avancée sur la sécrétion biliaire. GIROUX et BOUCHARD proposent une diète non hydrique de 18 heures (16).

L'effectif réduit de lapins par lots (3 lapins par lot) se justifie par les faibles moyens financiers dont nous disposons. La manipulation des différents lots d'animaux dans des conditions identiques permet de comparer valablement l'activité des extraits obtenus.

II.2. Résultats et Interprétations de la mise en évidence de l'Activité

Cholérétique

L'anesthésie peut expliquer l'élévation du volume biliaire et du poids d'extrait sec chez tous les animaux au cours de la première heure de récolte. Les extraits ont été injectés en I.V une heure et demie après le début de la collecte biliaire, moment correspondant à la stabilisation du débit.

A cause du nombre réduit d'animaux par lot, nous n'avons pu faire aucun test statistique en toute rigueur. Toute fois, nous avons procédé à une interprétation graphique de nos données.

II.2.1. Evolution du volume moyen d'excrétion biliaire en fonction du temps

- **Courbe N°1** : Evolution comparée du volume moyen d'excrétion biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extrait méthanolique, hydrométhanolique et les lapins du lot témoin.

*** Sécrétion basale**

C'est la sécrétion recueillie pendant les 3 premières demi-heures. Chez les animaux du lot témoin et ceux traités par l'extrait hydrométhanolique, nous avons une baisse de la sécrétion respectivement de 33,58 % et 41,17 % ; les deux courbes ont la même allure.

Quant aux animaux traités par l'extrait méthanolique, nous constatons à la 60e mn une diminution de la sécrétion de 16 %, puis une augmentation de 10,92 % à la 90e mn. Cette variation du débit biliaire pourrait s'expliquer par la différence de comportement sécrétoire des lapins traités par l'extrait méthanolique.

*** Sécrétion après administration des extraits**

Il s'agit de la sécrétion à partir de la 90^e mn.

Chez les animaux traités par l'extrait méthanolique, nous avons un niveau de cholérèse élevé (1,50 ml - 2,20 ml). Sa courbe se détache et se situe nettement au-dessus de celles des animaux traités par l'extrait hydrométhanolique et ceux du lot témoin. Le débit biliaire augmente de 6,40 % à la 120^e mn et tend à se stabiliser pendant la demi-heure suivante pour ensuite décroître progressivement jusqu'à la 300^e mn de 26,76 %. Au cours de l'heure suivante (300^e-360^e mn), nous observons une légère augmentation.

Quant aux animaux du lot témoin, le débit baisse de la 90^e à la 180^e mn de 10,75 % ; à la 210^e mn, nous observons une faible augmentation, soit 3,61 % et une stabilisation du débit pendant la demi-heure suivante (240^e mn) ; de la 240^e à la 360^e mn, il décroît de 26,74 %.

Quant aux lapins traités à l'extrait hydrométhanolique, le débit augmente de 20 % à la 120^e mn, décroît à la 150^e mn de 36,66 % puis croît de 39,47 % pendant l'heure suivante. A partir de la 210^e mn, le débit chute jusqu'à la 270^e mn de 12,26 %, augmente de 10,75 % à la 300^e mn et tend à se stabiliser pendant la dernière heure de la collecte.

Tableau N° 11 Evolution du volume d'excrétion biliaire (ml) en fonction du temps (mn)chez les lapins au 101

Temps/mn	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Animaux												
Lapin N°1	1,3	0,9	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,5
Lapin N°2	1,9	1,7	1,6	1,6	1,6	1,4	1,4	1,5	1,5	1,5	1,4	1,2
Lapin N°3	1,0	0,7	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,4	0,3	0,3	0,2
Moyenne	1,40	1,10	0,93	0,90	0,90	0,83	0,86	0,86	0,83	0,80	0,76	0,63

Tableau N° 12 Evolution du volume d'excrétion biliaire (ml) en fonction du temps mn chez les lapins traités par l'extrait méthanologique de Acacia seyal De:

Temps/mn	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Animaux												
Lapin N°1	2,0	1,6	1,7	2,0* inj	2,0	1,7	1,7	1,6	1,6	1,5	1,7	1,6
Lapin N°2	3,3	2,6	2,6	2,9* inj	2,8	2,5	2,4	2,3	2,2	1,8	1,7	1,5
Lapin N°3	1,3	1,3	1,8	1,6* inj	1,6	1,5	1,5	1,5	1,5	1,4	1,4	1,4
Moyenne	2,20	1,83	2,03	2,16* inj	2,13	1,90	1,86	1,80	1,76	1,56	1,60	1,50

* injection = 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait méthanologique.

hydrométhanolique de Acacia seya: Del

Temps/mn	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Animaux												
Lapin N°1	1,2	0,9	0,9	0,4 * inj	0,4	0,5	0,6	0,4	0,2	0,4	0,4	0,3
Lapin N°2	1,7	1,4	1,1	0,9 * inj	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	0,9	0,9
Lapin N°3	2,2	1,5	1,0	2,3 * inj	1,0	1,5	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
Moyenne	1,70	1,26	1,00	1,20 * inj	0,76	0,96	1,06	1,00	0,93	1,03	1,00	0,96

* Inj = 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait hydrométhanolique

**Tableau N° 14 Evolution du volume d'extrait biliaire (ml) en fonction du temps (mn)
chez les lapins traités par l'huile d'arachide**

Temps/mn	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Animaux												
Lapin N°1	2,1	1	0,5	1,9 * inj	1,9	1,9	1,8	1,7	1,5	1,4	1,3	1,2
Lapin N°2	2,5	1,8	1,7	1,6 * inj	1,3	1,1	0,9	0,7	0,7	0,6	0,5	0,5
Lapin N°3	1	0,8	0,7	0,8 * inj	0,8	0,8	0,8	0,7	0,7	0,7	0,6	0,6
Moyenne	1,86	1,20	0,96	1,43 * inj	1,33	1,26	1,16	1,03	0,96	0,90	0,80	0,76

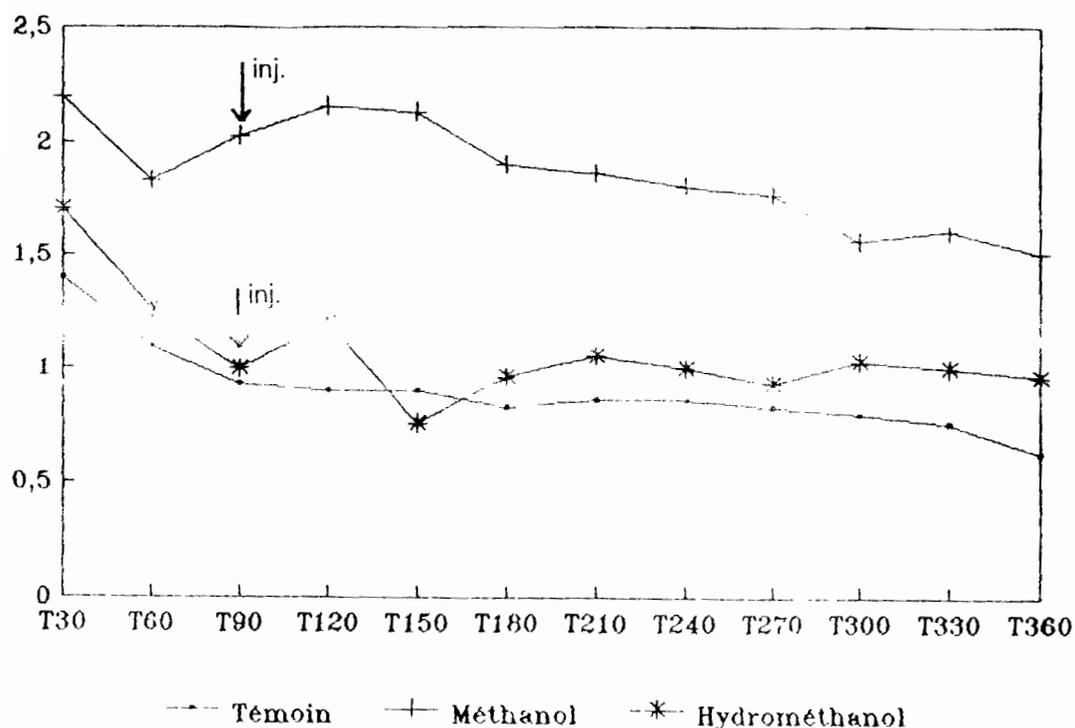
* Inj = 1ère demi-heure parès l'injection de l'huile d'arachide.

Tableau N°15 Evolution du volume d'excrétion biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extrait cyclohexanique de Acacia seyal Del

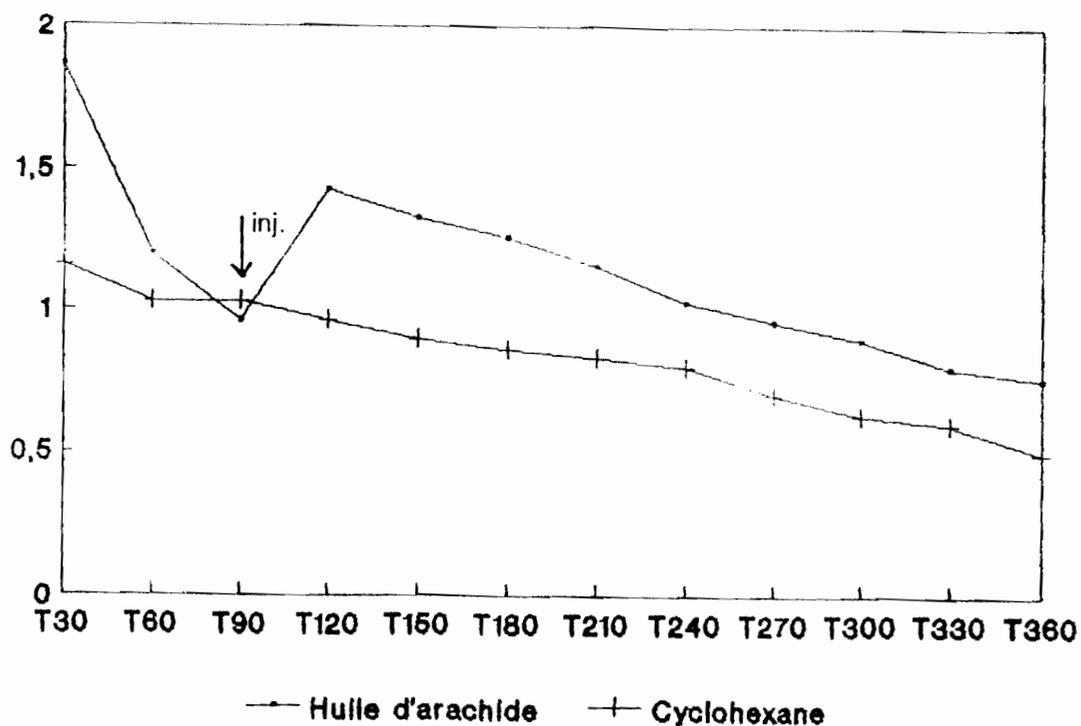
Temps/mn	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Animaux												
Lapin N°1	0,8	0,8	0,8	0,9 * inj	0,8	0,8	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3
Lapin N°2	1,3	1	1,1	1 * inj	0,9	0,9	0,9	0,9	0,8	0,7	0,7	0,6
Lapin N°3	1,4	1,3	1,2	1 * inj	1	0,9	0,8	0,8	0,7	0,7	0,7	0,6
Moyenne	1,16	1,03	1,03	0,96 * inj	0,90	0,86	0,83	0,80	0,70	0,63	0,60	0,50

* Inj = 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait Cyclohexanique.

COURBE N° 1 : Evolution comparée du volume moyen biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait méthanolique et hydrométhanolique d'Acacia seyal Del.



COURBE N° 2 : Evolution comparée du volume moyen biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule et l'extrait cyclohexanique d'Acacia seyal Del.



inj. = Injection de l'extrait

Courbe N°2 Evolution comparée du volume moyen d'excrétion biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extrait cyclohexanique et par l'huile d'arachide seule.

*** Sécrétion basale**

Chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule, nous constatons une chute de la sécrétion basale ; la régression est de 48,38 %. Cette baisse du débit biliaire se retrouve également chez les lapins ayant reçu l'extrait cyclohexanique, elle est de 11,20 %.

*** Sécrétion après injection de l'extrait cyclohexanique et de l'huile d'arachide**

Le débit biliaire, de la 90e à la 120e mn augmente de 48,95 % chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule. A partir de la 120e mn, le débit biliaire diminue progressivement jusqu'à la fin de la collecte (360e mn) ; la diminution est de 46,85 %.

Quant aux lapins traités par l'extrait cyclohexanique, le débit biliaire décroît de la 90e mn à la 360e mn de 51,45 %. Le niveau cholérétique est plus élevé chez les lapins traités par l'huile d'arachide que chez ceux traités par l'extrait cyclohexanique.

Cette élévation du débit biliaire pourrait s'expliquer par l'activité de l'huile d'arachide sur la sécrétion. Sa courbe se situe au-dessus de celle des lapins traités par l'extrait cyclohexanique (Cf courbe N° 2).

Courbe N° 3.

Evolution comparée du volume moyen d'excrétion biliaire en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par les extraits acétate d'éthyle, butanolique, aqueux, composé fluorescent bleu et les lapins du lot témoin.

*** Sécrétion basale**

Le débit biliaire chez les lapins traités par le composé fluorescent bleu est très élevé et sa courbe se situe nettement au-dessus de celle des autres.

Tableau N°16 : Evolution du volume d'excrétion biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extract Acétate d'Ethyle de Acacia seyal Del

Temps / mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin N°1	1,5	1,2	1,1	1,2 * inj	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6
Lapin N°2	1,5	1,0	0,9	1,1 * inj	1,0	1,0	0,9	0,9	0,7	0,7	0,6	0,6
Lapin N°3	1,5	1,1	1,0	1,2 * inj	1,2	0,7	0,7	0,7	0,7	0,6	0,5	0,5
Moyenne	1,50	1,10	1,00	1,16 * inj	1,06	0,86	0,80	0,76	0,66	0,63	0,56	0,56

* Inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'extract Acétate d'éthyle

Tableau N°17 Evolution du volume d'excrétion biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extract Butanolique de Acacia seyal Del

Temps/mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin N°1	1,8	1,6	1,4	1,3 * inj	1	0,7	0,6	0,5	0,2	0,1	0,1	-
Lapin N°2	3,1	2,3	2	1,9 * inj	1,6	1,5	1,5	1,2	1,1	1,1	1	0,9
Lapin N°3	1,3	1,2	1,2	1,2 * inj	1,1	1,1	0,9	0,6	0,5	-	-	-
Moyenne	2,06	1,70	1,53	1,46 * inj	1,23	1,10	1,00	0,76	0,60	0,40	0,36	0,90

* Inj : 1ère demi heure après l'injection de l'extract Butanolique.

Tableau N°18 : Evolution du volume d'excrétion biliaire (ml) chez les lapins traités par l'aqueux de Acacia seyal Del.

Temps/mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin N°1	1,5	0,6	0,5	0,5 * inj	0,7	0,8	0,7	0,6	0,5	0,5	0,4	0,4
Lapin N°2	2,4	2,2	2,1	2,4 * inj	2,3	2,1	2,1	2,1	2,2	2,1	2,0	2,0
Lapin N°3	1,0	0,7	0,6	0,5 * inj	0,4	0,6	0,7	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3
Moyenne	1,63	1,16	1,06	1,13 * inj	1,13	1,16	1,16	1,13	1,10	1,03	0,93	0,90

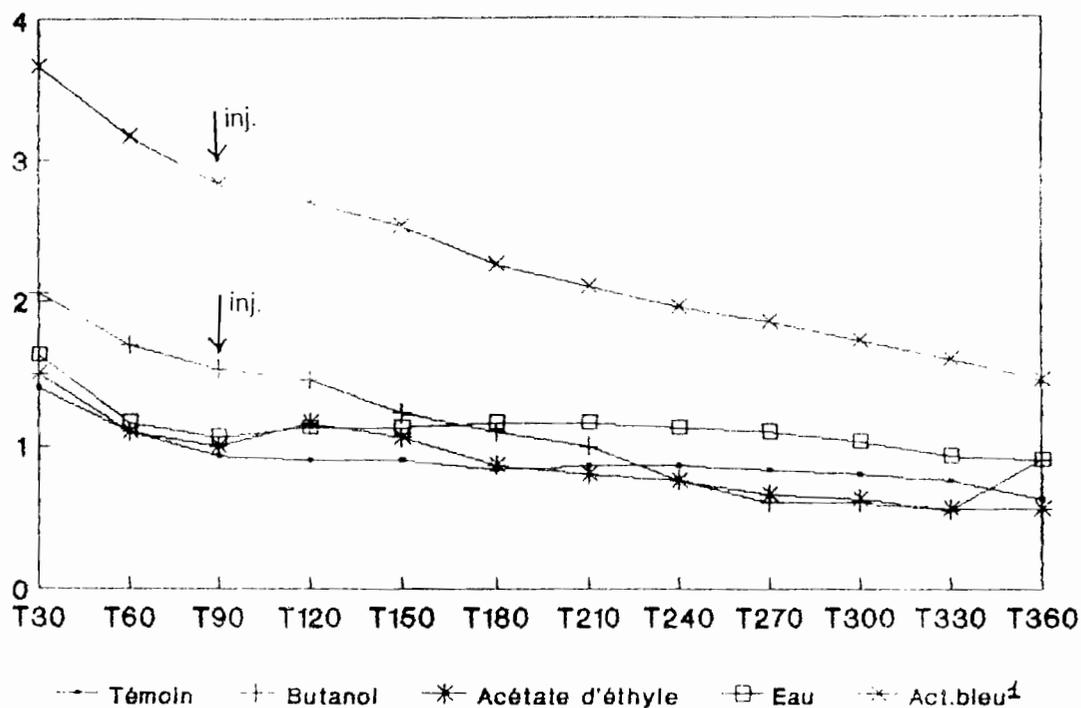
* Inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'extraire aqueux.

Tableau N°19 : Evolution du volume d'excrétion biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par le composé fluorescent bleu à 254 - 366 nm

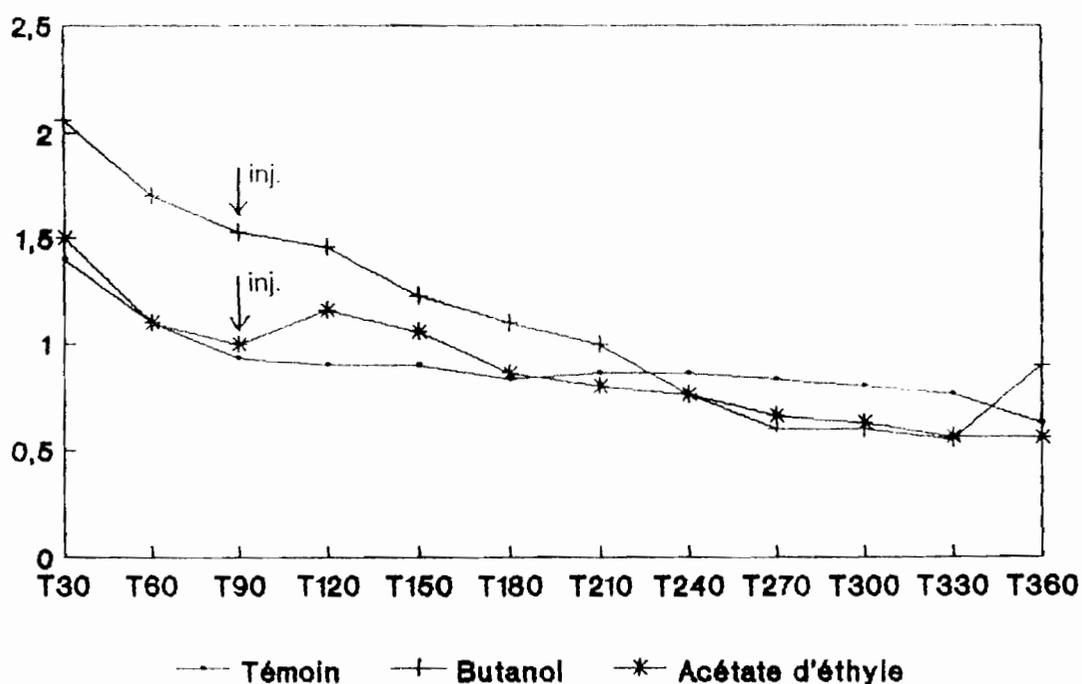
Temps/mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin N°1	2,7	2,2	2,3	2,3 * inj	2,3	2,3	2,2	2,3	2,1	1,9	1,8	1,6
Lapin N°2	5,3	5	4,3	3,9 * inj	3,2	2,7	2,3	2,2	2	2	1,7	1,5
Lapin N°3	3	2,3	1,9	1,9 * inj	2,1	1,8	1,8	1,4	1,5	1,3	1,3	1,3
Moyenne	3,66	3,16	2,83	2,70 * inj	2,53	2,26	2,10	1,96	1,86	1,73	1,60	1,46

* Inj : 1ère demi-heure après l'injection du composé fluorescent bleu

COURBE N° 3 : Evolution comparée du volume moyen biliaire (ml) en onction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait butanolique, acétate d'éthyle, aqueux et le composé fluorescent bleu à 254-366 nm d'Acacia seyal Del.

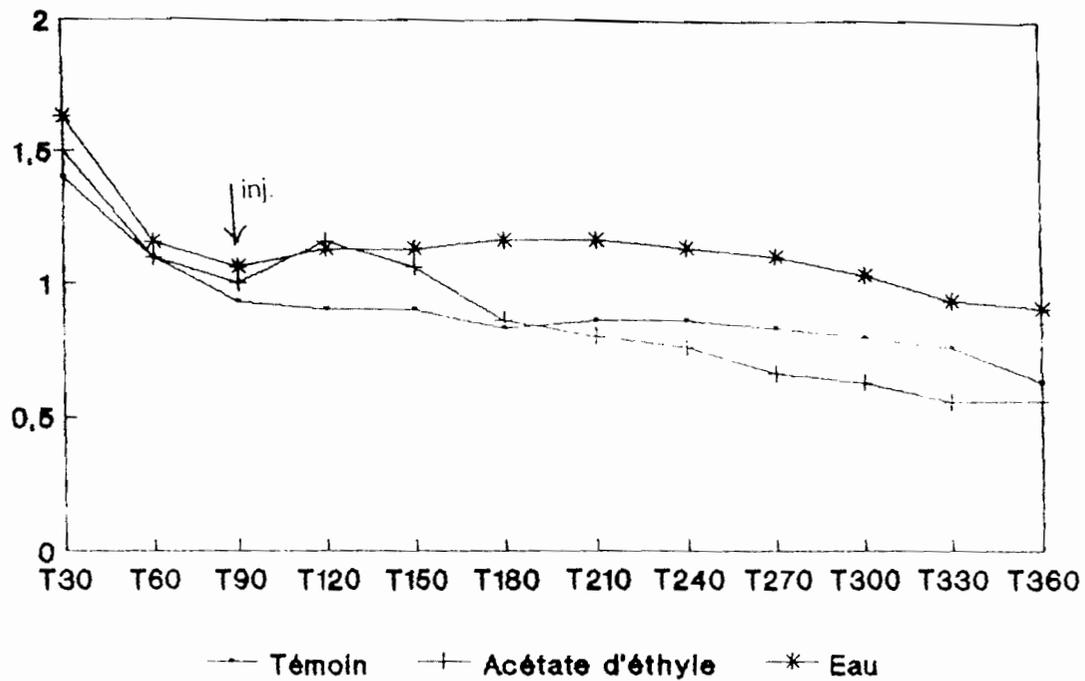


COURBE N° 4 : Evolution comparée du volume moyen biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait butanolique et acétate d'éthyle d'Acacia seyal Del.

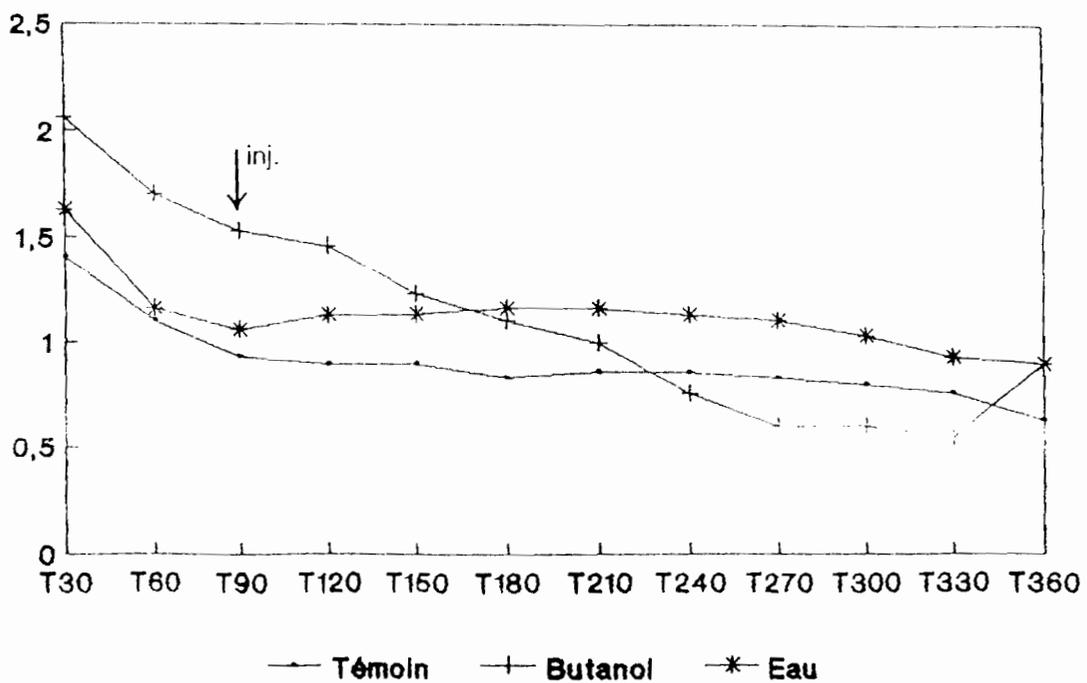


1 = Composé fluorescent bleu à 254-366 nm.

COURBE N° 5 : Evolution comparée du volume moyen biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extract aqueux et acétate d'éthyle d'Acacia seyal Del.

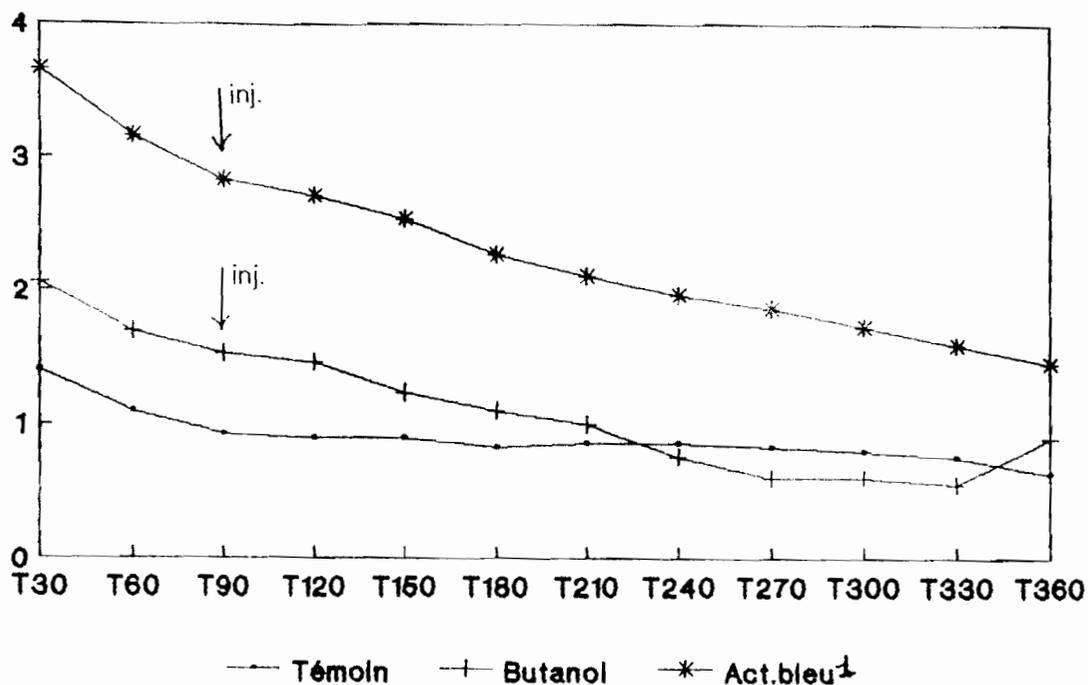


COURBE N° 6 : Evolution comparée du volume moyen biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extract butanolique et aqueux d'Acacia seyal Del.

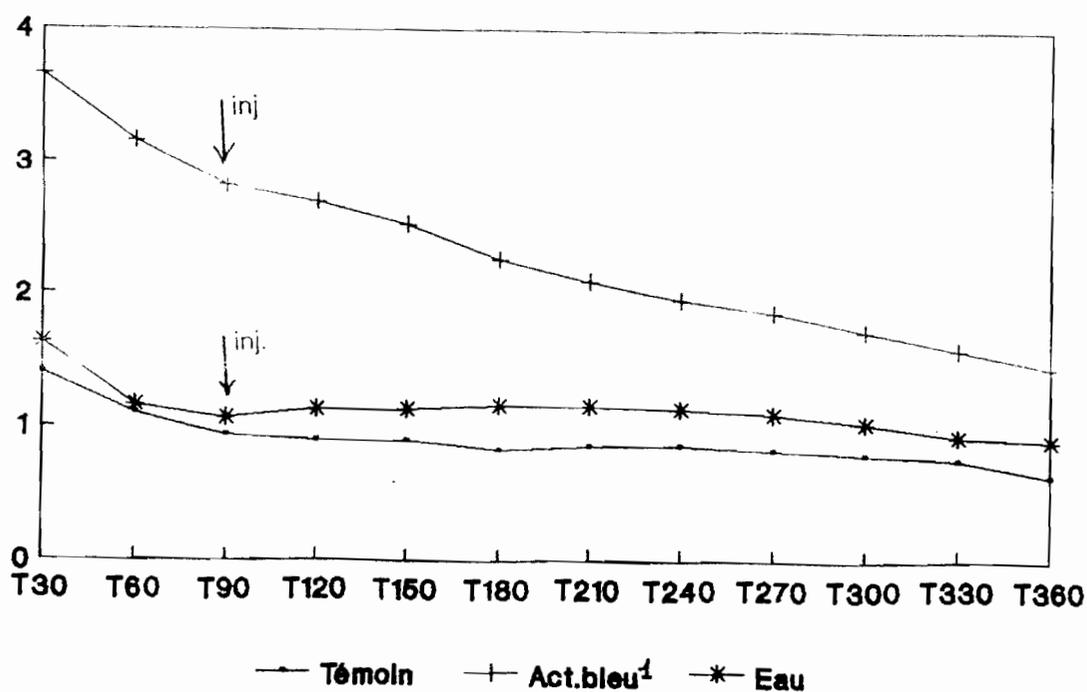


inj. = Injection de l'extract

COURBE N° 7 : Evolution comparée du volume moyen biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait butanolique et le composé fluorescent bleu à 254-366 nm d'Acacia seyal Del.



COURBE N° 8 : Evolution comparée du volume moyen biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait aqueux et le composé fluorescent bleu à 254-366 nm d'Acacia seyal Del.



1 = Composé fluorescent bleu à 254-366 nm.

Cette différence de niveau cholérétique peut être due à une différence de comportement sécrétoire. Le débit baisse de 22,67 % pendant les trois premières demi-heure de la collecte.

Chez les lapins traités par l'extrait butanolique, le débit diminue de 25,72 % de la 30e mn à la 90e mn.

Concernant les lapins du lot témoin et ceux traités par les extraits aqueux et acétate d'éthyle, la décroissance du débit biliaire est respectivement de 33,58 %, 34,96 % et 33,33 % ; les courbes ont la même allure.

*** Sécrétion après administration des extraits**

- Chez les lapins traités par le composé fluorescent bleu, le niveau de cholérèse reste toujours élevé et continue à décroître de la 90e mn jusqu'à la 360e mn avec une régression de 48,40 %.

- Chez les lapins traités par l'extrait butanolique, le débit biliaire décroît de la 90e mn jusqu'à la 270e mn, se stabilise pendant la demi-heure suivante et continue à décroître de la 300e à la 330e mn ; la baisse est de 64,05 %. Pendant la dernière demi-heure de la collecte biliaire, le débit, croît de 63,63 %.

- Quant aux animaux du lot témoin, le débit baisse de la 90e à la 180e mn de 10,75 % ; à la 210e mn, nous observons une faible augmentation, soit 3,61 % et une stabilisation du débit pendant la demi-heure suivante (240e mn) ; de la 240e à la 360e mn, il décroît de 26,74 %.

- Chez les lapins traités par l'extrait acétate d'éthyle le débit biliaire augmente pendant l'heure qui suit l'injection de l'extrait pour ensuite décroître jusqu'à la 330e mn et se stabilise durant les 30 dernières mn ; de la 90e à la 120e mn, le débit augmente de 16 % et baisse de 8,62 % à la 150e mn tout en restant légèrement supérieur à celui obtenu à la 90e mn. A partir de la 120e mn, le débit biliaire décroît jusqu'à la fin de la collecte (51,72 %).

- Chez les animaux traités à l'extrait aqueux, le débit biliaire croît de la 90e mn à la 210e mn de 09,43 %. A partir de la 210e mn, il baisse progressivement jusqu'à la 360e mn et la baisse est de 22,41 %.

Nous remarquons qu'à partir de l'injection de l'extrait aqueux le débit biliaire augmente et se maintient pendant trois heures (120e mn - 270e mn) à un niveau supérieur à celui obtenu à la 90e mn.

L'augmentation du débit biliaire traduit l'activité cholérétique de l'extrait aqueux.

Courbe N°5

Evolution comparée du volume biliaire en fonction du temps chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait aqueux.

Du point de vue sécrétion basale, les trois courbes ont pratiquement la même allure ; celle de l'extrait aqueux se trouve légèrement au-dessus des deux précédentes. Une demi-heure après l'administration des différents extraits (120^e mn), nous constatons une élévation du débit biliaire.

Pendant cette période, la pente de la courbe d'évolution volumétrique chez les animaux traités par l'extrait acétate d'éthyle est plus raide que celle de la courbe obtenue chez les animaux traités par l'extrait aqueux ; ce qui s'explique par leurs différences de débit biliaire entre la 90^e et la 120^e mn, l'augmentation est de 06,60 % chez les lapins traités par l'extrait aqueux et 16 % chez les lapins traités par l'extrait acétate d'éthyle.

Au delà de la 120^e mn, le débit biliaire baisse chez les animaux traités par l'extrait acétate d'éthyle alors qu'il augmente chez ceux traités par l'extrait aqueux et cela pendant trois heures.

Courbe N°10

Evolution comparée du volume biliaire en fonction du temps chez les lapins traités par l'huile d'arachide et ceux traités par l'extrait éther éthylique.

*** Sécrétion basale**

Chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule, nous constatons une chute de la sécrétion basale ; la régression est de 48,38 %. La courbe des lapins traités par l'extrait éther éthylique se trouve au-dessus de celle des lapins traités par l'huile d'arachide seule. Le débit biliaire décroît de 24,27 %.

*** Après injection des extraits**

Le débit biliaire, de la 90^e à la 120^e mn augmente de 48,95 % chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule. A partir de la 120^e mn, le débit biliaire diminue progressivement jusqu'à la fin de la collecte (360^e mn) ; la diminution est de 46,85 %.

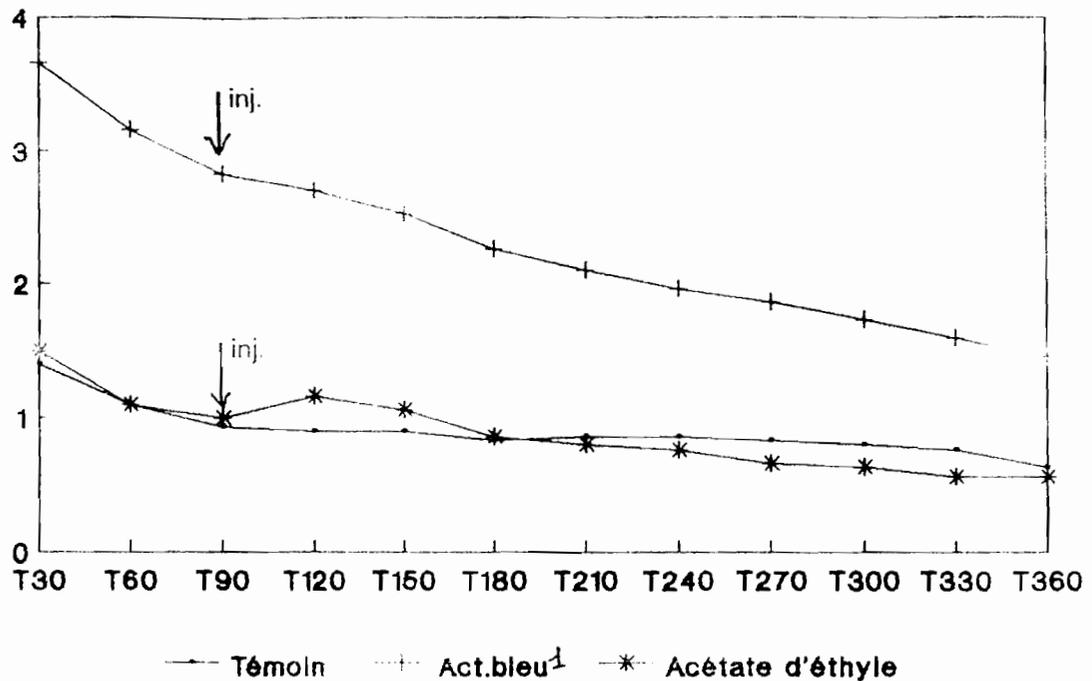
Le niveau de sécrétion biliaire est plus élevé chez les lapins traités par l'extrait éther éthylique que chez ceux traités par l'huile d'arachide seule. La courbe se situe au-dessus de celle des lapins ayant reçu l'huile d'arachide seule. De la 90^e mn à la 120^e mn, le débit biliaire augmente et se stabilise pendant la dernière demi-heure suivante ; l'accroissement est de 08,97 % ; de la 150^e à la 360^e mn le débit biliaire décroît de 49,41 %.

Ethylque de Acacia seyal Del.

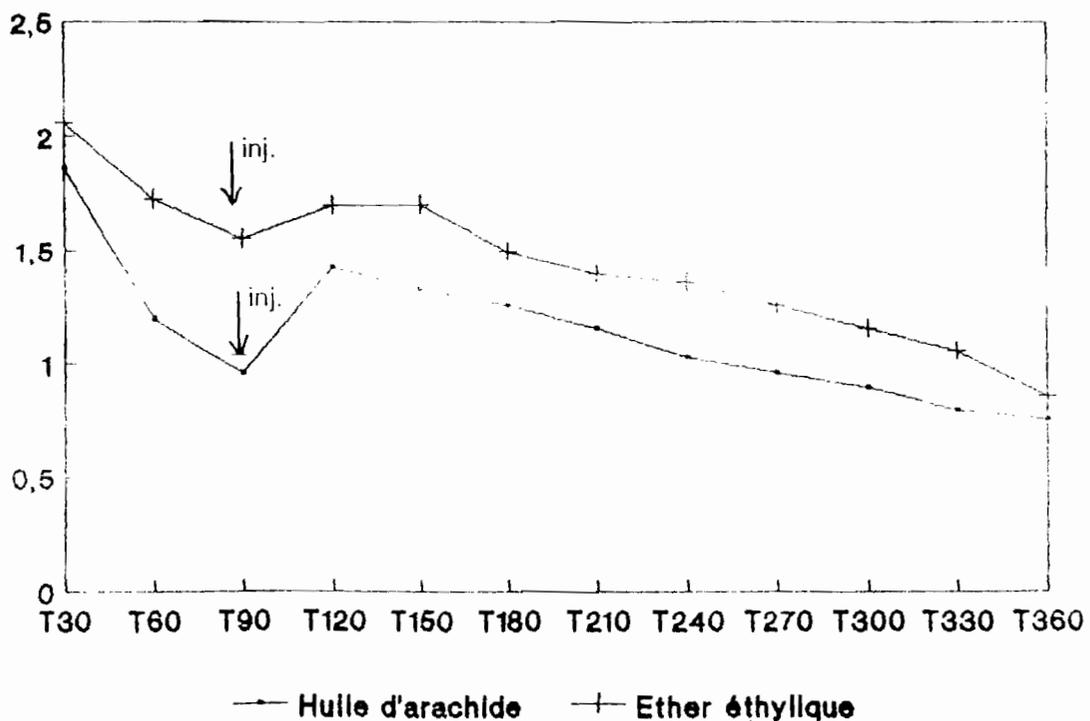
Temps/mn	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Animaux												
Lapin N°1	1,5	1	0,7	0,9 *inj.	1,1	1,0	0,8	0,8	0,8	0,6	0,6	0,6
Lapin N°2	2,2	2,0	1,9	2,2 *inj	1,8	1,6	1,6	1,6	1,4	1,4	1,2	1,0
Lapin N°3	2,5	2,2	2,1	2,2 *inj	2,2	1,9	1,8	1,7	1,6	1,5	1,4	1,0
Moyenne	2,06	1,73	1,56	1,70 *inj	1,70	1,50	1,40	1,36	1,26	1,16	1,06	0,86

* inj. 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait éther éthylique

COURBE N° 9 : Evolution comparée du volume moyen biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin, acétate d'éthyle et le composé fluorescent bleu à 254-366 nm d'Acacia seyal Del.



COURBE N° 10 : Evolution comparée du volume moyen biliaire (ml) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule et l'extrait éther éthyllique d'Acacia seyal Del.



1 = Composé fluorescent bleu à 254-366 nm

inj. = Injection de l'extrait

II.2.2. Evolution du Poids moyen d'extrait sec (E.S) biliaire en fonction du temps

Courbe N°11

Evolution du Poids d'extrait sec biliaire en fonction du temps chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait méthanolique et hydrométhanolique.

*** Sécrétion basale**

Les courbes n'ont pas les mêmes allures à ce niveau.

Chez les animaux témoins, le poids d'extrait sec décroît jusqu'à la 90e mn ; la décroissance est de 27,94 %.

Chez les lapins traités par l'extrait méthanolique, la courbe se situe au dessus des deux précédentes car la bile recueillie est plus riche en extrait sec. Sa courbe n'est pas comparable aux deux autres (témoin, hydrométhanol).

Au cours de la 2e demi-heure, le poids d'extrait sec diminue de 03,61 % pour ensuite croître de 08,99 % à la 90e mn.

Quant aux lapins traités par l'extrait hydrométhanolique le poids d'extrait sec chute jusqu'à la 90e mn (52,59 %).

*** Après administration des extraits**

Chez les lapins du lot témoin , le poids de l'extrait sec biliaire baisse jusqu'à la 180e mn ; la baisse est de 11,67 %. A la 210e mn, nous constatons une légère augmentation de 03,57 % ; à partir de la 210e mn il décroît jusqu'à la fin de la collecte (31,38 %).

Chez les lapins traités par l'extrait méthanolique le poids de l'extrait sec tend à se stabiliser à la 120e mn car l'accroissement est négligeable (0,91 %). De la 120e mn à la 300e mn, le poids d'extrait sec baisse de 32,63 % ; il croit à la 330 mn de 5,39 % pour ensuite décroître de 12,02 % au cours de la dernière demi-heure de collecte.

Quant aux lapins traités par l'extrait hydrométhanolique, le poids d'extrait sec croît de 3,42 % à la 120e mn puis chute brusquement de 28,16 % pendant la demi-heure suivante. De la 150e à la 210e mn, nous observons une forte augmentation du poids d'extrait sec (43,42 %). A la 210e mn, le poids d'extrait sec est supérieur à celui obtenu à la 90e mn, l'augmentation est de 6,54 %. A partir de la 210e mn jusqu'à la 270 mn il diminue de 18,34 % et augmente de 14,60 % à la 300e mn ; le poids moyen de l'extrait sec tend à se stabiliser au cours de la dernière heure de la collecte avec une légère baisse de 02,15 % à la 11e demi-heure puis une très faible croissance de 0,20 % à la 12e demi-heure.

Tableau N°21 : Evolution du Poids d'extrait sec biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot temoin

Temps/mn	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Animaux												
Lapin N°1	19,2	27,0	19,2	17,5	17,1	16,3	14,4	15,0	15,1	15,3	16,4	13,2
Lapin N°2	40,0	29,5	26,1	25,3	25,3	21,8	23,7	23,4	24,3	23,5	20,8	18,7
Lapin N°3	23,9	17,9	14,6	13,3	13,4	14,8	16,7	14,8	10,5	08,7	08,5	05,7
Moyenne	27,70	24,80	19,96	18,70	18,60	17,63	18,26	17,73	16,63	15,83	15,23	12,53

Tableau N°22 : Evolution du Poids d'extrait sec Biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extrait Méthanolique Acacia seyal Del.

Temps/mn	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Animaux												
Lapin N°1	43,3	36,6	34,0	37,2 * inj	36,0	31,0	29,8	29,5	29,7	28,1	31,5	27,4
Lapin N°2	69,3	54,0	55,0	59,2 * inj	56,3	51,1	45,0	42,6	39,6	32,4	31,3	27,4
Lapin N°3	12,0	29,5	41,9	35,7 * inj	34,7	34,5	32,4	30,6	31,6	28,5	31,0	27,7
Moyenne	41,53	40,03	43,63	44,03 * inj	42,33	38,86	35,73	34,23	33,63	29,66	31,26	27,50

* Inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait méthanolique

hydro-méthanolique d'Acacia seyal Del.

Temps/mn	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Animaux												
Lapin N°1	27,4	22,1	24,5	6,9 * inj	10,7	17,7	18,8	10,1	5,5	12,12	11,4	9,0
Lapin N°2	60,7	25,7	18,0	15,8 * inj	16,2	20,1	16,7	15,1	16,3	17,7	16,4	19,7
Lapin N°3	41,4	26,9	18,9	40,8 * inj	18,7	26,5	29,9	30,8	31,6	31,4	32,1	31,3
Moyenne	43,16	24,90	20,46	21,16 * inj	15,20	21,43	21,80	18,66	17,80	20,40	19,96	20

* Inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait hydrométhanolique

Tableau N°24 : Evolution du Poids d'extrait sec Biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'huile d'arachide

Temps/mn	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Animaux												
Lapin N°1	38	21,9	16,7	34,7 * inj	36	36,9	33,1	31,5	29	28,2	27,4	23,8
Lapin N°2	43,8	31,9	29,2	27,2 * inj	22,6	16,8	15,9	9,1	10,2	8,6	7,5	8
Lapin N°3	20,2	16,8	15,8	17,3 * inj	17,8	17,7	18,3	14,8	14,9	15,1	15	13,5
Moyenne	34,00	23,53	20,56	26,40 * inj	25,46	23,80	22,43	18,46	18,03	17,30	16,63	15,10

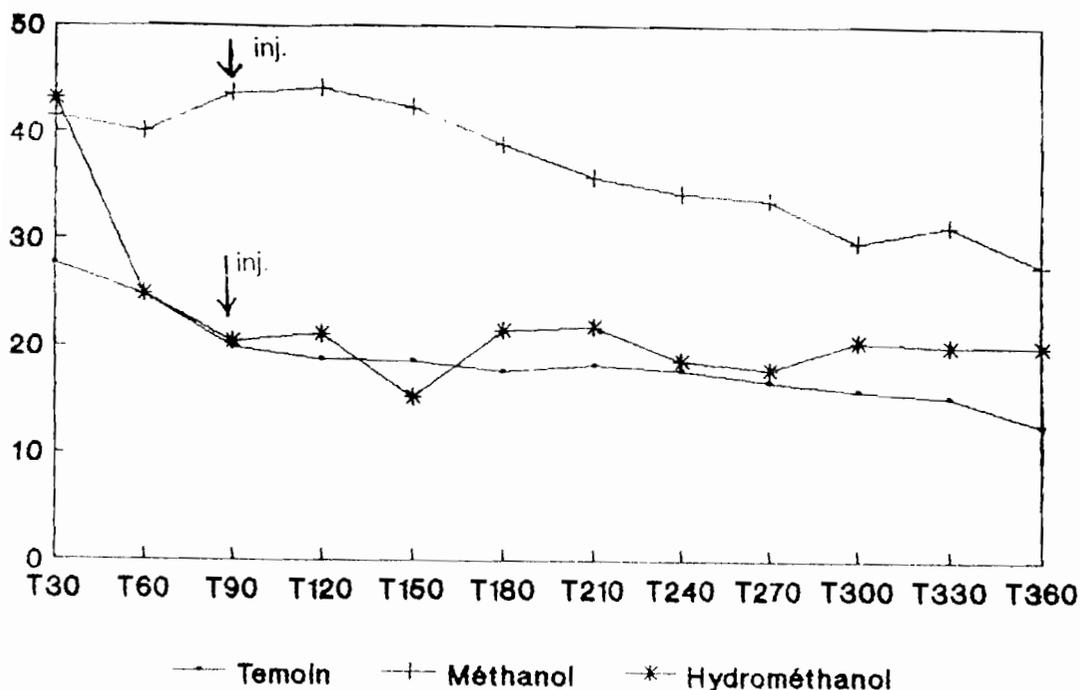
* Inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'huile d'arachide

Tableau N° 25 : Evolution du poids d'extrait sec Biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extrait Cyclohexanique d'Acacia seyal Del.

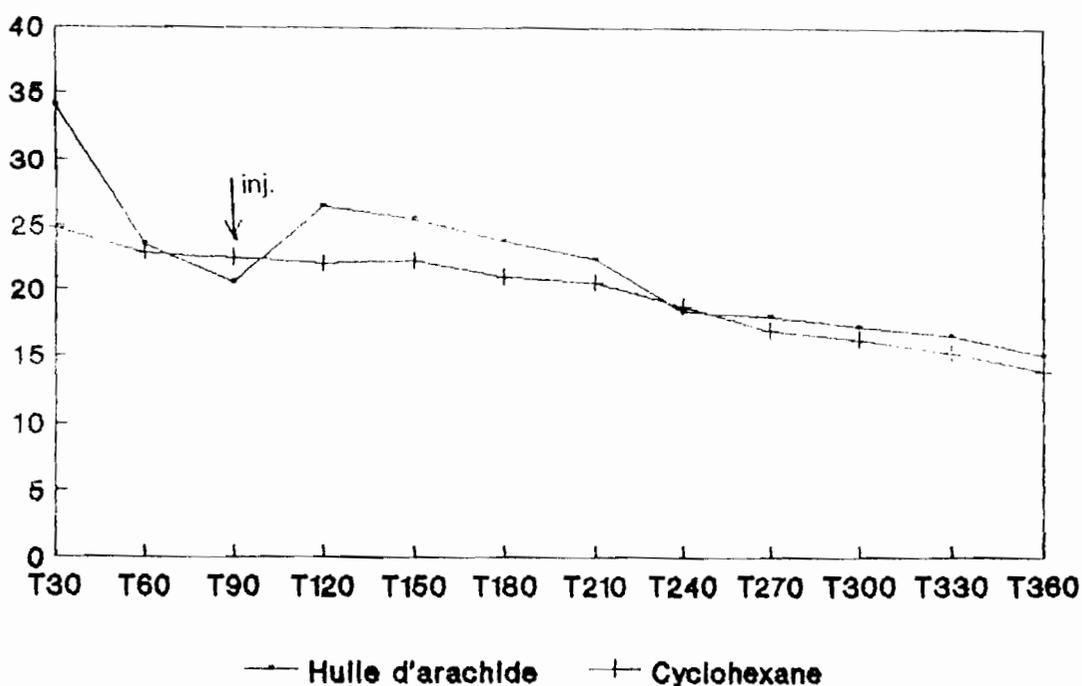
Temps/mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin N°1	25,9	24,6	25,2	26,3 * inj	24,4	24,9	23,6	22,7	19,5	17,9	15,6	14
Lapin N°2	24,8	20,2	21	19,8 * inj	20,4	20,2	22,1	17,9	16	15,4	13,5	13,5
Lapin N°3	23,5	23,9	21,2	20,1 * inj	20	18	16	15,9	15,4	15,6	16,8	14,3
Moyenne	24,73	22,90	22,46	22,06 * inj	22,26	21,03	20,56	18,83	16,96	16,3	15,3	13,93

* Inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait Cyclohexanique

COURBE N° 11 : Evolution comparée du poids d'extrait sec (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait méthanolique et hydrométhanolique d'Acacia seyal Del.



COURBE N° 12 : Evolution comparée du poids d'extrait sec (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule et l'extrait cyclohexanique d'Acacia seyal Del.



↓ inj. = Injection de l'extrait

L'extrait hydrométhanolique semble avoir une activité intéressante sur la production de pigments et sels biliaires.

Courbe N° 12.

Evolution comparée du poids moyen de l'extrait sec biliaire en fonction du temps chez les lapins traités par l'extrait cyclohexanique et l'huile d'arachide seule.

*** Sécrétion basale**

Les deux courbes n'ont pas la même allure. Pendant la première demi-heure de la collecte, nous constatons une richesse de la bile en extrait sec chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule, mais par la suite le poids moyen de l'extrait sec décroît brutalement jusqu'à la 90e mn (39,52 %). Quant aux lapins traités par l'extrait cyclohexanique, le poids moyen de l'extrait sec biliaire décroît jusqu'à la 90e mn (09,17 %).

*** Après administration des extraits**

Chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule, nous observons une augmentation du poids moyen de l'extrait sec à la 120e mn, elle est de 28,40 %. A partir de la 120 mn, il décroît jusqu'à la fin de la collecte ; la décroissance est de 42,80 %. Durant les deux heures après l'administration de l'huile d'arachide (120-210), le poids de l'extrait sec biliaire reste encore supérieur à celui obtenu à la 90e mn.

Quant aux lapins traités par l'extrait cyclohexanique, le poids moyen de l'extrait sec biliaire tend à se stabiliser pendant la 120e mn et 150e mn avec une baisse de 01,78 % à la 120e et une remonté à la 150e mn de 0,90 %. De la 150e mn à la 360e mn , il décroît de 37,42 %.

L'extrait cyclohexanique n'entraîne pas une augmentation du poids de l'extrait sec biliaire. Par contre l'huile d'arachide seule semble avoir une activité sur la teneur en extrait sec biliaire car elle entraîne la sécrétion d'une bile plus riche en pigments et sels biliaires.

Courbe N°13

Evolution comparée du poids de l'extrait sec biliaire en fonction du temps chez les lapins témoins et ceux traités par l'extrait butanolique, d'acétate d'éthyle, aqueux et le composé fluorescent bleu à 254- 366 nm.

* **Sécrétion basale**

Chez les animaux témoins, le poids d'extrait sec décroît jusqu'à la 90e mn ; la décroissance est de 27,94 %. Chez les lapins traités par le composé fluorescent bleu, la bile excrétée est très riche en constituants biliaires ; la courbe est nettement au dessus des autres. Le poids biliaire moyen de l'extrait sec décroît pendant les trois premières demi-heures ; la décroissance est de 29,94 %.

Chez les lapins traités par l'extrait butanolique, acétate d'éthyle et aqueux, il décroît et les baisses sont respectivement de 31,30 %, 18,80 % et 21,13 %.

* **Après administration des extraits**

Chez les lapins du lot témoin, le poids de l'extrait sec biliaire baisse jusqu'à la 180e mn ; la baisse est de 11,67 %. A la 210e mn, nous constatons une légère augmentation de 03,57 % ; à partir de la 210e mn il décroît jusqu'à la fin de la collecte (31,38 %).

Chez les lapins traités par le composé fluorescent bleu, le poids biliaire moyen de l'extrait sec continu à décroître de la 90e mn à la fin de la collecte de 48,75 %.

Quant aux lapins traités par l'extrait butanolique, il décroît de 58,68 % de la 90e à la 330e mn. Au cours de la dernière demi-heure, nous observons une remontée du poids de l'extrait sec biliaire ; l'augmentation est de 71,42 %.

Chez les lapins traités par l'extrait acétate d'éthyle, il augmente de 06,09 % à la 120e mn puis décroît jusqu'à la 240e mn (39,25 %). De la 120e mn à la 360e mn le poids moyen de l'extrait sec diminue de 53,48 % avec une tendance à la stabilisation pendant la 240e et 270e mn.

Quant aux lapins traités par l'extrait aqueux, il croît de 08,21 % à la 120e mn puis décroît jusqu'à la fin de la collecte biliaire (43,42 %).

Courbe N° 15

Evolution comparée du poids moyen de l'extrait sec en fonction du temps chez les lapins traités par l'extrait acétate d'éthyle, aqueux et ceux du lot témoin.

Les courbes des lapins traités par l'extrait acétate d'éthyle et aqueux ont pratiquement la même allure de la 30e mn à la 150e mn. Une demi-heure après l'administration des différents extraits, nous constatons une augmentation légèrement plus grande chez les lapins traités par extrait aqueux (08,21 %) que chez ceux ayant reçu l'extrait acétate éthyle (06,09 %). Le poids de l'extrait sec biliaire diminue de la 120e à la 360e mn.

La baisse du poids de l'extrait sec biliaire est plus lente chez les lapins traités par l'extrait aqueux que chez ceux traités par l'extrait acétate d'éthyle ; de la 90e à la 360e mn, la baisse est respectivement de 38,78 % et 53,01 %.

De cette comparaison, il ressort que l'extrait aqueux a un effet plus intéressant sur l'évolution du poids d'extrait sec biliaire que l'extrait acétate d'éthyle.

Tableau N° 26 : Evolution du poids d'extract sec Biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extract butanolique d'Acacia seyal Del.

<u>Temps/mn</u> <u>Animaux</u>	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin N°1	63,10	39,80	36,80	33,70 * inj	27	22,10	18,80	13,80	7	3,50	3,50	-
Lapin N°2	63,90	48,70	44,40	41,6 * inj	38,30	35,10	35,70	29,80	28,20	28,60	28,60	25,80
Lapin N°3	32,10	28,20	28,10	28,50 * inj	28,80	21,30	20,80	13,70	13,40	-	-	-
Moyenne	53,03	38,90	36,43	34,60 * inj	31,36	26,16	25,10	19,10	16,20	16,05	15,05	25,80

* Inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'extract butanolique

Tableau N° 27. : Evolution du poids d'extract sec Biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extract Acétate d'éthyle d'Acacia seyal Del

<u>Temps/mn</u> <u>Animaux</u>	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin N°1	37,4	32,2	28,9	30 * inj	25,7	23,7	20,8	17,9	16,9	17	17,7	15,3
Lapin N°2	38,9	29,3	30,5	34 * inj	30,3	26,5	25,1	24,3	21,6	21	19,6	18,6
Lapin N°3	37	35,1	32,6	33,5 * inj	33,1	22,1	16,2	17,1	21	14,5	13,9	11,5
Moyenne	37,76	32,20	30,66	32,53 * inj	29,70	24,10	20,70	19,76	19,83	17,50	17,06	15,13

* Inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'extract acétate d'éthyle

Tableau N° 28 : Evolution du poids d'extrait sec Biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traites par l'extrait aqueux d'Acacia seyal Del.

<u>Temps/mn</u> <u>Animaux</u>	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin N°1	20,10	15,90	13,50	12,60 * inj	9,10	11,60	12,10	12,50	12,50	9,90	8,80	6,30
Lapin N°2	16,40	11,30	07,40	10,90 * inj	13,40	15	11,80	10,40	7,50	4,40	6	5
Lapin N°3	51,50	50,10	48,50	51,60 * inj	46,30	39,60	37,60	34,90	34,70	34,10	31,40	31,20
Moyenne	29,33	25,76	23,13	25,03 * inj	22,93	22,06	20,50	19,26	18,23	16,13	15,14	14,16

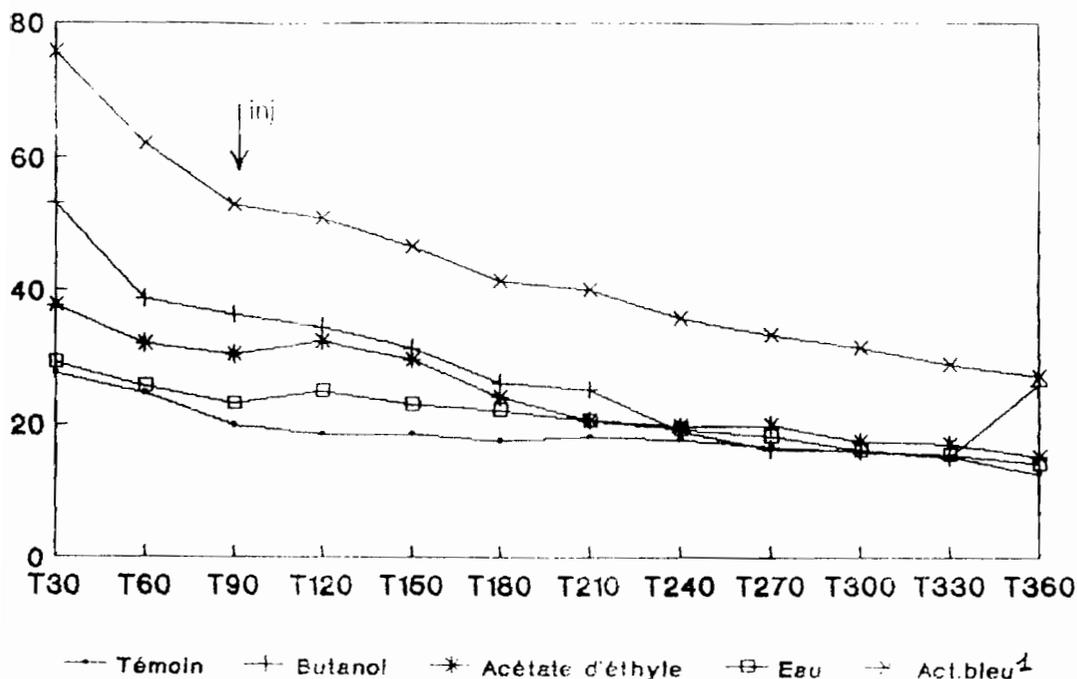
* Inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait aqueux

Tableau N° 29. : Evolution du poids d'extrait sec Biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par le composé fluorescent bleu à 254-366 nm

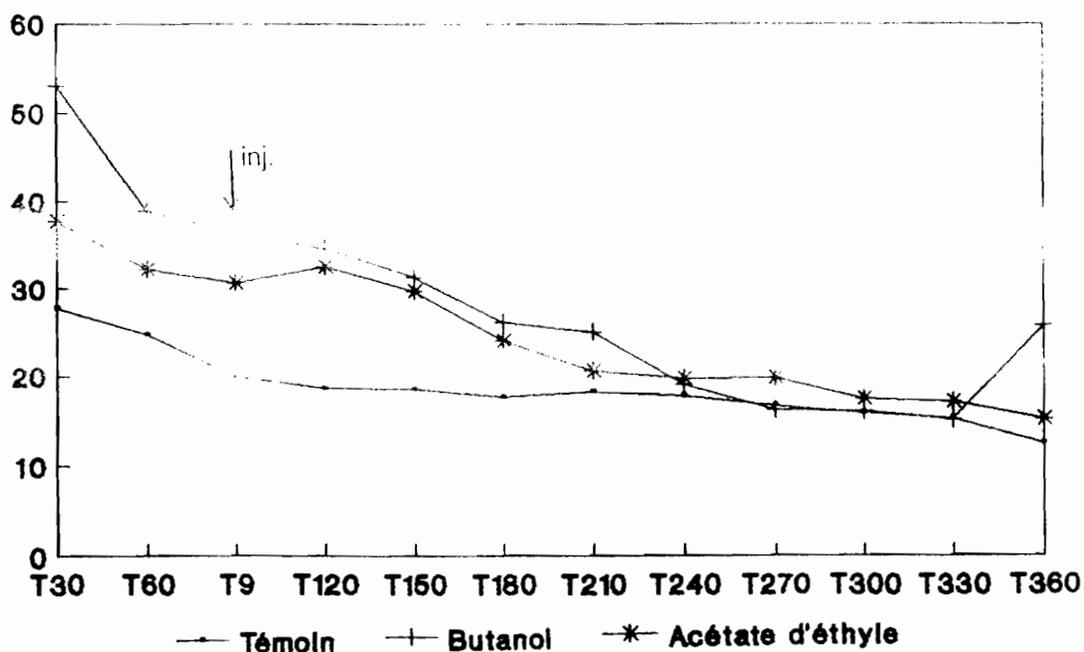
<u>Temps/mn</u> <u>Animaux</u>	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin N°1	56,70	51,10	45,50	45,40 * inj	44,10	43,60	44	42,60	37	32,60	32,50	28,50
Lapin N°2	106	92,20	77	70,80 * inj	55,90	45,70	41,20	38,60	35,20	36,60	29,60	28,80
Lapin N°3	64,30	42,90	36,50	36,30 * inj	39,70	34,90	35,10	26,20	27,70	25	24,40	24,20
Moyenne	75,66	62,06	53	50,83 * inj	46,56	41,40	40,10	35,80	33,30	31,40	28,83	27,16

* Inj : 1ère demi-heure après l'injection du composé fluorescent bleu.

COURBE N° 13 : Evolution comparée du poids d'extrait sec (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait butanolique, acétate d'éthyle, aqueux et le composé fluorescent bleu à 254-366 nm d'Acacia seyal Del



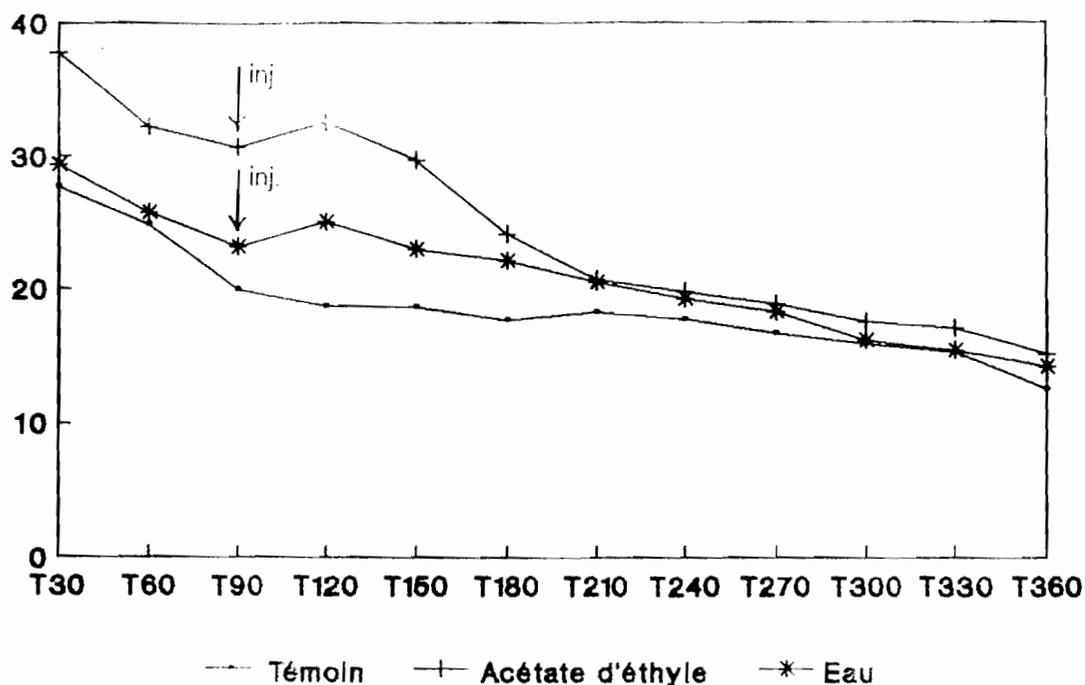
COURBE N° 14 : Evolution comparée du poids d'extrait sec (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait butanolique et acétate d'éthyle d'Acacia seyal Del.



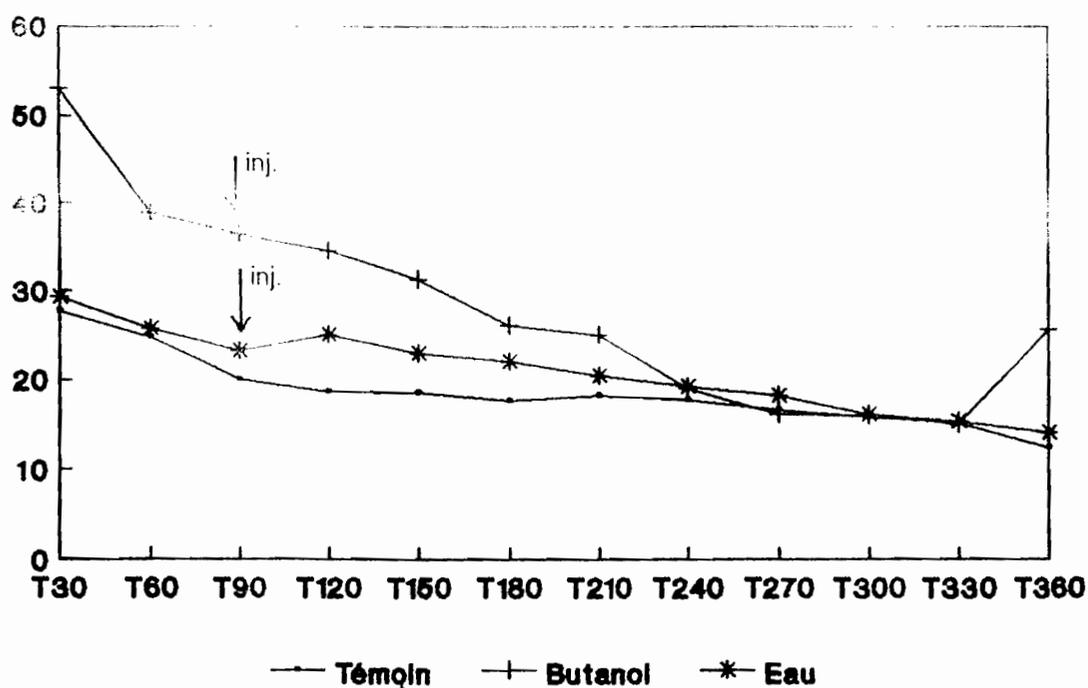
¹ =Composé fluorescent bleu à 254-366 nm

| inj. = Injection de l'extrait

COURBE N° 15 : Evolution comparée du poids d'extrait sec (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait aqueux et acétate d'éthyle d'Acacia seyal Del.

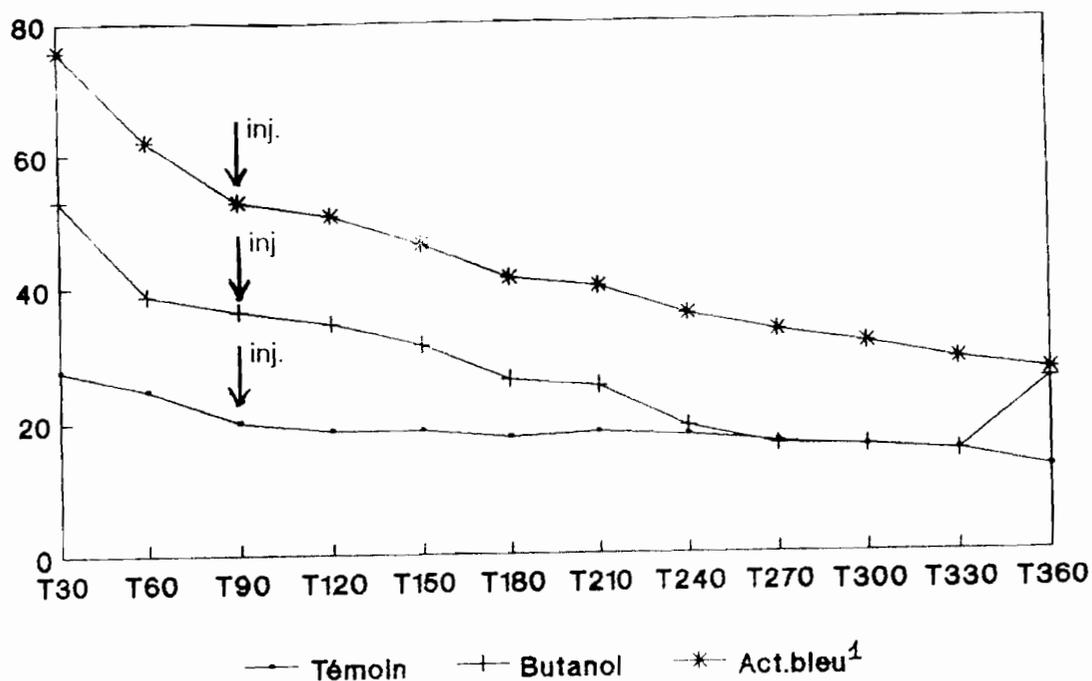


COURBE N° 16 : Evolution comparée du poids d'extrait sec (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait butanolique et aqueux d'Acacia seyal Del.

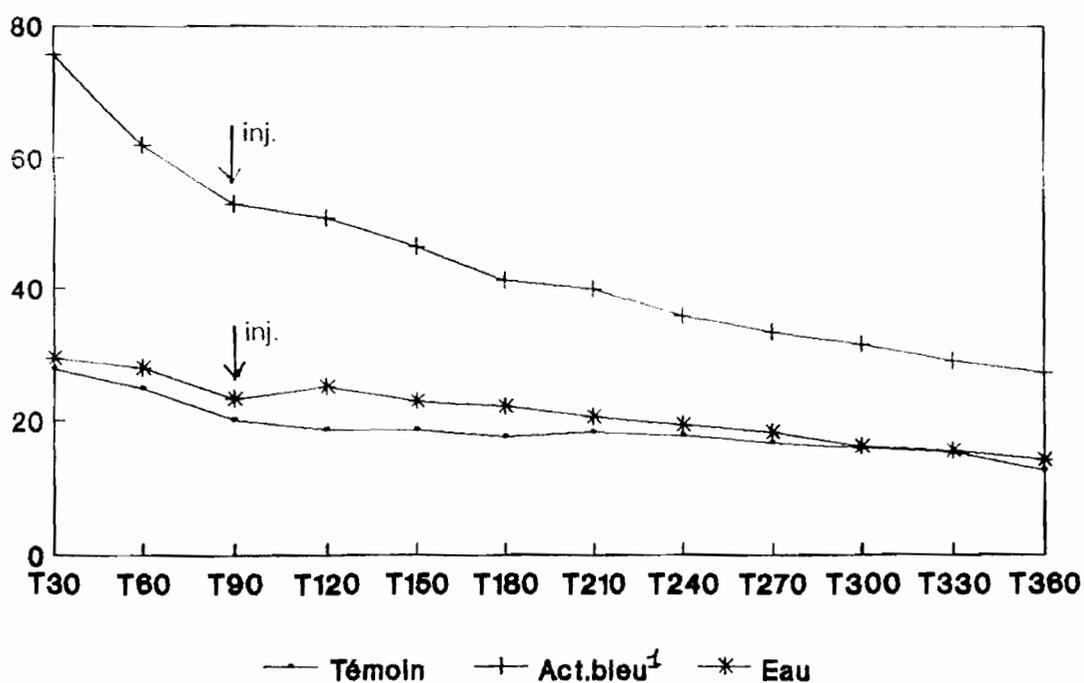


↓ inj. = Injection de l'extrait

COURBE N° 17 : Evolution comparée du poids d'extrait sec (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait butanolique et le composé fluorescent bleu à 254-366 nm d'Acacia seyal Del.



COURBE N° 18 : Evolution comparée du poids d'extrait sec (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait aqueux et le composé fluorescent bleu à 254-366 nm d'Acacia seyal Del.



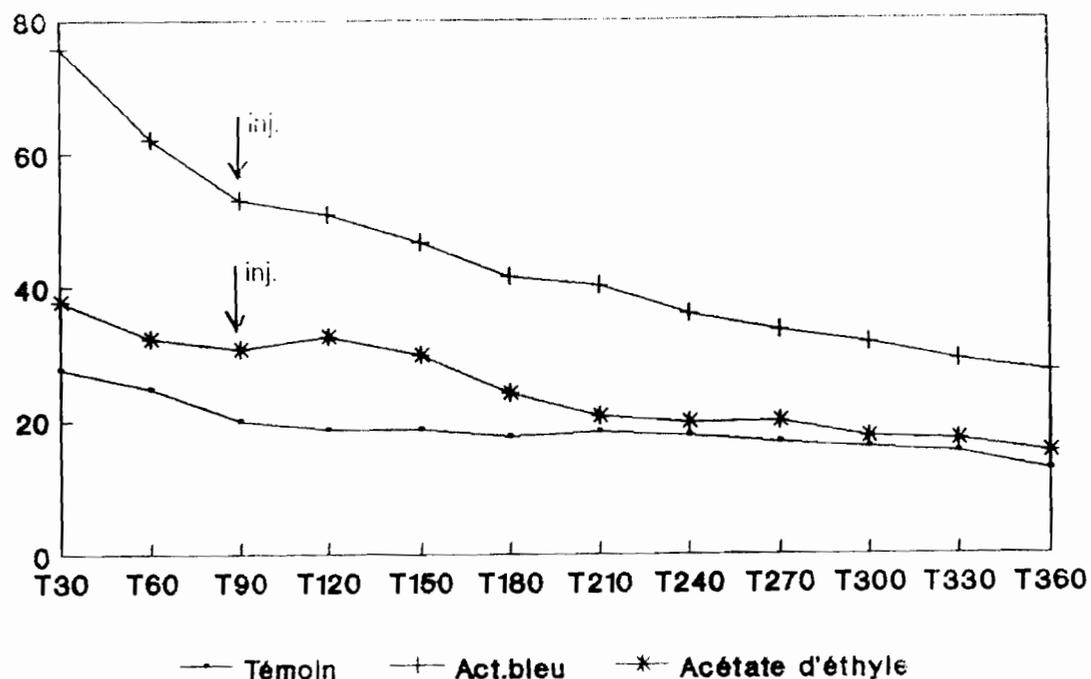
1 = Composé fluorescent bleu à 254-366 nm.

Tableau N° 30 : Evolution du poids d'extrait sec Billaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extrait éther éthylique d'Acacia seyal Del.

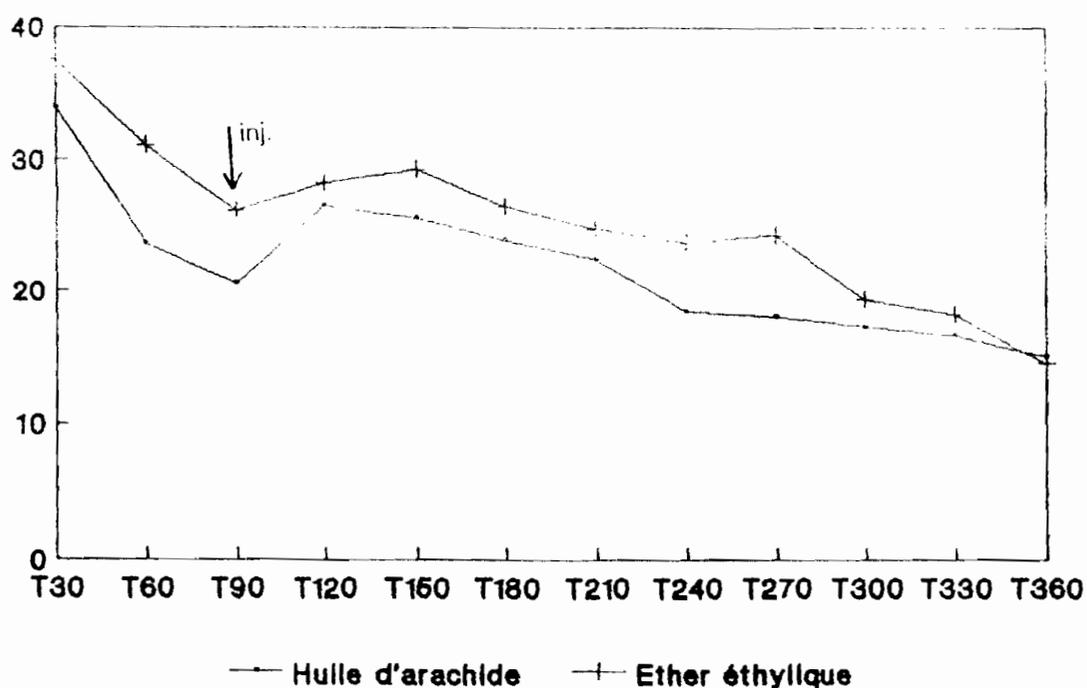
Temps/mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin N°1	26,9	16,3	12,2	15,2 * inj	17,2	15,1	13,4	11,9	11,5	8	8,9	7,9
Lapin N°2	40	35,1	31,7	32 * inj	30,5	27,2	25,7	25	22,7	19,5	18,5	14,8
Lapin N°3	45,8	41,8	34,2	37,5 * inj	40,1	36,8	35	34,2	38,2	30,6	27,2	21
Moyenne	37,56	31,06	26,03	28,23 * inj	29,26	26,36	24,70	23,70	24,13	19,36	18,20	14,56

* Inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait éther éthylique

COURBE N° 19 : Evolution comparée du poids d'extrait sec (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin, acétate d'éthyle et le composé fluorescent bleu à 254-366 nm d'Acacia seyal Del.



COURBE N° 20 : Evolution comparée du poids d'extrait sec (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule et l'extrait éther éthylique d'Acacia seyal Del.



1 = Composé fluorescent bleu à 254-366 nm.

Courbe N° 20

Evolution comparée du poids moyen biliaire de l'extrait sec en fonction du temps chez les lapins traités par l'extrait Ether éthylique et ceux traités par l'huile d'arachide seule.

*** Sécrétion basale**

Chez les lapins traités par l'extrait éther éthylique le poids moyen de l'extrait sec décroît jusqu'à la 90e mn (30,69 %). Nous rappelons que chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule, la bile est très riche en extrait sec pendant la première demi-heure de la collecte ; mais par la suite le poids moyen de l'extrait sec décroît brutalement jusqu'à la 90e mn (39,52 %).

*** Après administration des extraits**

Chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule, nous observons une augmentation du poids moyen de l'extrait sec à la 120e mn, elle est de 28,40 %. A partir de la 120 mn, il décroît jusqu'à la fin de la collecte ; la décroissance est de 42,80 %. Durant les deux heures après l'administration de l'huile d'arachide (120-210), le poids de l'extrait sec biliaire reste encore supérieur à celui obtenu à la 90e mn.

Pendant l'heure qui suit l'injection de l'extrait Ether éthylique, le poids moyen d'extrait sec croît de 12,40 %. De la 150e mn à la 240e mn il décroît de 19 %, tend à se stabiliser au cours de la demi-heure suivante avec une légère augmentation de 01,81 % pour ensuite décroître jusqu'à la fin de la collecte (39,66 %).

Remarque : Nous ne commenterons pas les courbes d'évolution du poids biliaire car nous ne retiendrons que le volume biliaire pour l'étude du débit biliaire. Ce choix se justifie par deux raisons :

- le volume biliaire exprimé en ml par 30 mn reflète mieux l'évolution du débit biliaire car les variations de poids biliaire pourraient être simplement dues à des fluctuations de densité causées par une élimination accrue de constituants (11).
- la balance électronique utilisée n'était pas d'une grande précision (1/10).

II.2.3. Conclusion

Les extraits méthanolique et hydrométhanolique ont une activité cholérétique vraie ; la première étant plus active que la seconde.

Les extraits acétate d'éthyle et aqueux ont également une activité cholérétique vraie. Cependant, l'extrait aqueux a une durée d'activité plus longue que celle des autres.

TABLEAU N° 31 Evolution du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins au 10/01/2008

Temps mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin 1	1204,3	8517,0	0586,0	5782,0	5437,0	0492,0	0469,6	0437,0	0528,8	0405,2	0381,2	0097,0
Lapin 2	1813,1	1742,9	1539,5	1562,1	1518,3	1309,9	1263,3	1291,5	1411,5	1400,2	1285,5	1189,3
Lapin 3	1115,4	0971,1	0616,0	0411,8	0428,5	0428,5	0709,8	0405,8	0345,1	0238,1	0115,8	0097,3
Moyenne	1377,60	3743,66	0913,83	2585,30	2461,26	743,46	814,23	744,76	761,80	681,16	594,16	461,20

Tableau N° 32 : Evolution du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extrait méthanolique d'Acacia seyal Del.

Temps mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin 1	1904,3	1551,7	1586,0	1878,2 * inj	1843,7	1592,0	1569,6	1537,0	1628,8	1505,2	1581,2	1497,0
Lapin 2	3315,4	2571,1	2911,8	2911,8 * inj	2828,5	2428,5	2309,8	2205,8	2145,1	1738,1	1615,8	1497,3
Lapin 3	1204,3	1251,7	1786,0	1578,2 * inj	1543,7	1492,0	1469,6	1437,0	1428,8	1305,2	1381,2	1297,0
Moyenne	2141,33	1791,50	1929,33	2122,73 * inj	2071,96	1837,50	1783,0	1726,6	1734,23	1516,16	1526,06	1430,43

* inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait méthanolique

Tableau N° 33 : Evolution du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extract hydrométhanolique d'Acacia seyal Del.

Temps mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
lapin 1	115,4	0871,1	0838,1	0245,1 * inj	0405,8	0509,8	0628,5	0328,5	0211,8	0416,0	0415,8	0397,3
Lapin 2	1613,1	1242,9	1039,5	0862,1 * inj	0918,3	0809,9	0763,3	0791,5	0811,5	0900,2	0885,5	0989,3
Lapin 3	2115,4	1471,12	1016,0	2211,8 * inj	1028,5	1428,5	1609,8	1605,8	1645,1	1638,1	1615,8,	1597,3
Moyenne	1614,63	1195,03	964,53	1106,33 * inj	784,20	916,06	1000,53	908,60	889,46	984,76	972,36	994,63

* Inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'extract hydrométhanolique.

Tableau N° 34 : Evolution du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'huile d'arachide

Temps mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
lapin 1	2104,3	951,7	286	1678,2 * inj	1843,7	1892	1669,6	1537	1428,8	1305,2	1181,2	1197
Lapin 2	2413,1	1742,9	1639,5	1462,1 * inj	1318,3	1009,9	763,3	591,5	611,5	600,2	485,5	489,3
Lapin 3	915,4	771,1	616	711,8 * inj	728,5	828,5	709,8	705,8	745,1	738,1	615,8	597,3
Moyenne	1810,93	1155,23	847,16	1284,03 * inj	1296,83	1243,46	1047,56	944,76	928,46	881,16	760,83	761,20

* Inj : 1ère demi-heure après l'injection d'huile d'arachide.

Temps mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin 1	715,4	771,1	716	811,8 * inj	728,5	728,5	709,8	705,8	545,1	538,1	415,8	297,3
Lapin 2	1213,1	1042,9	1039,5	962,1 * inj	918,3	863,3	791,5	711,5	711,5	700,2	685,5	689,3
Lapin 3	1204,3	1151,7	1086	978,2 * inj	943,7	792	669,6	737	628,8	605,2	581,2	497
Moyenne	1044,26	988,56	947,16	917,36* inj	863,50	810,13	747,56	744,76	628,46	614,50	560,83	494,53

* inj = 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait cyclohexanique.

Tableau N° 36 : Evolution du Poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extrait Butanolique d'Acacia seyal Del.

Temps mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
lapin 1	1823,10	1550,20	1286,80	1178,70 * inj	943,40	692,10	469,90	436,70	128,80	103,60	96,70	-
Lapin n°2	2974,90	2121	1933,60	1689,10 * inj	1645,90	1505,10	1445,10	1102,90	1089,40	1071,40	877,70	838,40
Lapin n°3	1234,30	1155,10	1102	1093,90 * inj	1085,80	947,20	727	484,20	342,70	-	-	-
Moyenne	2010,76	1608,76	1440,80	1320,56 * inj	1225,03	1048,13	880,66	674,60	520,30	587,5	487,2	838,4

*1ère demi-heure après l'injection de l'extrait butanolique.

Tableau N° 37 : Evolution du poids biliaires (mg) en fonction du temps (mn) d'éthyle d'Acacia seyal Del.

Temps mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin 1	1504,30	1151,7	986	1078,20 * inj	843,70	792	669,6	537	528,80	505,2	482,2	497
Lapin 2	1374,90	1021	833,60	1089,10 * inj	1045,90	905,10	845,10	802,90	689,40	671,40	577,70	538,40
Lapin 3	1434,20	1055,10	902	1138,50 * inj	1185,8	927,10	627	684,2	642,7	502,70	524,5	386,10
Moyenne	1437,83	1075,93	907,20	1101,93 * inj	1025,13	874,73	713,90	674,70	620,30	559,76	527,80	473,83

* Inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait acétate d'éthyle.

Tableau N° 38 : Evolution du poids biliaires (mg) en fonction du temps (mn) chez le lot traité à l'extrait Aqueux d'Acacia seyal Del.

Temps mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin 1	974,90	621	533,60	489,10 * inj	244,90	505,10	545,10	542,90	539,40	371,40	377,70	238,40
Lapin 2	1423,10	650,20	386,80	478,70 * inj	743,40	692,10	569,90	536,70	428,80	303,60	279	276,70
Lapin 3	2234,30	1955,10	1902	2238,50 inj	2185,80	2047,20	1927	1984,2	2142,7	1902,7	1824,5	1886,1
Moyenne	1544,10	1075,43	940,80	1068,76	1058,03	1081,46	1014	1021,26	1036,96	859,23	827,06	800,40

* inj = 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait aqueux.

Tableau N° 39 : Evolution du Poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extrait Ether du composé fluorescent bleu à 254-366nm

Temps mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin 1	2576,60	2405,30	2234	219020 *inj	2146,50	2206	2247	2204,20	1990,80	1771,80	1678,30	1439,10
Lapin 2	5324,10	4651,20	3987,20	3680 *inj	2845,10	2593,10	2270,10	2037,70	1929,20	1905,30	1480	1398,10
Lapin 3	2717,80	2273,70	1817,50	1713,80 *inj	2030,50	1730,50	1711,70	1307,20	1346,80	1239,50	1217	1198,50
Moyenne	3539,50	3110,06	2679,56	2528 *inj	2340,70	2176,53	2076,26	1849,70	1755,60	1638,86	1458,43	1345,23

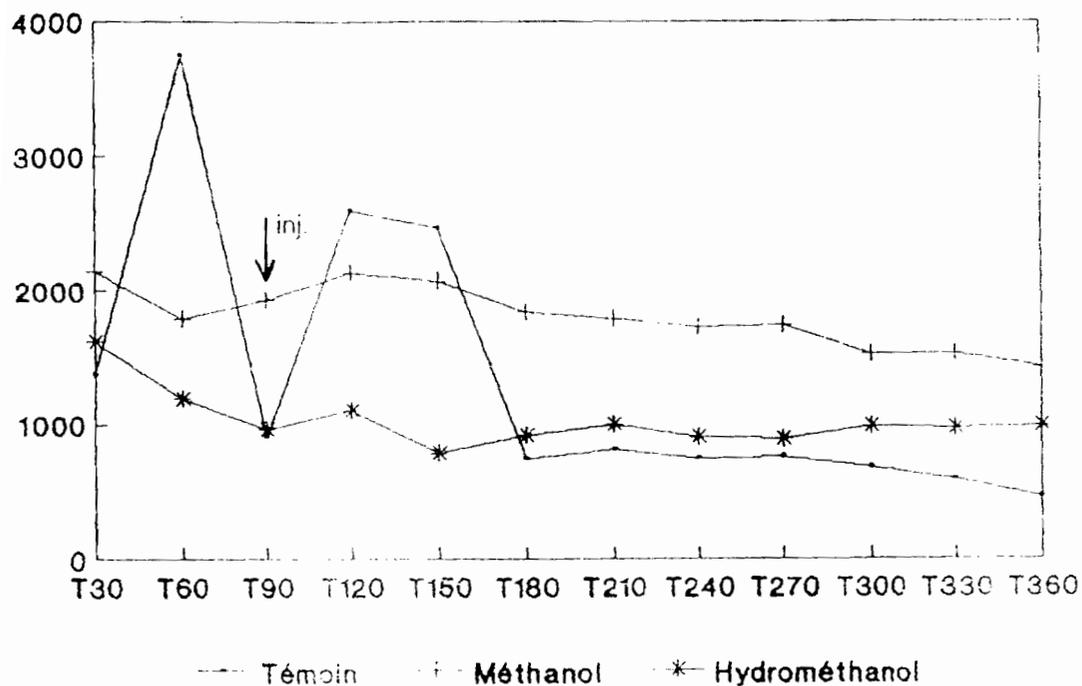
* inj : 1ère demi-heure après l'injection du composé fluorescent bleu

Tableau N° 40 : Evolution du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'extrait Ether Ethylique d'Acacia seyal Del.

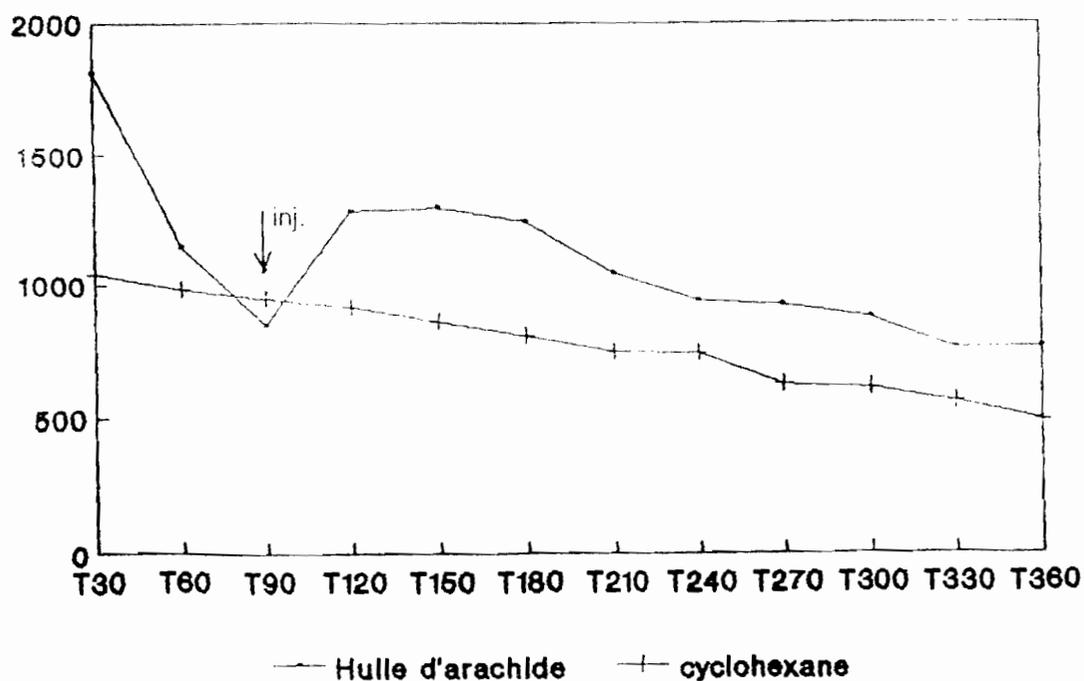
Temps mn Animaux	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Lapin 1	1374,90	821	633,60	789,10 inj	845,90	805,10	745,10	702,90	689,40	471,4	477,7	438,4
Lapin 2	2223,10	1850,20	1686,80	1778,70 * inj	1743,40	1592,10	1569,90	1536,70	1328,80	1203,60	1079	896,70
Lapin 3	2534,30	2155,10	1902	2038,50 * inj	2085,80	1747,20	1627	1584,20	1542,7	1402,70	1224,5	686,10
Moyenne	2044,10	1608,76	1407,46	1535,43 * inj	1558,36	1381,46	1314	1274,60	1186,96	1025,90	927,06	673,73

* Inj : 1ère demi-heure après l'injection de l'extrait Ether Ethylique.

COURBE N° 21 : Evolution comparée du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait méthanolique et hydrométhanolique d'Acacia seyal Del.

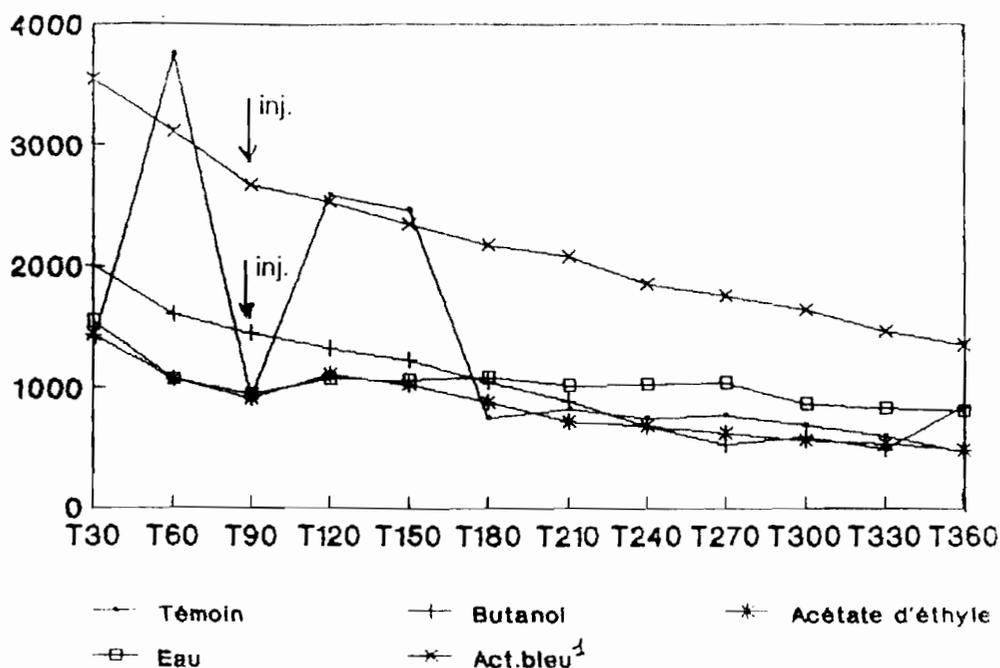


COURBE N° 22 : Evolution comparée du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule et l'extrait cyclohexanique d'Acacia seyal Del.

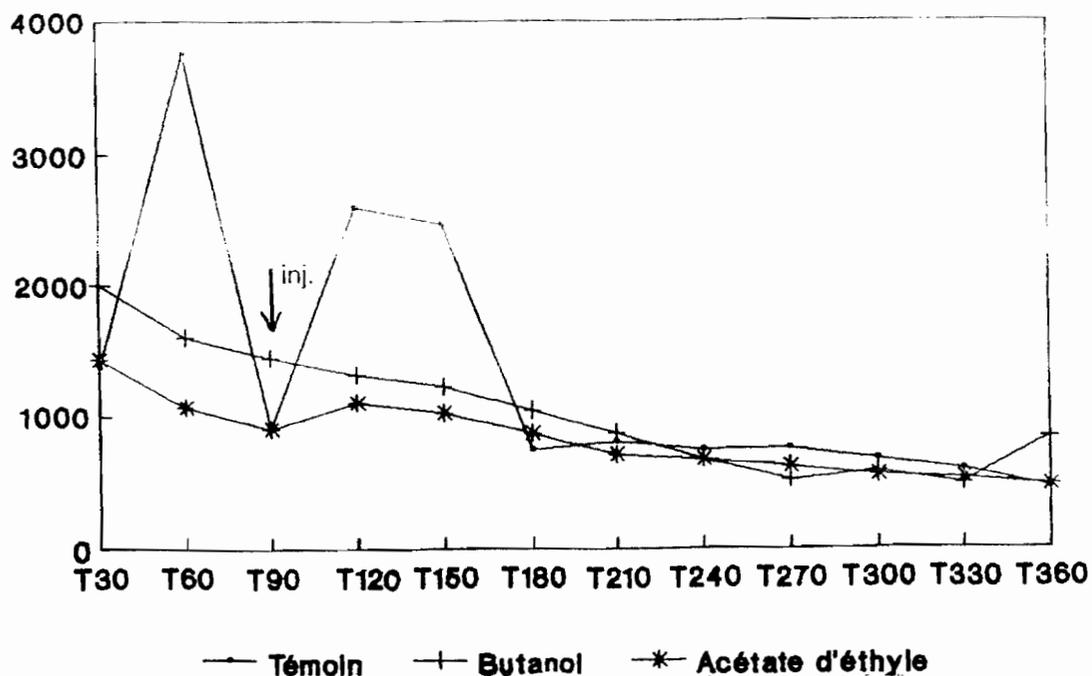


inj. = Injection de l'extrait

COURBE N° 23 : Evolution comparée du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait butanolique, acétate d'éthyle, aqueux et le composé fluorescent bleu à 254-366 nm d'Acacia seyal Del.

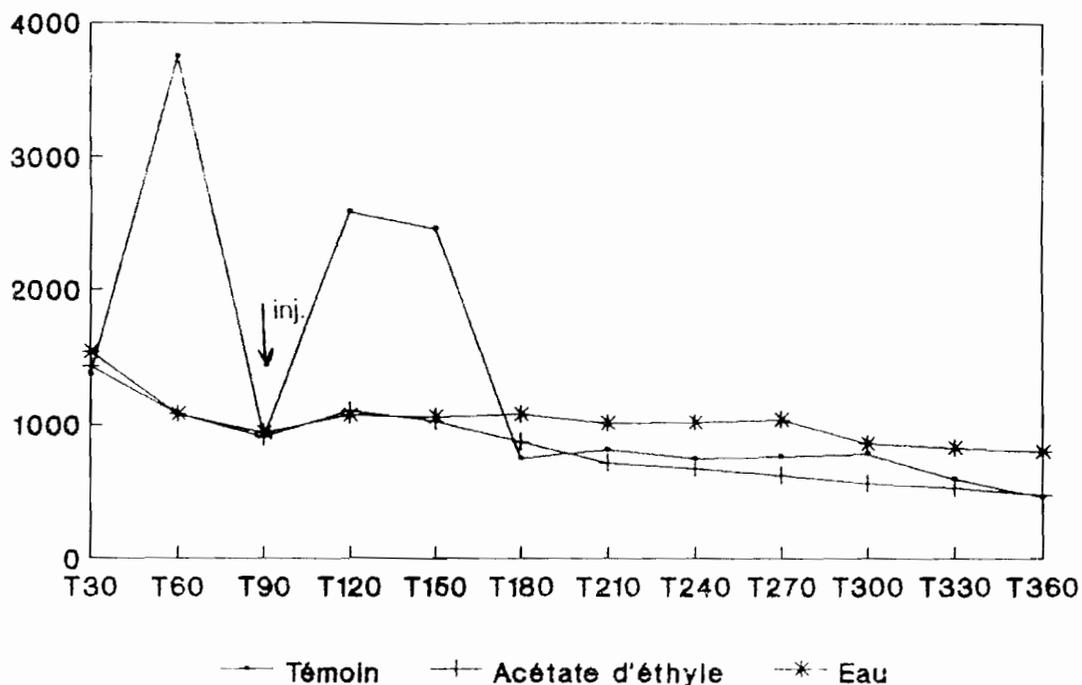


COURBE N° 24 : Evolution comparée du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait butanolique et acétate d'éthyle d'Acacia seyal Del.

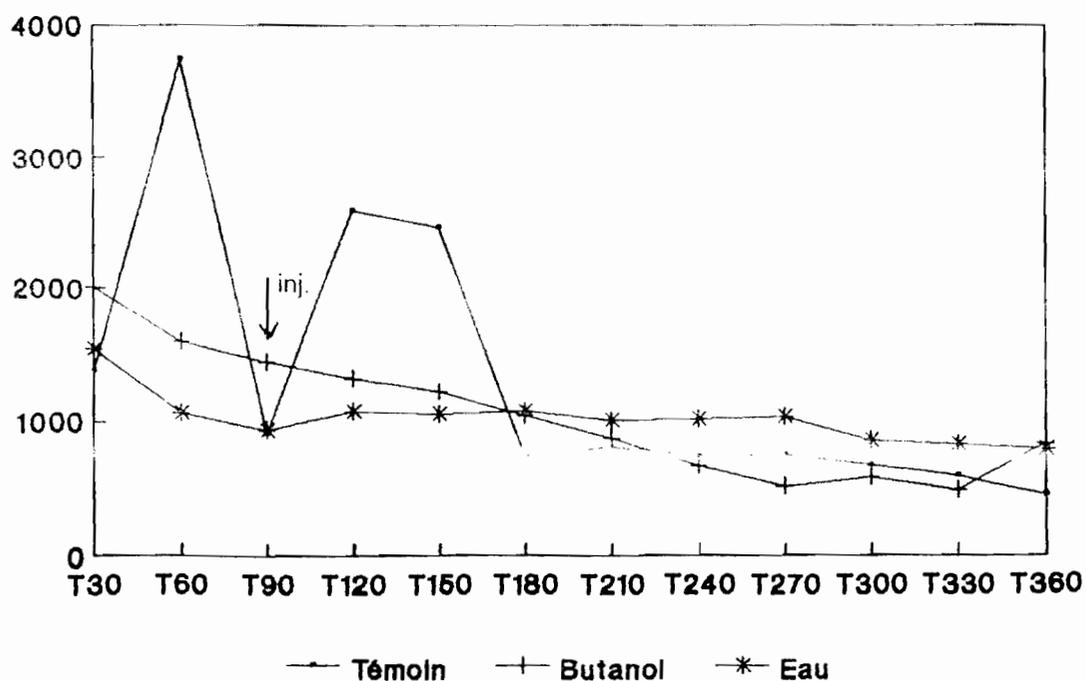


1 = Composé fluorescent bleu à 254-366 nm.

COURBE N° 25 : Evolution comparée du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait aqueux et acétate d'éthyle d'Acacia seyal Del.

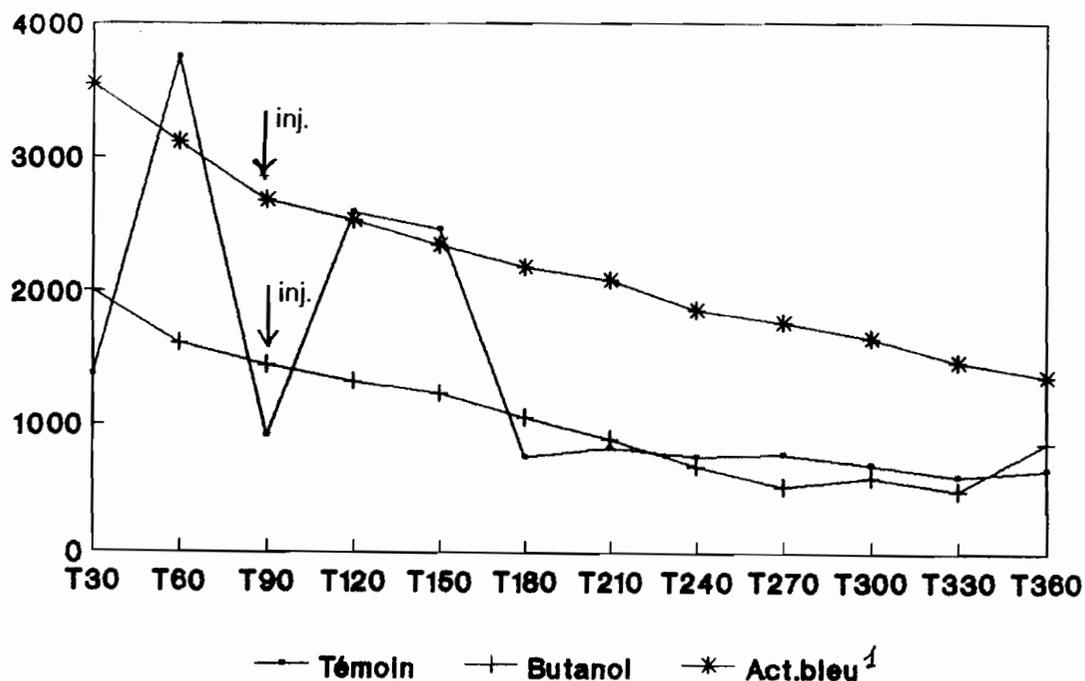


COURBE N° 26 : Evolution comparée du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait butanolique et aqueux d'Acacia seyal Del.

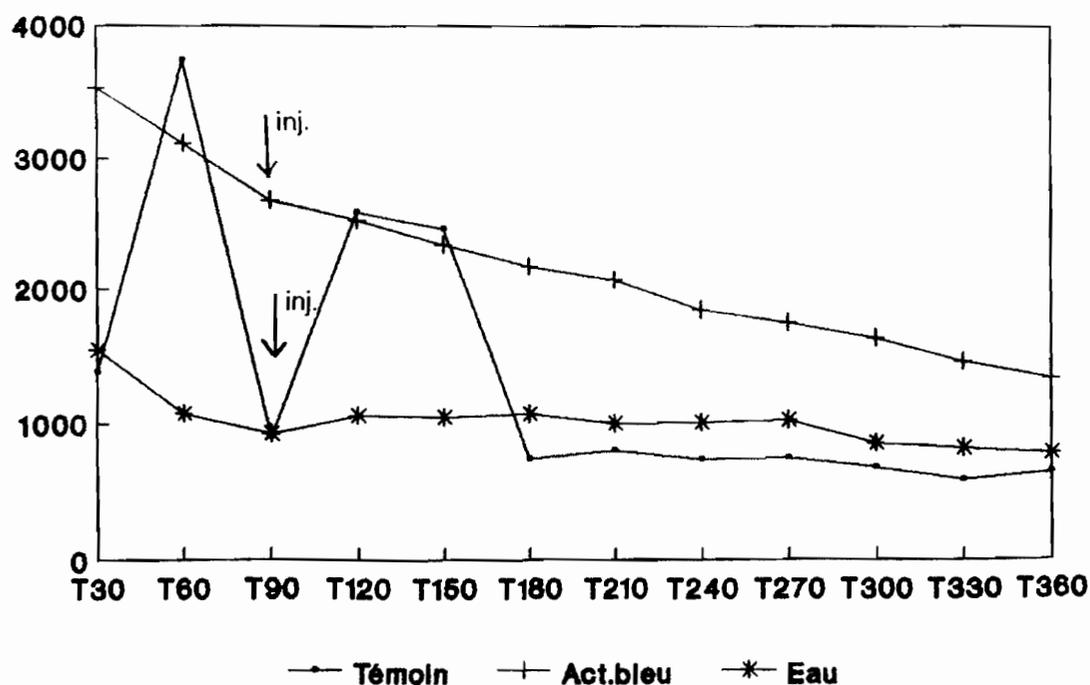


inj. = Injection de l'extrait

COURBE N° 27 : Evolution comparée du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait butanolique et le composé fluorescent bleu à 254-366 nm d'Acacia seyal Del.

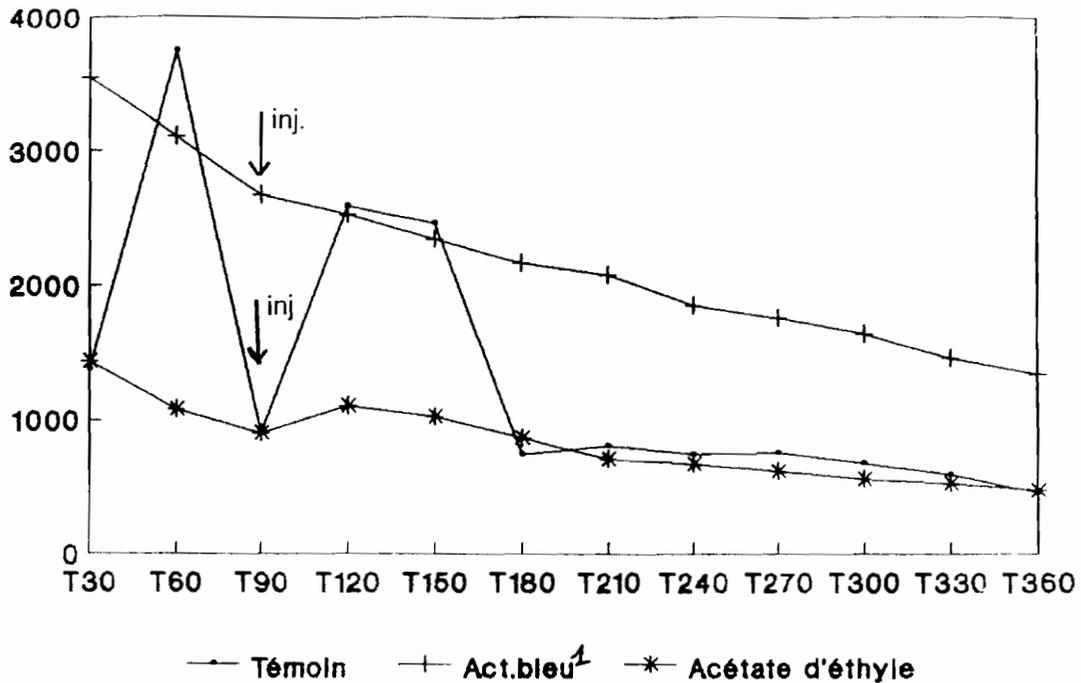


COURBE N° 28 : Evolution comparée du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin et ceux traités par l'extrait aqueux et le composé fluorescent bleu à 254-366 nm d'Acacia seyal Del.

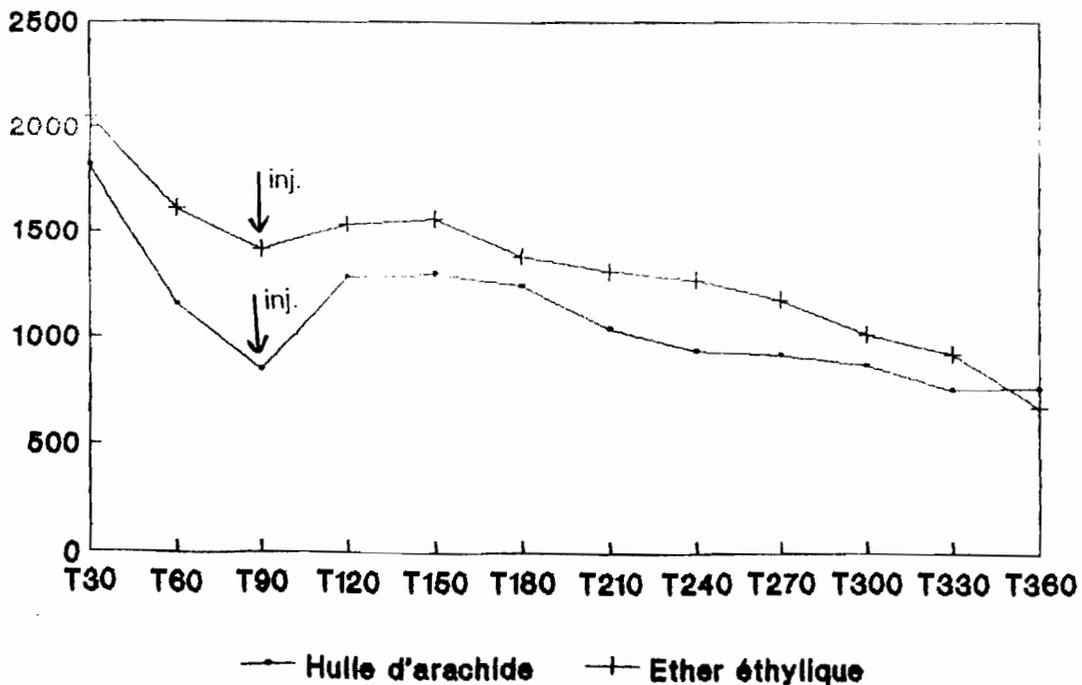


1 = Composé fluorescent bleu à 254-366 nm.

COURBE N° 29 : Evolution comparée du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins du lot témoin, acétate d'éthyle et le composé fluorescent bleu à 254-366 nm d'Acacia seyal Del.



COURBE N° 30 : Evolution comparée du poids biliaire (mg) en fonction du temps (mn) chez les lapins traités par l'huile d'arachide seule et l'extrait éther éthylique d'Acacia seyal Del.



1 = Composé fluorescent bleu à 254-366 nm

VI. DISCUSSIONS

VI. DISCUSSIONS

Très peu de travaux ont été consacrés à l'étude de la racine d'Acacia seyal Del hormis la thèse de A. DJIMDE ; c'est cette dernière qui nous a servi d'élément d'orientation pour notre travail.

DJIMDE a constitué deux lots de 3 lapins anesthésiés avec une solution d'urethane à 25 % à la dose de 5 ml par Kg ; le 1er lot a servi de témoin et le second a reçu le décocté aqueux à 7 % de racine entière d'Acacia seyal Del.

Quant à nos travaux, nous avons constitué 10 lots de 3 lapins à savoir un lot témoin et des lots ayant été traités par l'huile d'arachide, l'extrait méthanolique, hydrométanolique, cyclohexanique, acétate éthylique, ether éthylique, aqueux, et le composé fluorescent bleu.

Le nombre réduit de lapin par lot s'explique par les moyens financiers très limités dont nous disposons. Ce qui diminue la puissance de nos tests et ne nous permet pas de mener des études statistiques valables.

Afin d'éviter d'injecter de trop grande quantité de liquide, nous avons modifié le précédent protocole (25 %- 5 ml /Kg) en préparant une solution d'uréthane plus concentrée (50 %) administrée à la dose de 2,5 ml/Kg.

Pour l'évaluation du débit biliaire, nous avons préféré retenir plutôt l'évolution du volume biliaire que le poids biliaire contrairement à DJIMDE. En effet ce choix se justifie par le fait que le volume reflète mieux l'évolution du débit biliaire car les variations de poids biliaire pourraient être simplement dues à des fluctuations de densité causée par une élimination accrue de constituants (11).

DJIMDE a considéré les 60 premières minutes de collecte biliaire comme sécrétion basale. Nous avons préféré retenir les 90 premières minutes car nous estimons qu'elle se stabilise davantage pendant ce temps.

DJIMDE a montré que le décocté aqueux à 7 % de racine d'Acacia seyal Del. administré à la dose de 1 ml/Kg possédait une activité cholérétique vraie. Nous avons retrouvé cette activité cholérétique vraie. Elle est plus élevée chez les lapins traités par les extraits méthanolique et aqueux. L'extrait aqueux a une action stable, ce qui justifie l'usage empirique de l'eau par les thérapeutes traditionnels comme solvant d'extraction.

VII. CONCLUSION GENERALE

VII. CONCLUSION GÉNÉRALE

Au Mali, le règne végétal constitue une source inépuisable de médicament. Acacia seyal Del. de la famille des Mimosaceae est une plante Sahélienne et Soudanienne.

Les racines d'Acacia seyal Del. séchées sont proposées par les thérapeutes traditionnels dans le traitement du syndrome ictérique.

Des études phytochimiques et pharmacologiques menées sur la drogue se sont révélées intéressantes.

L'étude phytochimique a porté sur l'extraction de la poudre de racine d'Acacia seyal Del par divers solvants organiques. Cette étude a été orientée par les résultats des tests pharmacologiques.

L'étude pharmacodynamique a porté sur l'activité cholérétique chez le lapin anesthésié à l'uréthane. Les essais menés sur le lapin ont mis en évidence une activité cholérétique vraie des extraits hydrométhanolique, méthanolique, acétate d'éthyle et aqueux administrés respectivement aux doses de 21,58 mg, 23,60 mg, 25 mg, 25 mg et par lapin. Se sont révélés les plus intéressants l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux qui possèdent l'activité cholérétique vraie la plus élevée. L'extrait aqueux a une activité plus stable que celle des autres. Avec l'impact grandissant des maladies hépato-digestives, les cholérétiques acquièrent de plus en plus d'importance, car stimulent la cholérèse, donc l'élimination de substances toxiques dont la bilirubine qui joue un rôle majeur dans l'étiopathogénèse du syndrome ictérique.

Ainsi, nous estimons qu'au niveau de la Division Médecine Traditionnelle (D.M.T), ce travail doit se poursuivre avec les extraits méthanolique et aqueux. Il s'agira de confirmer leur activité par des investigations plus poussées et de rechercher le ou les principes responsables de cette activité et d'en révéler leur mécanisme d'action.

Il apparaît d'après nos résultats que Acacia seyal.Del. offre d'autres perspectives de recherche notamment :

- une étude de l'activité hépato-protectrice et de l'effet anabolisant ;
- la détermination de la dose minimale efficace pour obtenir l'activité pharmacologique (seuil d'activité)
- et enfin une étude comparative des fractions retenues avec d'autres substances de référence.

VIII. BIBLIOGRAPHIE

VIII. BIBLIOGRAPHIE

1. **ALLAIN C.C et al.-**

Clin. Chem. 1974, 20,470 - 475.

2. **ANDERSON, D.M.W. ; BRIDGEMAN, M.M.E. ; DE PINTO.,**

Acacia gum exudates from species of the G series gummiferae.

Phytochemistry - 1984 -

Vol 23, N°3. pp. 575-577.

3. **ANONYME**

Pharmacopée française IXème édition.

2e partie pp.259 - 301

4. **ANONYME**

OMS (Directeur général) UNICEF (Directeur général) : S.S.P

(Conférence internationale sur les S.S.P. Alma Ata C.E.I, 6-12

Septembre 1978) New York, O.M.S 1978, 49P.

5. **ANONYME**

UNICEF : Enfants et femmes du MALI :

une analyse de la situation, UNICEF,

Paris, 1989.

6. **ANONYME**

Médecine traditionnelle et pharmacopée africaine.

Colloque du CAMES, Lomé (Togo),

1974, 281 - 286.

7. **AYOUB H, S. M. ; YANKOV, L.K.**

Molluscicidal properties of the sudan Acacia.

Fitoterapia - 1987. Vol L VIII, N°5, pp 363 - 366

8. **BRUNETON J.**

Elément de phytochimie et de pharmacognosie.

1er édition - Paris - 1987- p. 55

9. CRETE P.

Précis de botanique : systematique des Angiospermes-
7e édition révisée - 1989 - p. 239

10. DIABATE DONM.

Contribution à l'étude des Mimosacea sénégalaises :
caractères déterminatifs, classification générale.
Thèse Pharmacie ; Dakar, 1984, n° 10, pp. 22-25

11. DIAW M.M.

Contribution à l'étude de l'effet hépatoprotecteur du
Cochlospermum tinctorium A. Rich. (COCHLOSPERMACEES).
Thèse vét., Dakar, 1982, N°4. pp. 51- 52 -

12. DJIMDE A.

Contribution à l'étude du traitement traditionnel du syndrome ictérique
(Asthénie, Anorexie, Constipation, fièvre) -
Thèse Pharmacie ; Bamako, ENMP, 1988, pp.27-71.

13. FOUET P.

Abrégé d'Hépatologie - édition Masson : Paris, 1978, p. 22

14. GABRIEL L. PLAA

Evaluation liver function methodology.
Dept. of pharmacology college of medicine
the university of IOWA - IOWA city.

15. GIROUD J.P. ; MATHE ; MEYNIEL et coll ;

Pharmacologie clinique : base de la thérapeutique.
2e édition, 1988, P. 1848

16. GIROUX J. ; BOUCHARD M.

Le problème de l'étude expérimentale des cholérétiques.
Lyon pharmaceutique N°2, Fév. 1964, pp. 51- 90

17. GUIGNARD J.L.

Abrégé de botanique. - 6e édition. Masson - .
1986.- pp. 170 - 172

18. HOFFMAN G.

Les animaux de laboratoire. - Paris VI ème, Vigot Frère, 1963,P.151

19. KERHARO J., ADAM J.G.

La pharmacopée sénégalaise traditionnelle -
Plantes Médicinales et toxiques.
Paris, Ed.Vigot - Frère, 1974 pp. 554 - 556

20. KIND P.R.N., KINGE G.

J. Clin. Path. 1954, 7, 322.

21. LECHAT P. ; LAGIERG. et coll

Abrégé de Pharmacologie médicale. - Paris : édition
Masson, 4e éd, 1982, pp. 521 - 522

22. NATAF C.

"Les problème à l'ordre du jour en hépatologie, HAA."
Gastro entérologie quotidienne, N°25, 1979, pp. 18 - 21.

23. NON GONIERMA A.

Contribution à l'étude biosystématique du genre Acacia Miller (Mimosaceae)
en Afrique Occidentale.
Thèse Sciences Naturelles, tome 3, Dakar, 1978, N°7. pp. 30-31

24. REITMANS., FRANKEL S.

"A colorimetric method of the determination of serum
glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases".
Am. Journ. Clin. path., n°28, 1957, p. 56

25. ROZE CI.

Etude de la cholèrese chez le rat anesthésié.
Fiche technique n°15 pharmacologie
Supplément n°2, 1971, 2, 175- 182, paris.

26. SCHAPIRA G.

Eléments de biochimie clinique et physiologique -
Flammarion Médecine des Sciences - 1981- pp.109 -317

27. SCHONNEIMER R., SPERRY W.M.

A micromethod for determination of free and combined cholesterol.
J. biol. Chem. 1934, 106, 745

28. SERGE B.

Révision accélérée en biochimie clinique
Editions. Maloine, PARIS, 1982, pp. 237-258

29. STAHL E.

Analyse chromatographique et microscopique des drogues.
Entreprise Moderne d'Édition Technique et Documentation - 1974. p. 17

30. VALETTE G.

Précis de pharmacodynamie - 3e ed 1972. p. 461

31. VON MAYDELL H.J.

Arbres et Arbustes du Sahel - Leurs caractéristiques et leurs utilisations..
Schriftenreihe der GTZ N° 147 ; pp. 59 -131

RESUME

RESUME

Nom : FOFANA Prénom : Soumana

Titre de la thèse : " Contribution à l'étude phytochimique et pharmacologique de
Acacia seyal Del. (Mimosaceae).

Année : 1993

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : République de Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du
Mali

Secteur d'intérêt : Recherche en Médecine Traditionnelle.

Résumé :

Des études phytochimique et pharmacologique ont été menées sur la racine entière d'Acacia seyal Del.

L'étude phytochimique a consisté à un fractionnement de la drogue par différents solvants organiques (cyclohexane, méthanol, hydrométhanol, acétate d'éthyle, butanol, éther éthylique et eau).

Les travaux phytochimiques ont été guidés par les résultats des tests pharmacologiques.

Du point de vue pharmacologique, les investigations ont porté sur la cholérèse chez le lapin anesthésié à l'uréthane.

La bile recueillie grâce à une fistule cholédocienne a été soumise à la détermination du débit et du poids d'extrait sec.

Les extraits méthanolique et aqueux se sont révélés les plus intéressants car possédant l'activité cholérétique vraie la plus élevée.

Mots-clés : Acacia seyal Del, phytochimique, pharmacologique, lapin, cholérèse.

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.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, en aucun cas, je ne consentirai à utiliser ma connaissance 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 de mes confrères si j'y manque.