

**Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche
Scientifique**

UNIVERSITÉ DE BAMAKO

UNIVERSITE
DE BAMAKO

République du Mali

Un Peuple – Un But – Une Foi



ANNEE UNIVERSITAIRE : 2010-2011

FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO – STOMATOLOGIE

**EFFETS DE L'ADMINISTRATION REPETEE DU
DECOCTE DES RACINES DE *ENTADA AFRICANA* Guill &
Perr (*MIMOSACEAE*) SUR CERTAINS PARAMETRES
BIOLOGIQUES CHEZ LES RATS.**

Jury

Président :	Pr. Drissa		DIALLO
Membres :	Pr. Ababacar	I	MAIGA
	Dr. Bakarou		KAMATE
Directrice :	Pr. Rokia		SANOGO

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2010 - 2011

ADMINISTRATION :

DOYEN : **Anatole TOUNKARA** - PROFESSEUR

1^{er} ASSESSEUR : **Boubacar TRAORE** - MAITRE DE CONFERENCES

2^{ème} ASSESSEUR : **Ibrahim I. MAIGA** - PROFESSEUR

SECRETAIRE PRINCIPAL : **Idrissa Ahmadou CISSE** – MAITRE DE CONFERENCES

AGENT COMPTABLE : **M^{me} COULIBALY Fatoumata TALL** - CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie - Secourisme
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Siné BAYO	Anatomie - Pathologie - Histoembryologie
Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Mr Boulkassoum HAIDARA	Législation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sanoussi KONATE	Santé Publique
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Mr Tiemoko D. COULIBALY Odontologie

Mme Diénéba DOUMBIA Anesthésie/Réanimation
Mr Bouraïma MAIGA Gynéco-Obstétrique
Mr Niani MOUNKORO Gynécologie - Obstétrique
Mr Zanafon OUATTARA Urologie
Mr Adama SANGARE Orthopédie - Traumatologie

Mr Aly TEMBELY Urologie

Mr Samba Karim TIMBO ORL

Mr Souleymane TOGOLA Odontologie

Mr Lamine TRAORE Ophtalmologie
Mr Issa DIARRA Gynécologie - Obstétrique

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Youssouf SOW Chirurgie Générale
Mr Djibo Mahamane DIANGO Anesthésie - réanimation
Mr Moustapha TOURE Gynécologie
Mr Mamadou DIARRA Ophtalmologie
Mr Boubacary GUINDO ORL
Mr Moussa Abdoulaye OUATTARA Chirurgie Générale
Mr Birama TOGOLA Chirurgie Générale
Mr Bréhima COULIBALY Chirurgie Générale
Mr Adama Konoba KOITA Chirurgie Générale
Mr Adégné TOGO Chirurgie Générale
Mr Lassana KANTE Chirurgie Générale
Mr Mamby KEITA Chirurgie Pédiatrique
Mr Hamady TRAORE Odonto-Stomatologie
Mme Fatoumata SYLLA Ophtalmologie
Mr Drissa KANIKOMO Neurochirurgie
Mme Kadiatou SINGARE ORL
Mr Nouhoum DIANI Anesthésie - Réanimation
Mr Aladjji Seïdou DEMBELE Anesthésie - Réanimation

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Mr Ibrahim TEGUETE	Gynécologie - Obstétrique
Mr Youssouf TRAORE	Gynécologie - Obstétrique
Mr Lamine Mamadou DIAKITE	Urologie
Mme Fadima Koréissy TALL	Anesthésie Réanimation
Mr Mohamed KEITA	Anesthésie Réanimation
Mr Broulaye Massaoulé SAMAKE	Anesthésie Réanimation
Mr Yacaria COULIBALY	Chirurgie Pédiatrique
Mr Seydou TOGO	Chirurgie Thoracique - cardiovasculaire
Mr Tioukany THERA	Gynécologie
Mr Oumar DIALLO	Neurochirurgie
Mr Boubacar BA	Odontostomatologie
Mme Assiatou SIMAGA	Ophtalmologie
Mr Seydou BAKAYOKO	Ophtalmologie
Mr Sidi Mohamed COULIBALY	Ophtalmologie
Mr Adama GUINDO	Ophtalmologie
Mme Fatimata KONANDJI	Ophtalmologie
Mr Hamidou Baba SACKO	ORL
Mr Siaka SOUMAORO	ORL
Mr Honoré jean Gabriel BERTHE	Urologie
Mr Drissa TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Bakary Tientigui DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Koniba KEITA	Chirurgie Générale
Mr Sidiki KEITA	Chirurgie Générale
Mr Soumaïla KEITA	Chirurgie Générale
Mr Alhassane TRAORE	Chirurgie Générale

4. ASSISTANTS

Mr Drissa TRAORE	Anatomie
------------------	----------

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie - Mycologie
Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdourahmane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie
Mr Sékou F.M. TRAORE	Entomologie Médicale
Mr Ibrahim I MAIGA	Bacteriologie - Virologie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie - Virologie
Mr Amagana DOLO	Parasitologie Chef de D.E.R.
Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr Mahamadou A. THERA	Parasitologie -Mycologie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Mouctar DIALLO	Biologie Parasitologie
Mr Djibril SANGARE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Boubacar TRAORE	Parasitologie Mycologie
Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Guimogo DOLO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Lassana DOUMBIA	Chimie Organique
Mr Abdoulaye TOURE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Cheik Bougadari TRAORE	Anatomie - Pathologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie - Virologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou DIAKITE	Immunologie – Génétique
Mr Bakarou KAMATE	Anatomie Pathologie
Mr Bakary MAIGA	Immunologie

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Mr Bokary Y. SACKO

Biochimie

4. ASSISTANTS

Mr Mamadou BA

Biologie, Parasitologie Entomologie Médicale

Mr Moussa FANE

Parasitologie Entomologie

Mr Blaise DACKOUCO

Chimie Analytique

Mr Aldiouma GUINDO

Hématologie

Mr Boubacar Ali TOURE

Hématologie

Mr Issa KONATE

Chimie Organique

Mr Moussa KONE

Chimie Organique

Mr Hama Abdoulaye DIALLO

Immunologie

Mr Seydina Aboubacar Samba DIAKITE

Immunologie

Mr Mamoudou MAIGA

Bactériologie

Mr Samba Adama SANGARE

Bactériologie

Mr Oumar GUINDO

Biochimie

Mr Seydou Sassou COULIBALY

Biochimie

Mr Harouna BAMBA

Anatomie Pathologie

Mr Sidi Boula SISSOKO

Hysto-Embryologie

Mr Bréhima DIAKITE

Génétique

Mr Yaya KASSOUGUE

Génétique

Mme Safiatou NIARE

Parasitologie

Mr Abdoulaye KONE

Parasitologie

Mr Bamodi SIMAGA

Physiologie

Mr Klétigui Casmir DEMBELE

Biochimie Clinique

Mr Yaya GOITA

Biochimie Clinique

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

PROFESSEURS

Mr Mahamane MAIGA

Néphrologie

Mr Baba KOUMARE

Psychiatrie

Mr Moussa TRAORE

Neurologie

Mr Hamar A. TRAORE

Médecine Interne

Mr Dapa Aly DIALLO

Hématologie

Mr Moussa Y. MAIGA

Gastro-entérologie – Hépatologie

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Mr Somita KEITA	Dermato-Léprologie
Mr Boubakar DIALLO	Cardiologie
Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie, Chef de D.E.R

MAITRES DE CONFERENCES

Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mr Sounkalo DAO	Maladies Infectieuses
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Daouda K. MINTA	Maladies Infectieuses
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Mahamadou TOURE	Radiologie
Mr Idrissa Ah. CISSE	Rhumatologie
Mr Mamadou B. DIARRA	Cardiologie
Mr Moussa T. DIARRA	Hépatogastro-entérologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie
Mr Anselme KONATE	Hépatogastro-entérologie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie

MAITRES ASSISTANTS

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Mme KAYA Assétou SOUCKO	Médecine Interne
Mr Mahamadoun GUINDO	Radiologie
Mr Ousmane FAYE	Dermatologie
Mr Yacouba TOLOBA	Pneumo-Phtisiologie
Mme Fatoumata DICKO	Pédiatrie
Mr Boubacar DIALLO	Médecine Interne
Mr Youssoufa Mamoudou MAIGA	Neurologie
Mr Modibo SISSOKO	Psychiatrie
Mr Ilo Bella DIALL	Cardiologie
Mr Mahamadou DIALLO	Radiologie
Mr Adama Aguisa DICKO	Dermatologie
Mr Abdoul Aziz DIAKITE	Pédiatrie
Mr Boubacar dit Fassara SISSOKO	Pneumologie
Mr Salia COULIBALY	Radiologie
Mr Ichaka MENTA	Cardiologie
Mr Souleymane COULIBALY	Cardiologie
Mr Japhet Pobanou THERA	Médecine Légale/Ophtalmologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique
Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie, Chef de D.E.R.

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Drissa DIALLO	Matières Médicales
Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Benoît Yaranga KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Ababacar I. MAIGA	Toxicologie
Mme Rokia SANOGO	Pharmacognosie
Mr Saïbou MAIGA	Législation
Mr Ousmane KOITA	Parasitologie Moléculaire

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Yaya KANE	Galénique
--------------	-----------

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Mr Yaya COULIBALY	Législation
Mr Abdoulaye DJIMDE	Microbiologie - Immunologie
Mr Sékou BAH	Pharmacologie
Mr Loséni BENGALY	Pharmacie Hospitalière

4. ASSISTANTS

Mr Aboubacar Alassane Oumar	Pharmacologie Clinique
Mr Sanou Khô COULIBALY	Toxicologie
Mr Tidiane DIALLO	Toxicologie
Mr Bourama TRAORE	Législation
Mr Issa COULIBALY	Gestion
Mr Mahamadou TANDIA	Chimie Analytique
Mr Madani MARIKO	Chimie Analytique
Mr Mody CISSE	Chimie Thérapeutique
Mr Ousmane DEMBELE	Chimie Thérapeutique
Mr Hamma Boubacar MAIGA	Galénique
Mr Bacary Moussa CISSE	Galénique
Mr Adama DENOUE	Pharmacognosie
Mr Mahamane HAIDARA	Pharmacognosie
Mr Hamadoun Abba TOURE	Bromatologie
Mr Balla Fatoma COULIBALY	Pharmacie Hospitalière

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Mamadou Souncale TRAORE	Santé Publique, Chef de D.E.R.
Mr Jean TESTA	Santé Publique
Mr Massambou SACKO	Santé Publique
Mr Alassane A. DICKO	Santé Publique
Mr Seydou DOUMBIA	Epidémiologie
Mr Samba DIOP	Anthropologie Médicale
Mr Hamadoun SANGHO	Santé Publique
Mr Adama DIAWARA	Santé Publique

2. MAITRES ASSISTANTS

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Mr Hammadoun Aly SANGO	Santé Publique
Mr Akory AG IKNANE	Santé Publique
Mr Ousmane LY	Santé Publique
Mr Cheick Oumar BAGAYOKO	Informatique Médecine
Mme Fanta SANGHO	Santé Communautaire

3. ASSISTANTS

Mr Oumar THIERO	Biostatistique
Mr Seydou DIARRA	Anthropologie Médicale
Mr Abdrahamne ANNE	Bibliothéconomie - Bibliographie

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Zoubeïrou MAÏGA	Physique
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Lassine SIDIBE	Chimie Organique
Mr Cheick O. DIAWARA	Bibliographie
Mr Ousmane MAGASSY	Biostatistique

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr. Amadou Papa DIOP	Biochimie
Pr. Lamine GAYE	Physiologie
Pr. Pascal BONNABRY	Pharmacie Hospitalière

DEDICACES

A Allah

Mon seigneur la grâce infinie est à toi qui m'as permis d'arriver à ce stade. Je suis ton esclave, certes oui mon front est dans ta main, ton arrêt sur moi est exécutoire et le destin que tu m'as prescrit est bien juste,

O mon seigneur ! Je me soumetts à toi, pardonne moi donc mes péchés passés et futurs, qu'ils soient secrets ou publics et ce que tu connais mieux que moi ;

Seigneur fait que ma vie et mes actions soient conformes à tes préceptes.

Raffermit ma foi à l'image de celui que tu as aimé et considéré de plus parmi tes créatures :

Le Prophète Mohamed (SPSL), l'universel ne m'oublie pas pour le reste afin que ma vie ait tout son sens car tu nous as crée dans le seul but de t'adorer. Que ton nom soit à jamais glorifié ! Amen.

A la mémoire de mon père Ousmane MANGARA dit Bélingué

Toi qui m'as vu grandir mais que le tout Puissant ne t'as pas permis de voir ce jour. Tu es resté vivace dans mon esprit car tu occupes une importante place dans mes souvenirs d'enfances. Tu m'as couvert d'une affection, d'une indescriptible générosité et d'une tendresse affichée. Que peut-on attendre de plus d'un père ? Ce travail t'est dédié.

Qu'ALLAH t'accueille en son sein. Amen !

A la mémoire de mon cher Père, Zan DIARRA

Mon vœu le plus ardent ais de te compter parmi les participants de cette cérémonie. Merci père de nous avoir appris dès notre jeune âge que dans la vie il faut être un homme de principe, véridique et il ne faut compter que sur soi même. Père de tous les enfants, puisse le Tout Puissant, le Créateur, l'Omniscient dans la santé et la longévité te laisser goûter le fruit de ce travail à nos côtés AMEN !!!

A ma très chère Mère, Sounkoura MALLE

Je remercie le bon Dieu de m'avoir donné une maman comme toi. C'est la mère qui donne la vie, nourrit, soigne et console. Ta générosité est sans limite, toi qui t'es privée de tout pour que nous ayons une bonne éducation et vie meilleure. Tu es une femme dynamique, vertueuse, courageuse et pleine de bon sens.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Chère maman, nous avons enfin compris ton combat, tes paroles sans cesse qui n'avaient d'autres objectifs que notre réussite.

C'est la raison pour laquelle ce travail t'est entièrement dédié. C'est le moment d'implorer ton pardon pour toutes les peines que nous t'avons fait subir et reçoit l'assurance de mon amour et mon entière disponibilité.

Certes ta présence ce jour, a rempli de joie nos cœurs. Si j'ai pu réussir aujourd'hui c'est grâce à ton courage. Mère de tous les enfants, puisse le Tout Puissant, le Créateur, l'Omniscient dans la santé et la longévité te laisser goûter le fruit de ce travail à nos côtés
AMEN !!!

A mes frères, sœurs, parents et amis,

Et à tous ceux qui de près ou de loin, moralement et matériellement ont contribué à la réalisation de ce travail.

A ma fille Sounkoura dite Batoma

Ce travail est le mien mais aussi le tien. Puisse Dieu nous accorder sa grâce et guider nos pas dans ce bas monde. Que l'unique te bénisse notre première fille. Amen !

A ma fiancé, Kadidiatou SYLLA

Ton respect, ta patience n'ont pas fait défaut. Ton amour envers moi est sincère, nous nous aimons comme la bouche et la main : si la main souffre, la bouche souffre dessus et si la bouche a une douleur la main la soigne. Puisse le tout Puissant nous prêter longue vie pour que nous atteignions nos objectifs et nous accorder beaucoup de bonheur. Que notre union soit préservée. Amen !

MENTION SPECIALE

A ma chère patrie, qui malgré la faiblesse des ressources arrive à assurer l'éducation de ses fils. Merci chère patrie pour m'avoir accordé la chance de bénéficier de la meilleure des richesses qu'un homme puisse posséder et de m'y avoir facilité en m'octroyant les moyens humains, matériels et financiers.

Certes, je t'en serais reconnaissant.

A l'INSRP pour sa contribution à l'élaboration de ce travail à travers le protocole de recherche N° 006 INRSP 2010, budget de l'Etat, du Pr Rokia SANOGO sur *Entada africana*.

Au professeur Rokia SANOGO, tout ce travail est votre œuvre, je suis parvenue à cette étape parce que vous avez su guider mes pas et donner de vous tant sur le plan matériel que financier. Ma chère Professeur cela ne surprend guère ceux qui ont eu le privilège de vous côtoyer.

Votre rigueur scientifique, votre amour du travail bien fait, votre humanisme et votre modestie illustrent vos qualités d'Homme de science. Puisse Dieu me permettre de vous imiter.

Au professeur Drissa DIALLO pour votre aide, votre disponibilité, votre simplicité, votre participation active dans ma formation et vos encouragements. Que Dieu vous donne longue vie. Amen !

Au docteur Sergio GIANI pour votre participation à l'élaboration dans le traitement des données. Que Dieu vous donne longue vie. Amen !

Aux docteurs Mahamane HAIDARA et Adama DENOUE pour votre aide, votre disponibilité, votre simplicité, votre participation active dans ma formation et vos encouragements. Bonne carrière professorale. Amen !

Au docteur Bakarou KAMATE Que peut-on dire si ce n'est que de vous remercier pour tous les efforts consentis pour la réalisation de ce travail.

REMERCIEMENTS

A Mme **DIARRA Djéneba DIAKITE** :

Femme au grand cœur, généreuse, toujours disposée et attentive à mon évolution académique. Tu m'as soutenu tout au long de mes études, grand merci pour tout ce que tu m'as fait pour ma bonne réussite que le tout Puissant nous accorde son paradis.

A mes frères et sœurs : **Souleymane DIARRA, Moussa DIARRA, Demba DIARRA, Bakaye DIARRA, Ousmane DIARRA, Sory I DIARRA, Zantigui DIARRA, Bourama DIARRA, Oumar DIARRA, Kadidiatou DIARRA, Fatoumata DIARRA, Doussouba DIARRA et Maimouna DIARRA** :

Acceptez la sincère reconnaissance d'un de vous qui restera à tout jamais sensible à vos sacrifices.

Mes remerciements vont également à l'endroit du personnel du laboratoire du DMT **Tonton Kassim Coulibaly, Tonton Fagnan Sanogo, Mme Maïga Tantie Tapa Fanè...** pour leur aide. Que Dieu exhausse vos vœux les meilleurs.

J'aimerais remercier Mr **Amadou COULIBALY** au secrétariat de l'association Ançar-Dine pour sa contribution logistique à l'amélioration de ce travail. Grand merci.

Mes remerciements vont également à l'endroit du docteur **Tenin SAMAKE et Dr Check Oumar DIA** de m'avoir acceptée dans leurs officines durant mon stage. Grand merci pour votre disponibilité et vos conseils.

A mes camarades thésards du laboratoire du DMT

Sidiki COULIBALY, Mamady MOUGARE, Amadigué GUINDO, Daouda DEMBELE, Sekou DOUMBIA, Ama Yesunyo Ahonsou, Aboubacar NIARE et Makan SOUMARE.

Retrouvez ici ma profonde considération et mes sincères remerciements pour les moments agréables et mémorables passés ensemble tout au long de nos 7 ans. Que Dieu nous aide à prospérer tout au long de notre carrière.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

A la 3^{ème} promotion du Numerus clausus de la section Pharmacie de la FMPOS (promotion Moussa HARAMA) :

En souvenir des moments passés certes difficiles mais prometteurs, ma reconnaissance pour ces belles années de marche commune. La volonté et le sens patriotique qui nous animent me laissent croire à un lendemain meilleur de la santé et de l'éducation dans notre chère patrie.

Aussi, j'espère que la bonne ambiance qui a caractérisé nos relations durant ces années nous permettra de tisser les relations professionnelles saines et fécondes. Brillante carrière professionnelle à tous. AMEN !!!

Mes remerciements vont également à l'endroit de tous les personnels du **centre de santé chérifla** pour leur aide. Que Dieu exauce vos vœux les meilleurs.

Au corps professoral de la FMPOS

Vous avez contribué à notre formation en nous dispensant des enseignements de hauts niveaux. Nous vous en serons toujours reconnaissants.

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

Courage ! Courage ! Courage !

A tous ceux qui ont contribué à la réussite de ce travail.

Hommage aux membres de jury

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY : Professeur Drissa DIALLO

Maître de conférence agrégé en Pharmacognosie ;

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

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

Expert de l'OMS en médecine traditionnelle .

Cher maître,

Permettez-nous de vous remercier pour l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider ce jury. Nous nous réjouissons beaucoup de la qualité d'enseignement que vous nous avez offerte durant notre formation. Votre modestie, votre qualité d'homme de science et votre amour pour le travail bien fait nous serviront de modèle durant toute notre carrière professionnelle.

Veillez trouver ici, cher maître, l'expression de notre profond respect.

A NOTRE MAITRE ET JUGE : Pr Ababacar I MAÏGA

Maître de conférence en Toxicologie ;

Responsable de l'enseignement de la toxicologie à la FMPOS ;

Directeur adjoint du Département de la Pharmacie et de Médicament (DPM) du Mali.

Cher maître,

Nous sommes profondément touchés par l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de juger ce travail. Cela témoigne une fois de plus l'importance que vous accorder à la formation. Nous sommes très honorés d'avoir bénéficié de vos enseignements pendant notre formation.

Nous vous prions d'accepter l'expression de nos sentiments de reconnaissance.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

A NOTRE MAITRE ET JUGE : Dr Bakarou KAMATE

Maître assistant en anatomie pathologique à la FMPOS ;

Pathologiste chercheur au CHU Point G.

Cher maître,

Votre qualité pédagogique, votre maîtrise de la profession et votre simplicité ont forcé notre respect et admiration. Votre participation au jugement de ce travail est un grand plaisir pour nous.

Recevez cher maître l'expression de nos sentiments les plus respectueux et le témoignage de notre reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTRICE DE THESE : Professeur Rokia SANOGO

Maître de conférence agrégé en pharmacognosie ;

Première femme agrégée en Pharmacie au Mali ;

Enseignant chercheur à la FMPOS

Cher maître,

Les mots nous manquent pour exprimer combien nous nous sentons flattés de vous avoir à la direction de ce travail. Dès nos premiers pas dans le service, vous nous avez assuré un encadrement de qualité. Votre richesse scientifique, votre rigueur, votre dynamisme et votre disponibilité constante ont cultivé en nous l'amour pour la pharmacognosie.

Soyez rassuré de notre attachement et de notre profonde reconnaissance.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
MOTIVATION	3
OBJECTIFS	3
CHAPITRE I : TRAVAUX ANTERIEURS	4
I. Rappels	4
1. Toxicités des plantes	4
2. Anatomie du foie	5
2-1. Histologie	5
2-2. Fonctions hépatiques	7
2-3. Métabolisme des xénobiotiques	9
2-4. Notion de pathologies hépatiques médicamenteuses	10
2-5. Les causes de pathologies hépatiques	10
2-6. Exemples de plantes utilisées dans le traitement des hépatites	12
3. Anatomie du rein	12
3-1. Notion de pathologies rénales	13
3-2. Toxicité rénale médicamenteuse	14
3-3. Evaluation de la fonction rénale	15
4. Notion des interactions médicamenteuses.....	17
5. Les grands marqueurs du foie et rein	18
6. Méthodes d'étude de la toxicité	22
II. La monographie de la plante	26
CHAPITRE II : TRAVAUX PERSONNELS	32

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Première partie : Méthodologie	32
I. Lieu d'étude	32
II. Matériel végétal	33
III. Contrôle de qualité de la matière première	33
IV. Etudes phytochimiques	41
V. Activités biologiques	49
Deuxième partie : Résultats	55
I. Caractères macroscopiques	55
II. Données du contrôle de qualité	56
III. Extraits	56
IV. Données chimiques	58
V. Données biologiques	66
Troisième partie : Commentaires et discussion	89
Quatrième partie : conclusion et recommandations	92
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	94
ANNEXES	99
RESUME	101

Liste des abréviations

OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
NEAT :	Aspartate Aminotransférase
CCl₄/L :	Tétrachloroéthylène
Cl_{Cr} :	Cléarence de la créatinine
DPPH	1,1-Diphényl-2-picryl hydrazyle
CYP :	Cytochrome P450
DFG :	Débit de filtration glomérulaire
E.a :	<i>Entada africana</i>
EtOH :	Ethanol
GGT :	Gamma-Glutamyl-Transpeptidase
IR :	Insuffisance rénale
IRA :	Insuffisance rénale aiguë
IRC :	Insuffisance rénale chronique
MeOH :	Méthanol
mg/l :	Milligramme par litre
ml/min :	Millilitre par minute
MTA :	Médicaments traditionnels améliorés

INTRODUCTION

Au Mali 80% de la population utilise la médecine traditionnelle pour les soins de santé. Cette médecine utilise des substances d'origine animale, minérale mais surtout végétale. Le Département Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), en collaboration avec les tradipraticiens de santé, mène des recherches pour la mise au point des médicaments traditionnels améliorés (MTA) à base de plantes médicinales. Ces MTA sont des phytomédicaments à efficacité prouvée, à limite de toxicité connue, de qualité contrôlée et de coûts abordables pour la population. Parmi les sept MTA du DMT qui figurent sur la liste nationale des médicaments essentiels, il existe l'HEPATISANE, MTA à base des feuilles de *Combretum micranthum* utilisé dans la prise en charge des affections hépatiques. De nombreuses plantes médicinales dont *Entada africana* (SAMANERE) sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses affections. Les racines de la plante sont utilisées en tisane dans le traitement entre autres des syndromes ictérique et hépatique (Kerharo et Adams, 1974). En raison de ces nombreux usages, l'étude des effets de *Entada africana* sur les paramètres biologiques chez les rats doit tenir une place importante.

Dans cette optique, les plantes ou parties de plante d'une toxicité élevée, même dans le cas où elles ne rentrent pas dans la thérapeutique ne doit passer point sous silence.

De nombreuses recherches ont déjà été effectuées sur les extraits des racines de *E. africana* : Pour le contrôle de qualité, l'observation microscopique des poudres de racines a révélé la présence de grains d'amidon, de groupes de fibre, des fragments d'épiderme, des cristaux d'oxalate de calcium, de cellules sclérifiées, les fragments de tissus avec cellules palissadiques dans la poudre de racine de *E. africana* (Sangaré, 1999).

Les extraits de la plante ont inhibé le virus *Herpes simplex* (Silva et al. 1997). Les études réalisées sur le décocté de racine ont montré une activité hépato-protectrice (Sanogo et al. 1998). L'extrait aqueux a également provoqué une broncho-dilatation chez le cobaye (Occhiuto et al. 1999). Des polysaccharides de type pectine doués d'activité anti-complémentaire ont été isolés de l'extrait aqueux des racines (Diallo et al, 2001). La plante contient des saponines, des alcaloïdes 0,25 % (Sangaré, 1999 ; Diallo et al. 2001). Récemment de nouveaux saponosides avec des propriétés antiprolifératives ont été isolés à partir des racines de *Entada africana*(Cioffi et al, 2006).

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Les tests de toxicité ont démontré que la DL₅₀ du décocté des racines de *E. africana* est supérieur à 3000 mg/kg (Sanogo, 1999).

Un essai clinique sur 45 malades souffrant d'hépatite virale et d'ictère (pendant 1-6 semaines) a entraîné une normalisation des transaminases (ALAT et ASAT) chez 100 % des malades et une disparition des symptômes chez 93 % des patients (Douaré, 1991).

Ces résultats ont permis la mise au point du MTA à base de racine de *Entada africana* sous le nom de **SAMANERE** pour la prise en charge des affections hépatiques.

Actuellement **SAMANERE** fait l'objet d'une grande consommation pour la prise en charge non seulement des affections hépatiques mais également d'autres affections fréquentes.

Afin de s'assurer de la sécurité d'emploi de **SAMANERE**, notre étude a pour objet d'évaluer l'effet de l'administration prolongée du décocté de racines de *Entada africana* (**SAMANERE**) sur certains paramètres biologiques du foie et du rein chez les rats.

Motivations

Dans cette optique, la sécurité d'utilisation doit être le critère primordial du choix des MTA. Les professionnels de la santé et le public doivent recevoir des informations à jour et vérifiées tant sur les effets bénéfiques que nocifs des plantes médicinales.

L'usage de remèdes à base de racines de *Entada africana* dans le traitement des hépatites est courant. Cette thérapie mérite encore d'être vérifiée scientifiquement en profondeur comme cela a été le cas pour d'autres plantes.

Ce présent travail est donc motivé par :

- la contribution à la sécurité d'emploi de *Entada africana* au Mali,
- la valorisation de la pharmacopée traditionnelle afin de pouvoir satisfaire aux besoins de santé des populations,
- faciliter l'accès des populations aux MTA (Médicaments Traditionnels Améliorés) à moindre coût compte tenu du coût élevé et de la méfiance des médicaments conventionnels.

Objectifs:

Objectif général:

Etudier la phytochimie et l'effet de l'administration prolongée du décocté de racines de *Entada africana* (Samanéré) sur des paramètres biologiques du foie et du rein chez les rats.

Objectifs spécifiques:

- Caractériser les différents groupes chimiques des racines de *Entada africana*.
- Déterminer les constituants antiradicalaires et hémolytiques des extraits des racines de *Entada africana*
- Evaluer toxicité aiguë et chronique des extraits aqueux de *Entada africana* chez les rats.

CHAPITRE I : TRAVAUX ANTERIEURS

I-Rappels :

1- La toxicité des plantes:

Avant d'examiner l'activité thérapeutique d'une drogue ou de ses constituants, il est nécessaire de connaître leur toxicité. L'utilisation des plantes comme médicaments est le plus souvent fondée sur des observations empiriques et des traditions parfois millénaires. Il ya des drogues dont l'administration peut provoquer des phénomènes d'intolérance ou d'allergie. D'autres plantes exercent leur effet thérapeutique à des doses voisines de celles pour lesquelles on observe des phénomènes toxiques; on dit que la marge thérapeutique est réduite: c'est le cas des digitales, curares, Aconit (Paris et Moyse, 1965).

L'intoxication est sévère avec les plantes riches en hétérosides cardiotoniques.

Les saponosides ont des propriétés hémolytiques généralement attribuées à leur interaction avec les stéroïls de la membrane érythrocytaire.

L'intoxication liée aux plantes se fait généralement par l'ingestion directe de plantes ou de parties de plantes éventuellement dangereuses ou plus rarement dans un but de suicide: feuilles d'if, de Laurier-rose, de digitale (Fané 2003).

Quelques plantes ou parties de plantes à toxicité élevée: il s'agit de :

- la poudre des graines de *Afzelia africana* , de latex et graines de *Argemone mexicana*, des graines fraîches de *Cassia occidentalis*, tous réputés d'une toxicité élevée (Encyclopédie médicale 1986) ;

La pomme de sodomie (*Calotropis procera*) dont le latex était utilisée pour la chasse à l'éléphant comme poison de flèche au Sénégal (Encyclopédie médicale 1986).

- les poisons strophanthiques utilisés pour l'empoisonnement des flèches: kounalé ou kounadié(*Strophanthus hispidus*)(Kerharo et Adam. 1974).

- des espèces de haute toxicité connue comme l'aconit, les *strophanthus*, la noix vomique, les solanacées mydriatiques, le pavot, la ciguë ; que l'industrie pharmaceutique a retiré des médicaments de grande valeur (Fané 2003).

Chaque plante suspecte doit être examinée en particulier afin de voir quels sont ses organes ou ses tissus dangereux, si les poisons élaborés par certaines parties subissent des migrations vers d'autres organes. On doit aussi vérifier si la production des poisons est influencée par l'âge du végétal, les saisons, la culture, le sol, s'ils sont saisonniers ou permanents, volatiles et destructibles par la cuisson ou fixes et résistants à de hautes températures. Ces points élucidés,

l'action de chaque plante doit être suivie sur l'homme et les espèces animales domestiques (Bruneton, 1999).

2- Anatomie du Foie (Seide, 2008)

Le foie représente l'organe interne le plus volumineux du corps humain et pèse en moyenne 1.5 kg chez l'adulte (2 à 5% du poids corporel). Chez le rat, il se caractérise par un poids moyen de 16 g, soit 4% de la masse corporelle totale. D'aspect rouge-brunâtre et de forme ovoïde, le foie se situe du côté supérieur droit de la cavité abdominale, entre le diaphragme et l'estomac, et s'avère responsable de plusieurs fonctions physiologiques vitales.

2-1 Histologie du foie

a- Organisation structurelle

L'organisation structurelle du foie témoigne de sa fonction primordiale qui est de servir de gardien de l'homéostasie corporelle. Le foie est localisé entre le tractus digestif et le reste de l'organisme. À cause de cette situation privilégiée, il reçoit et gère la plupart des nutriments et des substances nocives provenant du métabolisme cellulaire et de la circulation. Chez l'humain, le foie est formé de deux lobes principaux, le droit et le gauche, ainsi que de deux petits lobes, à savoir, le lobe caudé à la face postérieure, et le lobe carré à la face inférieure. Toutefois, chez de nombreux animaux, par exemple le rat, le foie présente une lobation plus accentuée. Ces lobes sont enveloppés d'une membrane fibreuse constituée de tissu conjonctif dense, la capsule de Glisson, et chaque lobe se subdivise lui-même en un grand nombre d'unités fonctionnelles appelées lobules (Seide, 2008).

De forme hexagonale, le lobule hépatique est centré par une veinule hépatique terminale centrale ou veine centrolobulaire, et limité par 4 ou 5 espaces portes (espaces de Kiernan) formés de tissu conjonctif fibreux et irrigués par la veine porte et l'artère hépatique. Il comprend par ailleurs trois éléments: les travées cellulaires ou travées de Remak, les capillaires sinusoïdes ou radiés, et les canalicules biliaires qui aboutissent au canal biliaire de l'espace porte.

De plus, une branche de l'artère hépatique, une branche de la veine porte et un canal biliaire forment ensemble une triade portale.

Le lobule hépatique correspond à l'unité structurelle du foie, c'est-à-dire aux travées dont les sinusoïdes se drainent dans la veine centrolobulaire. Toutefois, deux autres concepts, davantage adaptés à la physiologie et à la pathologie, ont été développés pour définir la subdivision de cet organe. En particulier, l'acinus de Rappaport, qui de forme losangique, est

cloisonné par les veines centrolobulaires de deux lobules contigus et par les angles de jonction de ces derniers, dont l'un s'avère portal et l'autre non portal; il constitue l'unité artérielle car centrée sur une branche de l'artère hépatique. L'acinus se divise en trois zones définies selon la distance les séparant des vaisseaux nourriciers, donc selon le degré d'oxygénation. La zone la mieux oxygénée est appelée zone périportale (zone 1), alors que la moins oxygénée correspond à la zone centrolobulaire (zone 3). La région de transition entre les zones 1 et 3 se nomme zone médiolobulaire ou intermédiaire.

b- Apport sanguin :

Fortement vascularisé, le foie bénéficie d'un apport sanguin double: veineux et artériel. L'apport en sang est assuré par deux larges vaisseaux: l'artère hépatique et la veine porte (Seide, 2008).

Chez l'humain, alors que cette dernière véhicule 75% du sang afférent, l'artère hépatique transporte les 25% restant. La veine porte achemine vers le foie le sang veineux désoxygéné ayant circulé à travers le tube digestif et la rate. Alors que le sang du tractus digestif contient les métabolites de la digestion, celui provenant de la rate s'avère riche en métabolites de l'hémoglobine. Quant à l'artère hépatique, elle fournit le sang oxygéné et provient de l'aorte.

Le sang afférent part de la périphérie du lobule hépatique vers la veine centrolobulaire en passant à travers les sinusoides. La vascularisation efférente est représentée par la confluence des veines centrales en veines sus-hépatiques qui se jettent dans la veine cave inférieure, laquelle reçoit ainsi les éléments utilisables ou éliminables par la sécrétion exocrine hépatique. Un vaste réseau de vaisseaux lymphatiques draine également le foie.

C- Cellules composant le foie

- Cellules parenchymateuses:

Les hépatocytes : Les cellules parenchymateuses, ou hépatocytes, sont les plus nombreuses du foie; elles constituent chez le rat 60% de l'ensemble des cellules de l'organe et environ 80% du volume hépatique. Il s'agit de cellules épithéliales polygonales de grande taille, organisées en travées anastomosées irrégulières et unicellulaires rayonnant autour d'une veine centrale. Elles sont également associées les unes aux autres par des jonctions lacunaires et séparées par les capillaires sinusoides (Seide, 2008).

Par ailleurs, les hépatocytes possèdent un noyau central, rond et volumineux, et certains sont binucléés, voire polynucléés. Leur cytoplasme est également de type éosinophile granuleux puisque très riche en mitochondries et organites intracellulaires (ex.: appareil de Golgi et les réticulums endoplasmiques lisse et rugueux). Cette abondance en organites cytoplasmiques reflète une importante activité métabolique, ce qui explique d'ailleurs que ce type cellulaire en particulier ait été choisi comme modèle pour notre étude: les hépatocytes représentent le centre fonctionnel du foie.

- Les cellules non parenchymateuses

Le foie s'avère composé majoritairement de cellules parenchymateuses, la paroi des capillaires sinusoides comprend 4 autres types cellulaires : les cellules endothéliales, les cellules de Küpffer, les cellules de Ito et les cellules de Pit. Ensemble, ces cellules non parenchymateuses représentent environ 40 % de la totalité des cellules du foie mais n'occupent que 6.3 % du volume hépatique total.

✓ **Les cellules endothéliales des capillaires sinusoides**

Les cellules endothéliales des capillaires sinusoides diffèrent de celles des autres endothéliums vasculaires de l'organisme car elles ne possèdent pas de membrane basale et sont fenêtrées; cette porosité permet aux hépatocytes d'accéder facilement aux nutriments et macromolécules plasmatiques. De plus, ces cellules jouent un rôle dans le métabolisme des lipoprotéines et s'avèrent impliquées dans l'endocytose de molécules et de particules.

2-2 Fonctions hépatiques

Le foie exerce plusieurs fonctions physiologiques (métaboliques, immunitaires, digestives et de biotransformation) essentielles au bon fonctionnement de l'organisme, et un dysfonctionnement de cet organe peut mener à la mortalité. La plupart s'avère prise en charge par les hépatocytes, mis à part les fonctions immunitaires, qui sont attribuées aux cellules de Pit et de Küpffer (Seide, 2008).

a- Fonction biliaires des hépatocytes

Le foie est une glande digestive exocrine. Les hépatocytes élaborent et sécrètent la bile, liquide jaunâtre et légèrement alcalin composé essentiellement d'eau, d'ions, d'acides et de sels biliaires, de cholestérol et de la bilirubine (pigment provenant surtout de la dégradation des hématies). Sécrétée de façon continue, la bile est emmagasinée et concentrée dans la vésicule biliaire en période de jeûne. En réponse à un stimulus hormonal (libération de la

cholécystokinine du petit intestin), elle se trouve évacuée de la vésicule biliaire puis acheminée vers le duodénum. Là, les acides et les sels biliaires participent à l'émulsification des lipides alimentaires et des vitamines liposolubles, facilitant ainsi leur digestion par les lipases pancréatiques et leur absorption.

b- Fonctions métaboliques des hépatocytes

➤ Métabolisme glucidique

Les hépatocytes jouent un rôle important dans le métabolisme des glucides en assurant le maintien d'une glycémie normale. Pour cela, lorsque la concentration sanguine en glucose atteint un niveau trop élevé, celui-ci est converti en glycogène (glycogénèse) et emmagasiné dans les hépatocytes; quand, au contraire, cette concentration devient trop faible, les cellules hépatocytaires dégradent en glucose les réserves intrahépatiques de glycogène (glycogénolyse). Les hépatocytes peuvent également synthétiser le glycogène à partir des lipides ou des protides (néoglycogénèse), et convertir en glucose différentes substances non glucidiques telles que des acides aminés (gluconéogénèse).

➤ Métabolisme lipidique

Les hépatocytes se montrent très actifs dans le métabolisme des lipides. Ils captent ainsi les acides gras et les estérifient en triglycérides qu'ils emmagasinent, ils synthétisent du cholestérol, des phospholipides et des lipoprotéines plasmatiques. Ces dernières s'avèrent composées des lipides ainsi que d'apolipoprotéines. Les hépatocytes servent, en plus, de lieu d'emmagasinage des vitamines et d'oligo-éléments (ex. : fer, cuivre), et sont impliqués dans le métabolisme de certaines hormones.

➤ Métabolisme protéique

A partir des acides aminés puisés dans les capillaires, les hépatocytes synthétisent de façon continue la plupart des protéines du plasma sanguin, y compris l'albumine et la majorité des globulines autres que les gammaglobulines. L'albumine est une protéine sérique synthétisée exclusivement par les hépatocytes, et il s'agit de la plus abondante du système sanguin. Quant aux globulines, elles comprennent des facteurs de coagulation dépendants (prothrombine ou facteur II, facteurs VII, IX et X) ou indépendants (facteur V) de la vitamine K. Le foie s'avère de plus le siège du catabolisme des acides aminés en urée. Durant ce processus, appelé cycle de l'urée, l'ammoniaque, produit du métabolisme de l'azote et possible neurotoxine, est utilisé et par conséquent détoxiqué.

c- Fonction de biotransformation des hépatocytes

Les hépatocytes s'avèrent responsables de la biotransformation des composés potentiellement toxiques en composés non toxiques, excrétés dans les sécrétions biliaires et l'urine. C'est en fait principalement le système enzymatique monooxygénase du cytochrome P450 qui permet la conversion des xénobiotiques, c'est-à-dire, de toutes les substances naturelles ou artificielles de faible poids moléculaire étrangères à l'organisme (médicaments, produits de l'alimentation, substances polluantes de l'environnement) et souvent hydrophobes, en composés hydrosolubles facilement éliminés (Seide, 2008).

2-3 Métabolisme des xénobiotiques

Le foie constitue le principal site de la biotransformation des xénobiotiques pénétrant intentionnellement (médicaments, produits de l'alimentation) ou non intentionnellement (ex. : polluants environnementaux) dans l'organisme, et ce processus se déroule spécifiquement dans les hépatocytes. Certains xénobiotiques peuvent traverser la bicouche lipidique des cellules, et leur biotransformation a pour principale conséquence la formation de métabolites qui sont ensuite retirés du corps.

Etant donné la variabilité importante de la nature chimique des xénobiotiques, de nombreuses enzymes et isoenzymes se montrent nécessaires pour leur métabolisme; il s'agit des enzymes du métabolisme et du transport des xénobiotiques (EMTX), réparties en différentes phases (Seide, 2008)

Habituellement, il y a premièrement le transport du xénobiotique du sang vers l'intérieur de la cellule (métabolisme de phase 0) , puis la substance est tout d'abord oxydée, mais aussi parfois réduite ou hydrolysée, principalement par le système enzymatique monooxygénase du cytochrome P450 (métabolisme de phase 1); elle est ensuite conjuguée à des molécules hautement polaires telles que le glutathion, la cystéine et le sulfate (métabolisme de phase 2). Les métabolites, devenus hydrosolubles, sont ensuite transportés à l'aide de protéines de transport directement vers les canalicules biliaires puis excrétés dans la bile, ou sont à nouveau libérés dans le système sanguin et excrétés dans l'urine via les reins (métabolisme de phase 4).Le métabolisme de phase 3 correspond au transport intracellulaire des xénobiotiques.

Enfin, bien que le système de biotransformation se retrouve également dans d'autres sites (poumons, reins, intestins, flore intestinale, peau et organes endocrines), quantitativement, celui du foie demeure plus important.

2-4 Notion de pathologies hépatiques médicamenteuses:

Les différentes formes d'hépatopathies médicamenteuses

Les dommages hépatiques mènent à des syndromes aigus ou chroniques. D'une part, les atteintes aiguës peuvent s'avérer cytotoxiques (cytolytiques), c'est-à-dire caractérisées par un dommage important aux hépatocytes), cholestatiques (manifestées par un arrêt du flux biliaire et une jaunisse ou ictère), ou une combinaison des deux. Les lésions cytotoxiques se caractérisent par une nécrose, une stéatose ou les deux (Seide, 2008).

Les nécroses toxiques hépatiques sont intrinsèques, et entraînent une réaction inflammatoire qui mène normalement à une jaunisse hépatocellulaire. De plus, les cas sévères peuvent aboutir à une insuffisance hépatique aiguë. Quant aux stéatoses aiguës, elles sont microvésiculaires (formation de plusieurs petites vacuoles dans le cytoplasme), et se caractérisent par un pronostic grave. Les lésions cholestatiques s'apparentent à une jaunisse obstructive extrahépatique dans leurs manifestations cliniques (ictère, prurit) et leurs paramètres biochimiques. De façon générale, avec un taux de mortalité inférieur à 1%, la cholestase est associée à un pronostic bien plus favorable que la cytolyse.

Par ailleurs, parmi les atteintes hépatiques chroniques, on retrouve principalement les hépatites chroniques actives, les stéatoses, les cholestases, les fibroses, plusieurs formes de cirrhoses, et les néoplasmes (tumeurs) hépatiques. Les stéatoses chroniques sont surtout macrovésiculaires (formation de larges vacuoles cytoplasmiques) et dues à la consommation excessive d'alcool. Pour sa part, la fibrose se présente comme une prolifération excessive de la matrice extracellulaire de composition altérée en réponse à une agression chronique du foie, peu importe sa cause (ex. : alcoolisme chronique et hépatites chroniques virales C), et sa progression mène à long terme à une cirrhose. L'apparition de celle-ci peut aboutir au développement d'un carcinome hépatocellulaire.

2-5 Les causes de pathologies hépatiques:

Les causes sont multiples (Toukara; 2007)

Elles peuvent être virales, bactériennes, vasculaires, toxiques, médicamenteuses, auto-immunes c'est à dire la cellule hépatique (l'hépatocyte) est détruite par les anticorps de l'organisme lui-même.

➤ Leshépatites virales :

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Ce sont des infections de l'organisme, par les virus qui ont la particularité de toucher plus particulièrement le foie en détruisant les hépatocytes. Nous décrivons le plus souvent les hépatites A, B, C, D, E et G. Ces hépatites sont plus ou moins aiguës et graves, celles posant statistiquement le plus de problèmes étant les hépatites B et C. La plus connue est celle de A, elle passe le plus souvent inaperçue, ce virus se trouve essentiellement dans les aliments souillés. Plus l'alimentation est « stérilisée », moins cette affection est constatée.

➤ **Les hépatites bactériennes :**

Pratiquement toutes les affections bactériennes peuvent donner des hépatites (tuberculose, syphilis, brucellose, légionellose, staphylococcies, affection à clostridium...).

➤ **Les hépatites vasculaires :**

Elles correspondent soit à des infarctus du foie, soit à des stases veineuses, c'est à dire des blocages de la circulation en aval du foie. Cela peut engendrer une insuffisance cardiaque, une thrombose portale (obstruction par un caillot de la veine qui va du foie au cœur) ou une compression de cette veine avec blocage du flux sanguin dans le foie.

➤ **Les hépatites toxiques :**

Elles peuvent être liées à des empoisonnements. Le plus connu est celui par l'amanite phalloïde. La plus fréquente est l'intoxication alcoolique. Les solvants sont aussi en cause (tétrachlorure d'éthylène, tétrachlorure de carbone, chloroforme...). Le phosphore et le chlorure de vinyle sont également dangereux.

➤ **Les hépatites médicamenteuses :**

Elles s'apparentent aux hépatites toxiques. Beaucoup de médicaments peuvent induire des hépatites en cas de **surdosage**, c'est le cas du paracétamol. Les chimiothérapies anticancéreuses induisent régulièrement des hépatites passagères et réversibles (Toukara; 2007).

➤ **Les hépatites auto-immunes :**

Elles sont dues à une autodestruction des hépatocytes de l'organisme.

2-6 Quelques plantes africaines utilisées dans le traitement des hépatites (Pousset, 2004)

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Tableau N°1 : Quelques plantes médicinales utilisées dans le traitement des hépatites

Familles Nom s scientifiques	Parties utilisées
Asteraceae <i>Eclipta alba</i> L. Hassk.	Feuilles
Caricaceae <i>Carica papaya</i> L.	Ecorce
Clusiaceae <i>Garcinia kola</i> Heckel.	Graines
Cochlospermaceae	
<i>Cochlospermum angolense</i> Welw.	Racines
<i>Cochlospermum planchonii</i> Hock.	Racines
<i>Cochlospermum tinctorium</i> A. Rich.	Racines
Euphorbiaceae <i>Phyllanthus amarus</i> Sch et Th.	Tige + Feuilles
Menispermaceae <i>Tinospora bakis</i> A. Rich.	Racines
Mimosaceae <i>Entada africana</i> Guill et Perr.	Racines
Papilionaceae <i>Desmodium adscendens</i> Sw.	Tige + Feuilles

3- Anatomie du rein :

a- Définition et situation :

Les reins sont deux glandes en forme de haricot en retro-péritonéal, de couleur rouge-brun chez le vivant et situés de chaque côté de la colonne vertébrale à la hauteur des vertèbres thoraciques T11 et T12, et des vertèbres lombaires L1-L2. A cet endroit ils occupent chacun une loge, la loge rénale, formée par les feuillets de tissu fibreux et par un abondant tissu graisseux.

Le rein droit étant plus bas situé que le rein gauche, atteint le disque L2-L3. Chaque rein est orienté obliquement en bas et latéralement. Son axe fait avec le plan sagittal médian un angle d'environ 18°.

b- Caractéristiques :

➤ **Configuration externe :**

Il a un peu la forme d'un haricot, avec un bord latéral convexe et un bord médian concave qui porte dans sa partie moyenne une échancrure en forme de losange : le hile par où passe l'artère et la veine rénales et d'où sort le pyélon. Il est de couleur rouge-brun, sa surface est lisse et sa consistance est ferme.

➤ **Moyens de fixité :**

Le rein et la glande surrénale sont enveloppés par le fascia rénal qui délimite une loge rénale entièrement close.

➤ **Rapports :**

Les reins présentent deux faces (antérieure et postérieure), deux bords (latéral et médial), et deux extrémités (supérieure et inférieure) (Rouvière, 2002).

3-1 Notion de pathologies rénales :

➤ **L'insuffisance rénale :**

L'insuffisance rénale se définit par la réduction du débit de filtration glomérulaire (DFG), ce qui correspond à une altération de la fonction rénale (Faye, 2004). Selon que la vitesse de cette altération de la fonction rénale soit brutale ou progressive, on distingue l'insuffisance rénale aiguë (IRA) et l'insuffisance rénale chronique (IRC).

➤ **L'insuffisance rénale aiguë (IRA) (Page).**

L'IRA correspond à la diminution importante, rapide et souvent réversible de la filtration glomérulaire. Elle est caractérisée par l'augmentation aiguë des concentrations plasmatiques de déchets métaboliques terminaux et azotés notamment l'urée et la créatinine. Deux critères assurent le caractère aigu de l'IR :

- La notion d'une fonction rénale normale auparavant
- La taille des reins normale.

Les IRA sont schématiquement classées en trois groupes :

- **L'IRA fonctionnelle ou prérénale :**

Le rein est soumis à une hypoperfusion qui empêche son fonctionnement normal mais dont la correction rapide entraîne une récupération complète de la fonction rénale. Elle a pour causes :

- L'hypovolémie vraie par déshydratation extracellulaire,
- L'hypotension artérielle avec état de choc
- Les médicaments : les inhibiteurs de l'enzyme de conversion, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antibiotiques.

- **L'IRA organique, parenchymateuse:**

Avec deux sous-groupes :

- La nécrose tubulaire aigue : la cause la plus fréquente des IRA ;
- L'IRA organique secondaire à des lésions : vasculaires, glomérulaires ou interstitielles aiguës. Les lésions peuvent disparaître complètement, mais il peut aussi persister des séquelles à type d'IRC.

- **L'IRA obstructive ou post-rénale :**

Il y a obstacle sur les voies excrétrices:

Obstruction pyélique et urétérale sur un rein unique ou bilatérale ; obstruction vésicale.

➤ **L'insuffisance rénale chronique** (Page ; Mignon, 1988).

L'IRC est l'altération lente, permanente et irréversible des fonctions rénales, due à la perte définitive d'un nombre significatif de néphrons fonctionnels. La plupart des néphropathies, chacune selon son propre rythme, évolue vers cet état dit d'urémie chronique ou « MAL DE BRIGHT », même si le mécanisme initial de destruction néphrotique est éteint. Chaque néphron exclu impose un travail d'élaboration urinaire supplémentaire aux néphrons sains. La baisse de la filtration glomérulaire est proportionnelle à la perte de néphrons.

3-2 Toxicité rénale médicamenteuse :

Les antibiotiques et les anti-inflammatoires non stéroïdiens représentent les principales causes de toxicité rénale (Babio, 2007). Nous avons :

Les médicaments affectant directement la circulation rénale et responsables d'une insuffisance rénale aiguë dite fonctionnelle ou pré-rénale : il s'agit des anti-inflammatoires non stéroïdiens ;

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Les médicaments à effet cytotoxique direct dose dépendant : il s'agit des antibiotiques (Les aminoglycosides, l'amphotéricine B et certaines céphalosporines de premières génération) ou les antimitotiques (le cisplatine, les nitroso-urées, la mitomycine) ;

Les médicaments responsables d'une toxicité rénale par obstruction intra-tubulaire : le triamterène, le 7-hydroxyméthotrexate et l'indinavir (anti-protéase) (Babio, 2007).

3-3 Evaluation de la fonction rénale. (Bassilos, 2002)

Plusieurs index, certains plus spécifiques que d'autres, permettent d'évaluer la fonction rénale.

➤ **L'urée.** (GALLOIS, 1988 ; Bassilos, 2002)

Il est actuellement bien établie que l'urée plasmatique est un mauvais marqueur de la fonction rénale pour deux raisons : sa production n'est pas constante ; en plus elle augmente avec une alimentation riche en protéines, un catabolisme tissulaire ou une hémorragie digestive et diminue avec une alimentation pauvre en protéines ou une maladie hépatique.

➤ **La créatinine** (Bassilos, 2002, Gallois, 1988)

La créatinine est un dérivé du métabolisme de la créatine du muscle squelettique. Elle est de ce fait dépendante de la masse musculaire. Elle est librement filtrée par le glomérule et n'est en théorie pas réabsorbée, synthétisée ou métabolisée par le rein. Cependant, une quantité variable de créatinine est sécrétée au niveau du tubule proximal.

Pour une fonction rénale normale, la créatininémie est comprise entre 8 et 13 mg/l soit 70 à 115 $\mu\text{mol/l}$ chez l'homme et 6 à 10 mg/l soit 55 à 90 $\mu\text{mol/l}$ chez la femme. Les limites supérieures correspondent à une clairance de la créatinine supérieure à 80 ml/min pour une surface corporelle de 1,73m². La créatininémie ne commence à augmenter de façon sensible que lorsque le débit de filtration glomérulaire (DFG) s'est abaissé d'au moins 40%.

➤ **La cystatine C.** (Bassilos, 2002)

La cystatine C est une protéinase inhibitrice de la cystéine produite par toutes les cellules nucléées. Elle est exclusivement éliminée par le glomérule. Là il s'agirait d'un marqueur fiable de la fonction rénale. Son réel intérêt est en cours d'évaluation.

➤ **La clairance de la créatinine.** (Basilos, 2002 ; Gallois, 1988)

La mesure du DFG repose sur le concept de clairance d'une substance possédant les propriétés suivantes :

- capable d'atteindre une concentration stable dans le plasma ;
- librement filtrée dans le glomérule ;
- non réabsorbée, sécrétée et synthétisée ou métabolisée dans le rein.

La clairance d'une telle substance en ml/min, représente le volume virtuel de plasma totalement épuré de la substance par le rein en une minute. L'excrétion de la créatinine est approximativement égale à la quantité de créatinine filtrée et le débit de production de la créatinine est relativement constant. La formule de la valeur estimative de la clairance de la créatinine (ClCr) est donnée :

▸ **Chez l'adulte par Cockcroft et Gault :**

$$\text{ClCr (ml/min/1,73m}^2\text{)} = (140 - \text{Age}) \times \text{Poids (kg)} \times \text{k} / \text{Créatininémie (}\mu\text{mol/l)}$$

-1,73% est la surface corporelle d'un sujet adulte de 70 kg.

-K est une constante dépendant de la masse musculaire et elle varie en fonction du sexe : 1,23 chez l'homme et 1,04 chez la femme.

▸ **Chez l'enfant par Schwartz:**

$$\text{ClCr (ml/min)} = \text{taille (cm)} \times \text{k} / \text{créatininémie (}\mu\text{mol/l)}$$

-Nouveau né prématuré : k=29

-Nouveau né à terme de moins d'un an : k=40

-Enfant de 0 à 12 ans : k=49

-De 13 à 21 ans : k=49 chez la fille, k=69 chez le garçon.

- **Stades évolutifs de l'insuffisance rénale chronique :** (Page ; Basilos, 2002)

Schématiquement, on distingue 5 grands stades :

-IRC débutante : clearance de la créatinine de 90 à 60 ml/min et créatininémie de 80 à 150 $\mu\text{mol/l}$;

-IRC modérée : clearance de la créatinine de 60 à 30 ml/min et créatininémie de 150 à 300 $\mu\text{mol/l}$;

-IRC sévère : clearance de la créatinine de 30 à 15 ml/min et créatininémie de 300 à 600 $\mu\text{mol/l}$;

-IRC évoluée : clearance de la créatinine de 15 à 10 ml/min et créatininémie de 150 à 300 $\mu\text{mol/l}$;

-IRC au stade ultime : clearance de la créatinine inférieure à 10 ml/min et créatininémie supérieure à 800 $\mu\text{mol/l}$.

L'épuration extra rénale est généralement indiquée lorsque la clairance de la créatinine atteint environ 7 ml/min.

4- Notion des interactions médicamenteuses

Les interactions médicamenteuses sont des réponses pharmacodynamiques, pharmacocinétiques ou cliniques qui résultent de l'administration de deux ou plusieurs médicaments et qui diffèrent des effets connus de chacun des médicaments administré seul. Les effets cliniques de ces interactions peuvent être antagonistes, additifs, synergiques ou idiosyncrasiques et entraîner l'échec du traitement, une amplification de l'effet pharmacologique prévu ou des effets toxiques pouvant être graves, voire fatals.

Les interactions médicamenteuses de nature pharmacodynamique modifient la réponse à un ou plusieurs médicaments sans que leur concentration dans le plasma ne soit changée. Par ailleurs, les interactions médicamenteuses de nature pharmacocinétique ont pour conséquence de modifier les niveaux d'exposition au médicament ou à ses métabolites.

➤ Dangers des interactions médicamenteuses : (Babio, 2007)

Les plus graves chez l'homme relèvent de deux processus:

- L'antagonisme qui diminue ou annule l'activité, donc le bénéfice attendu. Les conséquences peuvent être dramatiques ; il s'agit par exemple d'un anticoagulant donné à un malade menacé de thrombose.
- Potentialisation qui augmente l'activité, mais exalte aussi bien les effets recherchés que la toxicité générale et les effets indésirables. Le plus souvent, c'est la toxicité spécifique et les effets de l'un ou l'autre des composants qui se trouvent accrus, mais parfois les réactions demeurent incompréhensibles et on parle de toxicité paradoxale.

5- Les grands marqueurs du Foie et du Rein :

Sens de leur augmentation ou diminution (René, 2001)

a) L a créatininémie

Valeurs normales :

- Chez l'homme : 60 à 120 $\mu\text{mol/L}$,
- Chez la femme : 50 à 110 $\mu\text{mol/L}$,
- Chez l'enfant : <5ans, de 20 à 40 $\mu\text{mol/L}$.

Valeurs pathologiques :

➤ **Insuffisance rénale chronique :**

Lorsque le débit de la filtration glomérulaire diminue, la concentration plasmatique augmente jusqu'à une concentration suffisante pour que le débit de créatinine éliminée égale la production. Toute fois la relation entre filtration glomérulaire et créatinine suit une hyperbole (la créatinine étant en abscisse), si bien qu'à des valeurs peu élevées de créatininémie, des augmentations modestes correspondent à des clairances très diminuées, alors qu'à des taux élevés de créatinine plasmatique, une forte augmentation ne traduit qu'une réduction modeste de la filtration glomérulaire.

En pratique, on peut admettre qu'une réduction de la moitié de la filtration glomérulaire double la créatinine, qu'une réduction du tiers la triple et ainsi de suite.

➤ **Insuffisance rénale aiguë :**

La nature d'une insuffisance rénale aiguë peut être précisée en comparant la concentration d'urée plasmatique et la créatininémie. En effet, en cas d'insuffisance rénale aiguë prérénale ou fonctionnelle, l'urée filtrée est en partie réabsorbée passivement avec la réabsorption tubulaire d'eau et de sodium. Le rapport urée/ créatininémie est supérieur à 100 en expression molaire. Il est inférieur à 100 en cas d'insuffisance rénale aiguë.

b) Urée sanguine

Valeurs normales :

- 1,6 à 8,25 mmol/L .

Valeurs pathologiques :

Au cours de l'insuffisance rénale organique, l'élévation de l'urée et de la créatinine vont de pair.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Au cours des insuffisances rénales fonctionnelles, il est habituel de constater une élévation proportionnellement plus importante de l'urée, et le rapport urée/créatinine est supérieur à 100 en notation molaire.

En cas d'insuffisance hépatocellulaire, les chiffres d'urée sont à la limite inférieure ou en dessous des valeurs normales.

c) Uricémie

Valeurs normales :

- Homme : 300 à 360 $\mu\text{mol/L}$ (50 à 60mg/L),
- Femme : 240 à 300 $\mu\text{mol/L}$ (40 à 50mg/L),
- Enfant : 210 à 240 $\mu\text{mol/L}$ (35 à 40mg/L),

NB : Le taux sérique des urates n'est pas normalement distribué.

Valeurs pathologiques :

- Diminution de l'élimination rénale :

Une hyperuricémie par diminution de l'élimination rénale de l'acide urique s'observe dans :

- L'insuffisance rénale chronique (la traiter si elle dépasse 600 $\mu\text{mol/L}$) ;
- L'acidocétose diabétique ;
- La toxémie gravidique ;
- La déplétion extracellulaire que provoquent les traitements prolongés par les diurétiques.

La **pyrazinamide (Pirilène)** entraîne constamment une hyperuricémie qui reste sans conséquence clinique sauf chez le goutteux.

- **Diminution de synthèse de l'acide urique :**

- Insuffisance hépatique chronique,
- **Xanthinurie** (très rare déficit héréditaire en xanthine-oxydase).

d) Transaminases (ALAT/ASAT)

Valeurs normales :

- ALAT : 5 à 40 UI/L
- ASAT : 5 à 35 UI/L.

Valeurs pathologiques :

➤ **Affections hépatobiliaires**

Des augmentations très importantes des ALAT (10 à 100 fois les valeurs normales) s'observent dans les hépatites virales où leur augmentation a une très grande valeur diagnostique en phase pré-ictérique et au début de l'ictère, mais n'a aucune valeur pronostique. Le diagnostic est rapidement confirmé par la positivité des IgM anti VHA (hépatite A), des IgM anti HBc et l'antigène HBs (hépatite B).

- Une élévation importante des ALAT peut aussi signifier l'obstruction aiguë de la voie biliaire principale que traduisent la douleur et la fièvre. Les Phosphatases alcalines et gamma GT sont augmentés.
- L'augmentation rapide des ALAT, autour de 20 fois la normale, traduit les poussées de cytolysse qui peuvent se produire au cours de toutes les maladies chroniques du foie fébriles et/ou ictériques : hépatites chroniques, cirrhoses, hépato-carcinomes, etc.
- L'élévation des ALAT à moins de deux fois la normale, sans fièvre, évoque ;
 - Une hépatite alcoolique ;
 - Une hépatite chronique où les transaminases sont souvent peu élevées ;
 - Une stéatose hépatique chez un obèse ou un diabétique hypertriglycéridémique dont le foie est «brillant» à l'échographie.

Les ASAT augmentent dans toutes les maladies hépatobiliaires où les ALAT augmentent. Leur augmentation est plus modérée que les ALAT sauf dans l'hépatite alcoolique et la stéatose hépatique d'où cette inversion avec un rapport :

ASAT

ALAT > 1 est un bon élément d'orientation.

➤ **Affections cardiaques**

En dehors des affections hépatobiliaires, une augmentation importante des amino-transférases (N×20 à 100) se voit :

- Dans les foies de choc (embolie pulmonaire) et insuffisance cardiaque où elles traduisent la destruction hépatocytaire centro-lobulaire hypoxémique ;
- Au cours de l'infarctus du myocarde, où leur élévation plus tardive que celles des CPK de la myoglobine et des troponines est due à la libération des transaminases musculaires : ASAT principalement.

e) Gamma-Glutamyl-Transpeptidase (Gamma GT ou GGT)

Valeurs normales :

- Inférieures à 35U/L

Valeurs pathologiques

- Affections hépatobiliaires

La gamma-GT est très élevée (>10×la Normale) dans l'obstruction biliaires extra-hépatiques. Elle peut être le témoin le plus précoce car c'est l'enzyme la plus sensible à la choléstase.

L'élévation est également importante dans les carcinomes hépatocellulaires et les métastases hépatiques.

La gamma-GT est modérément élevée (<10×la Normale) dans l'hépatite virale, la cirrhose hépatique.

- **Médicaments** :La prise de médicaments inducteurs enzymatiques est également une cause fréquente d'augmentation de la gamma-GT (entre 2 et 5×N).

En dehors des maladies hépatobiliaires l'augmentation de la gamma-GT peut s'observer au cours de **pancréatites**, après **infarctus du myocarde**.

Chez 10% environ des sujets normaux la gamma-GT est à 2 ou 3 fois la normale.

f) Glycémie

Valeurs normales :

- **Méthodes réductrices : 4,05 à 6,1 mmol/L,**
- **Méthodes enzymatiques : 3,9 à 5,3 mmol/L.**

Des hyperglycémies secondaires peuvent s'observer en cas de cirrhose hépatique, après traitement diurétique, etc.

- L'hypoglycémie est parfois secondaire à :

- Une insuffisance surrénale ou hypophysaire ;
- Unegastrectomie ;
- Des metastases hépatiques multiples ;
- Une tumeur mésoenchymateuse thoracique ou abdominale. (René, 2001).

6- Méthodes d'étude de la Toxicité:

- **Toxicité par administration unique: Toxicité aiguë**

C'est l'étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après administration unique de la ou des substances actives contenues dans le médicament. Cette étude décrit les symptômes observés, y compris les phénomènes locaux et fournit pour autant que cela soit possible, l'indication de la DL_{50} avec ses limites de confiance (95 %). L'étude sur l'animal de laboratoire doit être effectuée sur un nombre égal d'animaux mâles et femelles. La durée de l'observation des animaux est précisée par l'expérimentateur. En général elle n'est pas inférieure à une semaine (Ruckebusch, 1981).

- **Toxicité par administration réitérée: Toxicité subaiguë et toxicité chronique**

Ces épreuves ont pour objet de mettre en évidence les altérations fonctionnelles et/ou pathologiques consécutives aux administrations répétées de la substance active examinée et d'établir les conditions d'apparition de ces altérations en fonction de la posologie. Les expérimentations se font sur deux espèces de mammifères (un non-rongeur).

Une des deux épreuves durera **2 à 4 semaines**, l'autre **3 à 6 mois**. Le choix de la ou des voies d'administration doit tenir compte de celles prévues pour l'emploi thérapeutique et des possibilités de résorption. Le mode et le rythme des administrations ne sont pas codifiés strictement mais doivent être clairement indiqués ainsi que la durée des essais (Fané 2003).

Il est utile de choisir la dose la plus élevée de façon à faire apparaître des effets nocifs, les doses inférieures permettent alors de situer la marge de tolérance du nouveau produit chez l'animal. L'appréciation des effets toxiques est faite sur la base de l'examen du comportement, de la croissance, de la formule sanguine et des épreuves fonctionnelles particulièrement celles qui se rapportent aux organes excréteurs ainsi que la base des comptes rendus nécropsiques, accompagnés des examens histologiques qui s'y rattachent (Ruckebusch, 1981).

Détermination de la DL_{50} :

- **Définition:** La DL_{50} est la dose d'une substance chimique, qui administrée à des animaux de laboratoire provoque la mort de la moitié d'entre eux.

- **Différentes méthodes de détermination:**

- Méthode de Dragstedt et Lang
- Méthode de Karber et Behrens
- Méthode de Miller et Tainter

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

- Méthode de Wilcoxon

➤ **Méthode de Dragstedt et Lang** (Dragstedt et al, 1957)

Deux postulats:

- Tout animal ayant survécu à une dose donnée aurait survécu à toute dose inférieure à celle-ci si elle lui avait été injectée.
- Tout animal ayant succombé à une dose déterminée aurait succombé à n'importe laquelle des doses supérieures si elle lui avait été administrée.

On peut ainsi pour chaque dose de la substance, totaliser tous les morts déjà observés aux doses inférieures et tous les vivants encore observés aux doses supérieures. Elle permet de calculer le pourcentage de mortalité à chaque dose sur un plus grand nombre d'animaux que celui qui a réellement reçu cette dose. On fait ensuite la courbe représentant les pourcentages de mortalité en fonction de la dose. Si au voisinage de la DL₅₀ la courbe est une droite on pourra déterminer ce point d'après l'équation de la courbe en utilisant la formule suivante:

$$DL_{50} = \frac{50 (X_2 - X_1) + X_1 Y_2 - Y_1 X_2}{Y_2 - Y_1}$$

X₂: dose supérieure encadrant la DL₅₀

X₁: dose inférieure encadrant la DL₅₀

Y₁: pourcentage de mortalité correspondant à X₁

Y₂: pourcentage de mortalité correspondant à X₂

➤ **Méthode de Karber et Behrens:**

.Principe: On administre des doses croissantes de substance à des lots de souris de masses uniformes.

La dose administrée est exprimée en mg / kg ou ml / kg de masse corporelle.

La différence entre les doses voisines doit être constante. Pour chaque lot, on note le pourcentage de mortalité dans l'heure qui suit ou au bout du temps imparti.

La DL₅₀ est obtenue par la formule:

$$DL_{50} = DL_{100} \frac{S(a \cdot b)}{n} \quad (\text{Karber et al, 1935})$$

DL₁₀₀: plus petite dose tuant tous les animaux

a = moyenne de la somme des morts à deux doses consécutives

b = différence entre deux doses successives

n = nombre d'animaux utilisés par lot

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Manipulation:

- Peser chaque animal
- Administrer un volume correspondant de solution
- Après chaque administration marquer l'animal suivant le code indiqué
- Suivre le comportement des animaux et noter les symptômes observés
- Relever le nombre de morts au bout du temps imparti.

➤ **Méthode de Miller et Tainter** (Valette, 1972)

On dispose d'un papier logarithme-probabilité sur lequel on porte en abscisse (échelle logarithme) les doses et en ordonnée (échelles probits) les pourcentages de mortalité.

En général il se trouve dans chaque série d'essais une dose assez faible pour laisser en survie tous les animaux et une dose assez élevée pour tuer tous les animaux dans les lots assignés respectivement à chacune des doses. Pour ces deux résultats la valeur des probits est infiniment grande. On convient alors suivant la suggestion de Bartlett, de remplacer 0 par 0,25 au numérateur de la fraction $0/n$ représentant le résultat obtenu avec la <<dose maximum supportée>> (aucun animal mort sur les n animaux employés) et de même de remplacer n' par $n' - 0,25$ au numérateur de la fraction n'/n qui représente le résultat obtenu avec la dose 100 % mortelle.

Les deux points définis par ces coordonnées sont inscrits sur le graphique en regard des doses correspondantes. On trace alors à vue une <<droite de régression provisoire>> s'ajustant au mieux avec les points expérimentaux et les deux résultant de la correction effectuée ci-dessus pour les pourcentages 0 et 100 %. Ce faisant, on accordera une valeur plus grande aux points situés au voisinage du pourcentage 50 (probits = 5) qu'à ceux qui ont des coordonnées supérieures à 84 (probit = 6) ou inférieures à 16 (probit = 4). Le point correspondant au pourcentage 100 doit être situé au-dessus.

La dose DL_{50} est alors lue directement sur l'abscisse du point d'ordonnée 50 pour l'estimation de l'écart type de la DL_{50} , on lit sur le graphique les doses correspondant respectivement à 16 % et 84 % de mortalité (probits 4 et 6); en soustrayant le premier du second, on obtient la valeur $2S$ qui est l'accroissement de dose nécessaire pour accroître de 2 probits la réponse. L'écart type approché est donné par:

$$E = \frac{2S}{\sqrt{2N'}}$$

N' étant le nombre total d'animaux dans les groupes qui ont donné des pourcentages de mortalité compris entre 6,7 et 93,3 % (soit en probit: 3,5 et 6,50).

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

➤ **Méthode de Litchfield et Wilcoxon** (Dupont, 1970)

Principe: La méthode de Litchfield et Wilcoxon permet, grâce à l'utilisation d'un test de signification statistique, appelé test X^2 (ki deux) de Pearson, de tracer la droite de régression dose- mortalité la plus probable et de déterminer d'une façon simple, les deux valeurs: DL_{50} et intervalle de confiance sur la DL_{50} .

Méthode:

Dans un tableau de 6 colonnes, noter les valeurs suivantes:

Première colonne (di): données expérimentales

Soit K le nombre de doses choisies et $n = K - 2$ le nombre de degrés de liberté.

Deuxième colonne: ri/ni $\frac{\text{nombre d'animaux morts}}{\text{nombre d'animaux testés}}$

Troisième colonne: pourcentage de réponse ($100 p_i$) correspondant à chaque dose. Sur papier logarithme- probabilité, noter chacun des points $100 p_i$ pour chaque dose d_i , en ne tenant pas compte des effets 0 et 100 %. Tracer une droite passant au mieux à travers tous les points.

Quatrième colonne: les pourcentages théoriques ($100 p_{\hat{i}}$) sont lus sur la droite tracée, pour chaque dose testée.

Cinquième colonne: inscrire la différence entre les pourcentages observés et théoriques.

Sixième colonne: noter la contribution au X^2 qui peut être calculée par la formule:

$$X^2 = \frac{(p_i - p_{\hat{i}})^2}{p_i (1 - p_{\hat{i}})}$$

Le nomogramme I de Litchfield et Wilcoxon donne très simplement la contribution au X^2 : la droite passant par les valeurs correspondantes de p_i et $(p_i - p_{\hat{i}})$ coupe la ligne située à droite en un point qui est la contribution au X^2 pour un $p_{\hat{i}}$ donné.

Faire la somme des différentes valeurs inscrites dans cette sixième colonne. Pour obtenir une valeur approchée du X^2 , on multiplie la somme précédente par (N/K) soit X^2_0 le résultat obtenu. Relever dans la table la valeur de $X^2_{0,0.5}$ pour le nombre n de degrés de liberté.

Comparer $X^2_{0,0.5}$ et X^2_0 . Deux cas sont possibles:

• $X^2_0 < X^2_{0,0.5}$

On peut admettre que la droite tracée est bien ajustée aux données expérimentales.

• $X^2_0 > X^2_{0,0.5}$

Il faut essayer de diminuer X^2_0 en traçant une autre droite plus proche des conditions de l'expérience.

Dans le cas favorable où $X^2_0 \leq X^2_{0,05}$ relever sur la droite la valeur de la DL₅₀.

II- Monographie de *Entada africana* (Guill et Perr)

➤ **Synonymes** (Pousset, 2004)

Entada ubanguiensis De Wild

Entada sudanica Schweinf

Entadopsis sudanica (Schweinf) Guilbert et Boutique.

➤ **Noms africains**

Bambara : Samanéré

Peul : Padapari

Malinké : Samalino

Sérère : Mbatar, Fatar

Wolof : Mbatar

➤ **Données botaniques**

✓ **Position dans la systématique** (Crété, 1965)

La place qu'il occupe dans la taxonomie botanique est la suivante :

Classe..... Dicotylédones

Ordre..... Rosales

Famille..... Légumineuses

Sous-famille..... Mimosaceae

Genre..... *Entada*

Espèce..... *africana*

✓ **Description**

Entada africana est un arbuste de quatre à 5 m de haut, mais pouvant atteindre environ 7 m, (Maydell, 1983) branchu près de la base. L'écorce, parfois claire ou gris jaune, est profondément fissurée, liégeuse avec des bandes transversales.

Les feuilles, alternes, sont biparipennées. Le rachis, long de 25 à 30 cm ou d'avantage, porte 4 à 7 paires de pinnules longues de 15 à 20 cm et portant chacune 15 à 25 paires de foliolules

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

oblongues, longues de 15 à 20 mm, larges de 4 à 6 mm, à sommet arrondi et à base dissymétrique. Ces foliolules sont glabres, subsessiles. Le pétiole est épaissi à la base.

Les fleurs, petites, isolées, odorantes, de couleur blanc-crème ou jaune verdâtre, sont regroupées en épis axillaires de 7 à 10 cm de long et 13 mm de diamètre, fasciculées par 3 ; 5 à l'aisselle des feuilles tombées ou à celle des jeunes feuilles. Le rachis de l'épi est pubescent. La corolle est pentamère.

Le fruit est une gousse plate, longue de 15 à 35 cm, atteignant souvent 38 cm (Hutchinson et al, 1966). Elle est large de 5 à 6 cm. Cette gousse pendante est légèrement renflée de chaque côté sur l'emplacement des graines (12 à 15) qu'elle contient. Chaque graine se trouve au centre d'un article large de 12 à 15 mm ayant comme longueur la largeur de la gousse. La gousse, fragile, de couleur brun rouge à l'extérieur et blanc à l'intérieur. Chaque graine ovoïde tombe séparément, restant entourée du mésocarpe membraneux.



Photo N°1 : *Entada africana* Guill et Perr (Sanago R, 2011)

✓ **Distribution géographique**

Entada africana est commun à la zone sahélienne méridionale et la zone soudanienne. Il pénètre exceptionnellement au sud du Sahel. Espèce de savane, il est répandu du Sénégal au Cameroun, mais se rencontre aussi au Congo Démocratique (Zaire) et en Ouganda.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

✓ Habitat

Entada africana se rencontre au pied des versants ou sur les rives des marigots, sur des stations proches de l'eau souterraine ou à des endroits où les précipitations atteignent 600 à 1200 mm. Il est très sensible au feu de brousse qui le mutile souvent.

➤ Usages médicaux traditionnels

Entada africana est caractérisé par ses multiples utilisations en médecine traditionnelle.

Selon Kerharo et Adam 1974, un décocté des écorces de tronc, des racines et des rameaux est utilisé comme contre poison en raison de ses propriétés émétiques. Au Sénégal, les écorces de tronc sont utilisées comme antitussif, pour le traitement des bronchites, antiseptique et cicatrisant des plaies et blessures. Chez les Peuls, les Toucouleurs et les Sarakolés, le décocté d'écorces de tronc est quelques fois recommandé en boisson comme stimulant, reconstituant, antiblenorragique, hémostatique. Les racines sont indiquées pour traiter le rachitisme des enfants. Les racines sont réputées diurétiques, antisyphtiliques. Les écorces sont utilisées comme antidiarrhéiques. Les graines sont utilisées comme antinévralgiques.

Entada africana est une plante polyvalente dont les diverses parties servent à préparer des médicaments pour le traitement des hépatites. Les écorces interviennent dans la préparation des remèdes pour le traitement des angines et autres affections bucco-pharyngées (Adjanohoun et coll., 1981, Burkill, 1995).

Les racines réduites en poudre sont fébrifuges, utilisées contre l'ictère, les morsures de serpents, les arthrites, le paludisme, et l'anémie. Les écorces de tronc en décoction sont utilisées contre le rhume, et la dysenterie. Les feuilles en application directe empêchent la suppuration des plaies, en infusion sont indiquées comme tonique et pour traiter les maux d'estomac. Les graines torréfiées et réduites en poudre sont employées contre les cataractes et les troubles oculaires liées à l'onchocercose (Malgras, 1992).

Les écorces sont réputées être de bons médicaments. Elles sont communément vendues sur les marchés de Côte d'Ivoire, de Burkina Faso et Mali. Cette plante est également utilisée au Nigeria, en Zambie, (Burkill, 1995).

Au Mali *E. africana* est utilisé contre la fièvre causée par la malaria (Bah, 1998).

Différentes enquêtes ethnobotaniques réalisées au Mali ont permis de recenser diverses utilisations relatives aux effets anti-inflammatoires, hépatoprotecteurs et contre les blessures de *E. africana*. Les décoctions de la racine ou de la tige sont aussi utilisées pour nettoyer les plaies et leur poudre est aussi appliquée sur les plaies. Les feuilles sont aussi utilisées pour prévenir les suppurations des plaies (Diallo et al, 2001).

➤ **Données chimiques :**

La roténone, découverte dans *Lonocarpus cyanescens* (Schum et Thonn) Benth (Cesalpiniaceae) par Olivier, a été décelée dans la plante (Kerharo et Adams, 1974). Dans les écorces et les feuilles, ont été trouvées un saponoside et du tanin. L'arbuste fournit une gomme de qualité inférieure contenant 10 % de tragacanthé et 90 % d'une gomme de type arabique soluble dans l'eau (Kerharo et Adams, 1974).

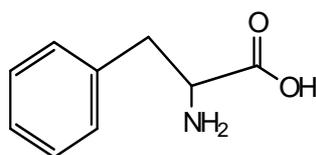
A partir de cette gomme, une étude faite sur la composition en acides aminés a permis d'observer une quantité assez élevée d'hydroscypoline (Sangaré, 2005).

Les polysaccharides des racines de *E.africana* ont été étudiés. Les compositions en monosaccharides des polysaccharides ont été déterminées par chromatographie en phase gazeuse après méthanolyse (Diallo et al, 2001).

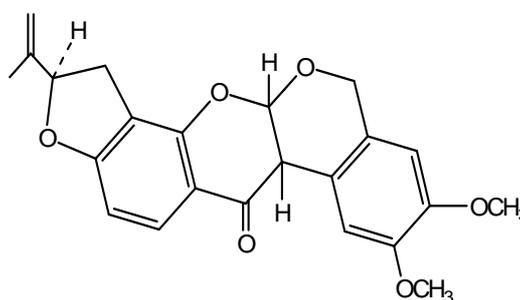
Les rendements des extractions ont été de 0,5% et 0,7% respectivement à 50°C et à 100°C. Les teneurs en polysaccharides des extraits bruts ont été de 57 et 70% respectivement pour l'extrait à 50°C et 100°C.

Les laissons osidiques ont montré que la fraction acide de Ea50 était de type arabinogalactane. Les fractions acide Ea1002 et Ea1003 sont de type pectines classées comme des rhamnogalacturonanes de type I (Diallo et al. 2001). Récemment de nouveaux saponosides avec des propriétés antiprolifératives ont été isolés à partir des racines de *Entada africana* (Cioffi et al, 2006).

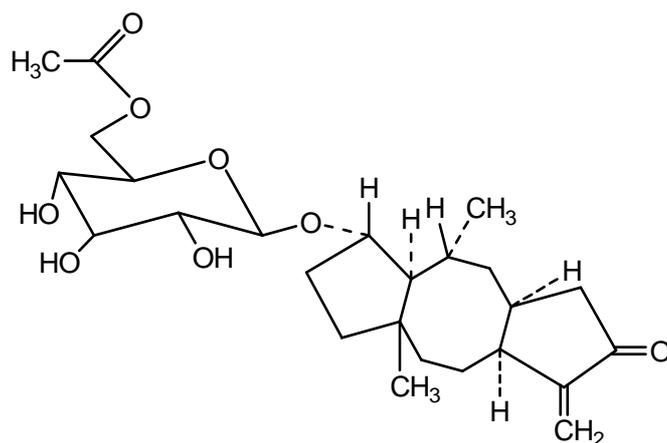
✓ **Structures de quelques constituants chimiques de *Entada africana***



Phenylalanine



Roténone



Paucine

➤ Données pharmacologiques et toxicologiques

Activité hépatoprotectrice

Les différentes fractions d'un extrait aqueux de la racine d'*Entada africana* ont été testées. L'extrait aqueux a été fractionné en fraction BuOH et soluble en eau. Après administration de ces différentes fractions aux souris à foie endommagé par le CCl₄, les transaminases (ALAT) et (ASAT) ont significativement baissé, ce qui indique la stabilisation de la membrane plasmique et également la réparation du tissu hépatique endommagé par le CCl₄ (Sanogo et al, 1998).

Activité antibactérienne

La concentration minimale d'inhibition des extraits EtOH sur *Staphylococcus aureus* est de 1,56 mg/ml et inférieur à 0,39mg/ml respectivement pour les extraits de racine et de ceux de l'écorce de la tige (Silva et al. 1996).

Activité antivirale

L'effet inhibiteur de l'extrait EtOH de la racine de la plante sur virus comme Herpès simplex virus de type I et sur le virus responsable de la fièvre chez le porc africain a été démontré par Silva et al. (Silva et al. 1997).

L'effet antiviral de *E. africana* sur la multiplication du virus de l'hépatite A (VHA) *in vitro* a été testé au Département Médecine Traditionnelle. L'examen a porté sur la poudre des racines, les résultats montrent que *E.africana* inhibe significativement la multiplication du VHA à partir de 125 µg/ml (Keita et al. 1994).

Effet sur le tractus respiratoire :

L'extrait aqueux des racines a été testé pour son effet sur le tractus respiratoire de cobaye.

E. africana réduit la broncho-constriction induite par l'histamine et provoque une broncho-dilatation (Occhiuto et al. 1999).

Activité sur le système du complément :

L'effet sur le système du complément a été évalué par l'inhibition de l'hémolyse d'hématies sensibilisées en présence de sérum humain contenant des protéines du complément intactes. Les concentrations inhibitrices de la lyse de 50% des hématies ont été déterminées pour les extraits bruts et les fractions de polysaccharides (Diallo et al. 2001).

➤ **Toxicité :**

Les feuilles sont utilisées comme poison de pêche (Kerharoet Adam, 1974). Sangaré en 1999 a démontré l'activité molluscicide des racines de *E. africana*

Les extraits aqueux de racines ont été administrés par voie orale à des souris de masse comprise entre 19 et 25g. Les animaux ont été observés pendant un mois pour déterminer leurs réactions. Chaque dose a été administrée à un lot de 5 souris. A la dose de 6g/kg, ils n'ont pas constaté de signes d'intoxication, comme cela a été rapporté aussi par Burkill (1995). Les tests de toxicité ont démontré que la dose létale 50 du décocté des racines de *E. africana* est supérieur 3000 mg/kg (Sanogo, 1999).

➤ **Essais cliniques:**

Une étude clinique faite par Douaré en 1991 sur les patients ayant l'hépatite B a montré qu'après un mois à un mois et demi de traitement par *E. africana*, l'ictère a disparu dans 93,33% des cas avec normalisation à 100% des transaminases (ASAT et ALAT) (Douaré, 1992).

CHAPITRE II : TRAVAUX PERSONNELS

Première partie : Méthodologie

I. Lieu d'étude

Notre étude a été réalisée au Département de Médecine Traditionnel (DMT). Le DMT est un département de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP). Il a été centre collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en matière de médecine traditionnelle depuis 1981. Le DMT est une structure composée de trois services :

- Un service « Ethnobotanique et matières premières », chargé de la conception des herbiers et droguiers, de la culture expérimentale des plantes médicinales et de la production des médicaments traditionnels améliorés (MTA) ;
- Un service des Sciences pharmaceutiques pour la recherche scientifique (phytochimie, galénique, pharmacologie, toxicologie) des plantes utilisées en médecine traditionnelle ;
- Un service des Sciences médicales pour la consultation, la dispensation des MTA.

Le personnel du DMT est composé de spécialistes en Pharmacognosie, gastroentérologie, de pharmaciens généralistes, de médecins généralistes, d'ingénieur des eaux et forêts, de techniciens de laboratoire et de préparateurs des phytomédicaments.

Le DMT utilise du matériel de technologie adaptée, fabriqué par les artisans locaux comme les appareils pour macération et pour le remplissage des flacons de sirop et du matériel importé parmi lesquels, un chromatographe en phase gazeuse, un spectrophotomètre d'absorption atomique, un chromatographe liquide haute performance, un spectrophotomètre lecteur de plaque, un lyophilisateur et du petit matériel de laboratoire.



Figure n°2: Photo du Département de Médecine Traditionnelle

II. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur les racines de *Entada africana*. Les racines ont été récoltées à Blendio dans la région de Sikasso le 26 mars 2010. Celles-ci ont été identifiées par un botaniste par comparaison avec un spécimen enregistré sous le numéro 0904 au DMT. Le matériel a été séché à l'ombre sur une natte dans la salle de séchage et pulvérisé en poudre grossière avec un moulin de marque OSI. Cette poudre a servi pour différentes opérations.

1. Caractères organoleptiques et macroscopiques de la racine de *Entada africana*

L'analyse macroscopique a porté sur la détermination de la couleur, l'odeur, la saveur (le goût), les dimensions et la forme de racine de *Entada africana*.

2. Caractères microscopiques de la poudre de racines de *Entada africana*

L'observation de la poudre a été effectuée avec un microscope ordinaire à l'objectif 10. Pour l'immersion, le réactif de Gazet du Chatelier a été utilisé.

III. Contrôle de qualité de la matière première

1. Dosage de l'eau

Une méthode a été utilisée pour le dosage de l'eau :

1.1 Méthode gravimétrique

➤ Principe

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

➤ Matériels utilisés

Balance de précision, verres de montre, étuve, spatule, pince.

➤ Mode opératoire

Cinq verres de montre ont été tarés et nous y avons introduit des prises d'essai (PE) de 2 à 3g (pesées au mg près) de notre poudre de racine. Ensuite ces verres ont été introduits dans l'étuve réglée à 105°C (Figure N°3) pour une dessiccation pendant 24 h. Au sortir de l'étuve les poudres ont été refroidies dans un dessiccateur contenant un desséchant (chlorure de calcium, anhydride phosphorique) et ensuite pesées.

Les calculs suivants permettent d'obtenir le pourcentage en eau :

Masse prise d'essai (MPE) = masse avant étuve - tare
Masse eau = masse avant étuve – masse après étuve

D'où :

$$\text{Pourcentage eau} = \frac{\text{Masse eau}}{\text{Masse prise d'essai}} \times 100$$



Figure n°3 : Photo de l'étuve et de la balance de précision

1.3 Substances extractibles par l'eau (1g)

Une décoction a été faite pendant 15 mn avec la poudre de racines (1g) dans de l'eau distillée (20 ml). Le décocté a été refroidi pendant une vingtaine de minutes et filtré, ce filtrat a été mis dans un creuset métallique préalablement taré puis évaporé à sec sur une plaque chauffante. Ensuite le creuset à froid a été pesé et la masse du résidu a été déduite.

Soit (M1) la masse du creuset vide et (M2) la masse du creuset avec l'extrait sec.

Le pourcentage de substances extractibles par l'eau est calculé comme suit :

$$\% \text{ substances extractibles par l'eau} = \frac{M_2 - M_1}{1} \times 100$$

2. Dosage des cendres

2.1 Cendres totales (Ct)

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

➤ **Matériel**

Balance de précision, Four (Controller P 320 ; Nabertherm ; 30-3000°C), Creusets en porcelaine ou en fer, Spatule métallique, Dessiccateur, Pincettes.

➤ **Mode opératoire**

3 prises d'essai de la drogue utilisée pour la teneur en eau par méthode gravimétrique (M1, M2 et M3) ont été pesées dans 3 creusets en fer préalablement tarés. Après incinération au four à une température d'environ 600°C pendant 6h, et refroidissement dans un dessiccateur, les masses (M'1, M'2, M'3) des creusets contenant les cendres ont été déterminées.

La masse des cendres totales (MCt) contenue dans le creuset et la masse de la prise d'essai (Mpe) sont données par les formules suivantes :

$$MCt = M' - T \quad \text{et} \quad Mpe = M - T$$

Avec T la tare, M la masse avant calcination et M' la masse après calcination.

D'où la formule du pourcentage des Ct (%Ct) :

$$\%Ct = \frac{Mct}{Mpe} \times 100$$

2.2 Cendres chlorhydriques (Cc)

Ce sont des cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique. Ces cendres sont le résidu obtenu en faisant bouillir les cendres totales dans de l'acide chlorhydrique (HCl) à 10%, leur détermination permet de mesurer la quantité de matières siliceuses, spécialement de la terre contenue dans la drogue.

➤ **Mode opératoire**

Dans un tube à essai, les cendres totales ont été introduites, sur lesquelles, 20ml d'HCl ont été versés et le mélange a été bouilli pendant 15 mn au bain marie. Après refroidissement ce

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

dernier a été filtré sur du papier filtre ; celui-ci a été transféré dans un creuset sec déjà taré de masse M. l'ensemble est pesé (M'), incinéré et repesé (M'').

La masse des Cc (MCc) est donnée par la formule suivante :

$$MCc = M'' - M$$

Le pourcentage des Cc (%Cc) est donné par le calcul suivant :

$$\%Cc = \frac{MCc}{SMpe} \times 100$$

Avec **SMpe** la somme des masses de prise d'essai pour la détermination des cendres totales.

2.3 Cendres sulfuriques (Cs)

C'est une méthode d'évaluation des substances inorganiques de la drogue végétale.

Les cendres sulfuriques sont obtenues après une réaction de la drogue avec H_2SO_4 .

La teneur est déterminée par dosage pondéral des sulfates non volatils obtenus par calcination de la matière végétale préalablement traitée avec de l'acide sulfurique dilué au 1/2. Les sulfates résultent de la conversion des sels organiques.

Dans un creuset en fer sec préalablement taré (T), une prise d'essai de la poudre a été introduite et l'ensemble a été pesé (M). La poudre a été ensuite humectée avec une quantité suffisante d'acide sulfurique dilué au 1/2 et mélangé avec une spatule.

Le creuset a été séché à l'étuve puis mis au four à la température de 600° C pendant 6 heures. Après refroidissement le creuset a été pesé (M'). La masse des cendres sulfuriques (MCs) et la masse de la prise d'essai (Mpe) s'obtiennent comme suit :

$$MCs = M' - T ; \quad Mpe = M - T$$

Le pourcentage des Cs (%Cs) est donné par le calcul suivant :

$$\%Cs = \frac{MCs}{Mpe} \times 100$$

I-4- Extractions

- **Matériel utilisé**

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

- **Extraction par l'eau**

Décocté 10%

Nous avons introduit 600g de poudre de racines de *Entada africana* dans une tasse contenant 6000 ml d'eau distillée. Il s'agit d'une décoction à 10% selon l'indication du thérapeute. L'ensemble a été maintenu en ébullition sur une plaque chauffante pendant 15mn. Après refroidissement à la température ambiante du laboratoire, nous avons filtré sur compresse. Nous avons concentré le filtrat à l'aide d'un rotavapor sous vide à la température de 55°C. Nous avons ensuite lyophilisé l'extrait concentré après congélation. La lyophilisation nous a permis d'obtenir une poudre. Elle a été pesée pour déterminer son poids. Le rendement a été calculé.

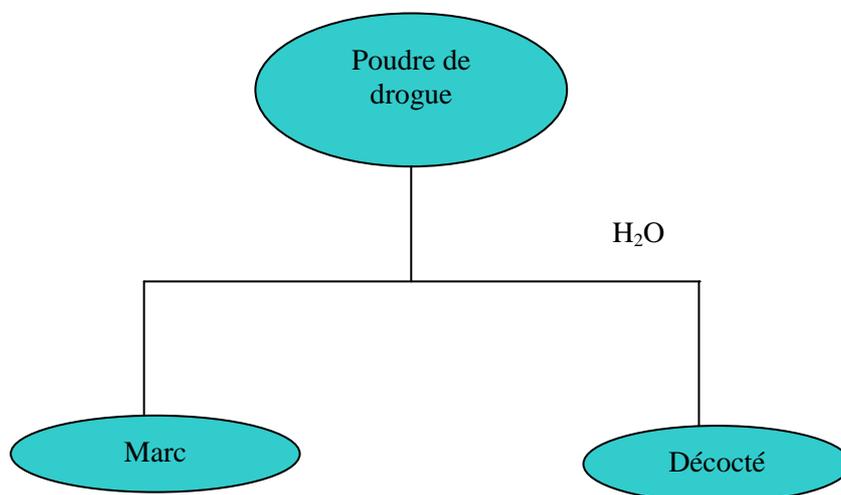


Schéma I : extraction de la drogue de *Entada africana* par décoction

- **Extraction par l'éthanol 70%:**

- Macération

Nous avons introduit 600g de poudre de racines dans des Herlemayers, auquel nous avons ajouté 6000 ml d'éthanol à 70% et laissé en agitation pendant 24 h.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Nous avons filtré sur compresse. Les filtrats ont été concentrés à l'aide d'un rotavapor, récupérés dans des ballons de lyophilisation déjà taré, puis lyophilisés. Nous obtenons ainsi une poudre qui a été pesée pour déterminer son poids. Le rendement a été calculé.

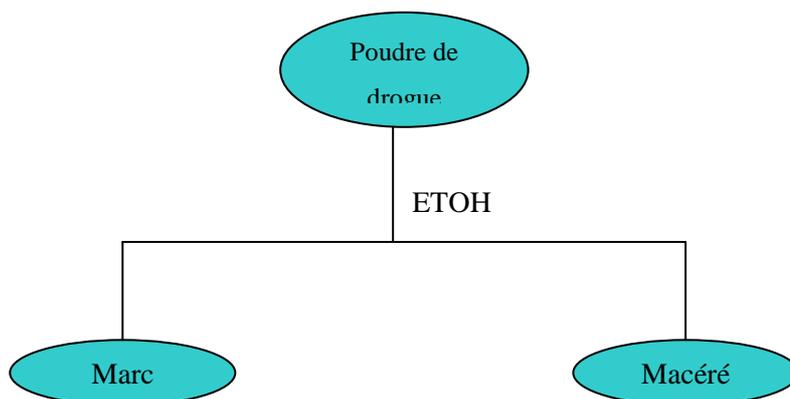


Schéma II : extraction des drogues de *Entada africana* par macération

- **Extraction par solvants à polarité croissante :**

- **Mode opératoire**

La poudre de racine a été extraite avec les solvants suivants (en raison de 10g dans 100ml) : éther de pétrole, dichlorométhane, dichlorométhane : méthanol (90 : 10), méthanol et l'eau (50°C et à 100°C). Pour les extraits organiques une macération à froid sous agitation pendant 1 heure a été effectuée, les extraits ont été filtrés sur du papier filtre. Pour les extraits aqueux, en plus de la macération à froid, un digeste et une décoction épuisée ont aussi été faites. Ces extraits ont aussi été filtrés et le filtrat a été quantifié. Evaporer à sec au Rotavapor.

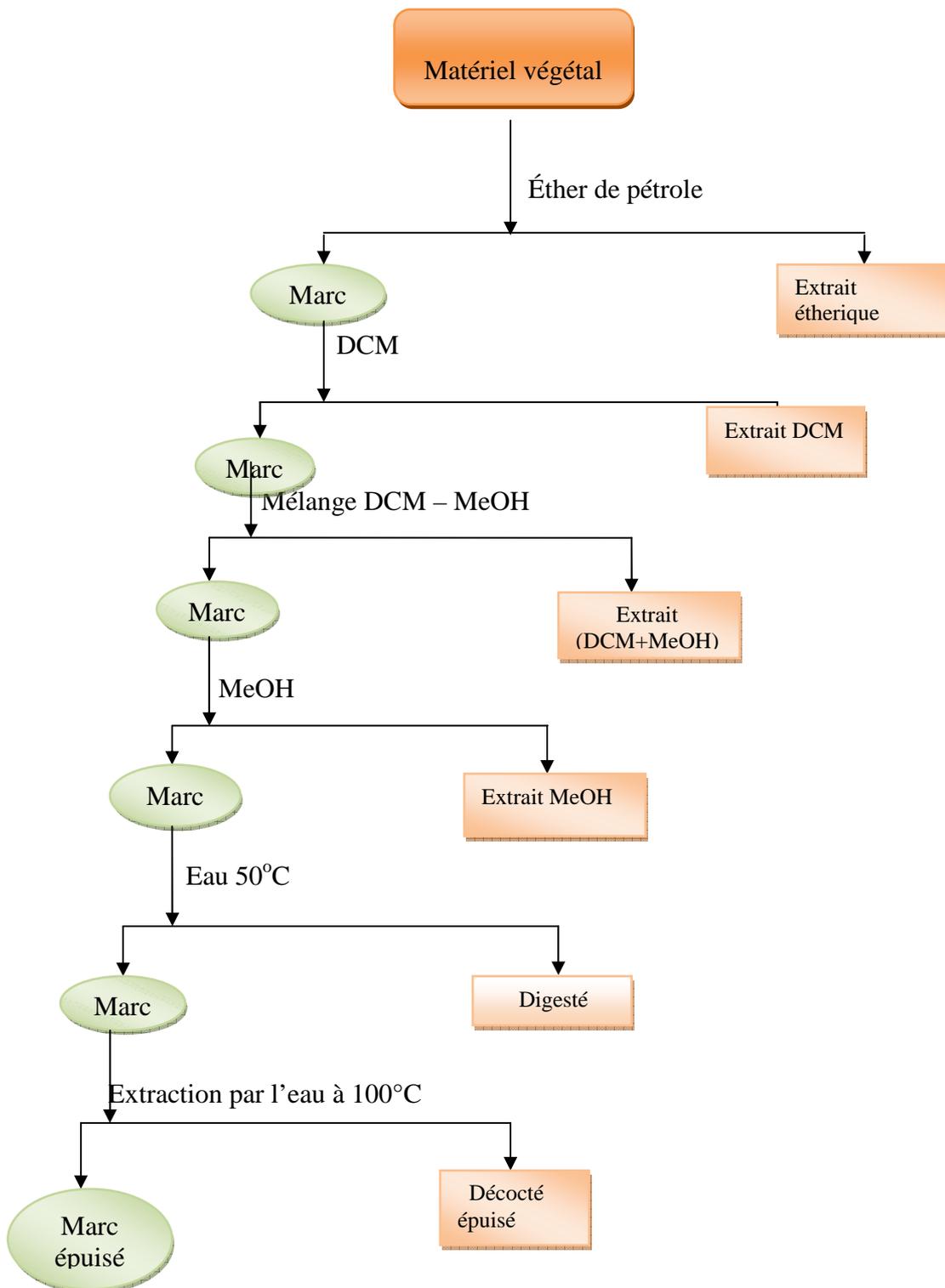


Figure N°8 : Schéma d'extraction par les solvants à polarité croissante.



Figure n°4 : Photo du lyophilisateur



Figure n°5: Photo du rotavapor

IV. Etudes phytochimiques

1. Réactions de caractérisation

1.1 Alcaloïdes

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

➤ **Solution à analyser**

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

➤ **Mode opératoire**

1 ml du filtrat a été introduit dans deux tubes à essai. 5 gouttes de réactif de Mayer (solution aqueuse de mercuri-iodure de potassium) et 5 gouttes de réactif de Dragendorff (solution aqueuse d'iodo-bismuthate de potassium) ont été ajoutées successivement dans le premier tube et le second. La présence d'alcaloïdes a été caractérisée par la formation d'un précipité dans chaque tube.

➤ **Confirmation de la présence d'Alcaloïdes par une extraction**

25ml de filtrat ont été introduits dans une éprouvette de 100ml, 25ml d'ammoniaque diluée au 1/2 et 25ml de Chloroforme y ont été ajoutés. L'ensemble a été agité dans une ampoule à décanter. Après décantation, la phase organique a été soutirée dans un petit bécher, cette dernière a été séchée sur sulfate de sodium anhydre et partagée en parties égales entre deux tubes à essai. Les deux tubes ont été mis au bain marie pour évaporation à sec. Le résidu contenu dans le premier tube a été repris par 2ml de HCl dilué (HCl concentré dilué au 1/10 par l'eau distillée). La solution a été partagée entre deux tubes à essai et les mêmes révélateurs généraux des alcaloïdes ont été essayés (5 gouttes du réactif de Mayer dans le premier tube et 5 gouttes du réactif de Dragendorff dans le deuxième tube). La présence d'alcaloïdes a été caractérisée par la formation d'un précipité dans chaque tube.

1.2 Substances polyphénoliques

Solution à analyser : un infusé à 5%

5g de poudre de racine ont été ajoutés à 100ml d'eau distillée bouillante contenue dans une tasse. Le mélange a été infusé pendant 15 mn et filtré sur du coton. Le filtrat a été complété à 100 ml avec de l'eau distillée.

➤ **Tanins**

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

Mode opératoire

Dans un tube à essai, 5ml de l'infusé ont été introduits, une solution aqueuse diluée de FeCl_3 à 1%(1ml) a été ajoutée. La présence de tanins a été caractérisée par l'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

▪ **Tanins catéchiques :**

A 5 ml d'infusé à 5 %, nous avons ajouté 1 ml d'alcool chlorhydrique (5 ml d'alcool 95°, 5 ml d'eau distillée, 5 ml d'HCl concentré). Nous avons porté à ébullition pendant 15 minutes. En présence de tanins catéchiques, il y a formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool isoamylique.

Réaction de Stiasny :

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

▪ **Tanins galliques :**

Filtrer et saturer le filtrat d'acétate de sodium pulvérisé. Ajouter 1 ml goutte à goutte d'une solution de FeCl_3 à 1 %. Le développement d'une teinte bleu noir montre la présence de tanins galliques.

➤ **Flavonoïdes**

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

▪ **Mode opératoire**

A l'infusé à 5 % présentant une coloration plus ou moins foncée, un acide (5 ml de H_2SO_4 à 10%) a été ajouté puis une base (5 ml de NH_4OH dilué au 1/2). La présence d'anthocyanes a été indiquée par une coloration accentuée par acidification qui a virée au bleu violacé en milieu basique.

▪ **Réaction à la cyanidine**

Dans un tube à essai, 5 ml de l'infusé ont été introduits, puis 5 ml d'alcool chlorhydrique (alcool à 95 %, l'eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes) ; 1 ml d'alcool isoamylique et quelques copeaux de magnésium ont été ajoutés.

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

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

➤ **Leucoanthocyanes**

La réaction à la cyanidine a été effectuée sans ajouter les copeaux de magnésium et chauffée pendant 15 mn au bain-marie. La présence de leucoanthocyanes a été caractérisée par l'apparition d'une coloration rouge cerise ou violacée. Les catéchols donnent une teinte brune rouge avec la même réaction.

1.3 Dérivés anthracéniques

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

➤ **Anthracéniques libres**

Solution à analyser : un extrait chloroformique

A 1g de poudre de racine, 10 ml de chloroforme ont été ajoutés et chauffés prudemment pendant 3 minutes au bain marie. Le filtrage a été fait à chaud.

▪ **Mode opératoire**

A 1 ml de l'extrait chloroformique obtenu, 1 ml d'ammoniaque dilué au 1/2 a été ajouté. Le mélange a été ensuite agité.

La présence d'antraquinones libres a été caractérisée par l'apparition d'une coloration plus ou moins rouge.

➤ **Anthracéniques combinés**

❖ **O-Hétérosides**

▪ **Solution à analyser**

A une partie du résidu de la poudre épuisée par le chloroforme, 10 ml d'eau et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré ont été ajoutés. Le tube à essai a été maintenu au bain-marie

bouillant pendant 15mn. L'hydrolysate a été refroidi dans un courant d'eau et filtré. Le filtrat a été complété à 10 ml avec de l'eau distillée.

▪ **Mode opératoire**

5 ml de l'hydrolysate ont été agités avec 5 ml de chloroforme. Ensuite la phase organique a été soutirée et introduite dans un tube à essai. La phase aqueuse a été gardée.

A la phase organique, 1 ml d'ammoniaque dilué au 1/2 a été ajouté. La présence d'antraquinones a été caractérisée par l'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense.

5 ml de l'hydrolysate ont été prélevés, 3 à 4 gouttes de FeCl₃ à 10 % ont été ajoutées. Le mélange a été chauffé pendant 5 mn au bain-marie puis refroidi sous courant d'eau. Ce dernier a été agité avec 5 ml de chloroforme, ensuite la phase chloroformique a été soutirée et introduite dans un tube à essai ; 1 ml d'ammoniaque dilué a été ajouté et le tube a été agité.

La présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones a été indiquée par une coloration rouge, plus intense que précédemment (c'est-à-dire sans addition de FeCl₃ à 10%)

▪ **C-Hétérosides**

La solution à analyser ici est la phase aqueuse obtenue avec la solution à analyser des O-Hétérosides. A cette solution, de l'eau distillée (10 ml) et 1ml de FeCl₃ à 10% ont été ajoutés. Le tube à essai a été maintenu au bain-marie pendant 30 mn puis refroidi sous un courant d'eau. Le mélange a été agité avec du CHCl₃ (5 ml), puis la phase chloroformique a été soutirée et introduite dans un tube à essai. De l'ammoniaque diluée au 1/2 (1 ml) a été ajoutée.

La présence de génines de C-Hétérosides a été caractérisée par l'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense.

1.4 Stérols, terpènes, coumarines et caroténoïdes

Solution à analyser

L'extrait à tester a été obtenu à partir de la poudre de racine (1g) et de l'éther (20 ml), laissé en macération pendant 24 heures. Le mélange a été filtré et complété à 20 ml avec de l'éther.

➤ **Stérols et triterpènes** : réaction de Liebermann- Burchard

Dans un tube à essai 10 ml d'extrait ont été évaporés à sec, puis le résidu a été dissous dans 1 ml d'anhydride acétique et dans 1 ml de chloroforme. Le mélange a été partagé dans deux

tubes à essai, l'un a servi de témoin et dans l'autre, 1 à 2 ml d'acide sulfurique concentré ont été introduits au fond à l'aide d'une pipette.

La présence de stérols et triterpènes a été caractérisée par la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides et la couche surnageante devenant verte ou violette.

➤ **Caroténoïdes**

Après évaporation à sec de 5 ml d'extrait dans un tube à essai, 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine dans le chloroforme ont été ajoutées. La présence de caroténoïdes a été caractérisée par l'apparition d'une coloration bleue devenant rouge par la suite.

➤ **Coumarines**

L'extrait étheré (5 ml) a été évaporé à sec, puis le résidu a été repris avec de l'eau chaude (2 ml). La solution a été partagée entre deux tubes à essai.

Dans l'un des tubes, de l'ammoniaque à 25 % (0,5 ml) a été ajoutée, mélangée. La fluorescence a été observée sous UV 366 nm. La présence de coumarines a été caractérisée par l'apparition d'une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque

1.5 Hétérosides cardiotoniques

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

➤ **Solution à analyser**

1g de poudre de racines a été introduit dans un tube à essai, 30ml d'éthanol à 60 % et 5ml d'acétate neutre de plomb à 10% ont été ajoutés. Le mélange a été porté au bain marie bouillant pendant 10mn et filtré sur coton après refroidissement.

➤ **Mode opératoire**

Le filtrat a été agité avec 10ml de chloroforme dans un tube à essai. Nous avons laissé le mélange se décanter, après décantation la phase chloroformique a été soutirée à l'aide d'une pipette, cette dernière a été partagée entre 3 tubes à essai. Les contenus des 3 tubes ont été évaporés à sec au bain marie et les résidus ont été repris avec 0,4ml d'isopropanol.

1ml de réactif de Baljet a été ajouté dans le premier tube, 1ml de réactif de Kedde dans le deuxième tube et 1ml de réactif de Raymond-Marthoud dans le troisième tube.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Après 5 gouttes de KOH à 5% dans l'alcool (0,5g dans 10ml d'alcool absolu) ont été introduites dans chaque tube.

La présence d'hétérosides cardiotoniques a été caractérisée par l'apparition des colorations suivantes : Tube 1 Baljet: orangé

Tube 2 Kedde: rouge violacé

Tube 3 Raymond et Marthoud: violet fugace

1.6 Saponosides :

Ce sont des Hétérosides caractérisés par leurs propriétés tensioactives.

➤ **Solution à analyser :** 100 ml d'un décocté à 1% pendant 15mn.

➤ **Mode opératoire**

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10 ; 1, 2,10 ml du décocté à 1% ont été répartis successivement. Le volume des 9 premiers tubes a été ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube a été agité dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de deux agitations par seconde puis laissé au repos pendant 15 minutes. Ensuite la hauteur de la mousse a été mesurée dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de mousse a été de 1cm a indiqué la valeur de l'indice de mousse :

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

N = numéro du tube dans lequel la hauteur de la mousse atteint 1 cm

1.7 Autres caractérisations

Solution à analyser : un décocté à 10%

➤ **Composés réducteurs**

5ml du décocté à 10% ont été introduits dans un tube à essai et porté à évaporation au bain-marie jusqu'à sec. Au résidu, 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml réactif A + 0,5 ml réactif B, mélange extemporané) a été ajouté.

La présence de composés réducteurs a été caractérisée par l'obtention d'un précipité rouge brique.

➤ **Oses et holosides**

5ml du décocté à 10% ont été introduits dans un tube à essai et portés à évaporation au bain-marie jusqu'à sec. Au résidu, 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré ont été ajoutées, puis après 5 minutes, 3 à 5 gouttes d'alcool saturé avec du thymol ont été ajoutées.

La présence d'oses et holosides a été caractérisée par le développement d'une coloration rouge.

➤ **Mucilages**

A 1 ml de décocté à 10 %, 5ml d'éthanol absolu ont été ajoutés. La présence de mucilages a été caractérisée par l'obtention d'un précipité floconneux, par mélange.

1.8 Hétérosides cyanogénétiques

A la poudre de racine (1g) ,5ml d'un mélange à volume égal d'eau et de toluène ont été ajoutés. Après agitation, la partie supérieure du tube à essai a été nettoyée et le papier picrosodé fraîchement préparé (avec le réactif de Guignard) a été fixé à l'aide d'un bouchon.

La présence d'hétérosides cyanogénétiques a été caractérisée par l'apparition d'une coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé.

2- Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes de séparation: la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur affinité avec la phase stationnaire et la nature de solvant de migration.

➤ **Principe**

Lorsque la plaque sur laquelle l'échantillon a été déposé est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption.

▪ **Les matériels utilisés**

Plaque de silice G60F254, une cuve de migration en verre avec couvercle étanche, séchoir électrique, crayon de papier, règle graduée, micropipettes de 10 μ l, pince pour plaque, lampe UV.

▪ **Les systèmes de solvant**

Ether de pétrole - Acétate d'éthyle (1- 1) pour les extraits organiques.

Butanol- Acide acétique- Eau (65- 15- 25) pour les extraits aqueux.

Acétate d'éthyle-méthyl éthyl cétone-Acide formique-Eau (5-3-1-1) pour les extraits aqueux.

▪ **Dépôt des différents extraits**

L'échantillon (10 microlitres) est déposé à l'aide d'une micropipette en appuyant légèrement et brièvement l'extrémité de la pipette sur la couche d'adsorbant en prenant soin de ne pas la détériorer.

Les solutions ont été déposées sous forme de point distant de 1,5 cm les uns des autres et situées à environ 1cm de la partie inférieure de la plaque. Chaque dépôt a été séché à l'aide d'un séchoir. La distance du spot est de 8 cm.

▪ **Développement de la plaque**

La plaque a été introduite en position verticale dans la cuve de migration restée fermée pendant le développement. Lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1 cm de l'extrémité supérieure de la plaque, celle-ci est retirée de la cuve, le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée à l'air libre. Après séchage les plaques ont été regardées à l'UV 254 nm et 366 nm. Les taches observées ont été encerclées au crayon, en traits pleins pour les taches détectées à l'UV 254 nm et en traits pointillés pour les celles détectées à l'UV 366 nm.

▪ **Révélation**

Les plaques ont été révélées par pulvérisation avec les réactifs suivants :

- le Godin révélateur polyvalent,
- le FeCl₃ spécifique des tanins,
- le DPPH pour les composés à activité anti radicalaire,
- le sang pour les composés à activité hémolytique.

Les taches observées après révélation ont été mises entre crochet.

▪ **Calcul de R_f (rapport frontal)**

$$R_f = \frac{dc}{ds}$$

dc : distance parcourue par le composé (du dépôt jusqu'au centre de la tache)

ds: distance parcourue par le front du solvant

Le rapport frontal des composés détectés à l'UV 254 nm, 366 nm et après révélation a été calculé et les couleurs notées. **NB** : le rapport frontal est toujours **inférieur ou égal à 1**.

V. Activités biologiques

Test *in vitro* :

1. Activité hémolytique

➤ **Principe**

Ce test consiste à observer les zones d'hémolyses des extraits à différentes concentrations, de la plante à tester, sur la plaque de CCM après révélation par le sang du bœuf.

- **Les matériels utilisés** : Plaque de silice G60F254, une cuve de migration en verre avec couvercle étanche, séchoir électrique, crayon de papier, règle graduée, micropipettes de 10 μ l, pince pour plaque, lampe UV.
- **Les systèmes de solvant** : Butanol- Acide acétique- Eau (65- 15- 25)
- **Dépôt des différents extraits** : 10 μ l des extraits à différentes concentrations.
- **Préparation du révélateur**: 10ml d'une solution de citrate de sodium à 3,65% a été mélangé à 90ml de sang frais du bœuf.
- **Mode opératoire**

La plaque a été giclée horizontalement avec le sang et le tout conservé au frigo pendant 30mn. Puis elle a été rincée à l'eau distillée ensuite séchée à l'air libre.
- **Substance détectée**

Les substances provoquant l'hémolyse, apparaissent sous forme de taches claires sur fond rouge.

2. Activité antiradicalaire:

Principe : Il est basé sur la réduction du radical DPPH (1-1 Diphényl -2- pycril hydrazile) sur plaque CCM. Tous les extraits et les solutions d'extraits préalablement préparées pour la CCM ont été utilisés.

Dépôt des différents extraits : 10 µl de chaque solution d'extrait ont été réalisés.

Les systèmes de solvant : Butanol- Acide acétique- Eau (60 : 15 : 25)

➤ **Mode opératoire**

Après migration des substances, les chromatogrammes ont été révélés avec une solution méthanolique à 2 mg/ml de 1-1 Diphényl-2- pycril hydrazile.

➤ **Substance détectée**

Les composés antiradicalaires apparaissent en jaune sur fond violet.

Test biologiques *in vivo* :

1. Estimation de la toxicité : (OCDE, 2001)

➤ **Principe :** Ce test consiste à administrer aux animaux des extraits de plante à tester puis à suivre leur comportement.

➤ **Matériels utilisés :** Balance de précision, seringue à insuline, bécher, éprouvette graduée, sonde gastrique, agitateur à main.

➤ **Matériel animal**

Les animaux utilisés étaient des souris de couleur blanche (six mâles et trois femelles) de poids compris entre 21,52g et 37,98g.

Volume de dilution : 20ml d'eau distillée.

➤ **Extraits en étude :**

Décocté 10% : 2000 mg/Kg

Extrait éthanolique 70% : 2000 mg/Kg

Eau distillée : 20ml/Kg.

➤ **Voie d'administration : Intra-gastrique**

➤ **Nombre de lots :**

Au total 3 lots de trois souris ont été constitués pour le test à raison d'un lot pour chaque extrait, et un dernier pour l'eau distillée.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

➤ **Le jeun :** Les souris ont été mis en jeun pendant 4 heures avec accès libre à l'eau avant expérimentation.

➤ **Mode opératoire**

Les souris ont été marquées dans le but de les identifier. Elles ont été pesées en vue de déterminer leur poids. Après 4 heures de jeun, nous avons administré aux souris les extraits en raison de 20ml/kg.

Les souris témoins ont reçu de l'eau distillée en raison de 20ml/Kg.

Deux heures après administration, les souris ont été privées de nourriture, par contre avaient accès libre à de l'eau. Elles ont été mis en observation pendant les 4 premières heures qui suivent l'administration et quotidienne pendant 14 jours.

Les observations portaient sur les modifications de la peau, des poils, des yeux, des muqueuses, de l'appareil respiratoire, de l'activité du système nerveux central et autonome, de l'activité somato-motrice, de comportement. Mais aussi de noter les tremblements, les convulsions, apparition de la diarrhée, la léthargie, et le sommeil.

Les cas de mort ou non détermine :

- Arrêt de l'essai,
- Administration de la même dose à trois souris supplémentaires,
- Administration de la dose immédiatement inférieure à trois autres souris.

A la fin des 14 jours, les souris ont été pesées.

2. Etude de la toxicité chronique :

➤ **Principe :** Elle consiste à vérifier la toxicité des extraits chez les animaux par administration quotidienne pendant trois mois.

➤ **Matériels utilisés :** Balance, seringue pour administration, éprouvettes, spatule, béchers, plaque chauffante, agitateur à main, sonde gastrique.

➤ **Matériel animal :** Les animaux utilisés étaient des rats de couleur blanche mâles et femelles de poids compris entre 92,12 et 330,04g.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

➤ **Traitement : Volume de dilution est égal à 10ml d'eau distillée.**

- Le décocté 10% aux doses de 100 et 500mg/kg/j
- Solution extemporanée décocté 1%
- L'eau distillée à la dose de 10ml/kg/j.

➤ **Nombre de Lots :** Au total 4 lots dont 3 de huit rats mâles et un lot témoin de six rats mâles.

➤ **Protocole expérimental**

Les rats ont été marqués dans le but de les identifier, et pesés chaque semaine en vue de déterminer leur poids pour l'administration des extraits.

La dose à administrer a été calculée en fonction du poids des rats.

Ils ont reçu par voie intra gastrique les différents extraits aqueux préalablement préparés :

- Lot témoin a reçu de l'eau distillée à la dose de 10ml/Kg/j ;
- Lot I a reçu le décocté à la dose de 100mg/Kg/j,
- Lot II recevait le décocté à la dose de 500mg/Kg/j,
- Lot III recevait la solution extemporanée de décocté 1% à la dose de 10ml/Kg/j.

Chaque quinzaine les paramètres biologiques intermédiaires (Glycémie et le Taux d'hémoglobine) ont été évalués.

Chaque mois, deux (2) rats par lot étaient sacrifiés ; les échantillons de sang obtenu ont servi à des examens biochimiques, les organes (Foie, Reins, Rate et Cœur) à des examens anatomopathologiques.

3. Examens biochimiques

➤ **Principe :** Il consiste à effectuer des dosages enzymatiques de la glycémie, créatinine, l'urée, bilirubine totale, uricémie, transaminases ALAT et ASAT, et le gamma-GT.

➤ **Matériel animal :** Sang prélevé chez les rats.

➤ **Matériels utilisés :**

Tube sec, centrifugeuse, portoir, Automate COBAS-Intégra 400 plus.

➤ **Protocole de la technique utilisée :**

Les prélèvements ont été centrifugés afin d'obtenir du sérum. Les analyses ont été effectuées sur le sérum à l'aide de COBAS-Intégra 400 plus.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

L'automate comprend une unité centrale, une station d'analyse et les annexes (écran, clavier, souris et imprimante). Un logiciel intégré dans le système permet de faire les analyses.

Les réactifs ont été placés (emballés sous forme de cassettes) dans la station d'analyse à l'aide d'un portoir et chaque échantillon a été codifié.

La saisie des codes des différents échantillons a été faite dans le logiciel, puis les analyses à effectuer ont été sélectionnés, la position de chaque échantillon sur le portoir a été également définie.

Les échantillons ont été positionnés sur le portoir conformément à la saisie et le tout placé dans la station d'analyse puis cliquer sur démarrer.

L'automate exécute toutes les analyses demandées, affiche les résultats sur l'écran puis imprime. Les organes (Cœur, Foie, Rein, Rate) issus des rats ont servi à des examens anatomo-pathologiques.

4. Examens anatomo-pathologiques

- **Principe :** Il consiste à faire des prélèvements d'organes et de procéder à leur observation macroscopique; et microscopique.
- **Matériel animal :** IL s'agit des prélèvements du foie, de la rate, du cœur, et les reins des rats sacrifiés.
- **Matériels utilisés :** Pince à disséquer, cassettes, lame porte objet, lamelle, lame de bistouri.
- **Protocole de la technique utilisée :**

- Examen macroscopique :

Les organes ont été pesés à l'état frais et mis dans du formol à 10%. Après fixation, les organes ont été mesurés (longueur, largeur et épaisseur).

Ensuite on a procédé à des coupes fines d'organes (biopsies).

Les coupes ont été étiquetées et placées dans des cassettes en raison de deux pour le foie et un pour les autres. Les cassettes ont été conservées dans du Formol à 10%.

- Déshydratation des biopsies :

Les biopsies ont été préalablement **déshydratées** (à l'aide de **Technicon corporation**) successivement dans quatre bains d'éthanol (75°, 80°, 85° et absolu); trois bains de toluène ; et deux bains de paraffine fondue.

Ensuite un bloc de paraffine a été préparé pour chaque biopsie et laissé refroidir.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

- **Les coupes :**

Elles ont été réalisées avec le **Microtone** (coupes très fines de l'ordre de micron).

La couche fine de la biopsie, mise dans l'eau, est reprise sur une lame, dépliée dans de l'eau chaude, égouttée puis chauffée sur la plaque chauffante (**c'est le déparaffinage**).

✓ **Déparaffinage de la lame :**

Les lames ont été successivement déparaffinées dans deux bains de xylène ;

✓ **Réhydratation de la lame :**

Les lames sont réhydratées successivement dans des bains de l'éthanol absolu, à 85°, 80° et 75° ; puis rincées dans un bain d'eau.

- **Coloration des lames :**

Elle est réalisée à l'aide de **Technicon corporation**.

Les lames sont plongées dans un bain de **l'hématoxyline** qui se fixe sur les noyaux en les colorant en bleu ; puis rincées dans trois bains d'eau.

Elles sont plongées dans un bain de **l'éosine qui colore le cytoplasme en rouge**, puis rincées avec de l'eau pour éliminer **l'excès d'éosine**.

✓ **Déshydratation de la lame :**

Elle est réalisée dans trois bains d'éthanol de concentration croissante puis trois bains de xylène de concentration croissante. Elle permet de nettoyer la lame.

Chaque bain fait au minimum 3 minutes.

Nettoyer la face opposée puis fixer la biopsie avec la **Baume de Canada** et la couvrir avec la lamelle.

- **Examen microscopique :** Il est réalisé avec un microscope optique. ***Le lecteur n'était pas informé de la dose des produits administrés.***

RESULTATS

I. Caractères macroscopiques

1. Caractères macroscopiques et organoleptiques

La racine est recouverte d'une écorce externe noirâtre et d'une écorce interne rougeâtre. Le bois est fibreux, malléable et blanchâtre. La poudre de la racine a une couleur blanchâtre, avec une odeur faible et une saveur légèrement sucrée



Figure N°6: Racine de *Entada africana*

II. Données du contrôle de qualité

Les résultats des différents dosages exécutés figurent dans le tableau ci-dessous :

Tableau N°2: Teneurs en eau et en cendres de la poudre racines de *E. africana*

Dosage		Résultats (%)
Eau	Méthode gravimétrique ou pondérale	5,40
	Totale	3,52
Cendres	Chlorhydriques	0,26
	Sulfuriques	5,31
Substances extractibles par l'eau		10

La teneur en eau dans notre matériel était faible.

III. Extraits

Le rendement, la couleur et l'aspect des différents extraits obtenus à partir de la poudre de racines de *E. africana* sont rapportés dans le tableau suivant :

. Tableau N°3: Rendements et caractéristiques des extraits de racines de *E. africana*

Extraits	Rendements (%)	Couleur	Aspect
Ethanol 70%	10	Marron	cristaux Brillants
Décocté 10%	9,86	Marron	cristaux Brillants

MPE : masse prise d'essai.

Le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'éthanol.

Les rendements de l'extraction avec les solvants de polarité croissante sont reportés dans le tableau N°4.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Tableau N°4: Rendements de l'extraction par polarité croissante de racines de *E. africana*

Extraits	Rendements (%)	Couleur
Ether de pétrole	0,02	Jaune
DCM	0,02	Jaune
DCM + MeOH	0,03	Marron
MeOH	0,16	Rouge bordeaux
Digesté	0,28	Orange
Décocté épuisé	0,13	Orange

DCM : Dichlorométhane ; MeOH : Méthanol

Le rendement le plus élevé a été obtenu avec le digesté.

IV. Données chimiques

2.2 Réactions de caractérisations

2.2.1 Réactions en tubes

Tableau N°5 : Résultats des réactions en tubes sur les racines de *Entada africana* .

Recherches	<i>Entada africana</i>
Flavonoïdes :géninesflavoniques (R :Shibata)	+ ++
Anthracénosides libres (Borntrager)	+
Saponosides : Mousse	++++
Tanins : Réaction avec FeCl ₃	+
Tanins : Réaction avec HCl concentré	+
Tanins catéchiques : Réaction de Stiasny	++
Tanins galliques : Réactions de Stiasnytraces	légères
Oses et holosides	++
Mucilages	+
Stérols et triterpènes	+
Coumarines	+
Leucoanthocyanes	++
Hétérosides cardiotoniques (Raymond et Martoud)	+++
Hétérosides cardiotoniques (R : Keede)	+
Hétérosides cardiotoniques (R :Baljet)	+

Les réactions ont été négatives pour les Alcaloïdes, anthocyanes, anthracénosides, anthracénosides combinés C-Hétérosides, Caroténoïdes (Carr et Price), Composés réducteurs.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

2- Chromatogrammes

Les résultats de la CCM des différents extraits obtenus à partir de la poudre de racines de *Entada africana* sont rapportés dans les tableaux et figures ci-dessous.

Tableau N°6: Résultats des CCM dans le système de solvants B.A.W (65-15-25) : Facteurs de rétention et coloration des substances des extraits avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, (Figure N°7).

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	Godin
Décocté 10%	0,03	Visible	Violet	-
	0,15	Visible	Violet	Rouge clair
	0,21	Visible	-	Rouge clair
	0,29	Visible	Violet clair	Violet
	0,35	Visible	-	-
	0,45	Visible	Violet	-
	0,63	Visible	-	-
	0,66	Visible	-	-
	0,71	-	Violet	-
	0,85	Visible	Violet	-
ETOH	0,03	Visible	Violet foncé	Rouge
	0,10	Visible	Violet clair	-
	0,23	Visible	-	-
	0,28	Visible	Violet clair	Rouge clair
	0,36	Visible	-	Violet
	0,41	-	Violet clair	Rouge clair
	0,63	Visible	Violet	Rouge clair
	0,71	-	Violet	-
	0,88	Visible	Violet clair	Violet
MeOH	0,03	Visible	Violet	-
	0,20	Visible	Violet	Rouge
	0,29	Visible	Violet clair	Violet
	0,44	Visible	Violet	Rouge clair
	0,56	Visible	Violet	Rouge clair
	0,63	Visible	-	-
	0,71	Visible	Violet	-
	0,89	Visible	Violet clair	Violet

La présence d'une substance ayant une coloration violette aux **Rf** : 0,29 ; 0,36 ; 0,88 et 0,89 après révélation par le **Godin**, pourrait être des saponosides à génines triterpéniques (**Figure N°7**).

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Tableau N°7: Résultats des CCM dans le système de solvants B.A.W (65-15-25) : Facteurs de rétention et coloration des substances des extraits avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, et le DPPH (figure N°8).

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	Godin	DPPH
Digesté	0,03	Visible	Violet	Rouge clair	Tache jaune
	0,08	-	Violet clair	-	-
	0,23	Visible	-	-	Tache jaune
	0,29	-	Violet	Rouge clair	-
	0,64	Visible	-	Violet clair	-
	0,93	Visible	-	-	-
<hr/>					
Décocté épuisé	0,03	Visible	Violet	-	Jaune
	0,06	-	Violet clair	Rouge clair	-
	0,11	Visible	-	-	Tache jaune
	0,24	Visible	Violet	Rouge clair	Tache jaune
	0,39	Visible	-	Violet clair	Tache jaune
	0,79	Visible	Violet	-	Tache jaune
	0,94	Visible	Violet clair	-	-

*La présence d'une substance ayant une coloration violette aux **Rf** : 0,39 et 0,64 après révélation par le Godin, pourrait être des saponosides à génines triterpéniques (Figure N°7).*

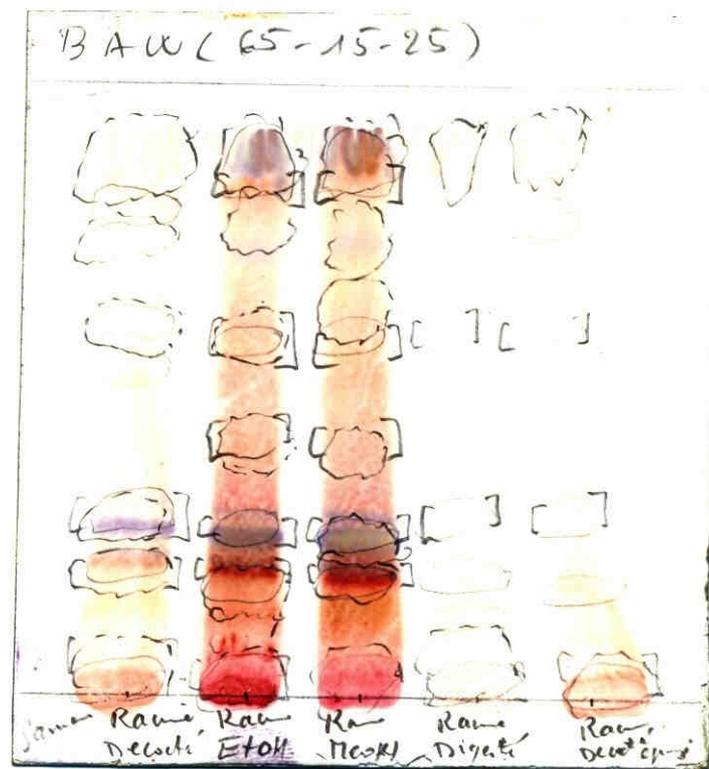


Figure N°7 : Chromatogramme des extraits aqueux et alcooliques révélé par le Godin

Front du solvant : 8cm

Support : Plaque de Silice G60F₂₅₄

Dépôt : 10 µl

Eluant : B.A.W (65-15-25)

Révéléteur : Godin

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Tableau N°8: Résultats des CCM dans le système de solvants Acoet-M.E.C-AF-H₂O (5-3-1-1) : Facteurs de rétention et coloration des substances des extraits avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le DPPH, et le FeCl₃ (**Figure N° 8**).

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	FeCl₃
Décocté 10%	0,05	Visible	Rouge clair	Noir
	0,28	-	Violet clair	-
	0,41	Visible	Violet	-
	0,54	Visible	Violet	Tache noire
	0,95	Visible	Violet clair	Tache noire
EtOH	0,05	Visible	Rouge	Noir
	0,16	Visible	Violet	-
	0,28	Visible	Violet	Tache noir
	0,41	Visible	Violet	Tache noir
	0,58	-	Violet	-
	0,79	-	Violet	-
	0,93	Visible	Violet clair	Tache noir
MeOH	0,04	Visible	Violet	Noir clair
	0,13	Visible	Violet	Noir clair
	0,31	-	Violet	-
	0,43	Visible	Violet	Noir clair
	0,59	-	Violet	-
	0,79	-	Violet	-
	0,94	Visible	Violet clair	Noir clair
Digesté	0,04	Visible	Violet	-
	0,93	Visible	Violet clair	-
Décocté épuisé	0,04	Visible	Violet	Noir clair
	0,20	Visible	-	-
	0,93	Visible	Violet clair	Noir clair

La présence d'une substance ayant une coloration noire aux **Rf** correspondants après révélation par le FeCl₃, pourrait être des tanins (**Figure N°8**)

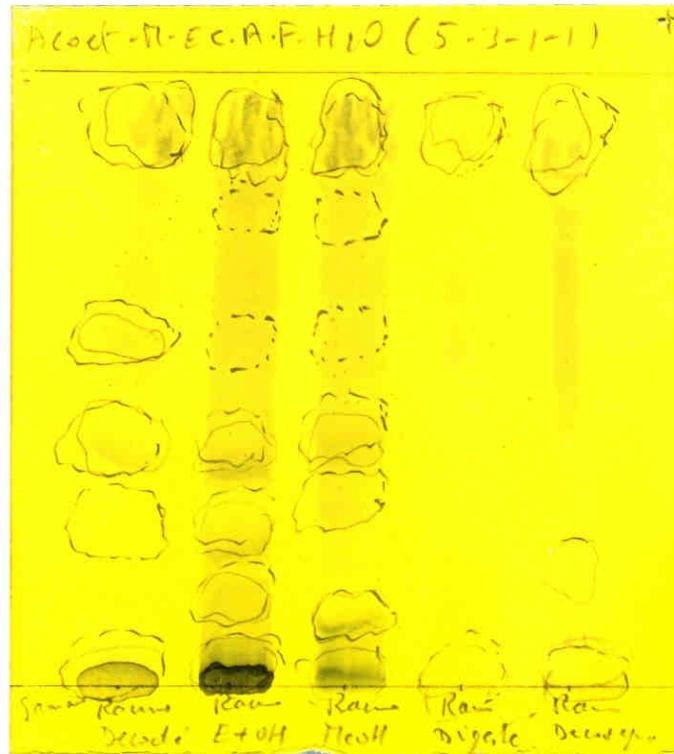


Figure N°8: Chromatogramme des extraits aqueux et alcooliques révélé par le FeCl₃

Front du solvant : 8cm

Support : Plaque de Silice G60F₂₅₄

Dépôt : 10 µl

Eluant : Acoet-M.E.C-AF-H₂O (5-3-1-1)

Révéléateur : FeCl₃ a pour but de révéler les tanins par des taches de couleur bleu noire, verdâtre.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Tableau N°9: Ether de pétrole-Acoet (1- 1) : Facteurs de rétention et coloration des substances des extraits avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin (figure N°9).

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	Godin
Ether de pétrole	0,78	-	-	Violet
	0,86	-	Tache claire	-
	0,96	Visible	Tache sombre	-
	0,03	Visible	Tache sombre	-
Dichloro-méthane	0,21	-	-	Violet
	0,30	-	-	Violet clair
	0,41	-	-	Violet clair
	0,51	-	-	Violet clair
	0,59	-	-	Violet clair
	0,68	-	-	Violet clair
	0,79	-	-	Violet
	0,88	-	Tache claire	-
	0,95	Visible	Violet	-
	0,01	Visible	Tache claire	-
CH ₂ Cl ₂ + MeOH	0,06	Visible	Tache claire	-
	0,15	Visible	Tache sombre	Jaune clair
	0,24	-	Tache claire	Violet
	0,58	-	-	Violet
	0,63	-	-	Violet clair
	0,69	-	-	Violet
	0,80	-	-	Violet
	0,89	-	Tache claire	-
	0,96	Visible	Tache claire	-
	0,01	Visible	Rouge	-
MeOH	0,06	Visible	Jaune clair	-
	0,14	Visible	Jaune clair	Jaune clair
	0,21	-	Tache claire	Jaune clair
	0,31	-	-	-
	0,81	-	-	Violet
	0,89	-	Tache sombre	-
0,95	-	Tache sombre	-	

La présence d'une substance ayant une coloration violette aux **Rf** correspondants après révélation par le Godin, pourrait être des saponosides à génines triterpéniques (**Figure N°9**).

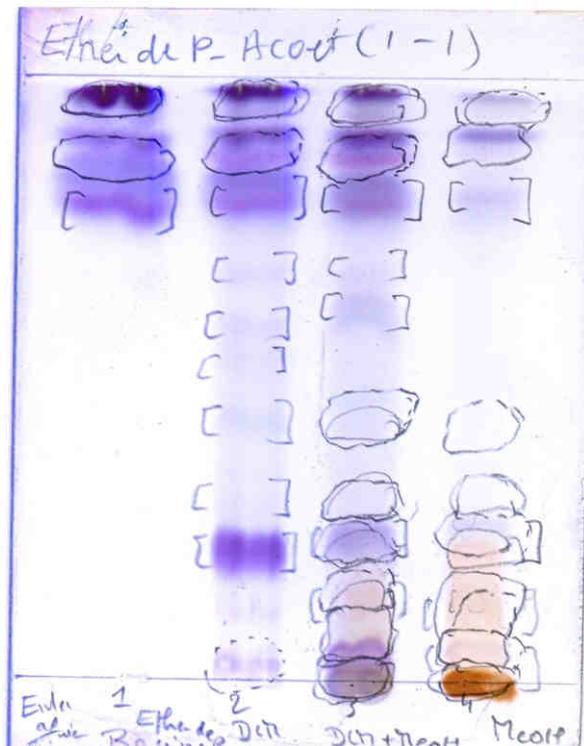


Figure N°9 : Chromatogramme des extraits organiques révélé par le Godin

Front du solvant : 8cm

Support : Plaque de Silice G60F₂₅₄

Dépôt : 10 µl

Eluant : Ether de pétrole-Acoet (1- 1)

Révéléteur : Godin

V. Données biologiques

A. TEST IN VITRO:

1. Activité hémolytique

Certains constituants chimiques des extraits aqueux et hydro-éthanoliques lyophilisés des racines de *Entada africana* ont provoqué l'hémolyse. L'hémolyse est dose dépendante et beaucoup plus évidente avec l'extrait hydro-éthanolique que les extraits aqueux. L'hémolyse a été moins évidente avec les décoctés extemporanés à 1% (Chromatogrammes Figure N°10). Les extraits aqueux et hydro-éthanoliques lyophilisés de concentrations croissantes chacun, ont révélé avec sang frais du bœuf une tache claire sur fond rouge au Rf 0,25 (figure N°10). La révélation d'un chromatogramme des mêmes extraits avec le réactif de Godin montre une coloration violette au Rf correspondant à 0,25. Ces taches pourraient être des saponosides à genines triterpéniques, ce qui nous permet de faire une relation entre structure chimiques et activité hémolytique des extraits (Figure N°11).

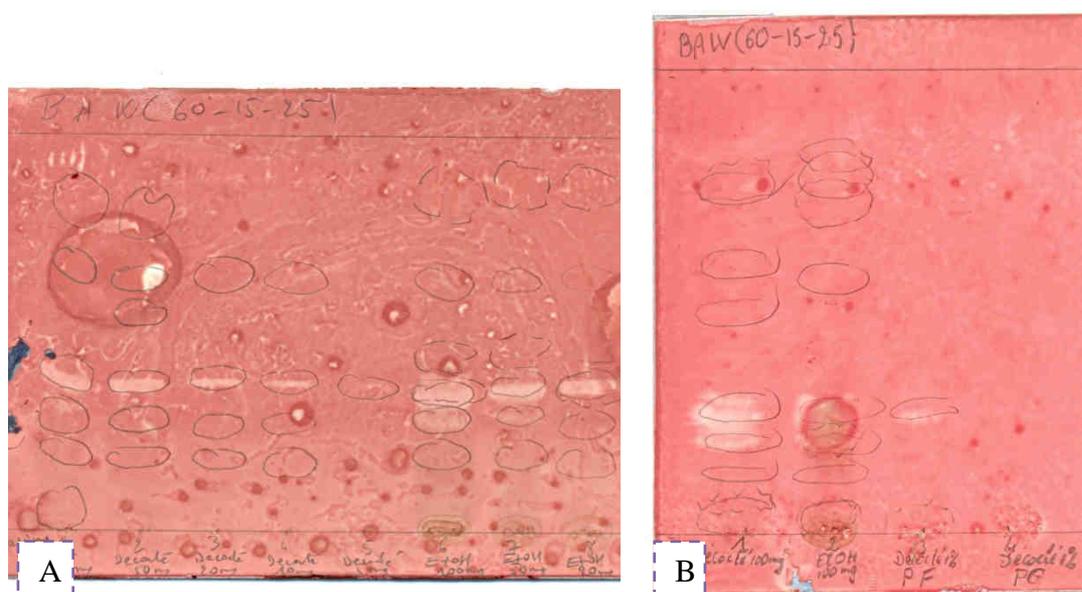


Figure N° 10 : Chromatogrammes des extraits polaires révélés avec du sang de bœuf.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

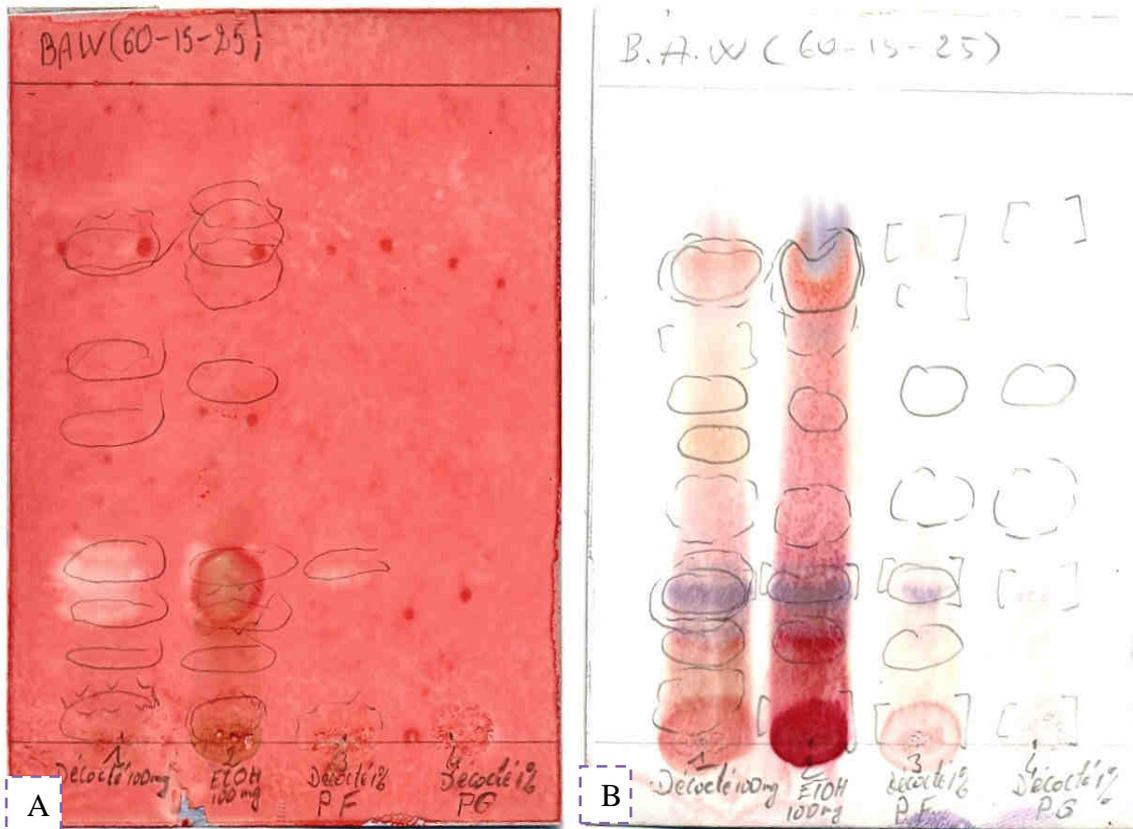


Figure N°11: Chromatogrammes des extraits aqueux et alcooliques révélés par le sang (A) et le Godin (B).

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

2. Activité antiradicalaire

Activité antiradicalaire

Les données des chromatogrammes révélés par la solution de DPPH pour la mise en évidence des composés antiradicalaires sont reportés dans les tableaux et figures ci-dessous. Les données concernent surtout les extraits polaires.

Tableau N°10: Résultats des CCM dans le système de solvants B.A.W (65-15-25) : Facteurs de rétention et coloration des substances des extraits avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le DPPH (Figure N°12).

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	DPPH
Décocté 10%	0,03	Visible	Violet	Jaune
	0,15	Visible	Violet	Jaune
	0,21	Visible	-	Jaune
	0,29	Visible	Violet clair	Jaune
	0,35	Visible	-	Jaune
	0,45	Visible	Violet	Jaune
	0,63	Visible	-	Jaune
	0,85	Visible	Violet	Jaune
ETOH	0,03	Visible	Violet foncé	Jaune
	0,10	Visible	Violet clair	Jaune
	0,23	Visible	-	Jaune
	0,28	Visible	Violet clair	Jaune
	0,36	Visible	-	Jaune
	0,41	-	Violet clair	Jaune
	0,63	Visible	Violet	Jaune
	0,71	-	Violet	Jaune
0,88	Visible	Violet clair	Jaune	
MeOH	0,03	Visible	Violet	Jaune
	0,20	Visible	Violet	Jaune
	0,29	Visible	Violet clair	Jaune
	0,44	Visible	Violet	Jaune
	0,56	Visible	Violet	Jaune
	0,63	Visible	-	Jaune
	0,71	Visible	Violet	Jaune
	0,89	Visible	Violet clair	Jaune
Digesté	0,03	Visible	Violet	Jaune
	0,23	Visible	-	Jaune
Décocté épuisé	0,03	Visible	Violet	-
	0,11	Visible	-	Jaune
	0,24	Visible	Violet	Jaune
	0,39	Visible	-	Jaune
	0,79	Visible	Violet	Jaune

Digesté et décocté épuisé après les solvants organiques

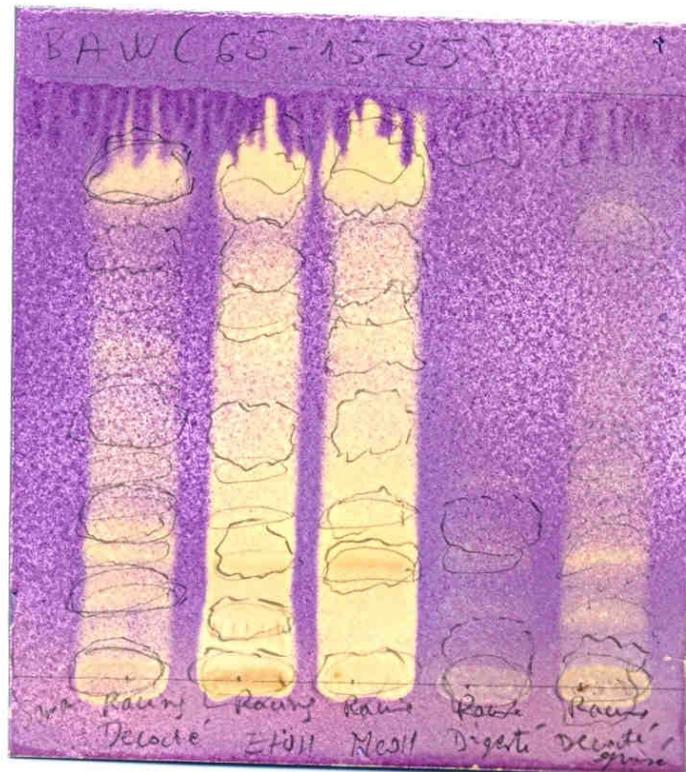


Figure N°12: Chromatogramme des extraits aqueux et alcooliques révélé par DPPH

- **Front du solvant** : 8cm
- **Support** : Plaque de Silice G60F₂₅₄
- **Dépôt** : 10 µl
- **Eluant** : B.A.W (65-15-25)
- **Révéléteur** : DPPH ayant pour but de révéler les substances à activité anti-radicaire a été fortement positif avec les extraits alcooliques.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Tableau N°11: Acoet-M.E.C-AF-H₂O (5-3-1-1) Facteurs de rétention et coloration des substances des extraits avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le DPPH (Figure N° 13).

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	DPPH
Décocté 10%	0,05	Visible	Rouge clair	Jaune
	0,41	Visible	Violet	Jaune
	0,95	Visible	Violet clair	Jaune
EtOH	0,05	Visible	Rouge	Jaune
	0,16	Visible	Violet	Jaune
	0,28	Visible	Violet	Jaune
	0,41	Visible	Violet	Jaune
	0,58	-	Violet	Jaune
	0,79	-	Violet	Jaune
	0,93	Visible	Violet clair	Jaune
MeOH	0,04	Visible	Violet	Jaune
	0,13	Visible	Violet	Jaune
	0,31	-	Violet	Jaune
	0,43	Visible	Violet	Jaune
	0,59	-	Violet	Jaune
	0,79	-	Violet	Jaune
	0,94	Visible	Violet clair	Jaune
Digesté	0,04	Visible	Violet	Jaune
Décocté epuisé	0,20	Visible	-	Jaune
	0,93	Visible	Violet clair	Jaune

La présence d'une substance ayant une coloration jaune aux **Rf** correspondants après révélation par le DPPH, pourrait expliquer l'activité anti-radicalaire de l'extrait (**Figure N°13**).

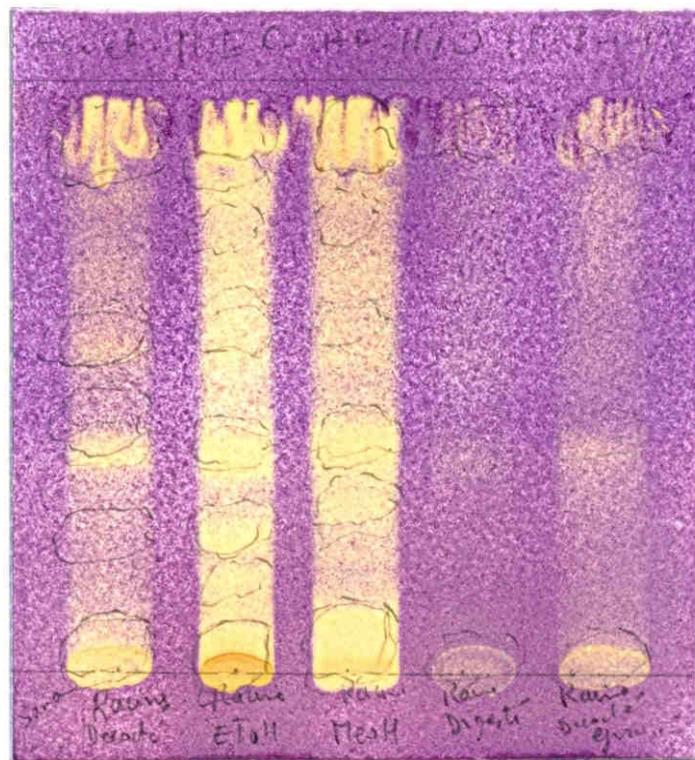


Figure N°13 : Chromatogramme des extraits aqueux et alcooliques révéler par le DPPH

Front du solvant : 8cm

Support : Plaque de Silice G60F₂₅₄

Dépôt : 10 µl

Eluent : Acoet-M.E.C-AF-H₂O (5-3-1-1)

Révéléteur : DPPH ayant pour but de révéler les substances à activité anti-radicalaire a été fortement positif avec les extraits alcooliques.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Tableau N°12: Ether de pétrole-Acoet (1- 1) : Facteurs de rétention et coloration des substances des extraits avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, et le DPPH (figure N°12 et 13).

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	DPPH
CH ₂ Cl ₂	0,01	Visible	Claire	Jaune
+ MeOH	0,06	Visible	Claire	Jaune
	0,15	Visible	Sombre	Jaune
MeOH	0,01	Visible	Rouge	Jaune
	0,06		Jaune clair	Jaune
	0,14		Jaune clair	Jaune
	0,21		Tache claire	Jaune
	0,31		-	Jaune

La présence d'une substance ayant une coloration jaune aux **Rf** correspondants après révélation par le DPPH, pourrait expliquer l'activité anti-radicalaire des extraits (**Figure N°14**).

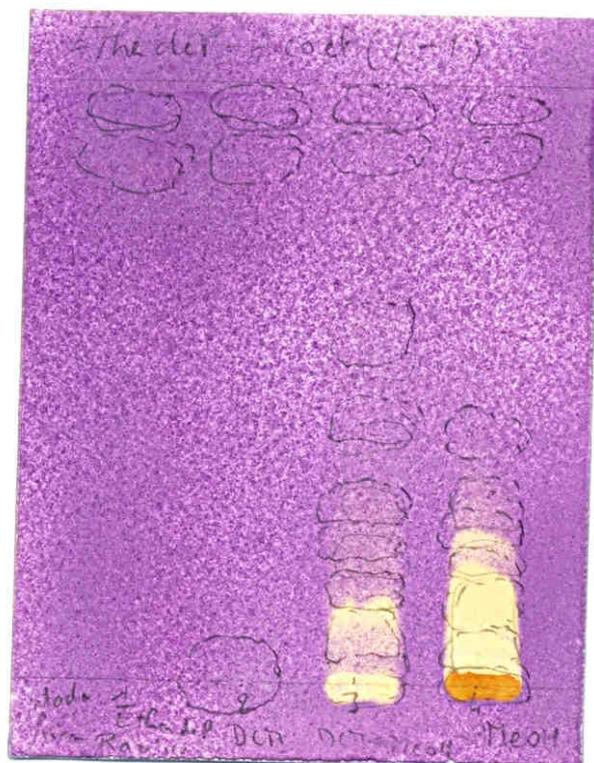


Figure N°14 : Chromatogramme des extraits organiques révéle par le DPPH

- **Front du solvant : 8cm**
- **Support : Plaque de Silice G60F₂₅₄**
- **Dépôt : 10 µl**
- **Eluant : Ether de pétrole-Acoet (1- 1)**
- **Révéléteur : DPPH**

B. Tests in vivo :

Les tes *in vivo* ont porté sur l'estimation de la toxicité aigue et l'effet de l'administration prolongée du décocté des racines pendant trois mois chez des rats.

1. Toxicité aigue:

Jusqu'à la dose de 2000 mg/kg le décocté lyophilisé des racines n'a pas présenté de toxicité. Les doses toxiques des décoctés lyophilisés sont supérieures à 2g/kg soient à 20g/kg de poudre de racines.

2. Effet du décocté de racines de *Entada africana* chez les rats

Ces données portent sur le pourcentage de mortalité par groupe ; la consommation de nourriture et d'eau ; la variation du poids corporel ; les poids relatifs de certains organes cibles ; les paramètres biochimiques du foie et des reins et les données histopathologiques.

2.1 Mortalité pendant trois mois d'étude

Tableau N°13: Pourcentage de mort des rats des différents groupes traités quotidiennement par l'extrait aqueux de *Entada africana* pendant trois mois

Groupes Dose/kg	Nombre de rats	Nombre de mort	% de mort
	9	0/9	00,00
Témoin 10 ml/kg	8	1/8	12,50
EAR 100 mg/kg	8	3/8	37,50
EAR 500 mg/kg	8	0/8	00,00

Au bout de trois mois nous n'avons pas enregistré de mort avec le décocté de racine extemporané.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

2.2 Consommation de nourriture et d'eau :

Tableau N°14 : Consommation moyenne journalière d'aliment (g) par mois chez les rats témoins et traités quotidiennement avec 100, 500 mg/kg /J et la solution extemporanée (décocté 1%) de *Entada africana* sacrifiés au cours du trois mois d'étude.

Groupes Dose/kg	1 Mois	2 Mois	3 Mois
TN 10 ml (Eau)	16,30	16,00	21,82
EAR 100 mg	18,11	30,76	50,32
EAR 500 mg	31,68	31,93	52,78
EAR DEC 1%	23,49	12,34	31,59

2.3 Variation de poids corporel des rats

Dans l'ensemble nous avons constaté une prise de poids chez les rats des deux sexes des groupes (1 témoin et 3 traités)

Tableau N°15 : Variation de poids en (g) par mois chez les rats témoins et traités quotidiennement avec 100, 500 mg/kg /J et la solution extemporanée (décocté 1%) de *Entada africana* durant les trois mois d'étude.

Groupes Dose/kg	1 J	1 Mois	2 Mois	3 Mois
TN 10 ml (Eau)	133,47	153,99	171,60	247,13
EAR 100 mg	203,77	221,75	237,75	278,08
EAR 500 mg	16391	194,18	224,46	277,24
EAR DEC 1%	233,37	236,50	265,65	297,24

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

2.4. Poids relatifs des organes cibles (cœur, foie, rate reins).

Tableau N°16 : Poids relatifs des organes cibles (cœur, foie, rate et reins) des rats traités avec le décocté lyophilisé de racines à 100 et 500 mg/kg et avec le décocté extemporané à 10ml/kg une fois par jour pendant, un deux et trois mois.

Groupes Doses/kg	Poids relatifs des organes			
	Coeur	Foie	Rate	Reins
Données du premier mois de traitement				
Témoin 10 ml/kg	0,34	2,54	0,24	0,52
EAR 100 mg/kg	0,29	2,54	0,25	0,43
EAR 500 mg/kg	0,33	2,73	0,24	0,54
EAR DEC 1%	0,33	2,47	0,22	0,47
Données du deuxième mois de traitement				
Témoin 10 ml/kg	0,49	2,89	0,34	0,50
EAR 100 mg/kg	0,36	2,34	0,31	0,47
EAR 500 mg/kg	0,35	2,57	0,27	0,56
EAR DEC 1%	0,35	2,57	0,25	0,51
Données du troisième mois de traitement				
Témoin 10 ml/kg	0,38	2,65	0,23	0,49
EAR 100 mg/kg	0,31	2,40	0,25	0,52
EAR 500 mg/kg	0,33	2,62	0,26	0,49
EAR DEC 1%	0,37	2,74	0,24	0,55

TN = Témoin Normal ; EA = *Entada africana* ; R = Racines

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

2.5 Paramètres biochimiques du foie et des reins :

Tableau N°17 : Données du premier mois de traitement quotidien chez les rats, des décoctés aqueux des racines à 100 et 500 mg/kg et du décocté extemporané à 10ml/kg.

Groupes mg/Kg	ALAT U/L	ASAT U/L	Bilirubine μmol	Créatinine $\mu\text{mol/L}$	Acide urique mmol/L	Urée (mmol/L)
TN 10 ml	91,80±0,84	344,20±12,64	3,50±0,50	70,21±12,09	160,91±19,75	9,53±0,09*
EAR 100	73,00±5,05	337,60±51,59	2,60±0,42	72,01±4,08	144,21±10,94	8,52±0,60
EAR 500	78,80±0,84**	359,00±57,80*	3,50±0,50*	65,9±30,90	151,86±1,71	6,55±0,11
EAR DEC 1%	99,80±3,42	287,40±42,38	3,40±0,55	66,53±8,44	128,43±16,55	6,43±0,75

TN = Témoin Normal ; EA = *Entada africana* ; R = Racines ; N= 5 rats ; Valeurs en Moyenne \pm Déviation standard (M \pm DS) ; *P<0,05 Significatif ; **P<0,01 Très significatif par rapport au groupe témoin.

Diminution des transaminases ALAT avec les extraits secs.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Tableau N°18 : Données du deuxième mois de traitement quotidien chez les rats, des décoctés aqueux des racines à 100 et 500 mg/kg et du décocté extemporané à 10ml/kg.

Groupes Doses/Kg	ALAT U/L	ASAT U/L	Bilirubine μmol	Créatinine $\mu\text{mol/L}$	Acide urique mmol/L	Urée (mmol/L)
TN 10 ml	91,75±0,96	299,75±11,30	3,50±0,58	64,65±2,96	164,56±20,77	6,56±0,06
EAR 100 mg	62,40±2,30**	345,40±28,06*	3,00±0,71	57,21±1,22**	144,21±10,94	5,55±0,22**
EAR 500mg	68,80±0,84**	248,00±17,44	3,40±0,55	44,73±2,29	151,8±61,71	5,67±0,48
EAR DEC 1%	74,80±10,99*	306,20±29,40	3,40±0,55	55,04±3,32*	128,43±16,55	5,96±0,84

TN = Témoin Normal ; EA = *Entada africana* ; R = Racines ; N= 5 rats ; Valeurs en Moyenne \pm Déviation standard (M \pm DS) ; *P<0,05 Significatif ; **P<0,01 Très significatif par rapport au groupe témoin.

Diminution significative des transaminases ALAT, créatinine et de l'urée avec les extraits secs surtout à 100 mg/kg.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Tableau N°19 : Données du troisième mois de traitement quotidien chez les rats, des décoctés aqueux des racines à 100 et 500 mg/kg et du décocté extemporané à 10ml/kg.

Groupes Doses/Kg	ALAT U/L	ASAT U/L	Bilirubine μmol	Créatinine $\mu\text{mol/L}$	Acide urique mmol/L	Urée (mmol/L)
TN 10 ml	68,60±1,14	247,60±28,03	3,50±0,58	64,65±2,96	64,65±2,96	6,56±0,06
EAR 100 mg	64,60±10,74	214,80±37,67*	2,80±0,45	56,89±2,39	79,94±9,71*	5,54±0,36
EAR 500mg	73,80±13,72	252,60±42,86*	3,20±0,45	55,16±1,88	95,63±1,97*	5,42±0,40
EAR DEC 1%	80,40±11,80*	222,60±44,35	3,20±0,84	58,7±57,66*	71,31±5,13	5,39±0,25

TN = Témoin Normal ; EA = *Entada africana* ; R = Racines ; N= 5 rats ; Valeurs en Moyenne \pm Déviation standard (M \pm DS) ; *P<0,05 Significatif ; **P<0,01 Très significatif par rapport au groupe témoin.

Augmentation de l'acide urique avec les extraits aqueux de la racine.

Tableau N°20 : Effet de l'administration quotidienne chez les rats, des décoctés aqueux des racines à 100 et 500 mg/kg et du décocté extemporané à 10ml/kg une fois par jour pendant, un, deux et trois mois : GGT (U/L).

Groupes Dose/kg	1 mois	2 mois	3 mois
TN 10 ml	8,40±0,55	10,00±1,58	12,00±3,39
EAR 100 mg	8,40±1,52	11,00±1,00	6,60±1,95
EAR 500 mg	8,00±2,00	3,00±1,00	9,80±1,79*
EAR DEC 1%	10,80±1,30**	7,00±2,12*	5,40±2,30

TN = Témoin Normal ; EA = *Entada africana* ; R = Racines ; N= 5 rats ; Valeurs en Moyenne \pm Déviation standard (M \pm DS) ; *P<0,05 Significatif ; **P<0,01 Très significatif par rapport au groupe témoin.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Les tableaux et les figures suivants permettent d'illustrer les variations des paramètres biochimiques du foie, du rein, de la glycémie et du taux d'hémoglobine pendant les trois mois de traitement des rats.

- **Variation des transaminases ALAT**

Tableau N°21: Variation des ALAT (U/L) pendant trois mois d'étude.

Groupes	Témoin	EAR 100	EAR 500	EAR DEC 1%
Mois 1	91,80	73,00	78,80	99,80
Mois 2	91,75	62,40	68,80	74,80
Mois 3	68,60	64,60	73,80	80,40

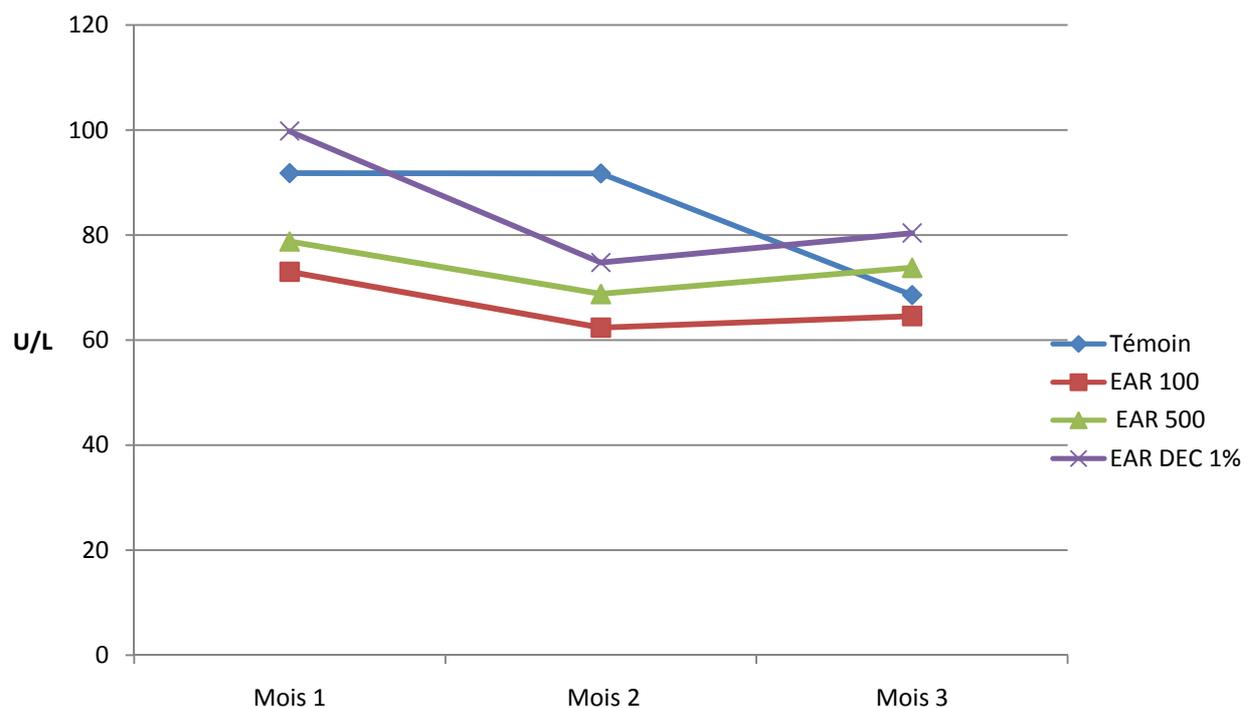


Figure N°15 : Courbes de la variation des ALAT pendant les 3 Mois d'étude.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

- Variation des transaminases ASAT

Tableau N°22: Variation des ASAT pendant trois mois d'étude.

Groupes	Témoin	EAR 100	EAR 500	EAR DEC 1%
Mois 1	344,20	337,60	359,00	287,40
Mois 2	299,75	345,40	248,00	306,20
Mois 3	247,60	214,80	252,60	222,60

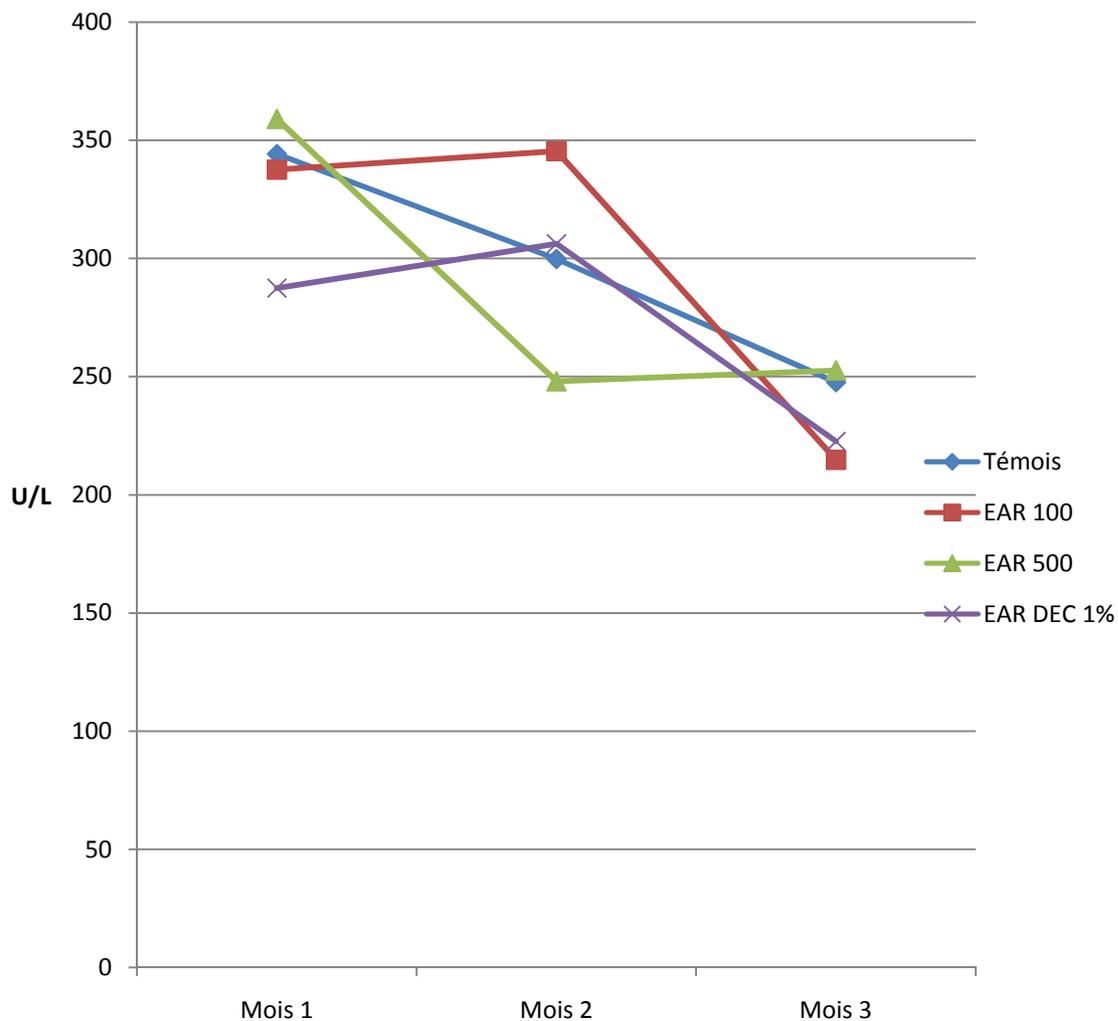


Figure N°16 : Courbes de la variation des ASAT durant les 3 Mois d'étude.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

• **Variation de la Bilirubine**

Tableau N°23: Variation de la Bilirubine ($\mu\text{mol/L}$) pendant trois mois d'étude.

Groupes	Témoin	EAR 100	EAR 500	EAR DEC 1%
Mois 1	3,50	2,60	3,50	3,40
Mois 2	3,50	3,00	3,40	3,40
Mois 3	3,00	2,80	3,20	3,20

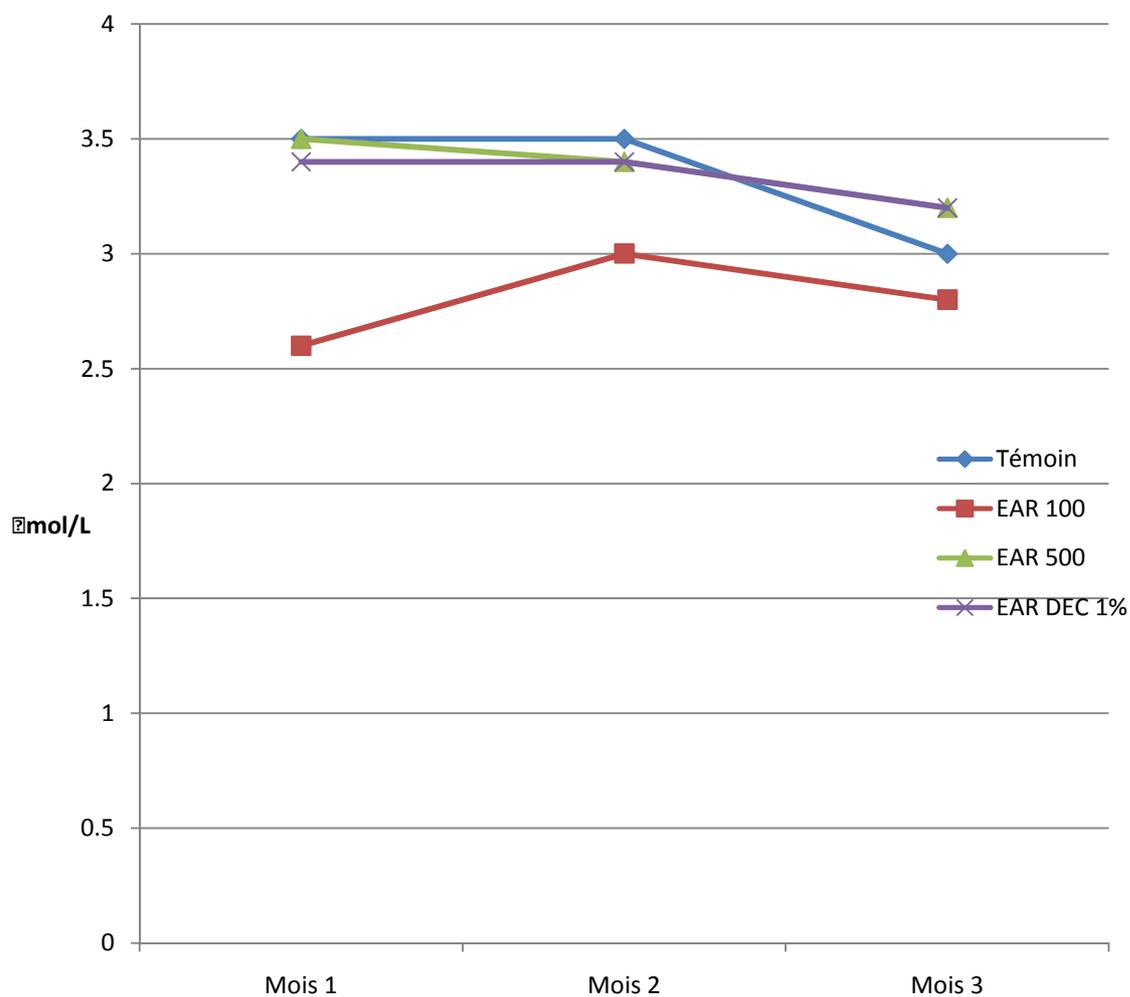


Figure N°17 : Courbes de la variation de la Bilirubine totale durant les 3 Mois d'étude.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

- Variation de la créatinémie

Tableau N°24: Variation de la créatinémie ($\mu\text{mol/L}$) pendant trois mois d'étude.

Groupes	Témoïn	EAR 100	EAR 500	EAR DEC 1%
Mois 1	70,21	72,01	65,93	66,53
Mois 2	64,65	57,21	44,73	55,04
Mois 3	54,33	56,89	55,16	58,75

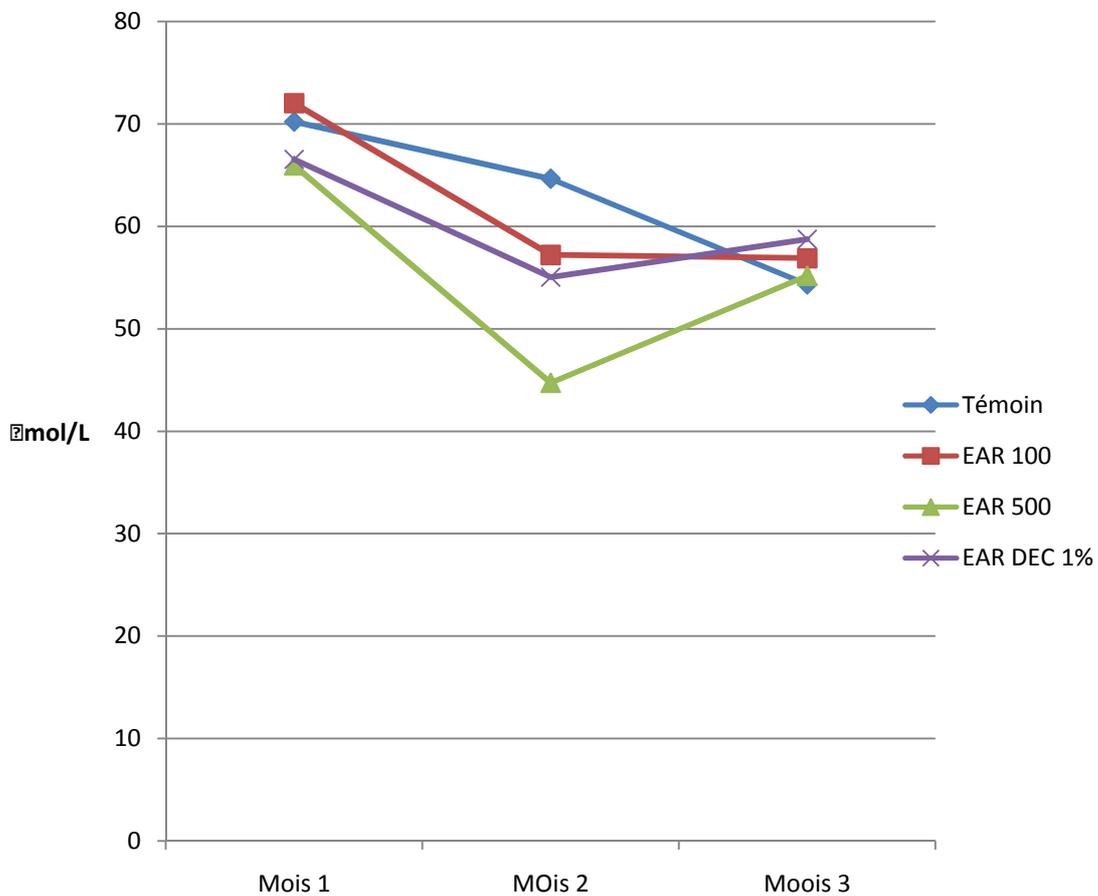


Figure N°18 : Courbes de la variation de la créatinine durant les 3 Mois d'étude.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

- Variation de l'acide urique

Tableau N°25: Variation de l'acide urique (mmol/L) pendant trois mois d'étude.

Groupes	Témoin	EAR 100	EAR 500	EAR DEC 1%
Mois 1	160,91	144,21	151,86	128,43
Mois 2	164,56	144,21	151,86	128,43
Mois 3	93,12	79,94	95,63	71,31

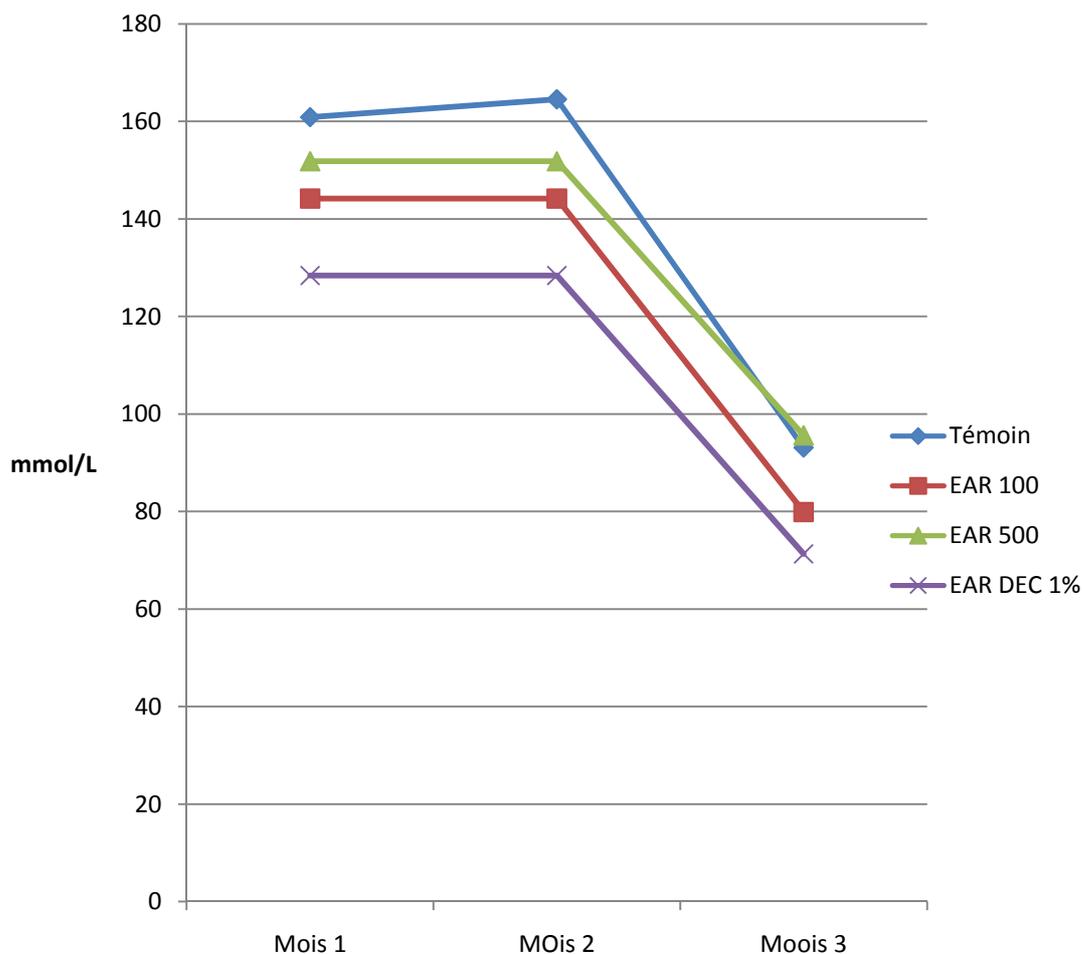


Figure N°19 : Courbes de la variation de l'acide urique durant les 3 Mois d'étude.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

• **Variation de l'urée**

Tableau N°26: Variation de l'urée (mmol/L) pendant les trois mois d'étude.

Groupes	Témoin	EAR 100	EAR 500	EAR DEC 1%
Mois 1	9,53	8,52	6,55	6,43
Mois 2	6,56	5,55	5,67	5,96
Mois 3	5,79	5,54	5,42	5,39

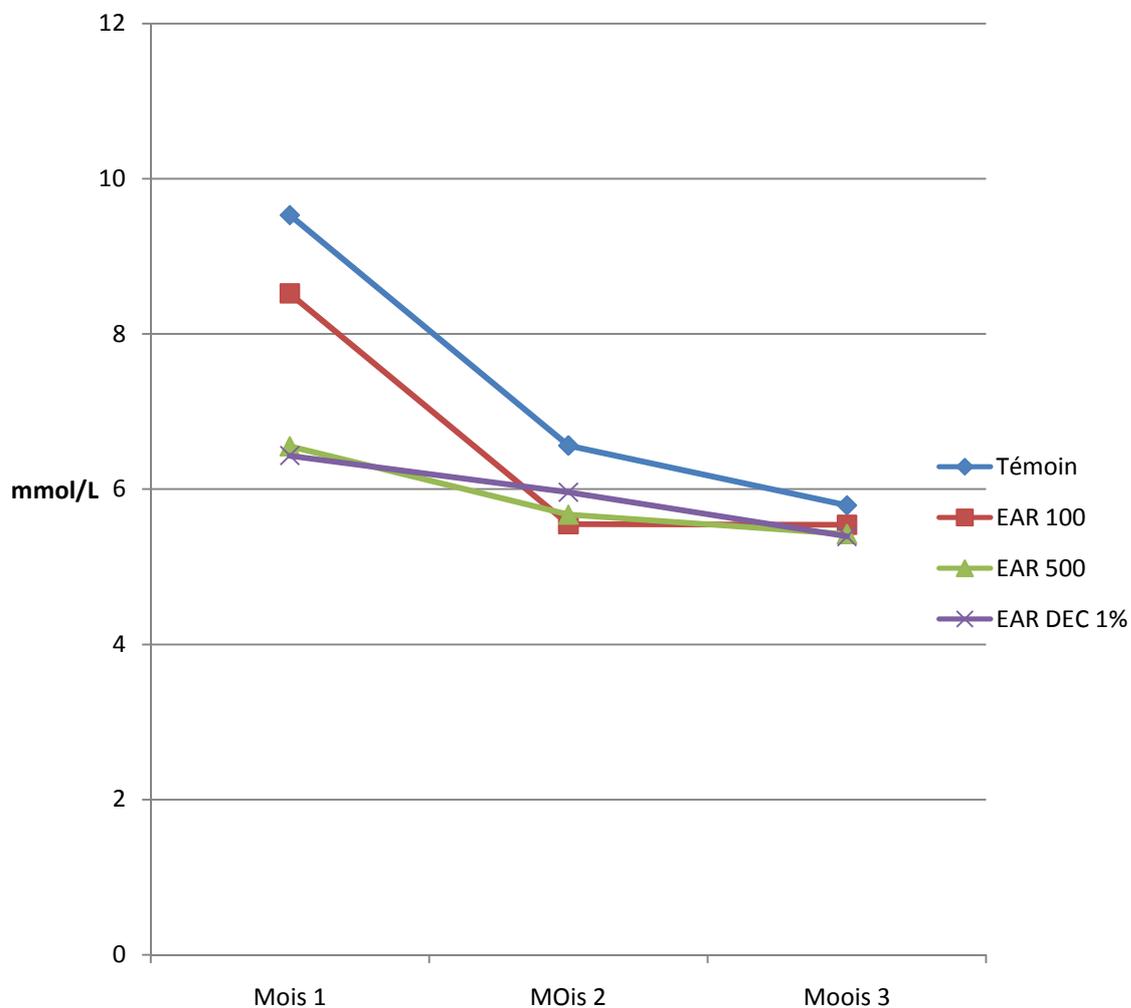


Figure N°20 : Courbes de la variation de l'urée durant les 3 Mois d'étude.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

- Variation de la Glycémie

Tableau N°27: Variation de la Glycémie pendant 3 mois d'étude.

Groupes	Témoin	EAR 100	EAR 500	EAR DEC 1%
Mois 1	4,68	7,05	7,59	5,16
Mois 2	4,65	4,80	3,64	4,00
Mois 3	3,52	3,42	4,12	4,54

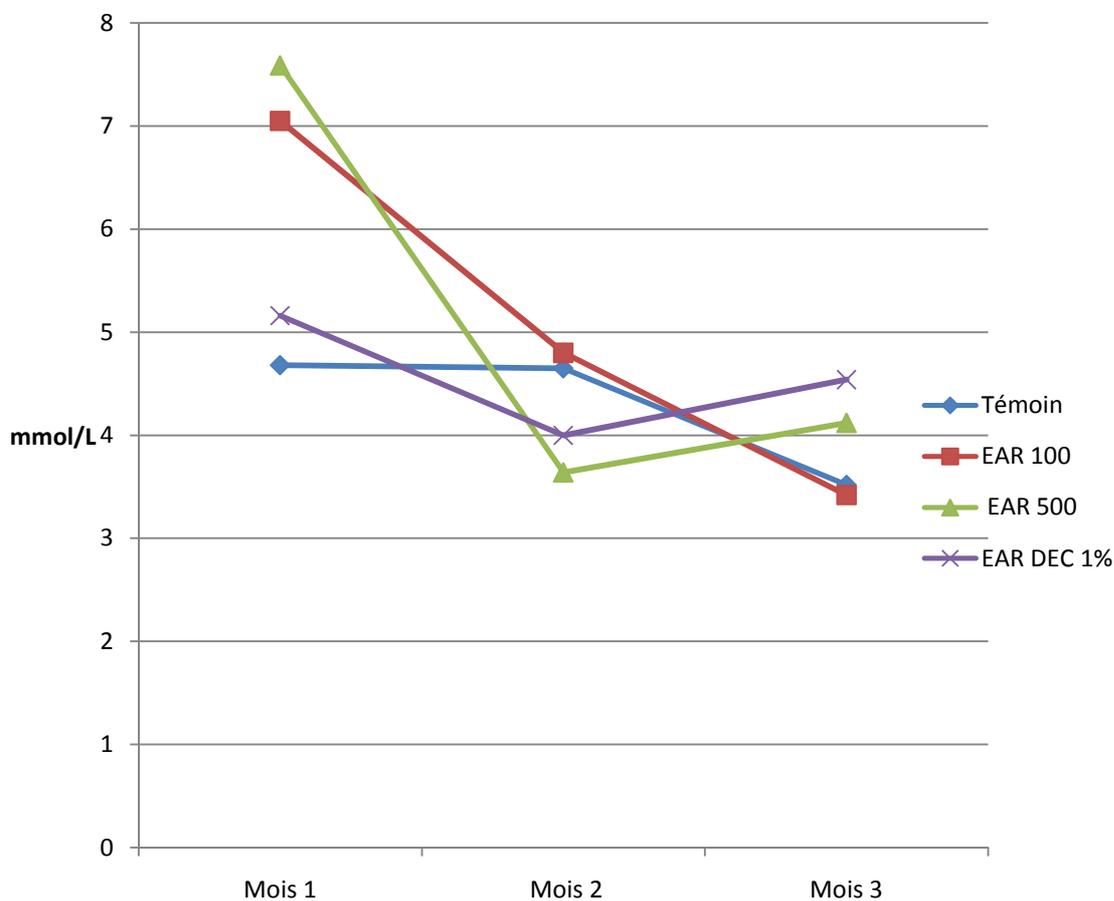


Figure N°21 : Courbes de la variation de la glycémie durant les 3 Mois d'étude.

A forte dose les extraits secs provoquent une hypoglycémie.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de *Entada africana* sur certains paramètres biologiques chez les rats.

- **Variation du taux d'hémoglobine**

Tableau N°28 : Taux d'hémoglobine (Hb en g/dl) chez les rats témoins et traités quotidiennement avec 100, 500 mg/kg et solution extemporanée de *Entada africana* pendant les 3 mois d'étude.

Groupes Doses/Kg	15 J	30 I	45 J	60 J	75 J	90 J
TN 10 ml	13,50±1,22	12,20±0,23	15,30±1,05	16,58±1,42	18,50±1,78	17,13±1,11
EAR 100 mg	15,44±2,15	14,64±0,33**	18,10±1,14	18,74±1,33	17,95±1,69	19,08±2,71
EAR 500mg	11,28±0,66	11,88±0,16	12,64±1,06	17,06±1,04	18,90±2,38	16,78±3,82
EAR DEC 1%	15,20±3,97	15,34±2,50*	16,60±3,39*	17,44±0,37	16,72±0,96	15,84±0,25

* P<0,05 Significatif ; ** P<0,01 Très significatif par rapport au témoin.

Les résultats ont été comparés à ceux du lot témoin.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

2.6 Paramètres histopathologiques des organes cibles (cœur, foie, rate et reins).

Tableau N° 29 : Effet de l'administration quotidienne chez les rats, des décoctés aqueux des racines à 100 et 500 m/kg et du décocté extemporané à 10ml/kg une fois par jour pendant, un, deux et trois mois

Groupes Doses /kg	Conclusions histo-pathologiques Organes : foie, reins, rate et cœur
Paramètres à un mois	
Témoin eau 10 ml	Organes normaux
EAR 100 mg/kg	Hépatite chronique non agressive ; autres organes normaux
EAR Déc. 500 mg/kg	Hépatomégalie modérée avec stéatose ; autres organes normaux
EAR Déc. Extemp. 1%	organes normaux
Paramètres à deux mois	
Témoin eau 10 ml	Organes normaux
EAR 100 mg/kg	Organes normaux
EAR Déc. 500 mg/kg	Organes normaux
EAR Déc. Extemp. 1%	organes normaux
Paramètres à trois mois	
Témoin eau 10 ml	Organes normaux
EAR 100 mg/kg	Organes normaux
EAR Déc. 500 mg/kg	Organes normaux (foie, rate et cœur) et fibrose glomérulaire Organes normaux (reins, rate et cœur) et fibrose hépatique
EAR Déc. Extemp. 1%	Organes normaux

Déc. = Décocté lyophilisé ; Déc. Extemp = Décocté extemporané.

Troisième partie : Commentaire et discussion

Les données de contrôle de qualité obtenues nous ont permis de s'assurer de la qualité les échantillons des racines de *Entada africana* qui ont servi à notre étude.

La teneur en eau de la poudre de racine de *E. africana* a été 5,40% donc inférieure à 10%, elle confère à la poudre utilisée une bonne conservation sans altération des substances actives. Ce taux empêche les réactions d'oxydation, de fermentation et la formation de moisissures dans notre drogue (OUA/CSTR 1988). Les cendres totales renseignent sur la teneur en éléments minéraux, les cendres sulfuriques quant à elles résultent de la conversion de sels organiques en sulfates et les cendres chlorhydriques insolubles dans l'acide chlorhydriques renseignent sur les matières siliceuses. Les différents dosages effectués ont donné 3,52% de cendres totales, 5,31 de cendres sulfuriques et 0,26% de cendres chlorhydriques. Un faible taux de cendres chlorhydriques indique l'absence ou un faible taux d'impuretés comme de terre et de sable dans la matière végétale. La teneur de substances extractibles par l'eau environ 10% exprime la quantité de substances solubles dans l'eau. Le rendement d'extraction (9,86%) a été obtenu avec le décocté 10% tandis que l'éthanol 70% a donné un rendement 9,87%. Il a été remarqué que les extraits aqueux ont un rendement semblable à l'extrait ethanologique. Une grande quantité de composés sont solubles dans l'eau.

Une étude phytochimique a été réalisée pour la détermination des groupes chimiques par des réactions colorées en tubes et la chromatographie sur couche mince (CCM).

C'est ainsi que les coumarines, les saponosides, les tanins, les oses et les holosides, les stérols et triterpènes, ont été présents dans les racines. Ces résultats confirment ceux rapportés par Kerharo et Adam 1974 ; Maiga, 1992 ; Sangaré, 2006) La présence des saponosides a été confirmée par Cioffi et al en 2006 (Cioffi et al., 2006) qui ont isolé des saponosides à partir des extraits de racines de *E africana*. Les saponosides sont abondants dans les racines. Certains saponosides des extraits de racines pourraient être responsables de l'hémolyse observée sur le chromatogramme des extraits révélés par le sang de bœuf. Les propriétés hémolytiques et cytotoxiques sont connues (Bruneton, 2002).

Le décocté des racines de *Entada*, est particulièrement riche en substances polyphénoliques (flavonoïdes et les tanins) et en polysaccharides (Diallo et al. 2001). Les différents chromatogrammes des extraits ont confirmé la richesse en saponosides (taches violettes) et en flavonoïdes (jaunes) selon la révélation avec le réactif de Godin. La révélation avec le FeCl₃ a permis d'observer des taches noires qui pourraient confirmer la présence de tanins dans les racines.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

De nombreux constituants polyphénoliques ont présenté ont décoloré le DPPH, ce qui montre une forte activité antiradicalaire du décocté, et de l'extrait éthanolique. Cette activité anti radicalaire est en faveur de d'une activité antioxydante qui est très bénéfique pour l'hépatoprotection des extraits de la plante (Douaré, 1992 ; Sanogo et al; 1998, Doumbia, 2011).

Dans le test *in vitro*, une activité hémolytique dose dépendante a été observée. Elle a été moins marquée avec le décocté extemporané 1%. Contrairement au test *in vitro*, l'administration quotidienne du décocté de racines, aux doses de 100 mg/kg, 500 mg/kg et du décocté extemporané par voie intragastrique, pendant trois mois ne provoque pas d'anémie chez les rats selon les valeurs des taux d'hémoglobine.

Au cours des trois mois de traitement, Il a été remarqué une légère diminution de la glycémie chez les animaux.

La dose létale 50 est supérieure à 2000 mg/kg du décocté lyophilisé, ceci est en faveur d'une sécurité d'emploi.

L'administration intragastrique du décocté lyophilisé (100mg/Kg et 500mg/Kg) et du décocté extemporané 1% (forme actuelle d'utilisation du MTA), une fois par jour pendant trois mois nous a permis de faire des commentaires suivants :

Au bout de trois mois, il a été enregistré 00,00% de mort le décocté extemporané à 1% contre respectivement 12,50% et 37,50% de mort aux doses de 100mg/Kg et 500mg/Kg du décocté lyophilisé. Ce résultat est en faveur de l'usage traditionnel de Samanééré *et confirme* l'innocuité du décocté extemporané 1%.

Il a également été remarqué que l'administration prolongée de *Entada africana* ne provoque pas de perte d'appétit ni de poids chez les animaux traités.

Les résultats obtenus révèlent une diminution des transaminases (ALAT et ASAT) chez les trois lots de rats traités. Ces résultats confirment l'effet du décocté de *E. africana* selon d'autres auteurs (Sanogo et al., 1998).

Dans l'ensemble la Bilirubine totale est normale ce qui exclu la survenue d'une hémolyse, donc confirme aussi les résultats du taux d'hémoglobine. En effet dans toutes les agressions par les xénobiotiques le métabolisme hépatique des protéines est modifié vers la production des systèmes de défense et la néoglucogénèse.

La dégradation des composés hépatiques peut être dans ce cas à l'origine d'éventuelle augmentation de l'urée et créatinine chez les rats traités, où les protéines peuvent être dégradées en acides aminées puis en urée et en créatinine.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

Ainsi ces acides aminés formés peuvent se transformer sous l'action des transaminases sériques en composés carboxyliques. Ceci impliquerait une forte activité enzymatique des transaminases (ALAT et ASAT). Dans ce cas on peut suggérer que la forte activité enzymatique des transaminases est liée à l'effet hépatotoxique de ce xénobiotique, sachant que le foie est l'organe principal de détoxification (Boukerche, 2007).

Dans notre étude, les résultats ont aussi révélé une diminution claire de la créatinine, de l'acide urique et de l'urée chez les animaux. Ceci est en faveur de l'usage traditionnel.

A un mois du traitement, les examens histo-pathologiques ont montré une hépatite chronique non agressive avec le décocté 100mg/Kg, une hépatomégalie modérée avec stéatose à la dose 500mg/Kg. Les poids des différents organes ont été normaux. Les résultats des examens histo-pathologiques ont également exclu tous risques de toxicité rénale chez les animaux traités par le décocté extemporané des racines de *E. africana*.

Quatrième partie : Conclusion

➤ Conclusion

Le Département de Médecine Traditionnelle est la structure de recherche et de développement des phytomédicaments à base de plantes accessibles aux populations.

Ces phytomédicaments doivent répondre aux exigences de qualité, d'efficacité et de sécurité. Les saponosides, les substances polyphénoliques (flavonoïdes et tanins) et les polysaccharides peuvent être utilisés comme des marqueurs chimiques pour le contrôle de qualité des racines de *Entada africana*.

Selon les résultats obtenus, l'administration intragastrique du décocté lyophilisé (100mg/Kg et 500mg/Kg) et du décocté extemporané 1% (forme actuelle d'utilisation du MTA), une fois par jour pendant trois mois permet de confirmer l'innocuité du décocté extemporané 1% forme actuelle d'utilisation et de proposer l'utilisation du décocté lyophilisé à plus faibles dose (100 mg/kg).

A ces doses les décoctés de *Entada africana* provoquent une diminution des transaminases (ALAT et ASAT) de la bilirubine, de la créatinine, de l'acide urique, de l'urée et de la glycémie chez les rats.

A ces doses les décoctés de *Entada africana* ne provoquent pas d'anémie, ni de perte d'appétit et de poids chez les rats.

L'ensemble de nos résultats sont en faveur de la forme traditionnelle d'utilisation et de la faible dose du décocté lyophilisé (100 mg/kg).

Nous recommandons donc de respecter les indications actuelles du MTA (SAMANERE) et de contrôler régulièrement les paramètres biochimiques des patients qui doivent prendre le décocté des racines pour une longue période.

Au terme de cette étude, nous espérons avoir participé à la valorisation de la médecine traditionnelle pour parvenir à la réalisation des MTA efficaces, sûrs, de qualité et accessibles par tous.

Cinquièmepartie: Recommandations

RECOMMANDATIONS

Elles sont les suivantes :

AU DMT : de :

- Poursuivre les investigations sur *Entada africana* en étudiant son activité sur les atteintes rénales.
- Renforcer les capacités du laboratoire de pharmacodynamie du DMT
- Améliorer la forme galénique de *Entada africana* (Samanéré).

Aux populations

- Respecter le mode de préparation et la posologie donnée.

Aux prescripteurs

- De demander un bilan de Numération Formule Sanguine (NFS) et de la glycémie, avant et après, l'usage de *Entada africana*.

AUMINISTERE DE LA SANTE

- La nécessité de financier des études de ce genre sur d'autres plantes afin de permettre au DMT de pouvoir disposer davantage de MTA.

Références bibliographiques

1. Adjanohoun, E.J., Assi, Aké, L., Floret, J.J., Guinko, S. Koumaré, M., Ahyi, A.M.R., Raynal, J. (1981). Médecine traditionnelle et pharmacopée contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali ACCT, 3ème Edition, Paris, 291p.
2. Bruneton, Jean (1999) Plantes toxiques, Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Editions Technique et Documentation, 3è tirage, Londres, 8-12.
3. Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales, Edition Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 915 p.
4. Burkill, H.M. (1995):
The Useful Plants of west Tropical Africa. Royal Botanic Gardens Kew, vol. 3, 2nd. Ed. P 50-483.
5. Babio, A. W.(2007). Utilisation des médicaments en milieu hospitalier : cas du service de néphrologie et d'hémodialyse du centre hospitalier universitaire du Point-G. Thèse de pharmacie, Bamako, p, 9.
6. Bah, S. (1998) :
Sensibilité de *Anopheles gambiae* aux insecticides organiques de synthèse et à divers extraits de plantes médicinales au Mali. Thèse, Pharmacie, Bamako.
7. Bassilos N., Vincent Launay-Vacher, Gilbert Deray (2002):
Guide pratique de prescription de médicaments chez le patient insuffisant rénal : ANTIBACTERIENS, 1ère édition, Méditations International.
8. Boukerche S. (2007) : S Boukerche, W Aouacheri, S Saka : Les effets toxiques des nitrates : étude biologique chez l'homme et chez l'animal ,2007.
9. Caquet R. (2001): Le vademecum des examens de laboratoire, 8é édition réactualisée et enrichie; Aide-mémoire de la prescription et de l'interprétation de 270 examens biologiques; Masson 2001, 418p.
10. Cioffi G., Dal Piaz F., ; De Caprariis P., Sanogo R, Marzocco S. Autore G, De Tommasi N. (2006) Antiproliférative triterpene saponins from *Entada africana*. Journal of Natural Products 69 (9), pp. 1323-1329
11. Crété, P. (1965) :
Précis de Botanique ; Systématique des Angiospermes. Tome II, Masson.
12. Dalziel, J.M. "The useful plants of WEST tropical Africa" London.
Crown Agents for Overseas Government Administration; p. 396.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

13. Diallo, D., Berit ,S. P., Torun, H. A., Liljebäck, Terje, E., Michaelsen. (2001)
Polysaccharides from the roots of *E.africana* Guill et Perr.,Mimosaceae, with complement fixing activity. Journal of ethnopharmacology, 74.159 – 171.
14. Diallo. D (2001) : Du savoir traditionnel aux médicaments traditionnels améliorés : expérience malienne cas de *Entada africana*, 20p ; 2001.
15. Diallo, B., Vanhaelen,M., Vanhaelen – Fastre, R. (1989)
Studies of inhibition of skin tumor promotion inhibitory effets of triterpenes from *Cochlospermum tinctorium* on *Epstein Barr* virus activation.Journal of Natural Products, vol 52.N°4. 879-881
16. Dupont, CH. (1970) Détermination de la DL50 chez la souris (méthode de Litchfield et Wilcoxon). J. Pharmacol. Paris, 1, 407-414.
17. Douaré, I. (1991)
Contribution à l'étude clinique de *Entada africana* dans le traitement des hépatites virales. Thèse, médecine, Bamako, Mali.
18. Doumbia B. (1984)
Contribution à l'étude des plantes médicinales utilisées dans le traitement du paludisme au Mali. Mémoire, biologie, Ensup. Bamako.
19. Dragstedt A. et Lang B. (1957). Etude de la toxicité par administration unique d'un nouveau médicament. Annalespharmaceutiques Françaises, 11.
20. Encyclopédie médicale de l'Afrique(1986), édition Larousse Afrique, Volume 4,1150.
21. Enderlmeier.,C.A.J. ;Kinghorn,A.D. ;Farnsworth,N.-987,J.Chromatogr. Pp. 345-267.
22. Fané, S. (2003). Etude de la toxicité de certaines plantes vendues sur les marchés du District de Bamako. Thèse de pharmacie. Bamako. 152p.
23. Faye B. (2004): Cours de pharmacocinétique, 5ème année pharmacie de la FMPOS, UB-MALI, Bamako.
24. Francisco,A.,Thomas,B. ; Hostettmann, K (1988) A cytotoxic triterpenoid and flavonoids from *Crossopteryx febrifuga*. PlasmaMed. ; 54(3), pp.266-267.
25. Gallois P., Vigerat P. (Mai 1988)
La créatinine en pratique. La revue prescrire /Tome 8 N°75.
26. Grégoir, O ; (2004) : Précis d'anatomie, système nerveux central, organes des sens, splanchnologie : thorax et bassin, tome II texte ; 11è édition.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

27. Hutchinson, J., L. L. D., F. R. S., V. M. H. F. L. S. (1966)
Flora of west tropical Africa. Seconded, vol 1, part 1.
28. Karber C. et Behrens B. (1935) Wiesind Reihen versuchefür biologische Auswertung en am Zweckmässigst en Anzuordnen? Arch. Exp. Path. Pharm., 177, 379-388.
29. Keita, A., Renaudet, J., Girond, S., Grance, J. M., Deloince, R.(1994)
Effet antiviral de deux plantes de la Pharmacopée Maliènne sur la multiplication du virus de l'hépatite A (VHA) in vitro. *Phyllanthus amarus* et *Entada africana*.
Médecine et Pharmacopée Africaine, Vol 1, 1-121
30. Kerharo J. et Adams J.G. (1974) La pharmacopée Sénégalaise traditionnelle. Vigot frère. Ed. Paris. Pp: 1011
31. Maïga, A.Y.; Ouattara, S. ; Keita, A. (1994): "Projet Espèces Médicinales". Mali.
32. Mignon, F : Syndrome d'insuffisance rénale chronique in Gabriel Richet
Néphrologie.Ellipses/Paris 1980; 1988; 99 P.
33. Maïga, F. (1992)
Contribution à l'étude botanique et physicochimique d'une plante utilisée dans le traitement traditionnel de l'hépatite virale. *Entada Africana* Guill et Perr, thèse pharmacie, 92p.
34. Malgras, D. (1992)
Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. Edits.Karthala, Paris
35. Maydell, V. H. J. (1983)
Schriftenreihe der GTZ n° 147. Arbres et arbustes du sahel, leurs caractéristiques et leurs utilisations. Exhborn.
36. OCDE (Organisation de Coopération et de Développement, 2001). Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë.
37. Occhiuto, F., Sanogo, R., Germano, M.P., Keita, A., D'Angelo, V. and De Pasquale, R. (1999): Effects of some Malian medicinal plants on the respiratory tract of guinea pigs. J. Pharm. Pharmacol, 51. 1299 – 1303.
38. Organisation de l'Unité Africaine/Commission Scientifique Technique et de la Recherche (OUA/CSTR.) (1988). Pharmacopée africaine. Méthodes générales d'analyses. Première Ed, Lagos, Nigeria, 206p, 254p.
39. Paris, M., Hurabielle, M. (1986). Matière médicale. Tome 2. Edition Masson. Pp 70.
40. Paris R. et Moyse M. (1965) Précis de matière médicale, 13, Masson édit. Paris pp:412

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

41. Page B.: Néphrologie, Collection internat préparation du concours Ellipses.
42. Pousset, J-L. (2004)
Plantes médicinales d'Afrique. Comment les reconnaître et les utiliser? Edition Edisud, Paris, 287p.
43. Rouvière H.: Anatomie Humaine ; Descriptive, topographique, et fonctionnelle. Tronc H. A. Dalmas : - 15ème éd –Paris : Masson. 2002- 725 P. 24cm).
44. Ruckebusch Yves (1981) Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animales, 2e Edit. Maloine S. A. Paris.
45. Sangaré,O.(2005)
Evaluation de *Cochlospermum tinctorium*, *Entada africana* et *Combretum micranthum* dans le traitement des hépatites à Bamako, Thèse de pharmacie, 147p.
46. Sangaré, S. (1999)
Etude phytochimique et de l'activité molluscicide de *Entada africana* Guill et Perr, Thèse de pharmacie, 21p.
47. Sanogo, R., Germano, M.P., D'Angelo, V., Gugliermo, M. and De Pasquale, R. (1998)
Antihepatotoxic properties of *Entada africana* (Mimosaceae). *Phytother. Res.* 12, 157-159.
48. Sanogo R. (1999b): « *Farmacognosia e Farmacodinamia di piante adoperate nella Medicina Tradizionale del Mali* », en Français : "Pharmacognosie et Pharmacodynamie de plantes utilisées en Médecine Traditionnelle au Mali". Thèse de doctorat de recherche en (Ph.D) en Pharmacognosie auprès du Département de Pharmaco-Biologie, Faculté de Pharmacie de Messine (Italie).
49. Seide, M. (2008): Etude de la toxicité des médicaments POSICOR et MINTEZOL en culture primaire d'hépatocytes, 91p.
50. Silva, O., Barbosa, S., Diniz, A., Valdeira, L.M., Gomes, E., (1997)
Plant extracts antiviral activity against Herpes simplex virus type I and African swine fever virus. *International Journal of Ethnopharmacognosy* 35, 12 – 16.
51. Silva, O., Duarte, A., Cabrita, J., Pimentel, M., Diniz, A. and Gomes, E. (1996).
Antimicrobial, activity of Guinea-Bissau traditional remedies. *J. Ethnopharmacol.* 50, 55 - 59.
52. Takao T., KitataniF.,Watanabe N., Yagi A., Sakata K. (1994):A simple screening method of antioxydants and isolation of several antioxydants produced by marine bacteria from fish and shell fish.*Brusci.Brotech-Brochem.*58: 1980- 1983.

Effets de l'administration répétée du décocté de racines de Entada africana sur certains paramètres biologiques chez les rats.

53. Tounkara, A. (2007) : Etude de l'activité hépatoprotectrice de deux plantes médicinales *Anogeissus leiocarpus* et *Terminalia macroptera* (Combrétacées) du Mali. Thèse de pharmacie, 167p.

54. Valette, G. (1972) Précis de pharmacodynamie, 3e Edit, Masson, Paris.

Annexes

Composition des réactifs

➤ Réactif pour les tanins :

Solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 10% dans le méthanol à 50%

Réactif de Baljet

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

Réactif de Kedde

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

Réactif de Dragendorff

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

Réactif de Fehling

Solution A :

CuSO_4 35 g
Eau distillée.....500 ml
 H_2SO_4 5 ml
Laisser refroidir et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.

Solution B :

Sel de Seignette.....150 g
Eau distillée.....500 ml
Refroidir et ajouter 300 ml de lessive non carbonatée à 1 litre avec de l'eau distillée.

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

Réactif de Godin

Solution A :

Vanilline1 g
Ethanol à 95°
alcoolique.....1000 ml

Solution B :

Acide perchlorique.....3 ml
Eau distillée.....100 ml
Mélanger les deux solutions au moment de l'emploi, ensuite pulvériser sur les plaques CCM avec une solution de H₂SO₄ à 4 %.

Réactif de Guignard (Papier picrosodé)

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

Réactif de Mayer

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

Réactif de Raymond - Marthoud

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

Fiche signalétique et Résumé

Fiche signalétique

Auteur : Birama DIARRA

Titre: Toxicité chronique des racines de *Entada africana* (Mimosaceae).

Année universitaire : 2010-2011

Pays d'origine : Mali

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'Université de Bamako

Secteur d'intérêt : Pharmacognosie, Médecine Traditionnelle

E-mail : diarra.birama679@gmail.com

Téléphone : 79126274

Résumé

Notre étude a porté sur la vérification de la sécurité d'emploi des racines de *Entada africana*. L'étude phytochimique, a mis en évidence des saponosides, des substances polyphénoliques (flavonoïdes et tanins) et les polysaccharides qui peuvent être utilisés comme des marqueurs chimiques pour le contrôle de qualité des racines de *Entada africana*.

De nombreux constituants polyphénoliques ont présenté une forte activité antiradicalaire du décocté, ceci est en faveur d'une activité antioxydante bénéfique pour l'hépatoprotection.

Dans le test *in vitro*, l'activité hémolytique est dose dépendante et est moins marquée avec le décocté extemporané 1%. L'administration quotidienne du décocté de racines, aux doses de 100 mg/kg, 500 mg/kg et du décocté extemporané par voie orale, pendant trois mois ne provoque pas d'anémie chez les rats.

Le décocté extemporané 1% et la faible dose (100 mg/kg) du décocté lyophilisé provoquent une diminution des transaminases (ALAT et ASAT), de la bilirubine, de la créatinine, de l'acide urique, de l'urée et de la glycémie chez les rats. A ces doses les décoctés de *Entada africana* ne provoquent pas d'anémie, de perte d'appétit et de poids chez les rats.

Nous recommandons donc de respecter les indications actuelles du MTA (SAMANERE) et de contrôler régulièrement les paramètres biochimiques des patients qui doivent prendre le décocté des racines pour une longue période.

MOTS-CLES: Médecine Traditionnelle, *Entada africana*, Toxicité chronique, Paramètres biochimiques du foie et du rein.

Serment de Galien

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

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

Je le jure