

# ABRÉVIATIONS

## **SIGLES ET ABREVIATIONS**

**°C** : degré celcius

**µg** : microgramme

**ADA** : American Diabetes Association

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**AlCl<sub>3</sub>** : trichlorure d'aluminium

**ALFEDIAM** : Association de Langue Française pour l'Etude du Diabète et des Maladies Métaboliques

**AVC** : accident vasculaire cérébral

**CCMH** : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (g/dl)

**CHU** : Centre Hospitalo Universitaire.

**CO<sub>2</sub>** : dioxyde de carbone

**DID** : diabète insulino-dépendant

**DIND** : diabète non insulino-dépendant

**DMT** : Département Médecine Traditionnelle

**FeCl<sub>3</sub>** : trichlorure de fer

**g** : gramme

**GR** : Globules Rouges (mm<sup>3</sup>)

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : acide sulfurique

**Hcl** : acide chlorhydrique

**HCT** : Hématocrite (%)

**HGB** : Hémoglobine (g/l)

**HGPO** : hyperglycémie provoquée par voie orale

**INRSP** : Institut National de Recherche en Santé Publique

**Kg** : kilogramme

**KOH** : hydroxyde de potassium

**L** : litre

**mEq** : milliéquivalent

**mg** : milligramme

**Mmol** : millimol

**mn** : minute

**MTA** : Médicament Traditionnel Amélioré

**NH<sub>4</sub>OH** : ammoniac

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**Rf** : facteur de rétention

**TCMH** : Taux Globulaire Moyen en Hémoglobine (pg)

**VGM** : Volume Globulaire Moyen (mm<sup>3</sup>)

**VIH** : Virus de l'immunodéficience humaine

# SOMMAIRE

## **SOMMAIRE**

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>OBJECTIFS.....</b>	<b>2</b>
<b>TRAVAUX ANTERIEURS.....</b>	<b>3</b>
<b>TRAVAUX PERONNELS.....</b>	<b>35</b>
<b>RESULTATS.....</b>	<b>52</b>
<b>COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....</b>	<b>75</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>80</b>
<b>RECOMMANDATIONS.....</b>	<b>81</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>82</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>87</b>

## **INTRODUCTION**

Le diabète est une maladie définie par une élévation chronique de la concentration de glucose dans le sang (l'hyperglycémie). Cette hyperglycémie provoque avec le temps de graves lésions affectant de nombreuses parties du corps en particulier les nerfs et les vaisseaux sanguins.

Sa prévalence ne cesse d'augmenter, l'OMS estime à plus de 180 millions le nombre de diabétiques dans le monde et il y aura plus du double en 2030 (OMS, 2009).

Le diabète sucré est aujourd'hui très répandu en Afrique avec une prévalence variant entre 0,5 et 3 % de la population, suivant les pays (BESANCON, 2000). Au Mali les prévalences estimées par la fédération internationale du diabète et l'OMS varient autour de 0,5 %. Cependant, à Bamako, les médecins spécialisés estiment que la prévalence dépasserait aujourd'hui 2 % de la population, soit plus de 200 000 personnes malades. 90 % des malades sont traités pour un diabète sucré de type 2 et 10 % pour un diabète sucré de type 1. Une étude réalisée en 1996 à l'hôpital national du point G montrait que le diabète sucré constituait la deuxième cause d'hospitalisation après le VIH sida et représentait une grande part des consultations en médecine interne toutes spécialités confondues (SANTÉ DIABETE MALI, 2009). C'est montrer toute l'importance que revêt cette maladie au Mali.

A terme la maladie, la non prise en charge correctement, conduit à des complications, au nombre desquelles figurent la cécité, l'insuffisance rénale, l'amputation des membres, ainsi que des cardiopathies et des accidents vasculaires cérébraux. Les patients maliens sont directement confrontés à ces phénomènes de part la faiblesse des moyens financiers.

Au Mali, la médecine traditionnelle est fortement impliquée dans les schémas de prise en charge des patients diabétiques. Le département de médecine traditionnelle (DMT) assure la recherche et le développement de médicaments traditionnels améliorés (MTA) pour la prise en charge des patients diabétiques. C'est dans ce cadre que la «Diabétisane N°1», MTA, à base de feuilles de *Sclerocarya birrea* a fait l'objet de plusieurs études qui ont démontré ses propriétés antihyperglycémiantes aussi bien chez les animaux (Coulibaly 1988; Yaro 1992; Fomba 2001 et Dagnoko 2009) que chez les patients diabétiques (Sanogo, 2007). Dans le processus de compléter le dossier de l'autorisation de mise sur le marché de la «Diabétisane N°1», notre thèse a porté sur le contrôle de qualité physicochimique des feuilles, l'étude de l'activité antiradicalaire et de la toxicité sub-chronique des feuilles de *Sclerocarya birrea*.

## MOTIVATIONS

Notre travail a été motivé par :

La haute prévalence du diabète dans le monde et au Mali ;

La volonté de promouvoir et de valoriser les ressources de la médecine traditionnelle au Mali ;

Le souci d'améliorer la « Diabétisane N°1 » ;

La volonté de mettre à la disposition des populations à faible revenu des MTA à faible coût

## OBJECTIFS :

### **Objectif général :**

Étudier la phytochimie, l'activité antiradicalaire et la toxicité sub-chronique des feuilles de *Sclerocarya birrea*, utilisées dans le traitement traditionnel du diabète.

### **Objectifs spécifiques :**

- Identifier les éléments du contrôle de qualité botanique et physico-chimique de différents échantillons de feuilles *Sclerocarya birrea* ;
- Caractériser les groupes chimiques des feuilles de *Sclerocarya birrea* récoltées dans différentes zones et en différentes périodes au niveau du jardin du DMT ;
- Déterminer les constituants anti-radicalaires des extraits des différents échantillons ;
- Déterminer les variations du poids corporel des animaux avant et après administration du décocté des feuilles ;
- Déterminer la toxicité sub-chronique du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea* ;
- Déterminer l'impact de l'administration répétée du décocté des feuilles sur :
  - les poids relatifs des organes cibles,
  - les paramètres hématologiques,
  - les paramètres biochimiques et
  - les paramètres histopathologiques des animaux traités.

## **CHAPITRE I : TRAVAUX ANTERIEURS**

### **I- Rappel sur le diabète :**

#### **1- Définition**

Le diabète est une maladie chronique qui apparaît quand le pancréas ne sécrète pas assez d'insuline ou quand l'organisme utilise mal l'insuline qu'il produit. Ces troubles de la sécrétion et/ou de l'action de l'insuline entraînent une hyperglycémie, soit une trop grande concentration de sucre dans le sang qui, avec le temps provoque de graves lésions affectant de nombreuses parties du corps, en particulier les nerfs et les vaisseaux

#### **2- Anatomie du pancréas (Médecine et santé, 2008)**

Le pancréas est un organe à sécrétion endocrine et exocrine c'est à dire qu'il fabrique des hormones déversées dans le sang et des enzymes digestives déversées dans le duodénum.

Les îlots de Langerhans, amas de cellules dispersés dans tout le pancréas, sécrètent des hormones : l'insuline surtout, qui est produite par les cellules bêta, mais aussi le glucagon, la somatostatine et d'autres hormones produites par les cellules dites non bêta.

Environ 80 % de la masse glandulaire du pancréas est responsable de la sécrétion exocrine c'est à dire des enzymes (20 environ) responsables de la digestion des protéines, des triglycérides et des glucides alimentaires.

Les enzymes pancréatiques sont sécrétées en excès et une mauvaise digestion ne survient que si plus de 90 % de la glande a été détruite (alcoolisme par exemple)

Situé dans la partie supérieure de l'abdomen, le pancréas est un organe profond expliquant les difficultés de diagnostic précoce en cas d'affection le concernant.

Il comprend 4 parties : La tête et l'isthme qui s'insèrent dans le cadre du duodénum, le corps et la queue qui se prolongent jusqu'au bord de la rate.

Les enzymes sont collectées dans le canal de Wirsung qui se joint ensuite au cholédoque (venant du foie et de la vésicule biliaire) pour s'aboucher via l'ampoule de Vater au niveau de la papille duodénale.

On peut ainsi comprendre que toute pathologie de la tête du pancréas entraînera une obstruction du cholédoque d'où un ictère inversement un calcul du cholédoque pourra provoquer une obstruction du canal de Wirsung d'où pancréatite (par autodigestion de la glande en quelque sorte)



### 3-Structure de l'insuline

L'insuline est une hormone protéique composée de deux chaînes d'acides aminés. La chaîne A en comporte 21, tandis que la chaîne B en est constituée de 30. Ces deux fragments protéiques sont liés entre eux par des ponts disulfures stables au niveau des cystéines. Cette substance est sécrétée par les cellules bêta des îlots de Langerhans dès que le taux de glucose dans le sang dépasse  $6 \cdot 10^{-3}$  molaires soit approximativement 1,1 g/l. Elle est dite hypoglycémiant car elle favorise le retour de la glycémie à une valeur de  $5 \cdot 10^{-3}$  molaires.

L'insuline active le mouvement des transporteurs de glucose dans les membranes plasmiques ce qui favorise le transport actif de ce glucose vers le cytoplasme. Elle active la formation du glycogène, un polymère de glucose que l'on stocke dans le foie et les muscles, ainsi que la transformation en graisses du glucose en excès. Enfin elle s'oppose à la dégradation des protéines en réponse à la demande énergétique. L'insuline a une action antagoniste du glucagon qui est hyperglycémiant

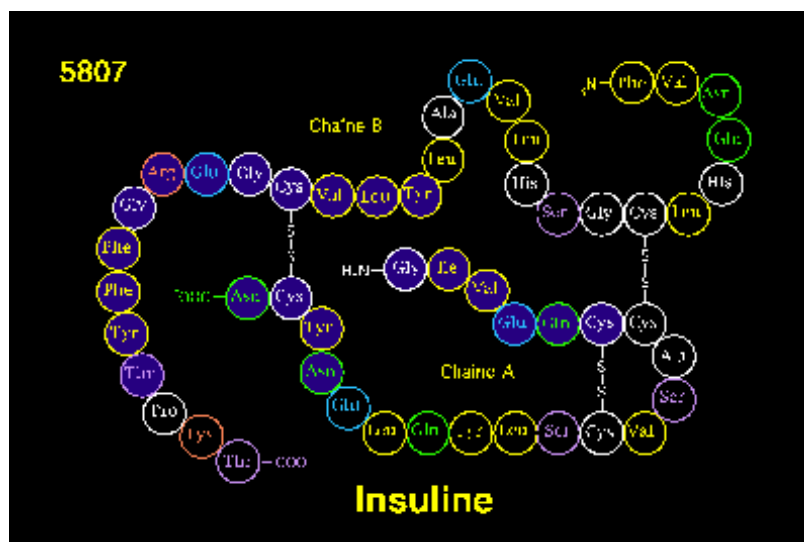


Figure N°2 : Structure de l'insuline (CHU-ps, 2009)

#### **4-Diagnostic biologique**

Les nouvelles recommandations de l'ADA (**American Diabetes Association**) (1998) et de l'OMS (1999) et l'ALFEDIAM (**Société Francophone du Diabète**) reconnaissent Comme critère de diabète l'existence d'un des critères suivants :

- Une glycémie veineuse à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/l (ou 7 mmol/l) à au moins deux reprises.
- Une glycémie veineuse à n'importe quelle heure de la journée supérieure ou égale à 2 g/l (11,1 mmol/l).
- Une glycémie 2 heures après une charge en glucose (HGPO de 75 g) supérieure ou égale à 2 g/l (11,1 mmol/l).

À noter qu'il n'est plus indiqué de réaliser une hyperglycémie provoquée orale (HGPO) dans le cadre du diagnostic de diabète cependant l'HGPO peut être utile pour définir deux sous-groupes :

- L'hyperglycémie modérée à jeun :

\*Glycémie veineuse à jeun supérieure ou égale à 1,10 g/l (6,1 mmol/l) et inférieure à 1,26 g/l (7 mmol/l).

\* Glycémie veineuse 2 heures après une charge en glucose inférieure à 1,4 g/l (7,8 mmol/l).

- L'intolérance au glucose :

\* Glycémie veineuse à jeun inférieure à 1,26 g/l (7 mmol/l)

\* Glycémie veineuse 2 heures après une charge en glucose supérieure ou égale à 1,4 g/l (7,8 mmol/l).

Le diagnostic d'hyperglycémie modérée à jeun est un diagnostic d'attente et doit recommander une surveillance étroite du fait du risque élevé d'apparition d'un diabète. L'intolérance au glucose sans anomalie de la glycémie à jeun semble constituer un groupe à part sans risque accru de diabète.

Tous ces chiffres (en dehors des HGPO) doivent être vérifiés à deux reprises pour avoir une valeur diagnostique.

## **5-Classification du diabète (CHU-ps, 2009)**

Il existe plusieurs types de diabète

### **5.1 Diabète de type 1**

Il est remarquable par son début brutal : syndrome cardinal associant polyuropolydipsie, polyphagie, amaigrissement et asthénie chez un sujet jeune, mince, avec cétonurie associée à la glycosurie. On ne retrouve d'antécédent familial que dans 1 cas sur 10. Il survient essentiellement avant 20 ans, mais connaît 2 pics d'incidence vers 12 et 40 ans. Il peut être associé à d'autres maladies auto-immunes (vitiligo, maladie de Basedow, thyroïdites, maladie de Biermer).

### **5.2 Diabète de type 2**

A l'opposé, il se caractérise typiquement par la découverte fortuite d'une hyperglycémie chez un sujet de plus de 40 ans avec un surpoids ou ayant été obèse, avec surcharge pondérale de prédominance abdominale (rapport taille / hanche supérieur à 0,8 chez la femme, supérieur à 0,95 chez l'homme). Le plus souvent, on retrouve une hérédité familiale de diabète non insulino-dépendant. Le diabète de type 2 est souvent associé à une hypertension artérielle essentielle et/ou à une hypertriglycéridémie. Le diagnostic se fait le plus souvent lors d'un examen systématique. En effet, le diabète de type 2 est asymptomatique. Le retard au diagnostic est d'environ 5 ans. Ainsi, dans 20 % des cas, il existe une complication du diabète au moment du diagnostic.

**Tableau N° 1:** comparaison entre le diabète de type I et le diabète de type II

Diabète de type 1	Diabète de type 2
début brutal	découverte fortuite
syndrome cardinal	asymptomatique
sujet mince	sujet avec surpoids
avant 20 ans	après 40 ans
pas d'hérédité familiale	hérédité familiale
cétonurie	HTA, hypertriglycéridémie

### **5.3 Diabète gestationnel**

C'est une hyperglycémie repérée pour la première fois pendant la grossesse. Les symptômes sont similaires à ceux du diabète de type 2. Le diabète gestationnel est le plus souvent diagnostiqué par dépistage prénatal plutôt que par ses symptômes.

#### **5.4 Autres types de diabètes spécifiques**

- Diabète de type MODY : Défaut génétique de la fonction des cellules  $\beta$  (*Maturity Onset Diabetes of the Young*).
- Diabète mitochondrial par mutation de l'ADN mitochondrial.
- Diabète lipo-atrophique : défaut génétique de l'action de l'insuline insulino-résistance de type A
- Diabète pancréatique : Pancréatites, cancer du pancréas, pancréatite chronique calcifiante, hémochromatose, mucoviscidose
- Endocrinopathies : Acromégalie, syndrome de Cushing, phéochromocytome, glucagonome, Hyperthyroïdie, hyperaldostéronisme primaire.
- Diabètes induits par des médicaments : Glucocorticoïdes, diazoxide, agonistes  $\beta$  adrénergiques, diurétiques thiazidiques, interféron  $\alpha$ , etc.
- Infections : rougeole congénitale, Cytomégalovirus, etc.
- Formes rares associées à une pathologie du système auto-immun, comme les anticorps antirécepteur de l'insuline.
- Autres syndromes génétiques parfois accompagnés d'un diabète : Trisomie 21, syndrome de Klinefelter, syndrome de Turner, ataxie de Friedreich, chorée de Huntington, etc.

### **6- Physiopathologie du diabète (CHU-ps, 2009)**

#### **6.1 Le diabète de type I**

Le diabète de type 1 est dû à une destruction auto-immune des cellules insulino-sécrétrices dites cellules B. L'hyperglycémie apparaît lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20 % de cellules B fonctionnelles. Le processus auto-immun responsable d'une « insulite » pancréatique se déroule sur de nombreuses années (5 à 10 ans voire plus, avant l'apparition du diabète). Cette réaction auto-immune survient sur un terrain de susceptibilité génétique à la suite de facteurs déclenchants et peut être dépistée avant l'apparition de l'hyperglycémie par des dosages sanguins d'auto-anticorps.

##### **6.1.1 Le terrain génétique de susceptibilité**

Il s'agit d'une susceptibilité plurigénique avec au moins 10 gènes en cause :

Le 1<sup>er</sup> qui est le principal se situe sur le chromosome 6 au niveau des gènes ou du système HLA de classe II. Il est important de connaître le risque de survenue d'un diabète insulino-dépendant dans la fratrie d'un enfant diabétique ou lorsque l'un des deux parents est diabétique pour pouvoir répondre aux questions des patients. Le risque pour une mère diabétique insulino-dépendante d'avoir un enfant diabétique est environ 2 % alors que le risque est de 4 à 5 % lorsque c'est le père qui est diabétique insulino-dépendant. Les différents risques sont résumés dans le tableau N°2

**Tableau N°2 : Risque de survenue d'un diabète insulino-dépendant**

Type de population	Risque
population générale	0.2 %
personnes DR3 DR4 (1 % de la population générale)	7 %
enfant de mère DID	2-3 %
enfant de père DID	4-5 %
frère ou soeur d'un DID	5 %
frère ou soeur d'un DID, HLA différent	< 1 %
frère ou soeur d'un DID, HLA identique	15 %
frère ou soeur d'un DID, HLA semi-identique	7 %
jumeau homozygote d'un DID	30-40 %

**HLA = Human Leukocyte Antigen (antigènes des leucocytes humains)**

**DID = diabète insulino-dépendant**

### **6.1.2 Les facteurs déclenchants**

Des facteurs d'environnement sont probablement à l'origine du déclenchement du processus auto-immunitaire. Ils pourraient expliquer « le gradient nord-sud » du DID : en effet, un enfant Finlandais a 7 à 8 fois plus de risque de développer un diabète insulino-dépendant qu'un enfant Français. Ceci est en faveur de l'existence de facteurs environnementaux bien que les facteurs génétiques puissent également rendre compte de ce gradient.

Le rôle des virus dans la pathogénie du diabète de type 1 est suspecté mais non démontré. En faveur de cette hypothèse, la haute prévalence du diabète de type 1 (environ 20 %) en cas de rubéole congénitale ou la présence du virus Coxsackie B4 isolé dans le pancréas d'enfant décédé lors d'une acido-cétose inaugurale. Certains virus pourraient présenter un antigène commun avec des protéines de cellule B (virus coxsackie ou cytomégalovirus).

L'infection virale pourrait être responsable de la sécrétion de cytokines, en particulier d'interféron, favorisant par différents mécanismes le développement de la réaction auto-immune au niveau pancréatique

## **6.2 Le diabète de type II (CHU-ps, 2009)**

Le diabète non insulino-dépendant ou diabète de type 2 résulte de la conjonction de plusieurs gènes de susceptibilité, dont l'expression dépend de facteurs d'environnement, au premier rang desquelles, la consommation excessive de graisses saturées et de sucres rapides, et la sédentarité.

L'anomalie métabolique fondamentale qui précède le DNID est l'insulinorésistance.

### **6.2.1 L'insulinorésistance**

#### **6.2.1.1 Mécanisme de l'insulinorésistance**

Il s'agit d'une insulinorésistance essentiellement musculaire portant principalement sur la synthèse du glycogène. Cette insulinorésistance survient sur un terrain génétique puisqu'on la retrouve chez les enfants ayant une tolérance glucidique strictement normale mais ayant deux parents diabétiques non insulino-dépendants. Toutefois, on ne connaît pas encore les gènes impliqués.

Sur le plan métabolique, l'insulinorésistance est secondaire à l'excès de graisses au niveau des muscles et du tissu adipeux viscéral. Le tissu adipeux viscéral libère une grande quantité d'acides gras libres. Le flux portal des acides gras libres favorise la synthèse hépatique des triglycérides et stimule la néoglucogénèse hépatique. Au niveau musculaire, il existe une véritable compétition entre les acides gras libres et le glucose pour être oxydé : les acides gras libres sont oxydés en priorité, entraînant une production accrue d'acétyl-coenzyme A qui inhibe en retour les enzymes de la glycolyse. L'énergie musculaire est donc fournie en priorité par l'oxydation des acides gras libres et le stock de glycogène musculaire reste intact, ce qui réprime en retour le glycogène synthase.

En résumé, le stockage et l'utilisation du glucose sont diminués au niveau musculaire alors qu'il y a une stimulation de la néoglucogénèse au niveau hépatique. Tout ceci concourt à augmenter la glycémie.

#### **6.2.1.2 Facteurs cliniques d'insulinorésistance**

Les principaux facteurs cliniques d'insulinorésistance sont :

- L'obésité, appréciée par l'index de poids corporel (poids en kilos sur carré de la taille en mètre).

L'obésité est définie par un index supérieur à 30.

- La répartition abdominale, sous-cutanée et plus encore viscérale des graisses : la répartition androïde des graisses comporte un risque d'apparition de diabète multiplié par 3 à 6 en comparaison à une population de poids identique avec une répartition des graisses différentes.

- La sédentarité, multiplie le risque de diabète par 2.

- Un facteur génétique : l'insulinorésistance pourrait s'expliquer par une augmentation des fibres musculaires à contraction rapide plus insulino-résistantes que les fibres à contraction lente. En

effet, les fibres à contraction lente dites de type 1 sont richement vascularisées à métabolisme oxydatif, et sont très sensibles à l'insuline. Elles sont sollicitées par les efforts d'endurance et leur nombre est accru chez les sportifs entraînés. Au contraire, les fibres à contraction rapide dites de type 2 sont insulino-résistantes.

- La répartition topographique du tissu adipeux et la variation typologique du tissu musculaire dépendrait de facteurs hormonaux et environnementaux : le stress, l'alcool, le tabagisme, favorisent la topographie androïde des graisses alors que la sédentarité et le vieillissement entraînent une élévation des fibres musculaires de type 2 par rapport aux fibres musculaires de type 1.

- L'âge : le sujet âgé cumule plusieurs facteurs d'insulinorésistance.

L'hypertension artérielle essentielle, l'augmentation des triglycérides et la baisse du HDL cholestérol, apparaissent comme des conséquences de l'insulinorésistance, ce qui rendrait compte de la fréquence de leur association avec le diabète de type 2.

## **7- Les complications du diabète**

### **7.1 Les complications métaboliques (Dérot, 1977)**

#### **7.1.1 Les hypoglycémies**

Les traitements que subit le diabétique peuvent être tous des facteurs d'hypoglycémie à des degrés divers.

Au cours de l'insulinothérapie et quelles que soient les précautions prises les accidents hypoglycémiques sont inévitables et peuvent même être d'une grande gravité. Les sulfamides peuvent également en engendrer surtout ceux de la deuxième génération à cause de leur grande activité et de la rapidité de leur action. Les hypoglycémies sont peu fréquentes avec les biguanides.

#### **7.1.2 L'acidose lactique:**

C'est une acidose lactique sans cétose due à l'accumulation excessive d'ions lactate. Le taux normal d'acide lactique est de 1 mEq/l. Il y'a hyperlactatémie lorsque ce taux est supérieur à 2 mEq/l. Les biguanides en ont une forte responsabilité en particulier la phenphormine, ils inhibent la gluconéogenèse à partir des acides aminés, du pyruvate et du lactate c'est ce qui explique la non réutilisation du lactate et donc son accumulation.

### **7.1.3 Le coma hyperosmolaire**

Dans l'immense majorité des cas le coma succède à une déshydratation qui joue un rôle fondamental dans son déclenchement. Cette déshydratation peut être due :

- A une fuite exagérée du capital hydrique de l'organisme au cours d'un syndrome infectieux hyperthermisant (30% des cas) ou de vomissements et de diarrhées
- A une absence de compensation des pertes hydriques par des troubles de la conscience imputable à un AVC (accident vasculaire cérébral) ou à un état comateux d'installation progressive

Une polyurie non compensée par une polydipsie aggrave le déséquilibre hydrique

### **7.1.4 Le coma acidocétosique**

La carence absolue ou relative en insuline est responsable de troubles du métabolisme des glucides, des lipides et des protéides

Le coma acidocétosique est caractérisé par l'abaissement du  $\text{CO}_2$  total plasmatique au dessous de 10meq/l, il s'agit d'une acidose métabolique liée à un excès d'ions  $\text{H}^+$  circulant. La production d'acides cétoniques (qui circulent à l'état ionisé) dépasse nettement les possibilités d'élimination rénale, d'utilisation périphérique et de neutralisation.

## **7.2- Les complications chroniques** (OMS, 2009)

A la longue, le diabète peut entraîner des lésions du cœur, des vaisseaux sanguins, des yeux, des reins et des nerfs.

La rétinopathie diabétique est une cause importante de cécité et résulte de l'accumulation de lésions des petits vaisseaux de la rétine. Au bout de 15 ans, environ 2 % des diabétiques perdent la vue et environ 10 % ont un grave handicap visuel.

Les neuropathies diabétiques sont des lésions nerveuses causées par le diabète ; jusqu'à 50 % des diabétiques en souffrent. Les neuropathies diabétiques peuvent engendrer toutes sortes de problèmes, mais les symptômes courants sont des fourmillements, des douleurs, un engourdissement ou une faiblesse dans les pieds et les mains.

Associée à une mauvaise circulation sanguine, la neuropathie augmente le risque d'ulcère du pied pouvant nécessiter l'amputation.

Le diabète figure parmi les principales causes d'insuffisance rénale. Entre 10 et 20 % des diabétiques meurent d'une insuffisance rénale.

Le diabète augmente le risque de cardiopathie et d'accident vasculaire cérébral, 50% des diabétiques meurent d'une maladie cardiovasculaire (principalement ischémie et accident vasculaire cérébral).



Le risque global de décès est au moins deux fois plus important chez les diabétiques que chez les non diabétiques

### **7.3- Les complications infectieuses (Valensi et al, 2005)**

Le patient diabétique présente une susceptibilité accrue aux infections .Celles ci sont favorisées par un mauvais équilibre glycémique mais peuvent à leur tour détériorer l'équilibre du diabète Une attitude de prévention et de dépistage est donc recommandée.

Les infections dentaires ; ORL et urinaires doivent être recherchées au moins une fois par an

Les infections de la peau fréquentes au niveau des pieds, elles sont favorisées par une mauvaise hygiène et la transpiration .Il s'agit en particulier de mycoses qui siègent entre les orteils mais aussi au pli de l'aîne et sous les seins .Il peut aussi s'agir d'infections d'origine bactérienne (furoncles ou folliculites)

#### **Les infections générales**

Elles sont plus graves chez le diabétique .Tel est le cas des septicémies qui compliquent une infection urinaire avec pyélonéphrite ou une lésion infectée d'un pied .Il faut insister sur la nécessité d'avoir à jour les vaccinations contre le tétanos et la tuberculose.

L'infection virale : elle peut être sévère surtout chez le diabétique âgé, aussi la vaccination antigrippale est recommandée chez ces patients.

#### **Le pied diabétique (Bonnell et al, 1998)**

Les lésions du pied s'infectent et se gangrènent très facilement chez le diabétique, les études concordent pour estimer que le risque d'amputation associé au diabète est 15-20 fois plus élevé que dans la population générale. La physiopathologie de ces affections est particulièrement complexe mais les causes majeures clairement identifiées de ces atteintes sont d' une part la neuropathie périphérique en particulier chez les patients insulino dépendants et d' autre part l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs qui concernent surtout les diabétiques non insulino dépendants .Il n'est pas rare que ces deux complications se conjuguent chez le même patient.

## **8-Traitement du diabète**

Il existe deux types de traitements

### **8.1 Traitement conventionnel** (Perlemuter, 1983)

**8.1.1 Le diabète insulino-dépendant** : le traitement consiste à remplacer, autant que possible l'insuline qui manque par les injections. Les besoins en insuline chez l'adulte non diabétique sont d'environ 0.8-1U /Kg de poids. C'est exactement la quantité à administrer à un sujet totalement insulino-dépendant. A cette notion capitale, il faut ajouter trois correctifs

-Beaucoup de diabétiques ne sont pas totalement insulino-dépendants. Ils ont une réserve de sécrétion insuffisante malaisée à mobiliser. Leurs besoins seront moindres.

-L'alimentation apporte des hydrates de carbone. Plus on absorbe du sucre plus on a besoin d'insuline environ 1U pour 3-6g de glucose

-l'exercice physique entraîne une carburation intense et donc une diminution des besoins en insuline.

### **Les différentes insulines** (CHU-ps, 2009)

Les insulines classiques sont préparées à partir de pancréas de bœuf ou de porc .Les insulines humaines sont soit d'origine hémi synthétique soit d'origine biosynthétique.

**Tableau N°3 :** Les différentes insulines commerciales

Principales préparations	Délai d'action	Durée d'action
Insulines rapides Rapide - Insuman Actrapid Humaine (HM) Ordinaire (Orgasuline, Umuline, Insuman) Analogue rapide (Humalog)	15 à 30 minutes    5 minutes	4 à 6 heures    3 heures
Insulines semi-retard NPH Umuline Insulatard Insuman Monotard humaine Semi-Lente amorphe	1 heure 30 minutes    1 heure 30 minutes 1 heure	12 à 16 heures    14 à 18 heures 10 à 12 heures
Insulines retard Umuline Zinc Composée Durasuline IPZ Ultratard Humaine Umuline Zinc	1 heure 30 minutes 1 heure 3 heures 2 heures 2 heures	20 à 24 heures 24 heures 24 heures 24 à 28 heures 24 à 28 heures
Mélange de différentes insulines Insuman intermédiaire 25 % Rapide 75 % NPH Mixtard 50 50 % Actrapid 50 % Insulatard Mixtard 10-20-30-40 Profil 10-20-30-40 (Umuline) Orgasuline 30 -70	15 à 30 minutes    15 à 30 minutes  15 à 30 minutes 15 à 30 minutes 15 à 30 minutes	12 à 16 heures    12 à 16 heures  12 à 16 heures 12 à 16 heures

### La conservation de l'insuline

L'insuline est stable à 25° pendant 24 - 36 mois. Il n'est donc pas nécessaire de garder le flacon que l'on utilise au réfrigérateur, contrairement aux notions admises. En revanche, les réserves d'insuline doivent être conservées entre 2° et 15° mais elles ne doivent pas être congelées.

Le coton et l'alcool ne sont pas indispensables à la technique d'injection. Une peau propre suffit.

On peut également utiliser les pompes à insuline : ce sont en fait des appareils portables capables de délivrer de l'insuline de façon aussi physiologique que possible. La voie d'administration peut être intraveineuse, intra- péritonéale et sous-cutanée. Elles permettent d'obtenir un excellent contrôle glycémique dans la presque totalité des indications correctement posées.

### **8.1.2 Le diabète non insulino-dépendant :**

Dans ce cas on a recours d'abord à un traitement non pharmacologique lorsque le diabète est non compliqué. Pendant 4-6 mois le patient diabétique doit respecter les règles hygiéno-diététiques ci-dessous :

- régime réduisant les aliments gras, les boissons sucrées et alcoolisées,
- la reprise d'une activité physique régulière pendant 30-45mn, 3-4jours par semaine

Ceci permettra une perte de poids et une significative réduction des valeurs glycémiques, tensionnelles et lipidiques. En cas d'échec après 4-6mois il faut alors opter pour un traitement médicamenteux.

#### **Les différents médicaments : (pharmacorama, 2008)**

- ✓ **les sulfamides hypoglycémiantes** : ils stimulent l'insulinosécrétion. Ils s'administrent par voie orale, se fixent aux protéines plasmatiques, ont des demi-vies plasmatiques allant de cinq à dix heures, à l'exception du chlorpropamide et de la carbutamide où elle dépasse trente heures. Ils sont métabolisés au niveau hépatique.

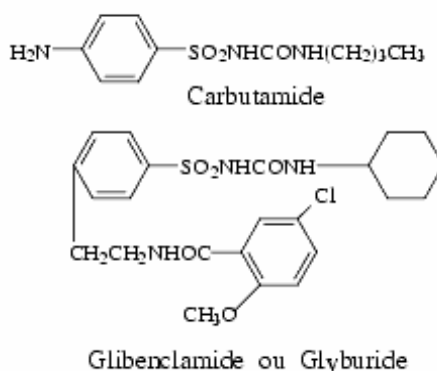


Figure N° 3 : Structures chimiques de la Carbutamide et du Glibenclamide (**Pharmacorama, 2008**)

**Tableau N°4** : sulfamides hypoglycémiantes utilisés actuellement en thérapeutique

Dénominations Communes Internationales (D.C.I)	Temps de demi-vie	Dénominations Commerciales
Glipizide	4	GLIBÉNÈSE* Cp 5mg MINIDIAB* Cp 5mg
Glibenclamide	6	DAONIL* Cp 5mg HÉMI-DAONIL* Cp 2,5 mg DAONIL FAIBLE*Cp 1,5 mg
Glibornuride	8	GLUTRIL* Cp 25 mg
Gliclazide	12	DIAMICRON* Cp 80 mg
Carbutamide	45	GLUCIDORAL* Cp 500 mg
Glimépiride	7	AMAREL* Cp 1, 2, 3, 4 mg

→ **Effets secondaires** : 20%

- Hypoglycémie, troubles digestifs, cytolysse hépatique, réaction cutanée allergique, trouble hématologique.

→ **Contre indications**

- Insuffisance rénale chronique.

✓ **les biguanides** : ils sont résumés actuellement par la Metformine. Ils agissent en inhibant l'absorption des sucres et surtout en bloquant leur métabolisme tissulaire. Ils empêchent la glycolyse qu'ils bloquent au stade des lactates.

La Metformine diminue l'hyperglycémie sans risque d'hypoglycémie car elle n'abaisse pas la glycémie du sujet sain.

La Metformine existe en **spécialités** : GLUCOPHAGE\* Comprimés à 500, 850 et 1000 mg et METFORMINE Comprimés à 500, 850 et 1000 mg.

Mais aussi en **générique** STAGID : 700mg

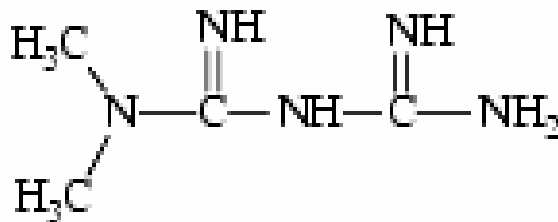


Figure N°4 : Structure chimique de la Metformine (**pharmacorama, 2008**)

• **Associations** :

- Avandamet (Metformine +Rosiglitazone) : 500/1-500/2-1000/2-1000/4),
- Glucovance (Metformine+ Glibenclamide) : 500/2.5-500/5),
- Amaryl M (Metformine+Glimépiride : 500/1-500/2).

Les doses sont à adapter après 10 à 15 jours de traitement puis en fonction de l'HBA1c

→ **Effets secondaires** : 20%

- Troubles digestifs (diarrhée+), acidose lactique, diminution absorption de la vitamine B12, perturbation du goût, rare réaction cutanée.

→ **Contre indications**

- Tout état d'hypoxie, insuffisance hépatique, rénale, respiratoire chronique. Utilisation de produit de contraste iodé

✓ **les inhibiteurs des  $\alpha$ -glucosidases** : L'absorption intestinale de l'amidon et des disaccharides requiert l'action d' $\alpha$ -glucosidases qui hydrolysent les liaisons  $\alpha$ -glucosides, situées sur la bordure en brosse des cellules épithéliales de l'intestin.

Des composés présentant une homologie structurale avec les saccharides de l'alimentation tels que l'acarbose et le miglitol ont été isolés et présentent une activité d'inhibition compétitive des  $\alpha$ -glucosidases. Ces molécules ralentissent la digestion des glucides. Leur absorption a donc lieu plus dans l'iléon que dans le jéjunum. L'apparition de glucose dans le sang après un repas est donc retardée et étalée dans le temps, ce qui diminue la glycémie post-prandiale

→ **Effets secondaires**

- Troubles digestifs, cytolysse hépatique, flatulence, diarrhée.

→ **Contre indications**

- Insuffisance rénale chronique.
- Pathologie digestive
- Grossesse, allaitement

**Il existe actuellement de nouveaux médicaments** : il s'agit des

✓ **Glitazones ou Thiazolidinediones** : ils agissent par activation de récepteurs PPAR $\gamma$  (Peroxisome Proliferator Activated Receptor) exprimés dans le tissu adipeux. Ils agissent davantage sur la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline que sur la sensibilité des hépatocytes (donc moins freinateur de la production hépatique du glucose).

**Les Produits**

- Pioglitazone: Actos cp 15-30mg prise unique
- Rosiglitazone: Avandia cp 2-4-8mg en 2 prises
- Associations: Metform-Pioglitazone → Competact

Metform-Rosiglitazone → Avandamet

→ **Effets secondaires**

● Prise de poids : 6 kg en 5 ans de suivi par la Rosiglitazone dans l'étude A Diabètes Outcome Progression Trial (ADOPT). N Engl J Med 2007

Mécanisme : prolifération de petits adipocytes et rétention hydro sodée.

→ **Contre Indications**

● Insuffisance cardiaque

✓ **Les glinides** : ils augmentent la sécrétion d'insuline par le même mécanisme d'action que les sulfamides. Leur effet hypoglycémiant est plus rapide et de plus courte durée que celui des sulfamides hypoglycémians.

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

**Les Produits**

● **Repaglinide** : Novonorm cp 0,5-1-2mg

● **Nateglinide** : Starlix cp 0,5-1-2-3mg

→ **Effets secondaires**

● Hypoglycémie

✓ **Les incrétines** : ce sont des hormones gastro intestinales issues du clivage d'une prohormone le proglucagon

▪ Glucagon like peptide: GLP-1

▪ Glucose dependent insulintropic peptide : GIP

Ces 2 hormones sont dégradées par une enzyme la Dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4)

**Actions physiologiques**

● Élève la sécrétion d'insuline de façon glucose dépendante

● Diminue le taux circulant de glucagon

● Diminue la prise alimentaire

Ces actions sont non dose dépendante. Leur demi-vie est courte : 2 minutes

**Les produits:** 2 modèles thérapeutiques ont été développés

- **Les analogues non hydrosolubles** = GLP-1 voie parentérale

- Exenatide (Byetta) : peptide de 39 aa, ampoule de 5µg, demi vie de 2-4h, pic de concentration 2h voie s/c 2 injections /j, élimination par filtration glomérulaire

→ **effets secondaires** : perte de poids, hypoglycémie en association, troubles digestifs.

- Liraglutide (Victoza) demi vie 13h, amp de 1ml (6mg), 1 dose/j

- **Les inhibiteurs de la DPP-4** = Gliptines per os (incrétino modulateurs), effet neutre sur le poids

→ **effets secondaires** : infections respiratoires hautes, troubles musculo squelettiques.

- Sitagliptine : Januvia 100mg prise unique le matin

Janumet = 100mg/1000mg

- Vildagliptine : Galvus 50mg ,2prises /j

Eucreas 50mg/1000mg

✓ **Les Analogues de l'insuline :**

**Structure** : il s'agit d'insuline modifiée dans le but d'obtenir un effet plus rapide que l'insuline

Actrapid ou une libération plus stable des insulines retards.



**Les produits** : il existe des analogues ultra rapides, lents et mixtes

**Tableau N°5** : les analogues de l'insuline

Analogues	Délai d'action	Pic sérique	Durée d'action
<b>Ultra rapides</b> ▪Lispro (Humalog) ▪Aspart (Novo rapid) ▪Glulisine (Apidra)	15mn 15mn 15mn	30-70mn 30-70mn 30-70mn	2-5h 3-5h 3-4h
<b>Lents</b> ▪Glargine (Lantus) ▪Detemir (Levemir)	2h	2-4h	24h 14-18h
<b>Mixtes</b> ▪LisproMixt 25/75 ▪Aspart Mixt 30/70	2h	sans pic	16h

→ **Schéma Basal Bolus**

- Analogue lent: le matin ou à midi ou le soir
- Analogue rapide à chaque repas

Néanmoins variabilité d'action des insulines

## **8.2- Traitement traditionnel :**

**Tableau N°6:** Quelques plantes utilisées dans le traitement du diabète

<b>Familles et Noms scientifiques</b>	<b>Drogues</b>	<b>Références</b>
Acantaceae <i>Hygropohila auriculata</i> Heins	Tige feuillée	Yansambou, 2002; Kerharo et Adams, 1974
Anacardiaceae <i>Anacardium occidentale</i> Linn <i>Sclerocarya birrea</i> Hochst	Écorces feuilles	Malgras, 1992 Malgas, 1992
Apocynaceae <i>Catharanthus roseus</i> G.Don	Tige feuillée	Malgas, 1992
Caesalpinaceae <i>Cacia abus</i> Linn <i>Tamarindus indica</i> Linn	Graines feuilles	Malgras, 1992 ; Yansambou, 2002
Caricaceae <i>Carica papaya</i> Linn	feuilles	Yansambou, 2002
Compositae <i>Blumea auriculata</i> L.F DC.	Feuilles	Yansambou, 2002
Convolvulaceae <i>Ipomoea batatas</i> Lam	Tige feuillée	Yansambou, 2002
Cucurbitaceae <i>Momordica charantia</i> Linn	Tige feuillée	Yansambou, 2002
Euphorbiaceae <i>Bridelia ferruginea</i> Linn <i>Chozophora senegalensis</i> Lam	Feuilles Tige feuillée	Malgras, 1992 Yansambou, 2002 ;
Lauraceae <i>Persea americana</i> Mill	Feuilles, fruits	Malgras, 2001 ; Burkill, 1985
Liliaceae <i>Allium cepa</i> Linn <i>Allium sativum</i> Linn	Bulbes bulbes	Malgras, 2001 Malgras, 2001
Meliaceae <i>Azadirachta indica</i> A.Juss	Feuilles	Malgras, 2001
Moringaceae <i>Moringa oleifera</i> Lam	Feuilles	Kerharo et Adam, 1974
Musaceae <i>Musa paradisiaca</i> Linn	Feuilles	Yansambou, 2002
Myrtaceae <i>Eucalyptus globulus</i> Linn <i>Eugenia jambalana</i> Lam	Feuilles Graines	Yansambou, 2002 Malgras, 2001
Poaceae <i>Oxythenanthera abyssinica</i> Munro	Feuilles	Kerharo et Adam, 1974
Rhamnaceae <i>Zizyphus mauritiana</i> Lam	Feuilles	Yansambou, 2002 ; Malgras, 2001

## **9- Stress oxydatif, diabète et antioxydants**

Le stress oxydant peut être défini comme un déséquilibre de la balance entre les radicaux libres oxygénés et les systèmes antioxydants au profit des premiers. Le stress oxydatif ne participe pas seulement dans la dysfonction des cellules bêta des îlots de Langherans et la résistance à l'insuline mais aussi dans la genèse des complications tardives du diabète. Le stress oxydatif induit également la formation de produits de glycation avancée (AGE). L'effet des produits de glycation avancée sur les structures vasculaires est important dans la pathogenèse des complications micro et macro-vasculaires du diabète

De nombreuses évidences suggèrent que le diabète sucré s'accompagne d'un stress oxydant. Celui-ci est la conséquence de concentrations anormalement élevées de glucose dans les milieux extra et intracellulaires (Delattre et coll., 2001). Plusieurs mécanismes ont été évoqués mettant en jeu l'auto-oxydation du glucose, la voie des polyols, la glycation des protéines et la formation de produits de glycation avancée (AGE). Cette production anormale de radicaux libres est à l'origine de nombreux effets au niveau cellulaire. Le métabolisme de NO peut également être altéré par une production anormale d'anions superoxydes ( $O_2^{\cdot-}$ ) conséquence d'une concentration de glucose intracellulaire élevée.  $O_2^{\cdot-}$  réagit avec le monoxyde d'azote pour former du peroxyde d'azote ( $ONOO^{\cdot}$ ) qui est un puissant agent oxydant et toxique. Enfin, le stress oxydant conduit, dans le diabète, à une altération des macromolécules biologiques comme les acides nucléiques, les protéines et les lipoprotéines. Ces dernières, en particulier, sont plus sensibles à l'oxydation. Les modifications de l'activité des facteurs de transcription, le métabolisme altéré du monoxyde d'azote et l'oxydation accrue des lipoprotéines (LDL, HDL) sont des facteurs qui contribuent aux complications vasculaires du diabétique. Enfin, le stress oxydant est de plus en plus suspecté d'être à l'origine à la fois d'une réduction de la sécrétion d'insuline par les cellules des îlots de Langherans et d'une diminution de l'action de l'hormone hypoglycémiant aggravant l'état d'insulino-résistance (Delattre et coll., 2001).

L'insulinorésistance musculaire associée au diabète de type 2 a une origine complexe, dans laquelle des perturbations du métabolisme lipidique (diminution de l'oxydation des acides gras et accumulation de lipides intramusculaires) joueraient un rôle. Les mitochondries sont le siège de l'oxydation des lipides.

Des études ont montré le rôle du dysfonctionnement mitochondrial, induit chez l'animal soumis à un régime riche en lipides, dans les altérations du métabolisme lipidique observées au cours du développement de l'insulinorésistance et de la progression vers le diabète de type 2. Il semble que les altérations mitochondriales ne précèdent pas le développement de l'insulinorésistance, mais

soient une conséquence d'un stress oxydant associé à l'hyperglycémie et à l'hyperlipidémie des animaux diabétiques (Bonnard et coll., 2008).

Une stratégie anti-oxydante pourrait donc constituer un traitement complémentaire des thérapies conventionnelles, dont l'objectif serait de normaliser les concentrations circulantes de glucose et de lipides, afin d'améliorer les capacités oxydatives du muscle squelettique et de limiter les phénomènes de lipotoxicité (Bonnard et coll., 2008). Par ailleurs, plusieurs publications démontrent qu'un traitement anti-oxydant améliore la sensibilité des tissus à l'insuline dans le diabète de type 2 (Poitout et Coll. 2001) Les extraits de plantes à propriété antioxydante peuvent contribuer également à cette amélioration (El-Missiry and El Gindy, 2000).

## **II. Lignes directrices concernant l'étude de la toxicité potentielle des médicaments à base de plantes** (OMS, 2000)

Ces lignes directrices indiquent les méthodes réglementaires concernant les études toxicologiques non cliniques pour évaluer l'innocuité des médicaments à base de plantes. Ces études ne sont pas toutes requises pour chacun des médicaments à base de plantes destinés à l'homme.

### **1 -Etudes toxicologiques - toxicité aiguë**

#### **Espèces animales**

Certains organismes de réglementation préconisent l'utilisation d'au moins deux espèces animales, dont l'une appartenant aux rongeurs.

#### **Sexe des animaux**

Pour au moins une des espèces, il doit y avoir les deux sexes.

#### **Nombre d'animaux**

Dans le cas des rongeurs, chaque groupe doit comprendre au moins cinq animaux par sexe. Pour les autres espèces, chaque groupe doit comprendre au moins deux mâles et deux femelles.

#### **Voie d'administration**

D'ordinaire, la voie orale suffit étant donné qu'il s'agit de la voie normale d'administration. Toutefois, certains organismes de réglementation préconisent en outre la voie parentérale.

Dans les cas où la voie parentérale a été retenue pour l'homme, il suffira d'utiliser cette voie pour les essais chez l'animal.

#### **Niveaux de dose**

Un nombre suffisant de niveaux différents de doses doit être utilisé chez les rongeurs pour déterminer la dose létale approximative. Chez les non-rongeurs, des niveaux suffisamment élevés doivent être utilisés pour permettre l'observation de signes manifestes de toxicité.

### **Fréquence**

La substance expérimentale doit être administrée en une ou plusieurs fois sur une période de 24 heures.

### **Observation**

Les signes de toxicité, leur sévérité, apparition, progression et réversibilité doivent être observés et notés en fonction de la posologie et du moment. En règle générale, il convient d'observer les animaux pendant 7 à 14 jours au moins.

Les animaux morts pendant la période d'observation ainsi que les rongeurs survivants à la période d'observation doivent être autopsiés.

Au besoin, on procédera à un examen histopathologique des organes ou tissus présentant des changements macroscopiques à l'autopsie.

## **2- Etudes toxicologiques - toxicité à long terme**

### **Espèces animales**

Nombre d'organismes de réglementation préconisent l'utilisation d'au moins deux espèces animales, dont l'une appartenant aux rongeurs.

### **Sexe des animaux**

D'ordinaire, il convient d'utiliser autant de mâles que de femelles.

### **Nombre d'animaux**

Dans le cas des rongeurs, chaque groupe doit comprendre au moins dix animaux par sexe. Pour les autres espèces, chaque groupe doit comprendre au moins trois mâles et trois femelles.

Si des essais intermédiaires sont prévus, le nombre d'animaux doit être augmenté en conséquence.

### **Voie d'administration**

D'ordinaire, il faut utiliser la voie d'administration clinique prévue.

### **Durée du traitement**

La durée d'administration de la substance expérimentale dépendra de la durée d'utilisation clinique prévue. La durée dans le cadre de l'étude de toxicité variera d'un pays à l'autre, selon la réglementation en vigueur.

Le tableau ci-dessous met en évidence les durées d'administration les plus fréquentes :

<b>Durée prévue de l'utilisation clinique</b>	<b>Durée d'administration aux fins de l'étude de toxicité</b>
Prise unique ou répétée pendant moins d'une semaine	2 semaines à 1 mois
Prise répétée pendant une à quatre semaines	4 semaines à 3 mois
Prise répétée pendant un à six mois	3 à 6 mois
Prise répétée pendant plus de six mois	9 à 12 mois

En principe, la substance expérimentale doit être administrée tous les jours de la semaine. La durée d'administration de l'étude doit être inscrite au regard de chaque résultat.

#### **Niveaux de dose**

Il faut prévoir des groupes pour au moins trois niveaux de dose différents.

Un niveau ne doit pas causer d'effets toxicologiques (dose sans effet) et un autre doit produire des effets toxicologiques manifestes. Dans cette fourchette, l'adjonction d'au moins un autre niveau de dose augmente la possibilité d'observer une relation dose réaction.

Toutes les études doivent inclure un groupe témoin d'animaux d'expérience chez lequel on n'administre que le véhicule.

#### **Observations et examens**

Les 6 points ci-dessous doivent faire l'objet d'observations et d'examens :

##### **✓ Signes généraux, poids corporel et quantité de nourriture et d'eau absorbée**

Les signes généraux des animaux d'expérience doivent être observés tous les jours; le poids corporel et la quantité de nourriture absorbée doivent être calculés périodiquement. Si cela s'avère utile, il faudra aussi mesurer la quantité d'eau absorbée. D'ordinaire, on effectuera ces mesures comme suit :

Poids corporel : avant la première administration du médicament, puis au moins une fois par semaine pendant les trois premiers mois d'administration et au moins toutes les quatre semaines par la suite.

Quantité de nourriture absorbée : avant la première administration du médicament, puis au moins une fois par semaine pendant les trois premiers mois d'administration et au moins toutes les quatre semaines par la suite. Si la substance expérimentale est mélangée, pour l'administration, à la nourriture, il faudra mesurer toutes les semaines la quantité absorbée.

✓ **Examen hématologique**

Les échantillons de sang doivent être prélevés chez les rongeurs avant l'autopsie.

Pour les autres animaux, les échantillons sanguins doivent être prélevés avant l'administration du médicament, au moins une fois pendant la période d'administration (pour les études qui durent plus d'un mois), et avant l'autopsie.

Il est souhaitable pour les examens hématologiques et de chimie sanguine d'inclure autant de paramètres que possible.

✓ **Examen des fonctions rénales et hépatiques**

Le foie et les reins, organes qui régissent d'ordinaire le métabolisme et l'excrétion, sont particulièrement sensibles aux agents toxiques potentiels; leur fonction doit donc être surveillée dans les études toxicologiques de longue durée.

Il convient de sélectionner parmi les rongeurs un nombre fixe d'animaux dans chaque groupe chez lesquels on fera un examen des urines avant l'administration du médicament et ensuite au moins une fois pendant la période d'administration.

✓ **Autres explorations fonctionnelles**

Il convient, selon le cas, d'effectuer un électrocardiogramme et des examens de la vue et de l'ouïe. Chez les rongeurs, il faut procéder à des examens ophtalmologiques d'un nombre fixe d'animaux de chaque groupe au moins une fois pendant la période d'administration; pour les autres animaux, l'examen doit se faire sur tous les animaux avant de commencer à administrer le médicament et ensuite au moins une fois pendant la période d'administration.

✓ **Animaux morts**

Tous les animaux morts doivent être autopsiés le plus rapidement possible. Les organes et tissus doivent être soumis à un examen macroscopique. En outre, dans la mesure du possible, il convient de peser les organes et effectuer des examens histopathologiques pour essayer d'identifier la cause de la mort et la nature (sévérité ou degré) des effets toxiques présents.

✓ **Animaux moribonds**

Afin de maximiser la quantité d'informations utiles que l'on peut obtenir pendant la période d'administration, il faut sacrifier tous les animaux moribonds plutôt que de les laisser mourir. Il faudra auparavant noter les observations cliniques et prélever des échantillons sanguins pour des analyses hématologiques et de chimie sanguine.

A l'autopsie, il faudra procéder à l'examen macroscopique des organes et des tissus, peser les organes et enregistrer les données. On procédera à un examen histopathologique complet pour essayer de caractériser la nature (sévérité ou degré) de tous les effets toxiques.

Tous les animaux survivants doivent être autopsiés à la fin de la période d'administration du médicament ou après disparition des effets toxiques, après prélèvement sanguin pour analyse hématologique (y compris chimie sanguine); les organes et tissus doivent être examinés macroscopiquement et les organes pesés. Il faut également faire l'examen histopathologique des organes et des tissus des animaux qui ont reçu des doses moindres si l'on constate des modifications de leurs organes et tissus lors de l'examen macroscopique, ou si le groupe qui a reçu les doses les plus élevées manifeste des changements importants. Par ailleurs, l'examen histopathologique de tous les rongeurs augmentera la possibilité de détecter la toxicité.

### **Disparition des effets toxiques**

Pour étudier la disparition des effets toxiques, il faut examiner les animaux que l'on laisse vivre pendant plus ou moins longtemps après avoir cessé de leur administrer la substance expérimentale.



### **III- Monographie: *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hochst**

#### **1- Données botaniques**

**1.1- Synonymes**: *Sclerocarya caffra* Sond. (1850), *Poupartia caffra* (Sond.) H. Perrier (1944), *Spondias birrea* A. Rich, *Poupartia birrea* (A. Rich) Aubrév. (1950).

#### **1.2- Noms locaux :**

- Bambara: n'gunan, kunta dao
- Malinké: kuntan, kunan
- Dogon: Bi
- Peulh: he di
- Sonrhai : din(é), din(é)ya<sub>2</sub>

**1.3- Autres noms :** Prunier d'Afrique, *Sclerocarya* à bière, Prunier jaune (Français), Marula, cider tree (Anglais), Canhoeiro, Morula (Portugais).

#### **1.4- Position dans la systématique:**

**Règne** : végétal

**Sous règne** : Eucaryotes

**Embranchement** : spermaphytes

**Sous embranchement** : Angiospermes

**Classe** : Dicotylédones

**Sous classe** : Rosidae

**Groupe** : Rosidae obdiplostemones à ovaires super et disque nectarifère

**Ordre** : Sapindales

**Famille** : Anacardiaceae ou Terebinthaceae

**Genre** : *Sclerocarya*

**Espèce** : *birrea*

### **1.5- Description botanique:**

*Sclerocarya birrea* est un arbre à cime arrondie et de 8 à 12 m de hauteur. Son fût droit cylindrique peut atteindre 80 cm de diamètre (Arbonnier, 2002). Ce fût comporte une écorce écailleuse, grise plus ou moins argentée, à tranche rougeâtre, fibreuse et spongieuse. Les feuilles sont alternes, imparipennées divergentes réparties au bout des rameaux très épais, atteignant 20 cm de long avec 6 à 10 paires de folioles opposées ou subopposées (Figure N°5). *Sclerocarya birrea* est une espèce dioïque possédant des inflorescences en racème terminal sur les pieds femelles, de 3 à 5 cm de long et des inflorescences en épis terminaux sur les pieds mâles, de 5 à 8 cm de long. La fleur femelle est pédicellée (d'environ 1 cm de long), rougeâtre ou verdâtre, d'environ 7 mm de diamètre. La fleur mâle, subsessile, possède 4 pétales roses ou verdâtres, d'environ 7 mm de diamètre. Le fruit est une drupe globuleuse, glabre, jaune à maturité, à peau épaisse, de 3 à 3,5 cm de long, contenant un noyau épais (Figure N°5). La floraison et la fructification ont lieu en fin de saison sèche, plutôt avant l'apparition des premières feuilles.



**Figure N°5** : feuilles et fruits de *Sclerocarya birrea*

### **1.6- Habitat et Distribution géographique :**

*Sclerocarya birrea* est une espèce des savanes sahélo-soudaniennes à soudaniennes, croissant surtout sur les sols sableux (Arbonnier, 2002). On trouve le Prunier jaune principalement en Afrique subsaharienne en dehors de la zone de forêt humide, de la Mauritanie et du Sénégal jusqu'en Ethiopie et Erythrée, et vers le sud jusqu'en Namibie, au Botswana, au Zimbabwe, au Mozambique, en Afrique du Sud et au Swaziland. Il est présent à Madagascar et a été introduit à

Maurice et à la Réunion. Il est planté à titre expérimental en République d'Israël (Nerd et al. 1993). Il est aujourd'hui introduit en Australie, en Inde et à Oman (Hall, 2002).

### **1.7- Usage en médecine traditionnelle :**

*Sclerocarya birrea* est une plante très utilisée en médecine traditionnelle pour de nombreuses indications :

#### **Au Mali :**

Les feuilles ont la réputation de soigner l'ictère. Le macéré d'écorces de *Sclerocarya birrea* associé aux feuilles de *Cymbopogon giganteus* est utilisé dans le traitement de l'ascite. Il est efficace dans le traitement de la rougeole, c'est aussi un excellent purgatif (Keita, 2005)

#### **Au Sénégal**

L'écorce est utilisée comme antidouleur dans les névralgies dentaires en masticatoire et pour les caries en plombage sous forme de boulettes.

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

D'une manière générale et en usage externe, la pâte d'écorce est anti-inflammatoire et est utilisée dans les céphalées en application frontale additionnée au beurre de karité, sur les yeux pour les blépharites (Kerharo et Adams, 1974). Le jus de fruits serait efficace dans le traitement des otites, la constipation, l'hypertension artérielle, l'anorexie et le scorbut. Les graines sont recommandées par certains thérapeutes traditionnels contre l'asthénie. Les rameaux sont mâchés dans les enrrouements de la voix et utilisées comme anti-inflammatoire dans les caries et douleurs dentaires (Adiza, 2007). Les feuilles et les racines sont utilisées comme antivenimeux (Pousset, 2004). Certains tradipraticiens emploient cette plante pour soigner les maladies opportunistes du VIH/SIDA et plus généralement les dermatoses. Le décocté d'écorce de tige auquel sont ajoutés du jus de gingembre et du miel est un excellent remède contre les fatigues générale et sexuelle, les hémorroïdes, les maux de ventre, la constipation et un stimulant de l'appétit (Dakuyo, 1988). La pulpe du fruit fermentée est euphorisante (Berhaut, 1971).

#### **Au Niger**

Les Haoussa utilisent l'infusion tiède de l'écorce de tige dans le traitement de la dysenterie. La principale utilisation de la plante dans le domaine de la santé est son implication dans le traitement du diabète (Dimo et al. 2007 ; Iwu, 1993 ; Gueye, 1973)

#### **En Afrique du Sud**

Les Venda, population de l'Est et du Sud de l'Afrique du sud, utilisent cette plante pour orienter le sexe de l'enfant chez les futures parturientes (Iwu, 1993). Chez les Zulus le décocté de l'écorce est utilisé dans le traitement des diarrhées, de la dysenterie, de la fièvre et des ulcères (Eloff, 2001)

### **1.8- Autres utilisations :**

La pulpe du fruit est comestible, elle sert à préparer de la bière fermentée (Parkan, 1974). Les cendres provenant de la brûlure du bois sont utilisées pour ôter les poils de la peau des chèvres avant d'être tendue (Burkill, 1985). Les feuilles peuvent servir de fourrage mais elles seraient légèrement toxiques (Cuny et coll., 1997). Au Sénégal, elles sont appréciées par le bétail et les dromadaires. La plante est aussi utilisée en menuiserie légère, meubles, ustensiles agricoles. La gomme est mélangée à de l'eau et de la suie pour faire de l'encre.

## **2-Données pharmacologiques et phytochimiques:**

### **2.1- Données pharmacologiques**

#### **✓ Activités antidiabétiques**

De nombreuses études ont été effectuées sur les propriétés antidiabétiques de *Sclerocarya birrea*. Les propriétés antidiabétiques du macéré et du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea* ont été confirmées par différentes études expérimentales et cliniques (Gueye et coll., 1973, Laurens, 1976). Selon (Gueye, 1973), l'extrait aqueux des feuilles administré aussi bien par voie orale que par voie intra- péritonéale au rat, présente une action sur la glycémie et une action périphérique sur l'assimilation du glucose par le tissu musculaire.

Au DMT plusieurs études ont démontré l'activité antidiabétique des extraits aqueux des feuilles de *Sclerocarya birrea* (Coulibaly 1988 ; Yaro 1992 ; Fomba 2001 ; Dagnoko 2009). Il existe même à son niveau un Médicament traditionnel amélioré appelé « **Diabétisane N° 1** » qui se présente sous forme de sachet de 60g à faire bouillir dans un demi litre d'eau pendant 15mn et filtrer avant administration.

La posologie est donnée en fonction de la glycémie :

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

L'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Sclerocarya birrea* a démontré une activité hypoglycémisante dose dépendante chez les rats normoglycémiques et rendus diabétiques par la streptozotocine (Ojewole, 2003 ; Ojewole, 2004). Les essais cliniques ont montré l'efficacité du décocté chez les patients avec le diabète de type II (Sanogo, 2007).

Une étude menée au Cameroun a montré que l'extrait méthanol-chlorure de méthylène a entraîné une réduction significative de la glycémie chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine (Gondwe et coll, 2008).

✓ **Activités anti- inflammatoire et analgésique**

Les écorces sont utilisées comme anti-inflammatoires (Ojewole, 2003). Les effets anti-inflammatoires et analgésiques de l'extrait aqueux de *Sclerocarya birrea* étudiés respectivement chez les rats et les souris en comparaison avec le diclofenac (150mg/Kg P.O) ont montré que comme le diclofenac l'extrait aqueux présente une protection dose dépendante contre la douleur provoquée par la chaleur électrique. Aux doses de 25-800mg/Kg l'extrait aqueux réduit de manière significative l'œdème de la patte postérieure du rat provoquée par l'albumine d'œuf (Ojewole, 2004)

✓ **Activité anti-ulcéreuse**

Des études menées au DMT ont démontré que les écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* à 50mg/Kg induisent une protection de la muqueuse gastrique de 79.78% et les feuilles de 77.78% (Keita, 2005)

✓ **Activités rénale et cardiaque**

Des études menées au laboratoire ont démontré une protection rénale et cardiaque chez les rats diabétiques sous administration en aiguë et chronique de l'extrait éthanolique de l'écorce de tronc de *Sclerocarya birrea* (Gondwe et coll, 2008).

✓ **Effets vasorelaxant et hypotensif :**

L'administration de l'extrait aqueux des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* chez des rats wistar normo-tendus pré-contractés avec de la noradrénaline a montré qu'il existe une relaxation dose dépendante (12.5-200mg/Kg) de même aux doses (25-400mg/Kg) on a des réductions passagères de la tension artérielle et de la fréquence cardiaque chez des rats normotendus et hypertendus (Ojewole)

✓ **Activité antibactérienne :**

Les propriétés anti-bactériennes des extraits acétoniques des écorces et des feuilles de *Sclerocarya birrea* ont été démontré sur *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis* (Eloff, 2001).

✓ **Activité anti-oxydante :**

Des composés phénoliques, avec des propriétés antioxydantes, ont été isolés à partir de l'extrait des feuilles de *S. birrea* (Bracca et coll., 2003 ; Dagnoko, 2009).

#### ✓ **Autres propriétés**

Les propriétés sécrétagogues et antidysentériques de l'écorce ont été démontrées (Galvez Peralta et al. 1992).

La valeur nutritionnelle des amandes de *Sclerocarya birrea* a été démontrée chez les enfants. Les amandes ont été mangées pour compléter leur alimentation (Glew et coll., 2003).

#### **2.2- Données phytochimiques**

La poudre de feuilles de l'espèce malienne renferme des tanins, saponosides, flavonoïdes stéroïdes et terpènes (Dao, 1988).

Un nouveau flavonol glycoside, quercetin 3-O-alpha-L-(5'-galloyl)-arabinofuranoside, huit composés phénoliques connus et deux dérivés épicatechine, avec des propriétés antioxydantes, ont été isolés à partir de l'extrait des feuilles de *S. birrea* (Bracca et coll., 2003).

Les feuilles de *Sclerocarya birrea* sont caractérisées par la présence de flavonoïdes, coumarines, saponines, tanins, coumarines, anthracénosides libres, oses et holosides, hétérosides cardiotoniques, leucoanthocyanes, caroténoïdes, mucilages, stéroïdes et triterpènes. La composition en monosaccharides a montré la présence de glucose 45%, galactose 42%, rhamnose 6% et arabinose 6%, 4 O-Méthyl-acide glucuronique. 26% des constituants des feuilles sont hydrosolubles (Diallo et coll., 2008)

Les amandes de graines, provenant de la Côte d'Ivoire présente les résultats en gramme pour cent de produits secs qui sont constitués de : cellulose (1,3), extrait étheré (61,5), glucides (0,5), insoluble formique (3,8), protides (30,6), cendres (6,1), calcium (0,17), phosphore (1,04).

Il a été isolé et identifié 6 hétérosides dérivant du quercétol et du kaempférol, qui sont abondants dans l'extrait acétate d'éthyle.

Les acides gras constitutifs des lipides sont représentés par : les acides oléique (63,9 % des acides gras totaux), myristique (17,4) et stéarique (8,7). Dans les amino-acides prédominent les acides glutamiques (25,8 % des amino-acides totaux) et l'arginine (15,8 %).

L'amande contient relativement une grande quantité de cuivre (24,8 µg/g poids sec) magnésium (4210 µg/g poids sec) et le zinc (62,4 µg/g poids sec). La protéine contenue dans L'amande était élevé (36,4% de son poids sec); cependant, cette fraction contenait une proportion relativement faible de leucine, phenylalanine, lysine, et thréonine. Le taux des acides gras était de 47mg/g du poids sec du noyau avec 2/3 dû aux acides oléique. Les acides gras et acides linoléiques

essentiels, était présent (24,5mg/g du poids sec), mais d'autres acides gras et  $\alpha$ -lionoléique essentiels étaient absents.

Un taux élevé d'acide ascorbique a été trouvé dans les fruits de *Sclerocarya birrea* (403.3 mg/100 g) (Eromosele et al. 1991). L'ester (-)-epicatechine -3-galloyl isolé de l'écorce de tronc de *S. birrea* (Galvez, et al. 1992). Les éléments physico-chimiques des graines de *S. birrea* contenaient 11,0% d'huile brute, 17,2% de glucides, 36.70% de protéines s, 3.4% de fibres et 0,9% saponines. L'huile est composée de 9 acides gras dont l'acide stéarique, palmitique, et les acides arachidoniques sont les plus prédominants (Ogbobe, 1992).

Les feuilles et fruits de la plante ont un taux élevé d'éléments minéraux (Smith et coll., 1996)

## CHAPITRE II : TRAVAUX PERSONNELS

### **Méthodologie :**

- 1- **Cadre de l'étude** : notre étude a eu lieu au **DMT (Département Médecine Traditionnel)** de **l'INRSP (Institut National de Recherche en Santé Publique)**

### **Présentation de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP)**



L'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) est un établissement public à caractère administratif (EPA) doté de la personnalité morale et de l'autonomie financière. C'est un des centres de références de niveau national dans le domaine du diagnostic biologique, et de la recherche-action en santé publique.

Il a pour missions :

1. de promouvoir la recherche médicale et pharmaceutique en santé publique notamment dans les domaines des maladies infectieuses, génétiques, néoplasiques, de la médecine sociale, de la santé de la reproduction, de la biologie clinique appliquée à la nutrition et aux affections endémo-épidémiques, de l'hygiène du milieu, de l'éducation sanitaire, de la socio-économie, de la médecine et de la pharmacopée traditionnelle ;
2. de participer à la formation technique, le perfectionnement et la spécialisation des cadres dans le domaine de sa compétence ;
3. d'assurer la production et la standardisation des médicaments traditionnels améliorés, de vaccins et de réactifs biologiques de laboratoires ;
4. d'assurer la protection du patrimoine scientifique relevant de son domaine ;
5. de promouvoir la coopération scientifique nationale et internationale dans le cadre d'accord d'assistance mutuelle ;
6. de gérer les structures de recherche qui lui sont confiées.

L'INRSP est placé sous la tutelle du Ministre chargé de la Santé Publique. Les organes de gestion de l'Institut sont :

- Le conseil d'administration ;
- Le Comité Scientifique et Technique ;
- Le Comité de Gestion ;
- Le Comité d'Ethique.



L'INRSP est dirigé par un Directeur Général. Il est secondé par un Directeur Général adjoint. Les ressources de financements sont :

- La subvention de l'Etat ;
- Les recettes d'analyses, de ventes de médicaments traditionnels améliorés ;
- Les fonds d'aide extérieur ;
- Les dons et legs ;
- Les fonds des concours des personnes morales et physiques ;
- Les revenus du patrimoine.

L'INRSP comprend cinq départements (dont 3 départements techniques) et une Agence comptable.

- Le Département Administratif et du Personnel
- Le Département de Diagnostic et Recherche Biomédicale ;
- Le Département de Santé Communautaire ;
- Le Département de Médecine Traditionnelle ;
- Le Département de Formation.

Les départements sont dirigés par des chefs de départements.

L'INRSP dispose également des centres de formation et de recherche en zone rurale qui sont :

- Le centre de Sélingué situé à 120 km de Bamako: Pour la supervision des activités des centres de santé communautaires (CSCOM) et à la surveillance épidémiologique des pathologies liées au barrage ;
- Le centre de Kolokani situé à 150 km de Bamako: Pour la formation des étudiants en médecine dans le domaine de la santé publique ;
- Le centre de Bandiagara situé à 700 km de Bamako: Pour la recherche sur la médecine traditionnelle et la production de médicaments traditionnels améliorés (MTA).

Dans le cadre du Programme de Développement Socio-Sanitaire (PRODESS), l'INRSP a pour principale mission : de développer la capacité de recherche et la formation à la recherche dans le domaine de la santé.

## **Organisation et activités des départements techniques**

### **1. Département de Diagnostic et de Recherche Biomédicale (DDR B)**

Le DDR B est le plus grand département de l'INRSP. Il a pour principales missions :

- La réalisation des analyses biologiques de routine ;
- La recherche bio-médicale ;
- La formation.

Le DDR B se compose des services suivants :

1. Service d'Anatomo- pathologie ;
2. Service d'Hématologie ;
3. Service de Biochimie ;
4. Service de Parasitologie ;

5. Service de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction ;
6. Service de Bactériologie-Virologie et de Biologie Moléculaire ;
7. Service de Séro-immunologie.

Le DDRB a un effectif de 70 agents composés de médecins, biologistes, Pharmaciens et de techniciens de laboratoire dans les différentes spécialités:

Les principaux axes de recherche sont :

- Le cancer ;
- Les IST/VIH ;
- La tuberculose ;
- La méningite à méningocoque ;
- Les schistosomiasis et les geo-helminthiases ;
- Le paludisme ;
- L'hypofertilité masculine ;
- La cytogénétique/caryotype ;
- Les diarrhées infectieuses ;
- L'hépatite virale ;
- Les anémies et les hémoglobinopathies ;
- La biochimie des maladies métaboliques

Principales activités de recherche effectuées ces 3 dernières années :

- Place des anomalies chromosomiques dans les malformations congénitales ;
- Etude de la fréquence des anomalies chromosomiques chez les enfants déficients mentaux au centre médico-psycho-éducatif de l'AMALDEME (Association Malienne de Lutte contre les Déficiences Mentales) ;
- Développement d'une stratégie de lutte contre la bilharziose urinaire dans la vallée du fleuve Sénégal ;
- Les schistosomiasis urbains et geo-helminthiases chez les enfants d'âge scolaires ;
- Evaluation de l'état de santé et le statut nutritionnel des enfants des écoles communautaires de Kolodiéba
- Analyse de situation de l'état de santé des élèves des écoles communautaires encadré par Africare
- Prévalence des marqueurs du virus de l'hépatite B chez le personnel des laboratoires à l'INRSP
- Etude bactériologique et épidémiologique de la diarrhée glairo-sanguinolente à Bamako
- Prévalence et facteurs de risque des IST/VIH dans les régions de Koulikoro, Mopti et Sikasso.
- Surveillance intégrée des IST/VIH et des comportements au Mali.

Activités de formation :

1. Les cadres du DDRB participent activement à la formation théorique et pratique :
  - a. des étudiants de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS) de l'Université de Bamako,
  - b. des étudiants des écoles socio-sanitaires notamment : le Centre Spécialisation des Techniciens de Santé (CSTS), l'Ecole Secondaire de la Santé (ESS), l'Ecole de Formation pour le Développement Communautaire (EFDC).
2. Le DDRB participe également au perfectionnement et au recyclage des biologistes et techniciens de laboratoire des hôpitaux régionaux et services socio-sanitaires de cercles du Mali

3. Appui dans le cadre de la formation continue des médecins et techniciens de santé pour le dépistage et la surveillance épidémiologique des différents programmes nationaux de lutte contre les maladies.

Perspectives à court terme et moyen terme :

- Charge virale et numérotation des CD4 (VIH/SIDA) dans le cadre de l'Initiative Malienne d'Accès aux Anti-Retro-Viraux (IMAARV)
- Validation des tests de dépistage du VIH au niveau du District et Cercles en collaboration
- Validation des algorithmes de traitement syndromique des IST
- Intensification des activités du Centre for Vaccine développement au Mali (CDV-Mali)
- Recherche-action sur la santé scolaire : schistosomiasés et helminthiases intestinales, anémie, malnutrition)
- Organisation d'un réseau de laboratoire pour la surveillance intégrée des maladies transmissibles
- Etude des Normes cytospermiologique
- Développement des techniques d'Assistance Médicale à la Procréation(AMP)
- Etude des causes bilharziennes de l'hypofertilité au Mali
- Etude de la fréquence des anomalies chromosomiques
- Hémoglobinopathies
- Facteurs de risque génétiques et phénotypiques dans l'HTA au Mali
- Prévalence de l'hépatite B dans la population générale au Mali

Problèmes majeurs :

- Insuffisance des ressources humaines qualifiées
- Faible mobilisation de ressources pour la recherche
- Insuffisance d'équipement de laboratoire d'outil informatique pour les analyses de routine et la recherche biomédicale
- Absence de personnel qualifié pour la maintenance des matériels et équipement de laboratoire
- Accès difficile aux nouvelles technologies de communication et la documentation

## **2. Département Santé Communautaire (DSC)**

Le DSC est chargé de mener des activités de recherche sur les problèmes de santé des communautés et cela conformément aux priorités nationales.

Structures

Le DSC comprend 3 services et un programme de recherche :

- Nutrition
- Epidémiologie
- Sciences Sociales
- Programme de recherche sur les Systèmes de Santé

Ressources humaines : le personnel du DSC se compose de médecins en santé publique, épidémiologistes, d'économistes, nutritionniste, démographe, malacologiste, socio-anthropologiste.

Problèmes majeurs :

Faible ressources pour la recherche  
Accès difficulté aux nouvelles technologies de communication et à la documentation  
Insuffisance d'outil informatique  
Faible diffusion des résultats de la recherche  
Formation continue des chercheurs limitée  
Difficultés d'échanges entre les chercheurs

### **3. Département Médecine Traditionnelle (DMT)**

Au Mali, près de 80% de la population utilise la médecine traditionnelle. Le Département Médecine Traditionnelle (DMT) a été un centre collaborateur de l'OMS en matière de médecine traditionnelle de 1981 à 1995. Depuis 2006 il est dans le processus d'évaluation pour être renommé centre

Il a pour missions :

1. de contribuer à l'amélioration de l'état de santé des populations par l'utilisation des ressources locales
2. d'organiser la médecine traditionnelle pour assurer une bonne collaboration entre les systèmes de médecine traditionnelle et médecine conventionnelle.

Le DMT comprend :

Un laboratoire de biologie clinique

Un laboratoire de phytochimie

Un laboratoire de pharmacodynamie

Trois salles de consultation

Une unité de production des médicaments traditionnels améliorés

Un bureau de vente des médicaments traditionnels améliorés

Une salle de séchage des plantes

Une salle d'herbiers et de droguiers

Une salle de base de données sur les savoirs médicaux traditionnels

Une salle de documentation connectée à l'internet

Une salle de Conférence

Un jardin botanique

Les objectifs spécifiques sont :

1. Recenser les thérapeutes traditionnels
2. Recenser les plantes médicinales
3. Etablir les cartes des zones de peuplement naturel des plantes médicinales
4. Réaliser un herbier de plantes médicinales maliennes
5. Formuler et produire des médicaments traditionnels améliorés
6. Collaborer avec les thérapeutes traditionnels.

Ressources humaines : le personnel technique du DMT se compose de pharmaciens, médecins, techniciens de laboratoire et de dessinateur.

Principales activités de recherche effectuées ces 3 dernières années :

- Enquête ethnobotanique sur les plantes utilisées dans le traitement de plaies au Mali
- Etude des combretaceae médicinales
- Contribution à la création des associations de tradipraticiens à Bamako, Bandiagara, Kolokani
- Screening biologique de quelques plantes médicinales au Mali : activités molluscide, antifongique, antibactérienne, anti-oxydante larvicide.
- Etude de l'activité anti-malarique in vitro et in vivo d'un remède traditionnel le « Malarial 5 »
- Etude de l'activité hypoglycémiant des feuilles de *Sclerocarya birrea*.
- Etude de l'activité sur le système du complément et la composition en polysaccharides de *Entada africana*.
- Etude de l'activité antipaludique de 4 plantes médicinales du Mali.
- Etude clinique de *Entada africana* dans le traitement des hépatites virales.
- Etude préliminaire sur l'activité d'un médicament à base de plantes pour la prise des sujets VIH-positifs

Problèmes majeurs :

- Insuffisance de personnel qualifié
- Exiguïté des locaux
- Insuffisance des équipements et réactifs de laboratoire
- Accès difficile aux communications internationales et à la documentation
- Insuffisance des matières premières
- Difficulté de commercialisation des MTA dans les régions
- Difficulté de collaboration entre praticiens de la médecine traditionnelle et la médecine conventionnelle.

## 2- Matériel et méthodes :

### 2.1- Matériel végétal :

Il est constitué de feuilles de *Sclerocarya birrea* récoltées à Siby, Sido, Blendio, Parana en 2008 et dans le jardin botanique du DMT en septembre et octobre 2009. Ces feuilles ont été séchées et pulvérisées au DMT ou se trouvent des échantillons de référence.

✓ **Caractères organoleptiques** : Nous avons déterminé le goût, la couleur et l'odeur du matériel végétal.

✓ **Caractères macroscopiques** : Nous avons procédé à la description des caractères macroscopiques des feuilles.

✓ **Caractères microscopiques** : Pour la détermination des éléments caractéristiques de la poudre des feuilles, nous avons utilisé un microscope optique, des lames et lamelles et le réactif de Gazet du Chatelier.

**Mode opératoire** : Une petite quantité de poudre a été prélevé à l'aide d'une aiguille et mise en suspension dans 2 gouttes du réactif universel de Gazet du Chatelier, sur la lame et couverte avec la lamelle.

Pour l'observation microscopique, la mise au point a été faite avec l'objectif 40xn. Les éléments ont été observés avec l'objectif 40xn et les éléments caractéristiques ont été dessinés.

### 2.2- Méthodes :

#### 2.2.1- Préparation des extraits :

##### ✓ Matériel :

Eprouvettes graduées, Balance analytique de précision (type SARTORIUS), Ballon de chauffage Ballon de 5L, Réfrigérant, Agitateur magnétique, Entonnoir, bêcher, Compresse, flacons, Papier filtre, coton, Eau distillée, Rotavapor, Ballon de lyophilisation, Lyophilisateur

##### ✓ Mode opératoire :

**Extraction aqueuse sur l'échantillon de Siby** : 200g de poudre de feuilles ont été ajoutés à 1L d'eau dans un ballon l'ensemble a été porté à l'ébullition pendant 15mn. Le décocté a été refroidie pendant 20mn, filtré sur compresse puis sur coton. Le filtrat obtenu a été concentré au Rotavapor congelé et lyophilisé. Cet extrait a servi pour l'évaluation de la toxicité sub-chronique.

**Extraction avec les solvants à polarité croissante** : 20g de poudre de feuilles ont été ajoutés à 100ml d'éther de pétrole. Une macération a été faite pendant une heure sous agitation magnétique à la température du laboratoire. Le macéré a été filtré sur papier filtre. Le marc a été successivement extrait de la même manière qu'avec l'éther de pétrole à chaque fois avec 100 ml de DCM, d'acétate d'éthyle et de n-butanol. Les différents filtrats obtenus ont été concentrés au

Rotavapor, portés à sec à l'air libre dans des flacons et conservés au dessiccateur. Ce procédé a été appliqué à tous les autres échantillons.

**Extraction après épuisement** : le marc obtenu après extraction avec les solvants à polarité croissante a été séché à l'air libre ; 100ml d'eau y ont été ajoutés et porter à ébullition pendant 15mn. Le filtrat obtenu a été concentré au Rotavapor congelé et lyophilisé.

**Extraction hydro-alcoolique** : 2g de poudre de feuilles ont été ajoutés à 20ml d'un mélange Ethanol-eau (70-30). Une macération a été faite pendant 30mn sous agitation magnétique à la température du laboratoire. Le macéré a été filtré sur papier filtre. Les filtrats ont été conservés dans des petits flacons.

Les extraits organiques, hydroalcooliques et obtenus après épuisement, ont été utilisés pour la chromatographie sur couche mince.

## **2.2.2- Etude phytochimique**

### **2.2.2.1- Réactions de caractérisation :**

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

#### **Matériels**

Balance analytique de précision (type SARTORIUS)

Tubes à essai, éprouvette

Entonnoir, coton, papier filtre

Pipettes, erlenmeyer, poire

Ampoule à décanter

Bain-marie Buchi 461 water bath

#### ✓ **Alcaloïdes**

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

#### **Solution à analyser**

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

Caractérisation

Dans 2 tubes à essai a été introduit 1 ml de filtrat. Cinq gouttes de réactif de Mayer (solution aqueuse de mercuri-iodure de potassium) ont été ajoutées dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Dragendorff (solution aqueuse d'iodo-bismuthate de potassium) dans le second. La présence d'alcaloïdes est caractérisée par la formation d'un précipité dans chaque tube.

✓ **Substances polyphénoliques**

**Solution à analyser** : c'est un infusé à 5 %

A 100ml d'eau bouillante contenue dans un erlenmeyer de 250 ml ont été ajouté 5g de poudre végétale. L'ébullition a été arrêtée ; le mélange a été mis en infusion pendant 15mn suivie d'une filtration. Le filtrat a été complété à 100 ml avec de l'eau distillée.

**Caractérisation**

▪ **Tanins** : sont des esters de l'acide gallique ou du glucose. Leurs propriétés biologiques sont liées à leur pouvoir de former des complexes avec les macromolécules en particulier les protéines. Dans un tube à essai contenant 1 ml de l'infusé, a été ajouté 1 ml d'une solution aqueuse, diluée de  $FeCl_3$  à 1 %. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

- **Tanins catéchiques**

A 5 ml de l'infusé à 5 % a été ajouté 1 ml d'alcool chlorhydrique (5 ml d'alcool 95°, 5 ml d'eau distillée, 5 ml d'HCl concentré). L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15 minutes.

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

A 30 ml de l'infusé à 5 % ont été ajoutés 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40 %, 15 ml d'acide chlorhydrique concentré). Un chauffage a été fait au bain-marie à 90°C pendant 15 minutes. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques.

- **Tanins galliques**

Le filtrat a été saturé d'acétate de sodium pulvérisé, 1 ml d'une solution de  $FeCl_3$  à 1 % y a été Ajouté goutte à goutte. 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.

A l'infusé à 5 % présentant une coloration plus ou moins foncée, a été ajouté un acide (5 ml de  $H_2SO_4$ ) puis une base (5 ml de  $NH_4OH$ ). Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, conclure à la présence d'anthocyane.

**Réaction à la cyanidine :**



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

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

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

▪ **Leucoanthocyanes** :

La réaction à la cyanidine a été effectuée sans ajout de copeaux de magnésium et chauffée pendant 15 mn au bain-marie.

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

Les catéchols donnent une teinte brun-rouge.

✓ **Dérivés anthracéniques**

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

▪ **Anthracéniques libres**

**Solution à analyser**

A 1g de poudre végétale a été ajouté du chloroforme (10 ml), l'ensemble a été chauffé pendant 3 minutes et filtré à chaud. Le filtrat a été complété à 10 ml.

**Caractérisation**

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

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

▪ **Anthracéniques combinés**

- **O-hétérosides**

**Solution à analyser**

Au résidu de la drogue épuisée par le chloroforme ont été ajoutés 10 ml d'eau et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré. Le tube à essai a été maintenu au bain-marie bouillant pendant 15 minutes. L'ensemble a été filtré et le filtrat complété à 10 ml.

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

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

Au cas où la réaction est négative ou faiblement positive, rechercher les *O*-hétérosides à génine réduite.

Prélever 5 ml de l'hydrolysate et ajouter 3 à 4 gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 10 %. Chauffer pendant 5 mn au bain-marie puis refroidir sous courant d'eau. Agiter avec 5 ml de chloroforme puis soutirer la phase chloroformique, l'introduire dans un tube à essai, ajouter 1 ml d'ammoniaque dilué et agiter.

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

#### **- C-hétérosides**

La solution à analyser est la phase aqueuse qui a été gardée au niveau des *O*-hétérosides. A cette solution a été ajouté de l'eau (10 ml) et du FeCl<sub>3</sub> (1 ml). Le tube à essai a été maintenu au bain-marie pendant 30 mn puis refroidi sous un courant d'eau. Le contenu du tube a été agité avec du CHCl<sub>3</sub> (5 ml) puis la phase chloroformique soutirée. A cette phase a été ajouté de l'ammoniaque diluée au 1/2 (1 ml). L'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de *C*-hétérosides.

#### ✓ **Stérols et triterpènes, caroténoïdes**

##### **Solution à analyser**

L'extrait à tester a été obtenu par macération de 1g de poudre de la drogue végétale dans 20ml d'éther pendant 24 heures. Le macéré a été filtré et complété à 20 ml avec de l'éther.

##### **Caractérisation**

###### ▪ **Stérols et triterpènes**

Dans un tube à essai, 10 ml d'extrait ont été évaporés à sec, le résidu a été dissout dans de l'anhydride acétique (1 ml), du chloroforme (1 ml) et partagé dans deux tubes à essai. L'un des tubes a servi de référence, dans le fond du second tube a été introduit à l'aide d'une pipette de l'acide sulfurique concentré (1ml).

A la zone de contact des deux liquides la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et triterpènes.

###### ▪ **Caroténoïdes**

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

#### ✓ **Hétérosides cardiotoniques**

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

### **Solution à analyser**

De la poudre végétale (1 g), de l'alcool à 60 % (10 ml) et une solution d'acétate neutre de plomb à 10 % (5 ml) ont été introduits dans un tube à essai puis portés à ébullition au bain-marie bouillant pendant 10 minutes. L'ensemble a été filtré sur coton.

### **Caractérisation**

Le filtrat obtenu a été agité avec du chloroforme (10 ml), partagé entre 3 tubes à essai et évaporé au bain-marie bouillant jusqu'à sec. Les résidus ont été repris avec de l'isopropanol (0,4 ml) et dans les 3 tubes ont été ajouté respectivement du réactif de Baljet (1 ml), du réactif de Kedde (1 ml) du réactif de Raymond-Marthoud (1 ml). Enfin dans chaque tube ont été introduites 5 gouttes de KOH à 5 % dans l'éthanol. Après 15 minutes environ observer, en présence d'hétérosides cardiotoniques, les colorations suivantes se développent :

Tube 1 : orangé

Tube 2 : rouge violacé

Tube 3 : violet fugace

### ✓ **Saponosides**

Ce sont des hétérosides caractérisés par leurs propriétés tensioactives.

### **Solution à analyser**

La solution à analyser est un décocté à 1 %. Dans un erlenmeyer, 100 ml d'eau distillée ont été portés à ébullition et 1g de la poudre de drogue végétale y a été projeté (1g). Une ébullition modérée a été maintenue pendant 15 mn. Le décocté a été filtré après refroidissement et ajusté à 100 ml.

### **Caractérisation**

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, ont été répartis successivement 1, 2, ....10 ml du décocté à 1%. Le volume de chaque tube a été ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube a été agité pendant 15 secondes dans le sens de la longueur puis laissé au repos pendant 15 minutes et la hauteur de la mousse a été mesurée.

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

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

✓ **Autres caractérisations**

▪ **Composés réducteurs**

La solution à analyser est un décocté à 10%. Ce décocté aqueux à 10 % (5 ml) a été évaporé au bain-marie jusqu'à sec. Au résidu a été ajouté 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml réactif A + 0,5 ml réactif B, mélange extemporané).

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

▪ **Oses et holosides**

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

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

▪ **Mucilages**

À 1 ml de décocté à 10 % a été ajouté de l'éthanol absolu (5 ml).

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

✓ **Coumarines**

5ml de l'extrait éthérique préparé au niveau des Stérols et triterpènes ont été évaporés à sec, 2ml d'eau chaude ont été ajoutés au résidu et partagé entre 2 tubes à essai. Dans un des tubes a été introduit 0.5ml de NH<sub>4</sub>OH à 25%. Une fluorescence intense dans ce tube à l'UV 366 nm indique la présence de coumarines.

✓ **Hétérosides cyanogénétiques**

Un mélange à volume égal d'eau et de toluène (5 ml) a été ajouté à de la poudre végétale (1 g) L'ensemble a été bien agité, la partie supérieure du tube à essai a été nettoyée et un papier picrosodé fraîchement préparé y a été fixé à l'aide d'un bouchon. La présence d'hétérosides cyanogénétiques est indiquée par la coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé.

2.2.2.2- **Chromatographie sur couche mince :**

✓ **Matériels et réactifs :**

Balance analytique de précision type SARTORIUS

Plaque chromatographique de silicagel G

Cuve et couvercle

Micropipettes de 10 µl

Séchoir de type Solis

Lampe UV type DESAGA Min UVIS

Pulvérisateur, règle et crayon

**Systèmes de solvants :** BAW (butanol -acide acétique -eau) (60-15-25) ; (Ether de pétrole - acétate d'éthyle) (2-1) ; (Ether de pétrole -acétate d'éthyle - acide formique) (30-15-5) ; Acétate d'éthyle -méthyle éthyle cétone -acide formique -eau (5-3-1-1).

**Solvants de dissolution :** Ether de pétrole, acétate d'éthyle, dichlorométhane, butanol, mélange (méthanol -eau)

**Révélateurs :** réactif de Godin, AlCl<sub>3</sub>, FeCl<sub>3</sub>, DPPH.

✓ **Mode opératoire :** 10mg de chaque extrait aqueux ont été dissous dans 5ml d'un mélange méthanol-eau (50 :50), et 10mg de chaque extrait organique dans 5ml du solvant correspondant, après 10 µl de chaque extrait ont été déposés sur la plaque qui a été placée dans une cuve contenant le solvant de migration. Après migration les plaques ont été séchées ; les substances chimiques identifiées sous UV 254 ont été encerclées en trait plein et celles identifiées à 366 nm en pointillés.

Les plaques ont été enfin révélées avec les révélateurs ci-dessus puis chauffées à l'aide du séchoir jusqu'à la mise en évidence des substances chimiques sous diverses colorations.

Chaque substance a été identifiée par son facteur de rétention (Rf), sa fluorescence sous UV et sa coloration après révélation.

2.2.3- Contrôle de qualité de la matière première :

2.2.3.1- Dosage de l'eau

✓ **Entraînement azéotropique :**

**Matériels :**

Ballon de 250 millilitres

Réfrigérant à reflux tube droit de 20 cm de long

Tube cylindre gradué

Chauffe ballon

**Mode opératoire :**

Dans un ballon de 500ml, ont été introduits du toluène (100ml) et de l'eau distillée (1ml).

L'ensemble a été porté à ébullition pendant 1h sous réfrigérant.

Après 30mn de repos, le niveau d'eau (V1) a été lu, 5g de poudre végétale ont été ajoutés au contenu du ballon et une ébullition d'une heure engagée. Après 30mn de refroidissement, le

niveau de l'eau (V2) a été lu. Le volume d'eau contenue dans la prise d'essai est calculé selon la formule suivante :

$$V = V_2 - V_1$$

Le pourcentage d'eau est calculé selon la formule : % eau =  $(V_2 - V_1 / PE) \times 100$

Avec PE = prise d'essai.

✓ **Méthode gravimétrique :**

**Matériels :**

- . Balance analytique de précision (type SARTORIUS)
- . Four
- . Verres de montre
- . Pincettes
- . Spatule métallique
- . Dessiccateur

**Mode opératoire :** 5 prises d'essai (sensiblement égale à 3g) ont été respectivement introduites dans 5 verres de montre préalablement tarés (T<sub>1</sub> à T<sub>5</sub>). Les masses de prises d'essai plus les tares ont été notés P<sub>1</sub> à P<sub>5</sub>.

Après 24h à l'étuve à température de 103°C ± 2°C, une nouvelle pesée a été effectuée et les poids notés P'<sub>1</sub> à P'<sub>5</sub>.

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

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

$$M = P - P'$$

La masse de la prise d'essai est MPE = P - T ; le pourcentage d'eau contenu dans la poudre est

% d'eau =  $(\text{masse d'eau} / MPE) \times 100$  Avec MPE : masse de la prise d'essai

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

**2.2.3.2- Dosage des cendres :**

✓ **Cendres totales :** Les prises d'essais du dosage de l'eau par gravimétrie ont été réintroduites dans le four et calcinées à 600°C pendant 6 heures. Après refroidissement dans un dessiccateur nous les avons pesés. La quantité de cendre obtenue est pesée et la moyenne rapportée à 100g de prise d'essai.

✓ **Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10% :** La cendre totale de la prise d'essai a été recueillie dans une capsule. Nous y avons ajouté 20 ml d'acide chlorhydrique à 10% puis porté l'ensemble à l'ébullition au bain-marie pendant 15 minutes. Le résidu a été après recueilli sur un filtre sans cendre dans un creuset taré et calciné au four à 600°C pendant 6 heures.

Après refroidissement dans un dessiccateur le creuset a été de nouveau pesé et la masse de cendre obtenue a été rapportée à 100g de prise d'essai.

✓ **Cendres sulfuriques** : dans un creuset taré, ont été introduits 3g de poudre végétale et quelques ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dilué au 1 /2 (la quantité nécessaire pour mouiller la poudre) y a été ajouté. L'ensemble a été mélangé, séché à l'étuve pendant 24 heures et calciné au four pendant 6 heures. Après les 6 heures le creuset a été pesé de nouveau et la masse de cendre obtenue a été rapportée à 100g de prise d'essai.

#### **2.2.4- Etude de la toxicité sub-chronique :**

##### **Matériel animal :**

Cette étude a été réalisée sur 40 souris blanches (20 mâles et 20 femelles) ; les souris ont été réparties en 4 lots de 10 souris (5 mâles et 5 femelles) pour chaque lot.

##### **Phase d'observation :**

Pendant la phase d'observation, les animaux ont été pesés par semaine pendant quatre semaines avant de commencer l'étude de la toxicité sub-chronique.

##### **Evaluation de la toxicité sub-chronique :**

##### **Mode opératoire : (OMS, 2000)**

Chaque lot de 10 souris (5 mâles et 5 femelles) a été traité par une dose du décocté aqueux lyophilisé des feuilles de l'échantillon de *Sclerocarya birrea* de Siby :

Un lot a reçu la dose de 50 mg/kg, correspondant à la moitié de la dose thérapeutique

Un lot a reçu la dose de 100 mg/kg, correspondant à la dose thérapeutique

Un lot, a reçu la dose de 500 mg/kg correspondant à 5 fois la dose thérapeutique

Un lot a servi de témoin et a reçu de l'eau distillée à la dose 20 ml/kg

L'administration des différentes doses a été effectuée par gavage chaque matin (6 jours sur 7) pendant 45 jours. Les animaux étaient observés après l'administration et en fin de journée, leur poids corporel était déterminé chaque jour. A la fin des 45 jours, les souris ont été sacrifiées, leur sang a été prélevé pour les analyses hématologiques et biochimiques ; les organes (foie, rate et reins) ont été pesés et des échantillons d'organes fixés dans du formol à 10%, ont servi pour l'étude histopathologique.

Afin de confirmer la présence d'anémie chez les lots femelles traités avec la dose de 100mg/kg, un deuxième essai a été effectué sur 15 souris femelles réparties en 3 lots. Chaque lot de 5 femelles a reçu l'extrait à la dose de 100mg/kg par gavage chaque matin (6 jours sur 7) pendant trois semaines. Les mêmes observations ont été effectuées, à la fin des 3 semaines leur sang a été prélevé pour les analyses hématologiques et biochimiques.





## II- Résultats :

### 1. Données botaniques :

**1.1. Caractères organoleptiques :** Les feuilles de *Sclerocarya birrea* sont de couleur verte, de saveur astringente et d'odeur peu marquée.

**1.2. Caractères macroscopiques :** Les feuilles sont alternes, imparipennées reparties au bout des rameaux très épais, avec 10 à 12 paires de folioles opposées ou subopposées. Elles ont un pétiole très court.

**1.3. Caractères microscopiques :** Les éléments microscopiques caractéristiques ont été :

- des fragments d'épiderme : assez nombreux
- des cristaux d'oxalate de calcium : nombreux
- des fibres : assez nombreux
- des grains d'amidon : nombreux
- des poils tecteurs : peu nombreux.

**2-Extraits :**

2.1. Extraits aqueux : Pour le décocté total, nous avons obtenu un rendement de 20% avec la poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea* récoltées à Siby.

**2.2. Extraits avec les solvants à polarité croissante :** Les rendements des extractions des différents échantillons avec les solvants à polarité croissante sont reportés dans le tableau N°6.

Tableau N° 7 : Rendements des extractions par les solvants à polarité croissante

<b>Extraits</b>	<b>Rendement en %</b>			
	Siby	Blendio	Sido	Parana
Ether de pétrole	0.95	0.75	1.00	0.65
DCM	1.15	1.15	1.05	0.95
Acétate d'éthyle	0.65	0.55	0.55	0.45
n- Butanol	0.55	0.50	0.90	0.55
Décocté après épuisement	18.15	19.35	23.40	16.5

Les extractions avec l'eau ont donné les meilleurs rendements avec un maximum de 23.40% pour l'échantillon de Sido.

### 3- Constituants chimiques

3.1. Réactions en tube : Les résultats des réactions de caractérisation en tube sont reportés dans le tableau N°8.

Tableau N° 8 : Constituants chimiques caractérisés dans les différents échantillons de feuilles de *Sclerocarya birrea*

Groupes chimiques	Echantillons et Résultats des recherches					
	Blendio	Parana	Siby	Sido	DMT1	DMT2
Flavonoïdes	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Saponosides (IM)	—	142.85	200	125	333.33	—
Tanins	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Tanins catéchiques	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Oses et holosides	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Polyuronides (mucilages)	+++	+++	+++	+++	+++	+++
HC : Raymond Marthoud	-	++	++	-	+++	+++
HC : Keede	-	++	+	-	-	-
HC : Baljet	-	-	+	-	-	+++
Leucoanthocyanes	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Les résultats: Franchement positive (+++); Positive (++) ; Louche (+) ; Test négatif (-) ; IM = indice de mousse.HC = Hétérosides cardiotoniques.

Les réactions des anthracénosides combinés et libres, des caroténoïdes, des composés réducteurs, des hétérosides cyanogénétiques, des coumarines, des anthocyanes, Stérols et triterpènes, des tanins galliques et des alcaloïdes ont été négatives.

### 3.2. Résultats de la chromatographie sur couche mince (CCM)

Dans les **tableaux N° 9, 10, 11 et 12** nous reportons les informations de la chromatographie sur couche mince des extraits éther de pétrole, dichlorométhane (DCM), acétate d'éthyle et n-butanol des échantillons de feuilles de *Sclerocarya birrea* récoltées à Siby, Blendio, Sido et Parana. Les informations concernent les facteurs de rétention (Rf), la visibilité à l'UV 254 nm, les fluorescences à l'UV 366 nm et les colorations des différentes taches après la révélation au Godin.

**TABLEAU N°9:** Chromatographie sur couche mince des extraits Ether de pétrole des échantillons dans le système de solvants Ether de pétrole- Acétate d'éthyle (2-1)

Rf	UV 254 nm				UV 366 nm				Après révélation avec Godin			
	Siby	Bdio	Sido	Prna	Siby	Bdio	Sido	Prna	Siby	Bdio	Sido	Prna
0.98		Vis	Vis	Vis	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune
0.92	Vis	Vis	Vis	Vis	RC	BS	RC					
0.81									cedre	cedre		Cendre
0.78					Blanc							
0.76	Vis								jaune	jaune	Jaune	Jaune
0.72									J C			
0.67									cedre			
0.62									Cendre			
0.60	Vis				Marron					V T	Cendre	
0.58		Vis	Vis	Vis		OC	Marron	Rose				Cendre
0.46	Vis	Vis	Vis									
0.43										Vert	Vert	Vert
0.31	vis				Rose					Cendre	Cendre	
0.28		Vis	Vis				Rose					
0.20									VT			
0.18										Cendre		Cendre
0.10					OC							

Vis= visible ; BS= blanc sale ; OC= orange clair ; VT= traces vertes ; JC= jaune clair, RC= rose clair

Les différentes colorations obtenues avec le réactif de Godin sont visibles sur le chromatogramme N°1

**TABLEAU N°10:** Chromatographie sur couche mince des extraits DCM des échantillons dans le système de solvants Ether de pétrole- Acétate d'éthyle (2-1)

Rf	UV 254				UV 366				Révélation avec Godin			
	Siby	Bdio	Sido	Prna	Siby	Bdio	Sido	Prna	Siby	Bdio	Sido	Prna
0.98	Vis	Vis	Vis	Vis	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune
0.92	Vis	Vis	Vis	Vis	Rose	RC	Rose	RC				
0.85											JC	
0.81									Cendre	Cendre	Cendre	Cendre
0.78												
0.76										Jaune	Jaune	Jaune
0.72	Vis	Vis	Vis	Vis	RC	Rose			Jaune			
0.67			Vis				Rose		JC			
0.60					Marron					VT	VT	Cendre
0.55											VT	
0.58		Vis	Vis	Vis		Marron	Marron	Marron	Cendre			
0.46	Vis	Vis	Vis	Vis	Orange	Orange	Orange	Orange				Vert
0.43									Vert	Vert		
0.40						BS		BS				
0.31	Vis				Orange	OC	OC	OC	VT	VT	Vert	VT
0.28		Vis	Vis	Vis								
0.20					BS	BS						
0.18	Vis	Vis	Vis	Vis					VT	VT	Vert	VT
0.10	Vis	Vis	Vis	Vis	Rose	Rose	Rose	Rose	Cendre	Cendre	Cendre	Cendre
0.062					Rose							

Vis = visible ; RC = rose clair ; BS = blanc sale ; OC = orange clair ; JC = jaune clair ; VT = traces vertes

Les différentes colorations obtenues avec le réactif de Godin sont visibles sur le chromatogramme N°1

**TABLEAU N°11** : Chromatographie sur couche mince des extraits acétate des échantillons dans le système de solvants Ether de pétrole- Acétate d'éthyle (2-1)

Rf	UV 254				UV 366				Révélation avec Godin			
	Siby	Bdio	Sido	Prna	Siby	Bdio	Sido	Prna	Siby	Bdio	Sido	Prna
0.98		Vis			Blanc	Blanc						
0.97	Vis		Vis	Vis			Blanc	Blanc	Jaune	Jaune	Jaune	jaune
0.93	Vis	Vis			Rose			RC				
0.92			Vis				Rose					
0.91				Vis								
0.87											Jaune	
0.81									Cendre	Cendre	Jaune	
0.75									Jaune	Jaune	Cendre	Jaune
0.71		Vis	Vis									
0.70	Vis				Marron							
0.68				Vis		OC		RC	JC		Jaune	
0.67			Vis				MR					
0.65											Jaune	
0.60	Vis			Vis					Cendre	Cendre		Cendre
0.57		Vis	Vis			Marron	Marron	Marron				
0.56									VC	VT	Vert	
0.55					Rose		Rose					
0.53			Vis									
0.50					Blanc							Vert
0.47	Vis			Vis	Orange	Orange		Orange	Vert	Vert	Vert	
0.46			Vis				Orange					
0.45		Vis										
0.42						BS		BS				
0.40											VC	
0.35												VT
0.33									VC	VC	Vert	
0.30					Orange	OC	OC	OC				
0.28	Vis	Vis	Vis	Vis								Cendre
0.20	Vis				BS						Vert	
0.18		Vis	Vis	Vis					VT	VT		Cendre
0.12					OC				Cendre	Cendre	Cendre	
0.10	Vis	Vis	Vis	Vis		Rose	Rose	Rose				
0.062					Rose						Vert	

Vis = visible ; RC = rose clair ; BS = blanc sale ; OC = orange clair ; JC = jaune clair ; VT = traces vertes  
Les différentes colorations obtenues avec le réactif de Godin sont visibles sur le **chromatogramme N°1**

**TABLEAU N°12** : Chromatographie sur couche mince des extraits butanol des échantillons dans le système de solvants Ether de pétrole- Acétate d'éthyle (2-1)

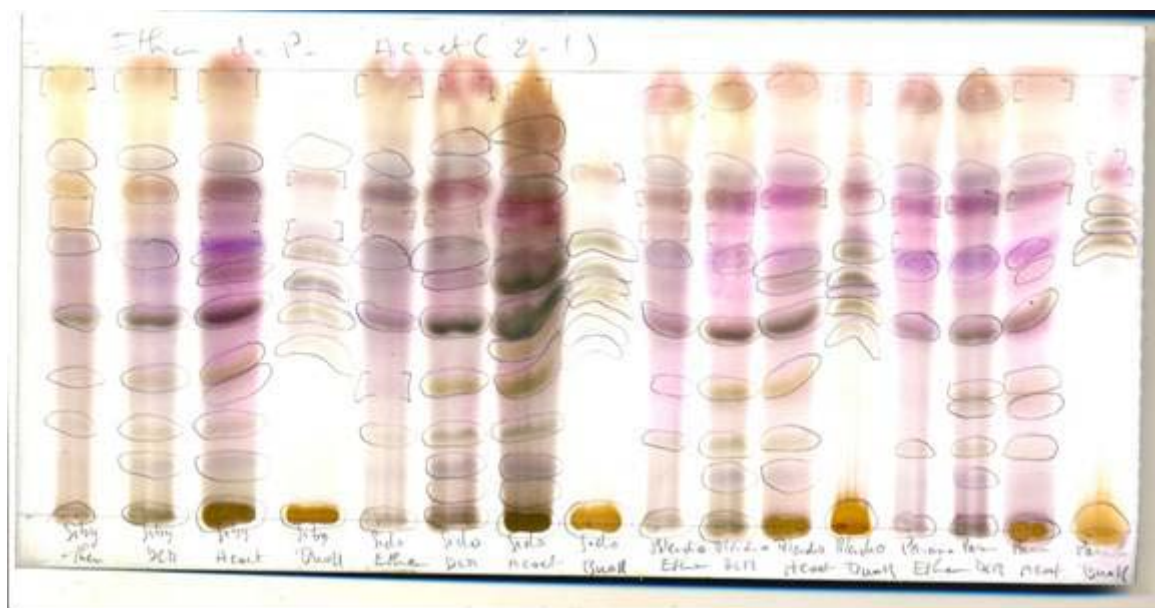
Rf	UV 254				UV 366				Révélation avec Godin			
	Siby	Bdio	Sido	Prna	Siby	Bdio	Sido	Prna	Siby	Bdio	Sido	Prna
0.98	Vis	Vis			BS	Blanc				Jaune		
0.97			Vis	Vis			Blanc	Blanc				
0.95	Vis											
0.93		Vis					RC	BS				
0.92			Vis	Vis								
0.87							RC					
0.83			Vis									
0.81									Cendre	Cendre	Jaune	
0.78												Jaune
0.75									Jaune			
0.72							Marron					VT
0.70	Vis	Vis			MC	Orange		Rose				
0.68			Vis	Vis								Vert
0.65							Marron					Vert
0.62	Vis	Vis	Vis	Vis	Marron	RM		Marron		Vert	Vert	
0.60			Vis				Orange		VT			
0.58	Vis				Rose	Rose						
0.56			Vis				Orange			Vert	Vert	
0.55		Vis				Orange		Orange				
0.53	Vis			Vis	Orange				Vert		VT	
0.50										VT	VT	
0.46			Vis					Rose				
0.45				Vis		BS			Cendre			
0.43	Vis	Vis			BS					Vert		
0.37									VT			
0.35			Vis									
0.30												
0.28			Vis									
0.12	Vis				Rose			Rose				
0.10		Vis		Vis		RC						
0.05					BS							

Vis = visible ; RC = rose clair ; BS = blanc sale ; OC = orange clair ; JC = jaune clair ; VT = traces vertes

Les différentes colorations obtenues avec le réactif de Godin sont visibles sur le **chromatogramme N°1**

- **Dans le système de solvants : Ether de pétrole- Acétate d'éthyle (2-1) :**

Les chromatogrammes des extraits éther de pétrole, dichlorométhane (DCM), acétate d'éthyle et n-butanol des échantillons de feuilles de *Sclerocarya birrea* récoltées à Siby, Blendio, Sido et Parana. Les colorations des taches obtenues après la révélation au réactif de Godin.



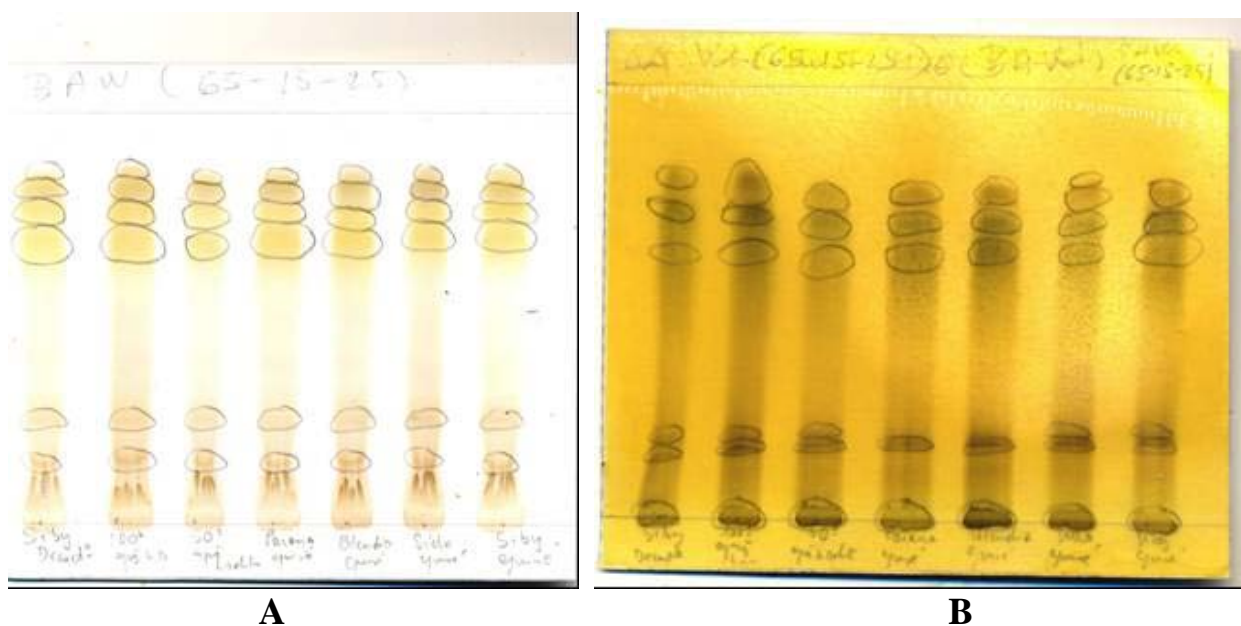
Front du solvant : 8cm  
Support : plaque de silice G<sub>60</sub> F<sub>254</sub> 0.25 mm  
Dépôt : 10 ul  
Eluant : Ether de pétrole -acétate d'éthyle (2-1)  
Révélateur : Godin

**Chromatogramme N°1 :** Chromatogramme des extraits éther de pétrole, dichlorométhane (DCM), acétate d'éthyle et butanol des échantillons de feuilles de *Sclerocarya birrea*

- **Dans le système de solvants n-Butanol : Acide Acétique – Eau (BAW) 65 :15 :25**

La chromatographie sur couche mince de la digestion à 50° du marc de l'échantillon de Siby et des décoctés obtenus avec les marcs des échantillons de Siby, Blendio, Sido et Parana, après épuisement par les solvants organiques, dans le système de solvants n-Butanol : Acide Acétique : Eau (BAW) 65 :15 :25, a donné des tâches de couleur jaune après révélation avec le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) et des taches de couleur noire après révélation avec le trichlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>).





Front du solvant : 8cm  
Support : plaque de silice  $\text{G}_{60}$   $\text{F}_{254}$  0.25 mm  
Dépôt : 10  $\mu\text{l}$   
Eluant : BAW (65-15-25)  
Révélateurs : A)  $\text{AlCl}_3$  ; B)  $\text{FeCl}_3$

**Chromatogramme N°2:** Chromatogrammes des décoctés après épuisement avec les solvants organiques, révélés avec le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) (**A**) et avec le trichlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) (**B**).

Les taches correspondant aux facteurs de rétention 0.86 ; 0.82; 0.76; 0.68; 0.25 et 0.15, visibles à l'UV 254 nm et de coloration jaune après la révélation avec  $\text{AlCl}_3$  pourraient être des flavonoïdes présents dans les extraits des feuilles de *Sclerocarya birrea* (Chromatogramme N°2 **A**).

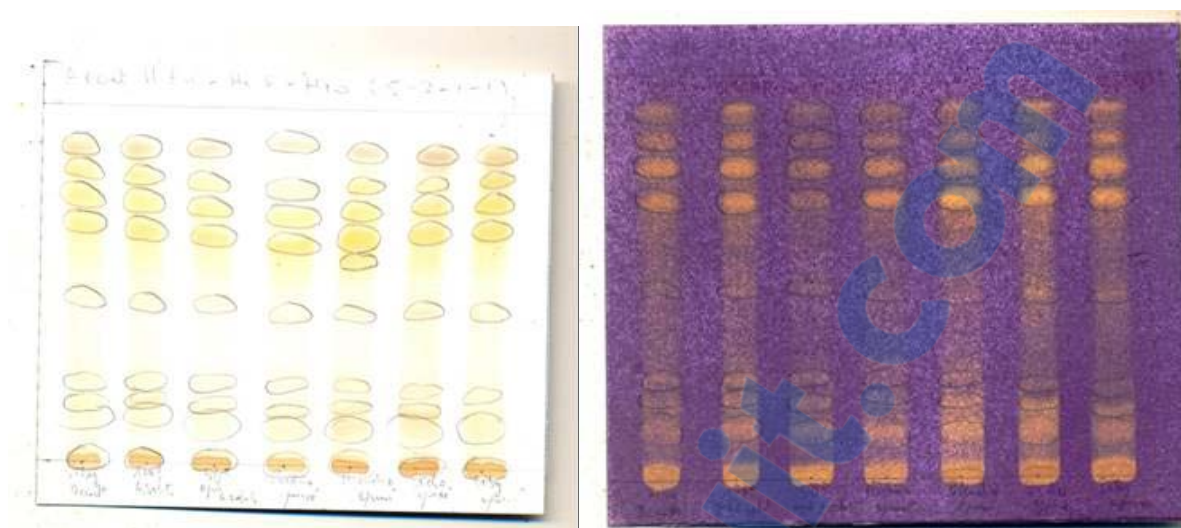
Les taches correspondant aux facteurs de rétention 0.80 ; 0.75 ; 0.71 ; 0.68 ; 0.61 ; 0.60 0.20 et 0.16 visibles à l'UV 254 nm et de coloration noire après la révélation avec le trichlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) pourraient correspondre aux tanins présents dans les extraits des feuilles de *Sclerocarya birrea* (Chromatogramme N°2 **B**.)

- Dans le système de solvants Acétate d'Ethyle : MéthyleEthylCétone : Acide Formique : Eau (Acoet-MEC-AcF-H<sub>2</sub>O) (5 :3 :1 :1).

La chromatographie sur couche mince des décoctés (à 50° et à 100°) obtenus avec les marcs des échantillons de Siby, Blendio, Sido et Parana, après épuisement par les solvants organiques, dans le système de solvants Acétate d'Ethyle : MéthyleEthylCétone : Acide Formique : Eau (Acoet-MEC-AcF-H<sub>2</sub>O) (5 :3 :1 :1), a donné de nombreuses tâches visibles à l'UV 254 nm (**Tableau N°13**), certaines de ces tâches présentent une couleur jaune après révélation avec le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) (**Chromatogramme N°3**).

**TABLEAU N°13** : Chromatographie sur couche mince des décoctés (à 50° et à 100°) des échantillons dans le système de solvants Acoet-MEC-AcF-H<sub>2</sub>O) (5 :3 :1 :1).

RF	UV 254						
	Siby décocté total	Siby 100°	Siby 50°	Siby épuisé	Blendio épuisé	Sido épuisé	Parana épuisé
0.91							Vis
0.88	Vis	Vis	Vis				
0.87				Vis	Vis	Vis	
0.82	Vis						
0.81		Vis		Vis			
0.80						Vis	
0.79			Vis				
0.78					Vis		
0.77							Vis
0.75	Vis			Vis		Vis	
0.72		Vis	Vis				
0.71					Vis		
0.70							Vis
0.67	Vis						
0.66		Vis		Vis		Vis	
0.65			Vis		Vis		
0.62							Vis
0.46	Vis	Vis	Vis				
0.45						Vis	
0.43				Vis			
0.42					Vis		Vis
0.22	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis
0.16	Vis	Vis	Vis		Vis	Vis	Vis
0.12	Vis	Vis					
0.10			Vis	Vis	Vis	Vis	Vis



A

B

Front du solvant : 8cm  
Support : plaque de silice G<sub>60</sub> F<sub>254</sub> 0.25 mm  
Dépôt : 10 ul  
Eluant : ACOET-MEC-AcF-H<sub>2</sub>O (5-3-1-1)  
Révélateurs : **A**) AlCl<sub>3</sub> ; **B**) DPPH

**Chromatogramme N°3** : Chromatogrammes des décoctés après épuisement avec les solvants organiques, révélés par le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) (**A**) et le DPPH (**B**).

Les tâches visibles à l'UV 254 nm et qui ont donné la coloration jaune après la révélation avec AlCl<sub>3</sub> pourraient être des flavonoïdes présents dans les extraits des feuilles de *Sclerocarya birrea* (Chromatogramme N°3 **A** ; les tâches à Rf 0.92; 0.85; 0.78; 0.68; 0.63; 0.25; 0.20; 0.12 ont également décoloré le DPPH, tâches jaunes sur fond violet (Chromatogramme N°3 **B**)

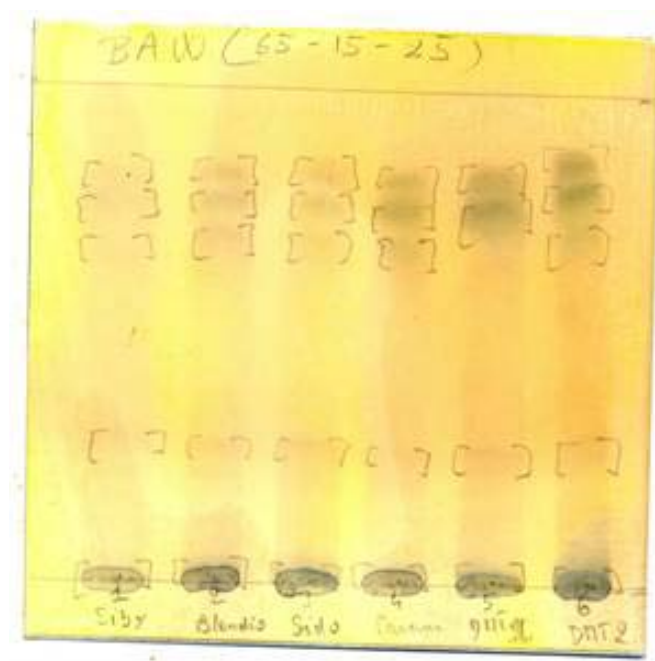
- **Dans le système de solvants BAW (65-15-25).**

Dans le tableau N°14, nous reportons les informations de la chromatographie sur couche mince des extraits hydroalcooliques des échantillons de feuilles de *Sclerocarya birrea* récoltées à Siby, Blendio, Sido et Parana et de deux échantillons récoltés dans le jardin du Département Médecine Traditionnelle (DMT) en Septembre (DMT1) et en Octobre (DMT2) dans le système de solvants BAW (65-15-25). Les informations concernent les facteurs de rétention (Rf), la visibilité à l'UV 254 nm les colorations des différentes tâches après la révélation avec le trichlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) (Chromatogramme N°4); après la révélation avec le réactif de Godin (Chromatogramme N°5 **A**) et après la révélation avec le DPPH (Chromatogramme N°5 **B**)

**TABEAU N°14 :** Chromatographie sur couche mince des extraits hydro-alcooliques des échantillons dans le système de solvants BAW (65-15-25).

Rf	UV 254						Révélation avec FeCl3					
	Sby	Bdio	Sdo	Pna	Dmt1	Dmt2	Sby	Bdio	Sdo	Pna	Dmt1	Dmt2
0.98	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis						
0.91			Vis									
0.87	Vis	Vis		Vis	Vis	Vis						
0.85												N
0.81			Vis	Vis	Vis			N		N	N	
0.80	Vis	Vis				Vis						
0.78												N
0.75								N	N	N		
0.71											N	
0.68		Vis	Vis	Vis		Vis						N
0.66	Vis				Vis					N		
0.28	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis						
0.22	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis							
0.16	Vis		Vis	Vis	Vis	Vis						
0.13		Vis										
0.12	Vis		Vis									
0.08		Vis										

Vis = visible et N= noir



Front du solvant : 8cm

Support : plaque de silice G<sub>60</sub> F<sub>254</sub> 0.25 mm

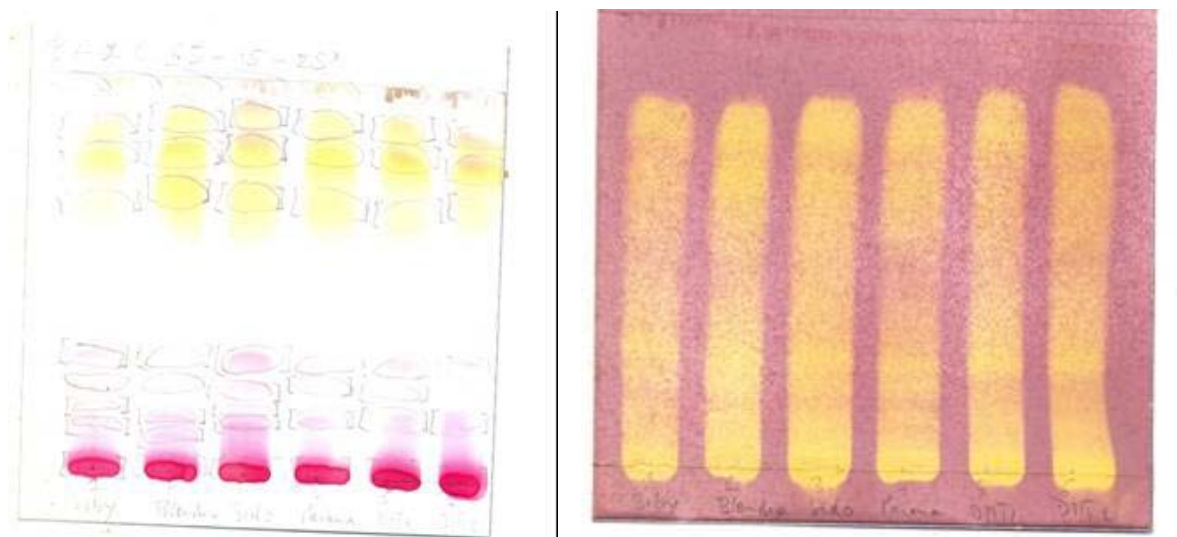
Dépôt : 10 ul

Eluant : BAW (65-15-25)

Révélateur : FeCl<sub>3</sub>

**Chromatogramme N°4:** Chromatogramme des extraits hydro-alcooliques révéle trichlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>)

Les tâches de coloration noire après la révélation avec le trichlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) pourraient correspondre aux tanins présents dans les extraits des feuilles de *Sclerocarya birrea* (Chromatogramme N°4)



**A**

**B**

Front du solvant : 8cm  
Support : plaque de silice G<sub>60</sub> F<sub>254</sub> 0.25 mm  
Dépôt : 10 ul  
Eluant : BAW (65-15-25)  
Révélateur : A) Godin ; B) DPPH

**Chromatogramme N°5:** Chromatogrammes des extraits hydro-alcooliques révélés avec le réactif de Godin (**A**) et avec le DPPH (**B**)

La révélation avec le réactif de Godin montre une prédominance des tâches de couleur jaune (flavonoïdes) à la partie supérieure de la plaque et rose (tanins) au bas de la plaque et aux points de dépôt des extraits (Chromatogramme N°5 **A**) ; l'ensemble des constituants des extraits décolorent le DPPH, tâches jaunes sur fond violet (Chromatogramme N°5 **B**) correspondant aux constituants antiradicalaires.

### Chromatogrammes de comparaison

Les chromatogrammes de comparaison des échantillons spontanés de feuilles de *Sclerocarya birrea* récoltés à Siby, Sido, Blendio, Parana en 2008 et de ceux récoltés dans le jardin du DMT en Septembre (DMT1) et Octobre, 2009 (DMT2) : Les chromatogrammes ont été obtenus dans le système de solvants Acétate d'Ethyle : MéthyleEthylCétone : Acide Formique : Eau (5 :3 :1 :1). Dans le tableau N°15, nous reportons les informations de la chromatographie sur couche mince des extraits hydroalcooliques des échantillons de feuilles de *Sclerocarya birrea* récoltés à Siby, Blendio, Sido et Parana et de deux échantillons récoltés dans le jardin du Département Médecine Traditionnelle (DMT) en Septembre (DMT1) et en Octobre (DMT2) dans le système de solvants Acoet-Mec-AcF-H<sub>2</sub>O (5-3-1-1).

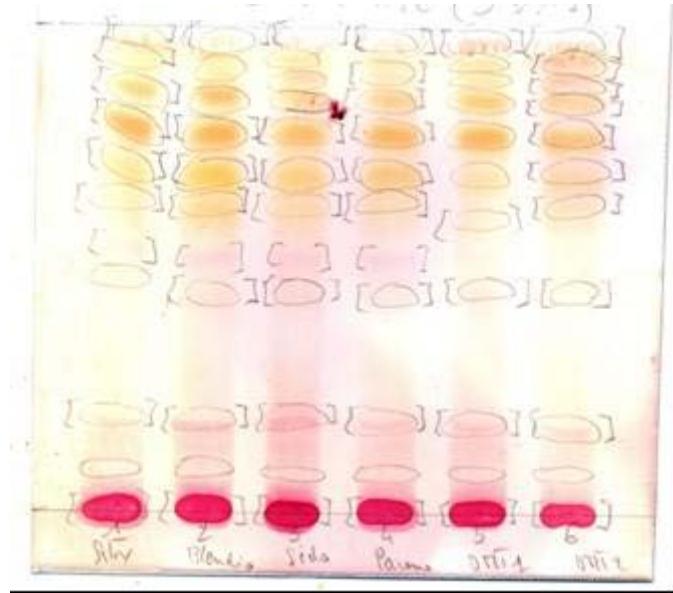
Les informations concernent les facteurs de rétention (Rf), la visibilité à l'UV 254 nm les colorations des différentes tâches après la révélation avec le réactif de Godin (Chromatogramme N°6)

**TABLEAU N°15:** Chromatographie sur couche mince des extraits hydro-alcooliques des échantillons dans le système de solvants Acoet-Mec-AcF-H<sub>2</sub>O (5-3-1-1).

RF	UV 254						Révélation avec Godin					
	Sby	Bdio	Sdo	Pna	DMT1	DMT2	Sby	Bdio	Sdo	Pna	DMT1	DMT2
0.98	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis	J	J	J	J	J	J
0.93	Vis		Vis		Vis	Vis	J		J		J	J
0.92		Vis						J				
0.91				Vis						J		
0.90			Vis		Vis	Vis			J		J	J
0.87	Vis						J					
0.85		Vis	Vis	Vis	Vis	Vis		J	J	J	J	J
0.81	Vis						J					
0.78		Vis	Vis	Vis	Vis	Vis		J	J	J	J	J
0.72	Vis						J					
0.71		Vis	Vis	Vis	Vis	Vis	J	J	J	J	J	J
0.66	Vis						JT					
0.65		Vis	Vis	Vis		Vis		J	JT	JT		JT
0.60					Vis						JT	
0.53							RT					
0.52								R	R	R		
0.48	Vis											
0.46		Vis	Vis	Vis	Vis	Vis		R	R	R		
0.18	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis		R	R	R	R	R
0.08	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis	Vis						

Vis = visible ; J = jaune ; R = rose ; RT = traces roses ; JT = traces jaunes

Les différentes colorations obtenues avec le réactif de Godin sont visibles sur le chromatogramme N°6.



Front du solvant : 8cm  
Support : plaque de silice G<sub>60</sub> F<sub>254</sub> 0.25 mm  
Dépôt : 10 ul  
Eluant : Acoet-Mec-AcF-H<sub>2</sub>O (5-3-1-1).  
Révélateur : Godin

**Chromatogramme N°6:** Chromatogramme des extraits hydro-alcooliques révéle avec le réactif de Godin.

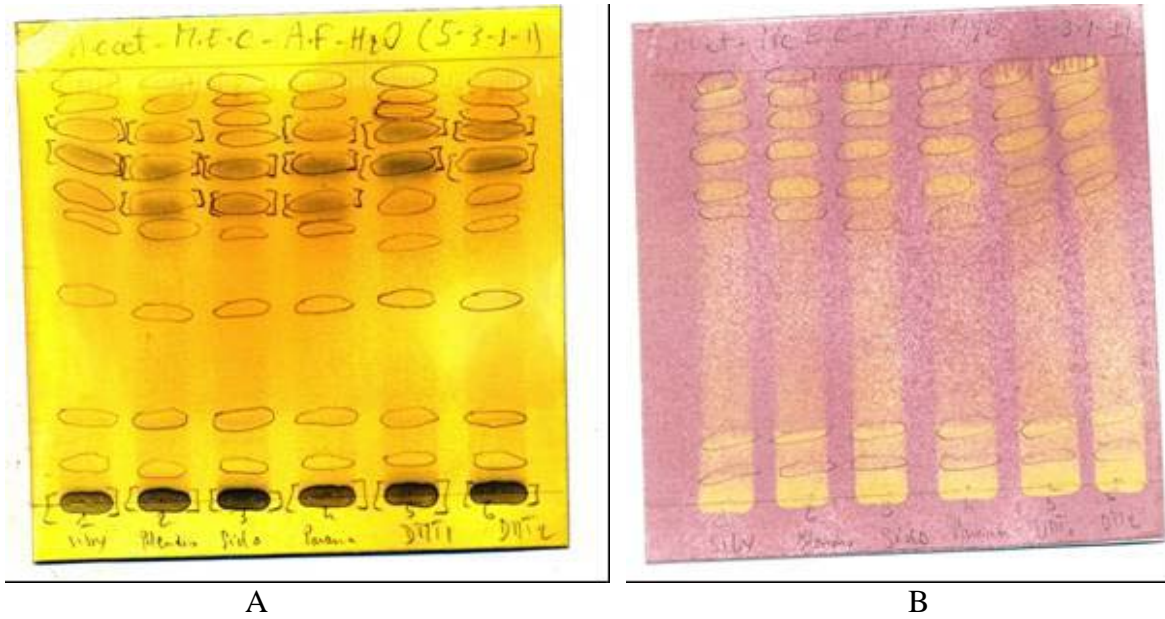
Dans le tableau N°16, nous reportons les informations de la chromatographie sur couche mince des extraits hydroalcooliques des échantillons de feuilles de *Sclerocarya birrea* récoltées à Siby, Blendio, Sido et Parana et de deux échantillons récoltés dans le jardin du Département Médecine Traditionnelle (DMT) en Septembre (DMT1) et en Octobre (DMT2) dans le système de solvants Acoet-Mec-AcF-H<sub>2</sub>O (5-3-1-1). Les informations concernent les facteurs de rétention (R<sub>f</sub>), les colorations après la révélation avec le trichlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) (Chromatogramme N°7 **A**) et après la révélation avec le DPPH (Chromatogramme N°7 **B**).



**TABLEAU N°16 :** Chromatographie sur couche mince des extraits hydro-alcooliques des échantillons dans le système de solvants Acoet-Mec-AcF-H<sub>2</sub>O (5-3-1-1).

RF	Révélation avec le FeCl <sub>3</sub>						Révélation avec le DPPH					
	Sby	Bdio	Sdo	Pna	DMT1	DMT2	Sby	Bdio	Sdo	Pna	DMT1	DMT2
0.98							Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune
0.93							Jaune	Jaune	Jaune		Jaune	Jaune
0.92										Jaune		
0.87	Noir						Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune
0.85		Noir		Noir	Noir	Noir						
0.81							Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune
0.78		Noir	Noir	Noir	Noir	Noir						
0.72							Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune
0.71		Noir	Noir	Noir								
0.68							Jaune					
0.66								Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune
0.53											Jaune	Jaune
0.15							Jaune	Jaune	Jaune	Jaune		
0.07							Jaune	Jaune	Jaune	Jaune		

Parmi les tâches qui décolorent le DPPH, certaines correspondent aux tanins coloration noire surtout aux points de dépôt des extraits comme cela est illustré sur le Chromatogramme N° 7



Front du solvant : 8cm  
Support : plaque de silice G<sub>60</sub> F<sub>254</sub> 0.25 mm  
Dépôt : 10 ul  
Eluant : ACOET-MEC-AcF-H<sub>2</sub>O  
Révélateur : **A)** FeCl<sub>3</sub> ; **B)** DPPH

**Chromatogramme N°7:** Chromatogrammes des extraits hydro-alcooliques révélés avec le FeCl<sub>3</sub> (**A**) et avec le DPPH (**B**)

### 5- Contrôle de qualité de la matière première

Les teneurs en eau, en cendres des échantillons sont reportées dans le tableau N°17.

Tableau N° 17: Teneurs en eau, en cendres des différents échantillons de feuilles de *Sclerocarya birrea*

Echantillons	Teneurs en %				
	Eau (MA)	Eau (MP)	Cendres totales	Cendres HCl	Cendres sulfuriques
Siby	6	7.47	8.07	1.33	12.24
Blendio	8	7.88	7.07	0.87	10.66
Sido	6	8.42	6.68	0.86	7.66
Parana	8	7.41	7.28	0.87	10.84

MA = Méthode azéotrope ; MP= méthode pondérale ;

L'échantillon de Siby renferme le plus de cendres

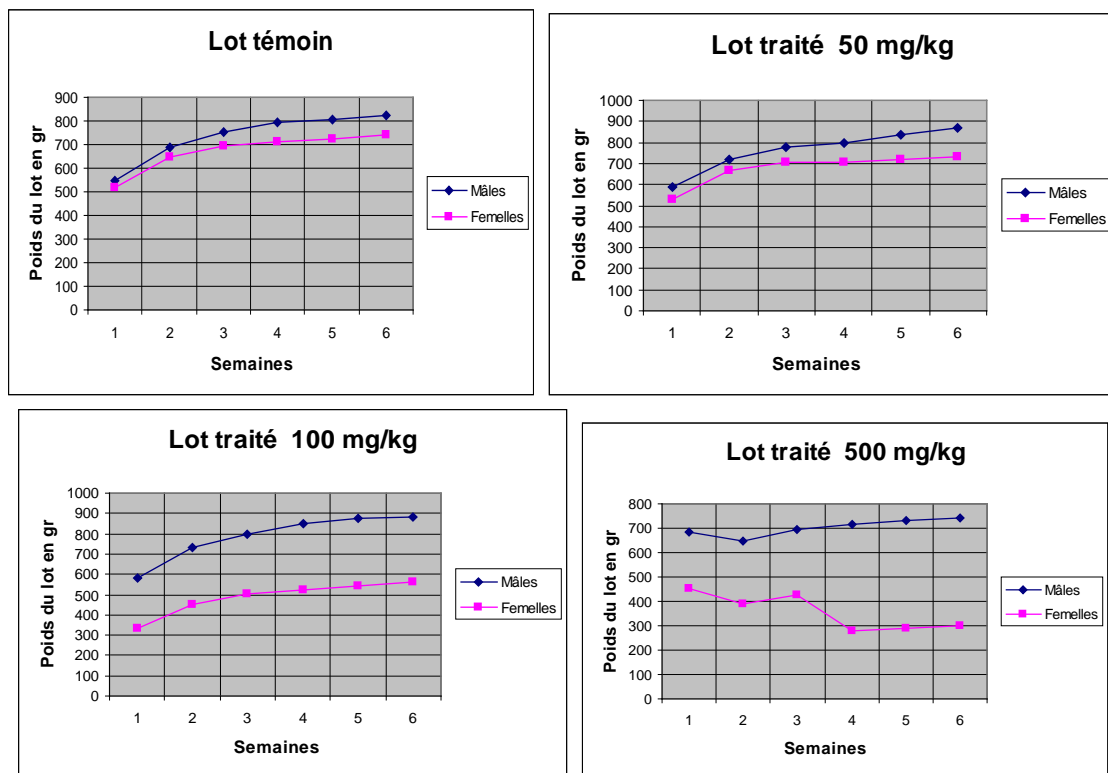
## 6- Données de la toxicité sub-chronique du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea*

### 6.1. Variation de poids au cours de la phase d'observation

Pendant la phase d'observation qui a duré un mois, avant le test de toxicité sub-chronique, nous avons constaté au cours du premier essai un gain de poids chez tous les animaux. La prise de poids a été plus importante chez les mâles que chez les femelles. Elle a été en moyenne de 11g par souris chez les mâles contre 8,81g par souris chez les femelles.

### 6.2. Variation des poids corporels des souris pendant le test de toxicité sub-chronique:

Les courbes de variation du poids corporel des quatre lots de souris sont reportées sur la figure N°7.



**Figure N°6 :** Variation de poids par lot par semaine pendant 45 jours de traitement avec les différentes doses du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea*.

Les poids corporels des souris mâles sont plus élevés que celles des femelles. La différence de poids est beaucoup plus importante chez les femelles du lot traité avec 500mg/Kg.

### 6.3. Effets de l'administration du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea* sur les poids des organes cibles, les paramètres hématologiques, biochimiques:

- Sur les poids des organes cibles

Les poids relatifs des organes par rapport aux poids corporels sont reportés dans le tableau N°18  
Tableau N°18 : Effets de l'administration du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea* sur les poids des organes cibles.

Lots	Pds corporel	Poids relatifs des organes par rapport au poids corporel			
		PRF	PRRa	PRR	PRC
Moyenne ± Déviation standard					
Témoin M	28,73±1,37	3,91± 0,30	0,37±0,01	0,78±0,05	0,40 ±0,02
Témoin F	24,61± 1,31	3,70±0,26	0,32±0,04	1,03±0,05	0,40±0,03
50mg/kg M	29,97±1,59 (-4,31%) NS	4,05±0,23 (-3,73%) NS	0,27±0,06 (13,13%) NS	1,04±0,06 (-0,97%) NS	0,36±0,03 (18,92%) **
50mg/kg F	24,48±0,62 (0,52%) NS	3,67±0,27 (5,93%) NS	0,36±0,04 (-14,38%) NS	0,78±0,05 (0,51%) NS	0,36±0,03 (0,98%) NS
100mg/Kg M	29,75±1,98 (-3,52%) NS	3,67±0,24 (+6,04%) NS	0,32±0,01 (-2,50%) NS	1,03±0,10 (0,00%) NS	0,40±0,10 (9,46%)*
100mg/Kg F	22,76±0,58 (7,45%)*	3,46±0,28 (+6,58%) NS	0,37±0,08 (0,00%) NS	0,74±0,05 (5,33%) NS	0,40±0,04 (0,98%) NS
500mg/kg MF	27,85±3,21 (+3,07%) NS	3,68± 0,21 (+5,73) NS	0,27±0,05 (13,13%)*	0,96±0,14 (6,96%) NS	0,44 ±0,04 (9,01%)*

**PRF** = poids relatif du foie ; **PRRa** = poids relatif de la rate **PRR** = poids relatif des reins ; **PRC** = poids relatif du cœur ; Moyenne de 5 souris ; **NS** = Non significatif ; Significatif avec \*P<0,05 ; \*\*P<0,01 par rapport au groupe témoin

Il n'y a pas de différence significative entre les souris du lot témoin et les souris des lots qui ont reçu le décocté.

- **Sur les paramètres hématologiques**

Pour le premier test, les paramètres hématologiques concernent les lots traités avec les doses de 50, 100 mg/kg et les témoins traités avec de l'eau (Tableau N°19). Pour les lots traités par la dose de 500 mg/kg, à cause de la perte d'animaux, nous n'avons pas pu évaluer ces paramètres.

**Tableau N°19 :** Effet de l'administration quotidienne des différentes doses du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea* pendant 45 jours sur les paramètres hématologiques des souris

Paramètres	Lot M 100 mg/kg	Lot F 100 mg/kg	Lot M Eau	Lot F Eau	Lot M 50 mg/kg	Lot F 50 mg/kg
Globules blancs / (mm <sup>3</sup> )	7500	3600	10500	5000	7100	8400
Hémoglobine (g /l)	15.5	7.6	14.6	15	14.6	15.7
Globules rouges (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	9	4.27	8.64	8.86	8.19	8.80
Hématocrite (%)	43.5	22.8	39.8	40.10	38.50	44.40
VGM en ffl	48.4	53.4	46.1	45.3	47.1	50.51
TCMH en Pg	17.2	17.7	16.8	16.9	17.8	17.8
CCMH (%)	35.6	33.3	36.6	37.4	37.9	35.3
Plaquettes (10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	345	257	357	239	150	423

Pg = picogramme ; Ffl = fentolitre ; F= femelle ; M= mâles

Nous constatons une anémie chez les femelles du lot 100mg/Kg.

**Tableau N°20** Effet de l'administration quotidienne des différentes doses du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea* pendant 45 jours sur la formule leucocytaire des souris en %

Lots	N (%)	E (%)	B (%)	M (%)	L (%)
Témoin Femelle	23	00	00	00	77
Témoin males	23	00	00	00	77
Femelle (50mg/kg)	30	00	00	00	70
Mâle (50mg/kg)	35	00	00	00	65
Femelle (100mg/kg)	32	00	00	00	68
Mâle (100mg/kg)	24	00	00	00	76

N= neutrophile; E= éosinophile; B= basophile; M= macrophage; L= lymphocyte

Les lots traités ont un taux de neutrophile plus élevé que chez le lot témoin

Pour confirmer ou infirmer l'anémie constatée chez les femelles, un deuxième essai a été effectué sur 15 souris femelles (3 lots de 5 souris) qui ont été traitées avec la dose de 100mg/kg. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau N°21.

Tableau N°21. Effet de l'administration quotidienne de la dose 100mg/Kg du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea* pendant 20 jours sur les paramètres hématologiques des souris femelles.

Paramètres	Lot I	Lot II	Lot III
Globules blancs / (mm <sup>3</sup> )	9 400	8 700	8 600
Hémoglobine (g /l)	15.4	16	15.8
Globules rouges (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	8.430	9.130	9.190
Hématocrite (%)	41.3	44	36.4
VGM en ftl	49.2	48.3	47.2
TCMH en Pg	18.2	17.5	17.1
CCMH (%)	37.1	36.3	36.4
Plaquettes / mm <sup>3</sup>	470 000	449 000	510 000

Il n'y pas eu d'anémie chez les trois lots

- Sur les paramètres biochimiques :

**Les paramètres biochimiques** concernent l'ensemble des lots 50, 100, 500 mg/kg et les témoins traités avec de l'eau (Tableau N°22).

**Tableau N°22 :** Effet de l'administration quotidienne des différentes doses du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea* pendant 45 jours sur les paramètres biochimiques des souris

Lots traités	ALAT UI/ml		ASAT UI/ml		Créatinine mmol/l		Glucose mmol/l	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Témoin	69	62	198	240	52.95	58.40	9.02	7.77
50mg/kg	87	74	216	308	59.06	77.97	8.31	6.62
100mg/kg	74	69	202	361	59.76	64.68	7.89	6.79
500mg/kg	86	83	337	308	72.51	79.49	7.14	6.22

ALAT= alanine amino-transférase; ASAT = Aspartate amino transférase ; F= femelle ; M= mâles

Pour tous les paramètres les lots traités ont des valeurs plus élevées que pour le lot témoin sauf pour le glucose.

- Sur les paramètres histologiques : Les difficultés techniques ne nous ont pas permis d'obtenir de résultats pour les analyses des organes cibles.

### **III- COMMENTAIRES ET DISCUSSION :**

*Sclerocarya birrea* est largement utilisée en médecine traditionnelle dans la prise en charge du diabète. Dans le but de compléter le dossier du phytomédicament la DIABÉTISANE du DMT, notre travail a porté sur l'étude de la toxicité sub-chronique de feuilles de *Sclerocarya birrea* récoltées à Siby en 2008. Avant l'étude de la toxicité, nous avons procédé au contrôle de qualité des échantillons de matières premières récoltées au niveau de quatre différentes localités Blendio, Parana, Siby et Sido. Ces échantillons ont été sélectionnés selon les résultats des travaux effectués au niveau du DMT par Sanogo, 2007 et Dagnoko, 2009. Nous avons également procédé à une comparaison du profil chromatographique des extraits de ces échantillons spontanés à deux échantillons de feuilles de *Sclerocarya birrea*, récoltés en Septembre et en Octobre 2009, dans le jardin du DMT.

De nombreuses études ont permis de mettre en évidence les propriétés antidiabétiques des extraits de la plante (Gueye et coll, 1973 ; Coulibaly, 1988 ; Ojewole, 2003 ; Ojewole, 2004; Sanogo, 2007 ; Dagnoko, 2009). D'autres propriétés de la plante ont été également démontrées, entre autres, antidiarrhéiques (Eloff, 2001), anti-inflammatoire et antalgique (Ojewolé 2003 ; Ojewolé 2004) et antiulcère gastrique (Kéita, 2005).

Selon l'essai botanique, du point de vue macroscopique, les feuilles de *Sclerocarya birrea* de couleur verte, de 20 cm de longueur et 7 cm de largeur sont alternes, imparipennées, avec 10-12 paires de folioles opposées ou sub-opposées. La microscopie de la poudre de feuilles nous a relevé un certain nombre d'éléments caractéristiques comme des fragments de fibre, d'épiderme, de feuilles, de bois ; des cristaux d'oxalate; des poils tecteurs et des grains d'amidon qui avaient été également retrouvés par Dagnoko, 2009.

Les résultats du contrôle de qualité de la matière première nous ont donné une teneur en eau inférieure à 10% pour les quatre échantillons aussi bien avec la méthode de dosage azéotropique que pondérale. Il n'y a donc pas de risque de réactions d'oxydation. Nous pouvons donc prétendre à une bonne conservation des échantillons. En effet une teneur en eau supérieure à 10 % favoriserait les réactions d'oxydation, de fermentation ainsi que la formation de moisissures qui sont souvent préjudiciables à l'activité thérapeutique de la drogue (Paris et Hurabielle, 1981).

Le dosage des cendres nous a donné des taux allant de 7.07- 8.07% pour les cendres totales, de 0.86- 1.33%) pour les cendres chlorhydriques et de 7.66- 12.24% pour les cendres sulfuriques. Nous avons constaté que l'échantillon de Siby est le plus riche en cendres. Ces taux sont légèrement un peu plus élevés que ceux obtenus par Dagnoko, 2009. Les cendres totales renseignent sur la richesse en éléments minéraux de la matière végétale.



Les cendres chlorhydriques nous renseignent sur la contamination de la drogue par les éléments siliceux. Les cendres sulfuriques quant à elles résultent de la conversion des sels organiques en sulfates. Les différentes extractions ont démontré que la majorité des constituants passent surtout dans l'eau. Le décocté total sur l'échantillon de Siby nous a donné un rendement de 20%. Pour Les extractions avec les solvants organiques à polarité croissante (éther de pétrole, dichlorométhane, acétate d'éthyle et n-butanol) les rendements pour les différents échantillons ne dépassent pas 1.15%. Les extractions aqueuses après épuisement par ces quatre solvants organiques ont donné des rendements beaucoup plus élevés 16.5 – 23.40%. Nous pouvons donc dire que l'eau est le meilleur solvant pour l'extraction des substances polyphénoliques des feuilles de *Sclerocarya birrea*. Le même constat a été fait par Dagnoko, 2009.

L'étude phytochimique, les réactions en tube ont révélé une importante présence dans tous nos échantillons des composés polyphénoliques comme les flavonoïdes, les tanins catéchiques et les leucoanthocyanes. La présence des flavonoïdes, des tanins a été mentionnée par d'autres auteurs (Glew et coll, 2003, Bracca et coll. 2003 ; Keita, 2005). Dagnoko, 2009 avait observé en plus de ses constituants la présence de tanins galliques, de caroténoïdes et de coumarines dans certains des échantillons. Des traces d'alcaloïdes étaient présentes dans l'échantillon de Siby, ces composés étaient absents dans les échantillons analysés par Dagnoko en 2009. Quatre de nos échantillons renfermaient des saponosides. Les deux n'en contenant pas étaient celui de Blendio et celui du jardin du DMT, récolté en Octobre contrairement à celui récolté en Septembre.

Les réactions des anthracénosides combinés et libres, des caroténoïdes, des composés réducteurs, des hétérosides cyanogénétiques, des coumarines, des anthocyanes, Stérols et triterpènes et des tanins galliques ont été négatives. La chromatographie sur couche mince nous a relevé la présence de nombreux constituants. Pour les extraits aqueux et hydro-alcooliques, les systèmes de solvants Butanol : Acide acétique : Eau (65- 15- 25) et Acétate d'éthyle : Méthylethylcétone : Acide formique : Eau (5- 3- 1-1) permettent une bonne séparation des différents constituants. Pour les extraits organiques le système Ether de pétrole-l'Acétate d'éthyle (2- 1) a été le meilleur système de solvants. Les différents révélateurs utilisés comme le réactif Godin, le FeCl<sub>3</sub>, l'AlCl<sub>3</sub>, nous ont confirmé surtout la présence des substances polyphénoliques observées par les réactions en tube. Les chromatogrammes obtenus avec le système de solvants l'Acétate d'éthyle : Méthylethylcétone : Acide formique : Eau (5- 3- 1-1) avec nos différents extraits pourraient servir pour le contrôle de qualité de la matière première

Les flavonoïdes sont potentiellement veino-actifs, ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Ils sont souvent anti-inflammatoires; ils peuvent être anti-allergiques, hépatoprotecteurs, antispasmodiques, hypocholestérolémiants, diurétiques,

antibactériens, antiviraux et pour un certain nombre d'entre eux cytostatiques *in vitro* (Bruneton, 1993). Les tanins quand à eux imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches sous-jacentes ; les tanins catéchiques ont également un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. En limitant la perte en fluides et en empêchant les agressions extérieures, les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessure superficielle ou de blessure. Quelle que soit la voie d'administration, l'effet antiseptique (antibactérien et antifongique) clairement démontré de ces molécules est intéressant dans les diarrhées infectieuses, dermatoses (Bruneton, 1993). Ces constituants polyphénoliques passent dans les extraits aqueux et hydro alcooliques des feuilles de *S. birrea*. De nombreuses études ont démontré les effets hypoglycémiantes des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et de l'écorce de tronc de *S. birrea* (Gueye et coll, 1973 ; Coulibaly 1988 ; Ojewole, 2003 ; Ojewole, 2004; Sanogo, 2007 ; Dagnoko, 2009). Il existe une stricte corrélation entre l'activité hypoglycémiant des drogues végétales et la présence de composés polyphénoliques qui ont une activité protectrice des capillaires et une propriété antioxydant. Ces propriétés interviennent beaucoup dans la prévention des complications dégénératives du diabète (Braca et coll, 2003).

La révélation des chromatogrammes avec la solution de DPPH nous a montré une présence importante de constituants antiradicalaires à potentiel anti-oxydant pour les trois types d'extraits des feuilles de la plante. Les antioxydants sont des produits qui empêchent aux radicaux libres d'oxyder notre matériel physiologique et donc évitent à nos cellules d'être endommagées; ainsi lorsque les espèces réactivées de l'oxygène sont générées *in vivo*, de nombreux antioxydants interviennent. (Maïga, 2007). Les propriétés antioxydantes des dérivés phénoliques des feuilles de *Sclerocarya birrea* ont été démontrées par Braca et coll, 2003. Ces propriétés pourraient justifier les effets bénéfiques de la **DIABETISANE** à base des feuilles de *Sclerocarya birrea* dans le traitement du diabète et de ces complications dégénératives.

Par ailleurs la présence d'oses, d'holosides et de mucilages confirme l'existence de polysaccharides dans les extraits aqueux des feuilles de *S. birrea* (Keita, 2005). Les polysaccharides assurent chez les êtres vivants un grand nombre de fonctions vitales. Ils constituent une forme de stockage de l'énergie ; ils protègent les tissus contre la déshydratation du fait de leur pouvoir hydrophile et sont souvent élaborés par un organisme pour assurer sa défense (Bruneton, 1993). Les polysaccharides pourraient également constitués des formes à libération retard du glucose, pouvant intervenir dans la régulation de la libération et consommation du glucose chez le diabétique. L'ensemble de ces propriétés pourrait donc expliquer l'utilisation des feuilles de *Sclerocarya birrea* dans le traitement du diabète.

C'est pour une exploitation en toute sécurité à long terme des propriétés hypoglycémiantes des extraits des feuilles *S. birrea* que les données de la toxicité sub-chronique sont nécessaires.

Pour ce qui est de l'étude de la toxicité sub-chronique, avant de procéder à l'étude proprement dite, les animaux ont été mis en observation pendant un mois, ce qui a permis de suivre l'évolution de leur poids corporel. Ainsi nous avons constaté un gain de poids de 11 grammes par souris chez les mâles et de 8.86 grammes par souris chez les femelles. Au cours du test les mâles ont pris beaucoup plus de poids que les femelles. Les consommations d'eau et d'aliment ont également augmenté au cours de l'observation.

Au cours de l'étude de la toxicité sub-chronique, l'administration quotidienne du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea* à différentes doses pendant 45 jours, nous a permis de faire des constats suivants chez les différents lots traités: le lot témoin (Eau), le lot 50mg/kg, 100mg/kg et le lot 500mg/kg : nous n'avons pas enregistré de pertes d'animaux pour les lots témoin, de 50 mg/kg et de 100mg/ kg. Par contre chez le lot qui recevait cinq fois la dose thérapeutique (500mg/kg) nous avons perdu deux mâles dont un au début de la deuxième semaine et le second pendant la dernière semaine; deux femelles dont une au début de la deuxième semaine et la seconde à la fin de la troisième semaine. Ces résultats montrent une différence de mortalité en fonction de la dose.

Pour les poids relatifs des organes, il n'y a pas eu de différence entre les lots traités et le lot témoin. Pour ce qui est de l'effet de l'administration sur les paramètres hématologiques, pour les globules blancs les taux sont plus élevés chez le lot témoin que chez les lots traités sauf pour les femelles du lot 50mg/Kg. Pour l'hémoglobine et pour les globules rouges il n'y avait pas de différence significative entre les lots traités et le lot témoin sauf le lot 100mg/Kg femelle qui était anémié. Cette anémie n'a pas été confirmée au cours du deuxième test effectué sur 3 lots femelles. Ce dernier nous a donné un taux normal. La baisse du taux d'hémoglobine dans le premier test pourrait donc être due à une hémolyse du sang lors du prélèvement. La formule leucocytaire nous a donné des valeurs normales chez tous les lots.

Pour les paramètres biochimiques, nous avons constaté que pour tous les paramètres, les lots traités avaient des valeurs plus élevées que celles du lot témoin sauf pour le glucose où nous avons constaté une baisse par rapport au lot témoin, cela confirme l'effet hypoglycémiant du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea*. Cette différence a été beaucoup plus significative avec le lot traité avec 500mg/kg soit 5 fois la dose thérapeutique. Une étude menée par Gondwe et coll en 2008 a montré une protection rénale et cardiaque chez des rats ayant reçu l'extrait éthanolique de l'écorce de tronc de *Sclerocarya birrea* en administration aigüe et chronique.

A cause des problèmes techniques, nous n'avons pu avoir de données complètes sur les paramètres histologiques pour l'ensemble des lots. Cependant, selon les données partielles, l'administration quotidienne du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea*, provoquerait des modifications histologiques au niveau du foie, de la rate et des reins chez tous les lots traités. Ces modifications sont surtout graves chez les lots traités par cinq fois la dose thérapeutique. Des études supplémentaires sont nécessaires afin de mieux élucider les différentes modifications.

#### **IV- CONCLUSION:**

Les feuilles de *Sclerocarya birrea* servent à la préparation du médicament traditionnel amélioré **DIABETISANE** utilisé dans le traitement du diabète. Pour la constitution du dossier scientifique de ce MTA, notre étude a porté sur le contrôle de qualité des échantillons de feuilles récoltées au niveau de quatre zones de peuplement naturel et dans le jardin du DMT. Nous avons aussi déterminé la toxicité sub-chronique du décocté des feuilles récoltées à Siby. La phytochimie nous a permis de caractériser dans les différents échantillons de feuilles : des tanins, des flavonoïdes, des leucoanthocyanes, des oses et holosides et des mucilages. Les substances polyphénoliques entre autres les flavonoïdes et les tanins peuvent être utilisées comme marqueurs pour le contrôle de qualité des feuilles de *Sclerocarya birrea* par chromatographie sur couche mince. Ces substances polyphénoliques correspondant également aux constituants antiradicalaires identifiés dans les extraits des feuilles de *Sclerocarya birrea*. Ces constituants pourraient intervenir dans la prise en charge du diabète et dans la prévention de certaines de ses complications comme les troubles vasculaires périphériques.

L'administration quotidienne pendant 45 jours, du décocté de feuilles de *Sclerocarya birrea* aux souris aux doses de 50mg/kg (moitié la dose thérapeutique), 100 mg/kg (dose thérapeutique) et 500 mg/kg (cinq fois la dose thérapeutique), nous a permis de faire les constats suivants:

- Une prise de poids plus importante chez les souris mâles que chez les femelles des trois groupes;
- Des valeurs normales de taux de globules rouges, d'hémoglobine et d'hématocrite.
- Des valeurs élevées des transaminases en fonction de la dose d'extrait administrée par rapport au groupe témoin ;
- Une augmentation de la créatinine chez les groupes traités en fonction de la dose par rapport au témoin.
- Une diminution dose dépendante du taux de glucose chez les trois groupes, ce qui a confirmé l'effet antihyperglycémiant du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea*.

La prise en charge des patients diabétiques avec la DIABETISANE pour une longue période nécessiterait donc un contrôle régulier non seulement de la glycémie mais aussi des valeurs des transaminases et de la créatinine.

Il est donc très important de ne pas dépasser la dose thérapeutique du décocté des feuilles de *Sclerocarya birrea* dans la prise en charge du diabète.

## **V- RECOMMANDATIONS**

Suite à ce travail nous recommandons :

- ✓ Au DMT :
  - de poursuivre les tests histopathologiques chez les rats
  - de pouvoir disposer de différents types de colonnes nécessaires pour les différents dosages
  - de renforcer les capacités techniques pour la réalisation de tests biologiques
  
- ✓ Aux tradipraticiens
  - de standardiser en général leurs produits et principalement ceux destinés à la prise en charge de maladies chroniques comme le diabète
  
- ✓ Aux patients diabétiques
  - de respecter les doses prescrites par les spécialistes

## **VI- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- 1. Adjanohoum, E., Ahyi, A.M., Aké Assi, L., Dan Dicko, L., Daouda, H., Delmas, M., de Souza, S., Garba, M., Guindo, S., Kayonga, A., N'Golo, D., Raynal, J., (1980).** Médecine traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger, Edition ACCT., Paris, 251 p.
- 2. Amadou Adiza, (2007).** Etude d'une recette traditionnelle, des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* Hosch et de *Uapaca togoensis* Pax utilisées dans le traitement du diabète. Thèse de pharmacie. Bamako, 101P.
- 3. Braca A., Politi M., Sanogo R., Sanou H, Morelli I, Pizza C., and De Tommasi N. (2003).** The Chemical Composition and Antioxidant Activity of Phenolic Compounds from Wild and Cultivated *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae) Leaves. Journal of Agricultural and Food Chemistry; (51), 66898-6695
- 4. Belemtougri RG, Constantin B, Cognard C, Raymond G, Sawadogo L.(2001)** Effects of *Sclerocarya birrea* (A. Rich) hochst (Anacardiaceae) leaf extracts on calcium signalling in cultured rat skeletal muscle cells. J Ethnopharmacol. 76(3):247-252.
- 5. Bonnard C., et al. (2008).** Un nouveau rôle pour le stress oxydant dans le diabète de type 2 *J Clin Invest*, 118: 789-800 (<http://www.inserm.fr> 02 décembre 2009)
- 6. Burkill, H.M. (1985).** The useful plants of west tropical Africa, 2<sup>ème</sup> édition, volume 1, Edition the trusters of Royal Botanic Garden Kew, 960 p.
- 7. Burkill, H.M. (1985).** The useful plants of West Tropical Africa. 2nd Edition. Volume 1, Families A–D. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom. 960 pp.
- 8. Bruneton.J.(1993).** Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales, Edition technique et Documentation Lavoisier, Paris, 915p
- 9. Coulibaly, B. (1988).** Contribution à l'étude des remèdes traditionnels utilisés dans le traitement du diabète au Mali, Thèse de pharmacie, Bamako (Mali), N°88, 113 p.
- 10. Cuny, P., Sanogo, S., Sommer, N., (1997).** Arbres du domaine soudanien. Leurs usages et leur, multiplication, CRRAS, Sikasso (Mali), 122 p.
- 11. Delattre J.; Gardes M.; Jore D. (2001).** Stress oxydant et diabète sucré *Journal de la Société de biologie* , vol. 195, n°4, pp. 375-376
- 12. Dagnoko, S. (2009)** Etude de la qualité des feuilles de *Sclerocarya birrea* utilisées dans le traitement du Diabète. Thèse Pharmacie, FMPOS, Université de Bamako, Mali. 118p

13. **Dao, A. (1988).** Etudes botaniques et phytochimiques de *Sclerocarya birrea* (A. Rich). Hochst. (Anacardiaceae), Thèse de pharmacie, Bamako (Mali), N°38, 69 p.
14. **Derot.M.(1977).** Précis de diabétologie. 1080p
15. **Dimo T, Rakotonirina SV, Tan PV, Azay J, Dongo E, Kamtchouing P, Cros G.(2007).** Effect of *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae) stem bark methylene chloride/methanol extract on streptozotocin-diabetic rats. J Ethnopharmacol. 110(3):434-438.
16. **El-Missiry M.A., El Gindy A.M. (2000)** Amelioration of Alloxan Induced Diabetes mellitus and Oxidative Stress in Rats by Oil of *Eruca sativa* Seeds. Annals of Nutrition & Metabolism;44:97-100
17. **Eloff, J.N., (2001).** Antibacterial activity of Marula *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst. subsp. caffra (Sond.) Kokwaro) (Anacardiaceae) bark and leaves. Journal of Ethnopharmacology 76(3): 305–308.
18. **Eromosele IC, Eromosele CO, Kuzhkuzha DM (1991)** Evaluation of mineral elements and ascorbic acid contents in fruits of some wild plants. Plant Foods Hum. Nutr, 41(2), 151-154.
19. **Fernandes, R. & Fernandes, A., (1966). Anacardiaceae. In: Exell, A.W., Fernandes, A. & Wild, H. (Editors).** Flora Zambesiaca. Volume 2, part 2. Crown Agents for Oversea Governments and Administrations, London, United Kingdom. pp. 550–615.
20. **Fotio AL, Dimo T, Nguielefack TB, Dzeufiet PD, Ngo Lemba E, Temdie RJ, Ngueguim F, Olleros ML, Vesin D, Dongo E, Kamtchouing P, Garcia I.(2009)** Acute and chronic anti-inflammatory properties of the stem bark aqueous and methanol extracts of *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae). Inflammopharmacology. 17(4):229-237
21. **François Bonnel, Louis Monnier, Jean Pierre Delagoutte. (1998).** Pied et diabète. Edition Sauramps médical.200p
22. **Fomba Mama (2001).** Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémiant des feuilles d'une plante antidiabétique (*Sclerocarya birrea*) (A. Rich). Hochst. Anacardiaceae. Thèse de pharmacie. Bamako. 63p.
23. **Galves, J., Zarzuelo, A.M.E., Utrilla, M.P. and Jimenez, J., Spiessens, C. and De witte, P. (1991)** "antidiarrhoic activity of *Sclerocarya birrea* bark Extract and it's active tannin constituent in Rats, Research phytotherapy, (5), 276-278 p.
24. **Galvez Peralta, J.; Zarzuelo, A.; Busson, R.; Cobbaert, C.; De Witte, P.(1992)** (-)-Epicatechin-3-galloyl ester: a secretagogue compound from the bark of *Sclerocarya birrea*. Planta Medica. 58(2), 174-175.



- 25. Galvez, J.M.E., Crespo, and Zarzuelo, A.P. de witte ANDC. Spiessens. (1993).** “pharmacological activity of a procyanidin Isolated from *Sclerocarya birrea* bark: Antidiarrhoeal activity and affect on Isolated Guinea-piglleum”, Research phytotherapy, volume 7, 25-28 p.
- 26. Glew, R.S., VanderJagt, D.J., Huang, Y.-S., Chuang, L.-T., Bosse, R., Glew, R.H. (2004).** Nutritional analysis of the edible pit of *Sclerocarya birrea* (A. Rich). Hochst. In the Republic of Niger (daniya, Haussa), Journal of Food Composition and Analysis 17, Edition Elsevier, USA, 99-111 p.
- 27. Gueye, M. (1973).** Contribution à l'étude pharmacodynamique d'une plante antidiabétique *Sclerocarya birrea* (A. Rich). Hochst., Thèse doctorat sciences pharmaceutiques. Dakar. Sénégal.
- 28. Guirou. K. (2008).** Etude de la toxicité sub-chronique de *Argemone mexicana* utilisée dans le traitement traditionnel du paludisme these pharmacie 93.p
- 29. Gondwe M, Kamadyaapa DR, Tufts M, Chuturgoon AA, Musabayane CT. (2008)** *Sclerocarya birrea* [(A. Rich.) Hochst.] [Anacardiaceae] stem-bark ethanolic extract (SBE) modulates blood glucose, glomerular filtration rate (GFR) and mean arterial blood pressure (MAP) of STZ-induced diabetic rats. Phytomedicine. 15(9):699-709.
- 30. Haïdara Tatou (1999).** Etude botanique, phytochimique et pharmacologique de trois plantes utilisées dans le traitement du diabète *Bridelia ferruginea* Benth, *Sclerocarya birrea* Hochst, *Terminalia macroptera* Guill et Perr. Thèse de Pharmacie. FMPOS, Université de Bamako, Mali.83p.
- 31. Kerharo, J. et Adams, J. G. (1974).** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle plantes médicinales et toxiques, Edition Vigot et frères, Paris, 1011 p.
- 32. Laurens, A. (1976).** Sur des Anacardiées africaines et malgaches, *Poupartia birrea*, *Poupartia caffra* et *Anacardium occidentale* (Etude particulière des polyphénols des feuilles), Thèse doctorat, Pharm. (Etat), Paris.
- 33. Laurens, A., Giono Barbber. P., Mosser, J., Sylo, O., Giono Barbber. H. (1977).** Activités antidiabétiques d'extraits de feuilles de *Poupartia birrea* (Hochst) Avlor. Annales pharmaceutiques françaises, Edition Masson, Paris, volume 42, N°6, 547-551 p.
- 34. Maïga. N (2007) :** Contribution à l'étude de la toxicité et de l'activité anti-oxydante de *Lannea acid* (A.Rich), de *Lannea microcarpa* (Engl et K.krause) et de *Phyllanthus amarus* (Schum et Thonn) Thèse de Pharmacie. FMPOS, Université de Bamako, Mali
- 35. Malgras, R.P.D. (1992).** Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes, Edition Karthala et ACCT., Paris, 478 p.

- 36. Neuwinger, H.D. (2000).** African Traditional Medicine A dictionary of plant use and applications, Edition Medpharm GmbH, Germany
- 37. Ogbobe, Okoro. (1992).** Physico-chemical composition and characterization of the seed and seed oil of *Sclerocarya birrea* Plant Foods Hum. Nutr. 42(3), 201-6.
- 38. Ojewole J. A.O. (2002).** Evaluation of the anti-inflammatory properties of *Sclerocarya birrea* (A. Rich). Hochst. (family: Anacardiaceae) stem-bark extracts in rats in journal of Ethnopharmacology, (85) 217-220 p.
- 39. Ojewole JA. (2003).** Hypoglycemic effect of *Sclerocarya birrea* [(A. Rich.) Hochst.] [Anacardiaceae] stem-bark aqueous extract in rats. 10(8):675-681
- 40. Ojewole JA. (2004).** Evaluation of the analgesic, anti-inflammatory and anti-diabetic properties of *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst. stem-bark aqueous extract in mice and rats.
- 41. Ojewole JA (2006).** Vasorelaxant and hypotensive effects of *Sclerocarya birrea* (A Rich) Hochst (Anacardiaceae) stem bark aqueous extract in rats. Cardiovasc J S Afr.17(3):117-123.
- 42. OMS (2000)** Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle **WHO/EDM/TRM/2000.1. Annexe II.** Lignes directrices de la recherche pour l'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité des médicaments à base de plantes, Manille, Bureau régional de l'OMS pour le Pacifique occidental. 87p.
- 43. Perlemuter. L (1983).** Diabète sucré traitement et surveillance. Edition Masson.Paris.79p
- 44. Poitout V., Tanaka, Y., Reach G. ET Robertson R. P (2001)** Stress oxydatif, insulinosecretion, et insulinoresistance. Journées Annuelles de Diabétologie Hôtel-Dieu. <http://journees.hotel-dieu.com/medias/Chap08.pdf>, consulté en janvier 2010.
- 45. Sacko. M. (1985).** Etude de l'influence de la consommation de fonio dans le traitement du diabète sucré au Mali.CIRAD100pages
- 46. Sambo. M (2006).** Etude du traitement traditionnel du diabète par une recette et les écorces de tronc de *Manilkara multinervis* Dub (Sapotaceae).Thèse de pharmacie.Bamako. 112 p
- 47. Sanogo, S (2007)** Etude de la phytochimie et de l'effet hypoglycémiant de trois plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle au Mali, Thèse Pharmacie, FMPOS, Université de Bamako, Mali. 118p.
- 48. Smith GC, Clegg MS, Keen CL, Grivetti LE Mineral (1996).** Values of selected plant foods common to southern Burkina Faso and to Niamey, Niger, West Africa. Int J Food Sci Nutr. 47(1):41-53.
- 49. Valensi. P,Viviani.V , Duteil.R. (2005).** Diabète maladies métaboliques et nutrition 2ème édition (IFSI MEMO N°4) .246 pages

- 50. Van de Venter M, Roux S, Bungu LC, Louw J, Crouch NR, Grace OM, Maharaj V, Pillay P, Sewnarian P, Bhagwandin N, Folb P. (2008).** Antidiabetic screening and scoring of 11 plants traditionally used in South Africa. *J Ethnopharmacol.* 119(1):81-86.
- 51. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/STbioch/index.html>** Mise à jour : 10 mars 2009 Structure Biologique de l'insuline consulté le 22-01-2010
- 52. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/diabeto/POLY.Chp.1.3.html>** classification du diabète consulté Mise à jour : 16 février 2000 le 22-01-2010
- 53. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/diabeto/POLY.Chp.13.1.html>.** Diabétologie Mise à jour : 16 février 2000 consulté le 22-01-2010
- 54. [www.chups.jussieu.fr/polys/diabeto/POLY.Chp.2.html](http://www.chups.jussieu.fr/polys/diabeto/POLY.Chp.2.html)** . Diabétologie Mise à jour : 16 février 2000 consulté le 22-01-2010
- 55. [www.chups.jussieu.fr/polys/diabeto/POLY.Chp.3.html](http://www.chups.jussieu.fr/polys/diabeto/POLY.Chp.3.html).** Diabétologie Mise à jour : 16 février 2000 consulté le 22-01-2010
- 56. <http://www.medecine-et-sante.com/default.html>** anatomie du pancréas consulté le 22-01-2010
- 57. <http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output/Glycemia3.php>** mise à jour août 1998 Hypoglycémiantes - Autres médicaments 22-01-2010
- 58. <http://www.phyteauvergne.ecologie.gouv.fr/lexique.php3#t>** consulté le 22-01-2010
- 59. [www.santé-diabète-mali.ORG](http://www.santé-diabète-mali.ORG)** consulté le 30-11-2009
- 60. [Scdurca.univ-reims.fr doc/GED00000619.pdf](http://Scdurca.univ-reims.fr/doc/GED00000619.pdf) - Similar pages**
- 61. [www.who.int/mediacentre/factsheets](http://www.who.int/mediacentre/factsheets)** consulté le 30-11-09
- 62. [http : //www.who.int.OMS](http://www.who.int.OMS)** consulté le 30-11-09
- 63. Yaro. B. (1992).** Contribution a l'étude du traitement traditionnel du diabète au Mali. Thèse de pharmacie. Bamako133p.
- 64. Yangni-Angate. (1993).** « Activités antidiabétiques d'extraits de feuilles de *Poupartia birrea* (Hochst) » Avlor. Annales pharmaceutiques françaises, Edition Masson, Paris, volume 42, N° 6, 547-551 p.

## **ANNEXES**: Composition des réactifs

### ► **Réactif de BALJET**

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

### ► **Réactif de DRAGENDORFF**

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

Agiter pendant 30 mn

### ► **Réactif du DPPH**

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

### ► **Réactif de FEHLING**

#### **Solution A :**

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

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

#### **Solution B :**

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

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

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

### ► **Réactif de GODIN**

#### **Solution A :**

Vanilline.....	1 g
----------------	-----

Ethanol à 95° alcoolique.....1000 ml

**Solution B :**

Acide perchlorique.....3 ml

Eau distillée.....100 ml

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

► **Réactif de GUIGNARD (Papier picrosodé)**

Acide picrique.....1 g

Carbonate de sodium.....10 g

Eau distillée q s p.....100 ml

► **Réactif de KEDDE**

Acide dinitro 3,5 benzoïque.....1 g

Ethanol à 95 ° alcoolique q s p.....100 ml

► **Réactif de MAYER**

Iodure de potassium.....25 g

Chlorure mercurique.....6,77 g

Eau distillée q s p.....50 ml

► **Réactif de RAYMOND MARTHOUD**

1,3 dinitrobenzène.....1 g

Ethanol à 96° alcoolique q s p.....100 ml

## FICHE SIGNALÉTIQUE

**TITRE : Etude de la phytochimie, de l'activité antiradicalaire et de la toxicité sub-chronique des feuilles de *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hoscht (Anacardiaceae), utilisées dans le traitement traditionnel du diabète au Mali**

**AUTEUR :** Mme Bintou Maïga

**ANNEE :** 2008 -2009

**PAYS D'ORIGINE :** Mali

**VILLE DE SOUTENANCE :** Bamako

**LIEU DE DEPOT :** Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS), Université Bamako (Mali).

### **Résumé :**

Notre travail a porté sur le contrôle de qualité physicochimique, l'étude de l'activité antiradicalaire et de la toxicité sub-chronique des feuilles de *Sclerocarya birrea* utilisées dans le traitement du diabète au Mali. La **DIABETISANE**, médicament traditionnel amélioré du DMT, est à base de feuilles de *Sclerocarya birrea*. Le contrôle de qualité a été effectué sur des échantillons de feuilles récoltées au niveau de quatre zones de peuplement naturel et dans le jardin du DMT. Le décocté des feuilles récoltées à Siby a été utilisé pour la détermination de la toxicité sub-chronique.

Les réactions de caractérisation et la chromatographie sur couche mince (CCM) ont permis de caractériser des tanins, des flavonoïdes, des leucoanthocyanes, des oses et holosides et des mucilages dans les différents échantillons de feuilles. Les substances polyphénoliques comme les flavonoïdes et les tanins peuvent être utilisées comme marqueurs pour le contrôle de qualité des feuilles de *Sclerocarya birrea*. Les constituants antiradicalaires des extraits des feuilles pourraient intervenir dans la prise en charge du diabète et dans la prévention des complications vasculaires périphériques.

Pour une sécurité d'emploi du décocté de feuilles de *Sclerocarya birrea* dans la prise en charge du diabète, il est important de respecter la dose thérapeutique prescrite en fonction de la glycémie. La prise en charge des patients diabétiques avec la DIABETISANE pour une longue période nécessite un contrôle régulier non seulement de la glycémie mais aussi des transaminases et de la créatinine.

**Mots clés :** *Sclerocarya birrea* – Phytochimie – Activité antiradicalaire - Toxicité sub-chronique – diabète.

## 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 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'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.*

*Je le jure!!!*