UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE L'ENVIRONNEMENT

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Année: 2019 Nº: 34



THESE DE DOCTORAT

Spécialité: Chimie et biochimie des produits naturels

Présentée par: Daba TINE

CARACTERISATION DU *COMBRETUM MICRANTHUM* G. DON (KINKELIBA) DANS DIFFFERENTES REGIONS DU SENEGAL - RECOLTE ET COMMERCIALISATION.

Soutenue le 27/décembre/2019 devant le jury composé de:

Président: **M. Ibrahima NDIAYE**, Professeur titulaire, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

Rapporteurs: **M. Djibril FALL**, Professeur titulaire, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

M. Mame Samba MBAYE, Professeur assimilé, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

M. Saliou FALL, Directeur de recherche, Institut Sénégalais de Recherches Agricoles.

Examinateur: **M. Alioune Dior FALL**, Professeur assimilé, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

Directeur de thèse: **Emmanuel BASSENE**, Professeur titulaire, Faculté Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

NOUS DEDIONS CE TRAVAIL

A ALLAH LE TOUT PUISSANT

A SON PROPHETE MOUHAMED (PSL)

A mon père, ma mère pour les prières et les valeurs que vous nous avez inculquées ainsi que les efforts sans failles que vous avez faits pour notre réussite.

A nos guides spirituels

A mes frères et sœurs, mes oncles et tantes, mes nièces et neveux, mes cousins et cousines pour vos prières et vos soutiens inconditionnels.

A mes amis et collègues pour les moments d'échanges et de détentes.

A la mémoire de ma sœur cadette Fatou Guénar TINE, de mes grands-parents, de notre cher professeur Abdoulaye SAMB. Que DIEU vous accueille dans son paradis.

REMIERCHEMIENTS

Mes profonds remerciements:

- A Professeur Emmanuel BASSENE: Je vous serais toujours redevable d'avoir permis la faisabilité et la clarté de ce travail. Votre humilité, votre patience, votre disponibilité, votre souplesse d'esprit et votre expertise seront mes infinis références dans la vie sociale et professionnelle. A travers ce modeste travail je tiens à exprimer ma gratitude pour la patience dont vous avez fait part à mon endroit.
- Au personnel du Laboratoire de Pharmacognosie et Botanique de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar: Professeur Emmanuel BASSENE, professeur Alioune Dior FALL, professeur William DIATTA, Dr Kady DIATTA, Dr Serigne Ibra Mbacké DIENG, Dr Abdou SARR, Madame DIONE, Francis TENDENG, Mr. FALL, Mbaye DIENG, Awa Ka, Elimane Sarr, Mor YADE, Colette, Mme BASSENE je vous remercie infiniment et agréablement par la très grande qualité de vos services.
- A professeur Ibrahima NDIAYE: Merci d'avoir participé à ma formation et de bien vouloir présider le jury.
- A Professeur Djibril FALL, Professeur Mame Samba MBAYE, professeur Saliou FALL; mes infinis remerciements.
- A professeur Jim Simon du département de biologie végétale à université de Rutgers au New Jersey; merci pour votre précieuse collaboration.
- A Mr Mendy de l'Agence Nationale de la Pédologie (INP), Mr Ndiaye de l'Agence Nationale de l'Aviation Civile et de la Météorologie (ANACIM), Mr colonel FALL des services eaux et forêts, Dr Sara Danièle Dieng mes infinis reconnaissances.

A tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin un grand merci.

Index des tableaux

Tableau I: Utilisation des différentes parties du kinkéliba
Tableau II: Utilisation des différentes parties du kinkéliba en médecine
traditionnelle
Tableau III: Acides gras des feuilles de Combretum micranthum G.DON
(BASSENE, 1986 (a))
Tableau IV: Données pluviométriques de Diass, Sandiara et Essyl (ANACIM,
(2018))
Tableau V: Gamme d'étalonnage de l'acide tannique
Tableau VI: Gamme d'étalonnage vitexine
Tableau VII: Teneur en eau, en cendre, en fer et le rendement en extractibles des
feuilles de Combretum micranthum récoltées à Diass, à Sandiara et en Essyl 99
Tableau VIII: Indices de mousse (IM) des feuilles de Combretum micranthum
récoltées à Diass, à Sandiara et en Essyl
Tableau IX: Rapport frontal acide gallique et d'extraits de feuilles de kinkéliba
Tableau X: Rapport frontal vitexine et d'extraits de feuilles de kinkéliba 103
Tableau XI: Teneur en polyphénols totaux, en tanins et en flavonoïdes dans les
feuilles de Combretum micranthum récoltées à Diass, à Sandiara et en Essyl. 106
Tableau XII: Rapport frontal de la vitexine, du précipité brute et recristallisé 107
Tableau XIII: Données corrélatives des déplacements chimiques (δ) des protons
et des carbones
Tableau XIV: Désignation des protons et carbones en fonction de la RMN ¹ H et
¹³ C de la vitexine
Tableau XV: Récapitulation des prix de vente par sac et par sachet suivant les
lieux de récoltes

Tableau XVI: Répartition des coûts supportés par les commer	çants (détaillants)
dans diverses zones de commercialisation ainsi que la valeur a	joutée et bénéfice
pour un sac de poids moyen de 9.75 kg	152

Index des figures

Figure 1: Pied de kinkéliba à Casamance (Tine, 2019)
Figure 2: Pied de kinkéliba à Sandiara (Tine, 2019)
Figure 3: Pied de kinkéliba à Diass (Tine, 2019)18
Figure 4: Inflorescences de kinkéliba redessiné et adapté par J.M. de Vries 20
Figure 5: Répartition du kinkéliba en Afrique22
Figure 6: Branches de kinkéliba utilisées comme palissade (Tine, 2018)24
Figure 7: Branches de kinkéliba utilisées comme armenture de grenier24
Figure 8: Structure chimique de la proanthocyanidol
Figure 9: Structure chimique de l'anthocyanidol
Figure 10: Structure chimique de l'acide gallique
Figure 11: Structure chimique de l'acide férulique
Figure 12: Structure chimique de la stachydrine32
Figure 13: Structure chimique de la choline
Figure 14: Exemples de structures d'acides phénoliques (Robbins, 2003)41
Figure 15: Exemples de structures coumariniques (Bourgand, 2006)43
Figure 16: Exemples de structures flavonoïques (Anderson, 2006)45
Figure 17: Origine biosynthétique des flavonoïdes (Anderson, 2006)47
Figure 18: Origine probable des esters galliques du glucose et filiation des tanins
hydrolysables56
Figure 19: Exemple de structure de tanins hydrolysables
Figure 20: Exemple de structures de tanins condensés (proanthocyanidoliques
(Xie, 2005))
Figure 21: La chaîne respiratoire mitochondriale et formation de trois espèces
radicalaires dans la mitochondrie: O ₂ *-, OH-, H ₂ O ₂ (Pryor, 2012)63
Figure 22: Réaction d'Haber et Weiss
Figure 23: Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine
génétique des cellules (Favier, 2003)69

Figure 24: Carte de localisation de Diass, de Sandiara et d'Essyl (INP, 2018) 75
Figure 25: Carte topographique de Diass et environs (INP, 2018)77
Figure 26: Carte topographique de Sandiara et environs (INP, 2018)78
Figure 27: Carte topographique d'Essyl et environs (INP, 2018)79
Figure 28: Schéma dichotomique d'isolement de la vitexine
Figure 29: Chromatogramme des tanins
Figure 30: chromatogramme des flavonoïdes (Tine, 2018)
Figure 31: Courbe d'étalonnage de l'acide tannique
Figure 32: Courbe d'étalonnage de la vitexine
Figure 33: chromatogramme de la vitexine (Tine, 2018)
Figure 34: Chromatogramme HPLC/UV de la vitexine à 350 nm
Figure 35: Spectre RMN du proton de la vitexine
Figure 36 : Spectre RMN du ¹³ C de la vitexine
Figure 37: Structure chimique de la vitexine (glucosyl-8- apigénine)
Figure 38: Evaluation du pourcentage d'inhibition du DPPH par rapport à l'acide
et aux extraits de feuilles de Combrethum micranthum récoltées en période de
saison des pluies à Diass, à Sandiara et à Essyl
Figure 39: Evaluation du pourcentage d'inhibition du DPPH par rapport à l'acide
et aux extraits de feuilles de Combrethum micranthum récoltées en période post
saison des pluies à Diass, à Sandiara et à Essyl
Figure 40: Evaluation du CI_{50} du DPPH par rapport à celui des extraits de feuilles
de Combretum micranthum récoltées en période de saison des pluies à Diass, à
Sandiara et en Essyl
Figure 41: Répartition spatiale des enquêtés s'activant dans la commercialisation
du kinkéliba dans les régions enquêtés
Figure 42: Répartition des acteurs de la filière kinkéliba suivant leur âge 138
Figure 43: Répartition des acteurs de la filière kinkéliba suivant le sexe 139
Figure 44: Répartition des acteurs de la filière kinkéliba suivant le mode
d'approvisionnement

Figure 45: Techniques de séchages de feuilles de kinkéliba utilisées par les
collecteuses et fournisseuses à Diass (Tine, 2018)
Figure 46: Feuilles de kinkéliba entassées dans de grands sacs en plastique
destinées au stockage à Diass (Tine, 2018)
Figure 47: Séance de triage et d'emballage des feuilles de Kinkéliba à Lalane
(Tine, 2018)141
Figure 48: Feuilles de kinkéliba entassées dans de grands sacs en plastique destinées au stockage à Diass (Tine, 2018)
Figure 49: Vente de sachets de kinkéliba au marché de Thiaroye (Tine, 2018).144
Figure 50: Vente de sachets et de bottes de feuilles de kinkéliba au bord de la

Abréviations

MAO = monoamine Oxydase

XO = xanthine oxydase

NADP = nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

GSH = glutathion réduit

GSSG = glutathion oxydé

GS = glutathion synthase

HHDP: hexahydroxydiphénoyl

ERO= Espèces réactives de l'oxygéne

SP: période de saison des pluies

SPS: saison des pluies à Sandiara

SPE: saison des pluies à Essyl

SPD: saison des pluies à Diass

PSP: période post saison des pluies

PSPS: post saison des pluies à Sandiara

PSPE: post saison des pluies à Essyl

PSPD: post saison des pluies à Diass

ANACIM: Agence Nationale de la Climatographie et de la Météorologie

INP: Institut National de la Pédologie

RMN: Spectrographie de Résonance Magnétique Nucléaire

HPLC: Chromatographie Liquide de Haute Pression

UV-Vis: Utra-violet-visible

MS: Spectrométrie de Masse

DPPH: 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl

PI: Pourcentage d'inhibition

CI₅₀: Concentration radicalaire permettant de piéger 50 % des radicaux libres

Psc: Poids moyen par sac;

Pst: Poids moyen par sachet

PVMsc: Prix de vente moyenne par sac

PVMst: Prix de vente moyenne par sachet

PAMsc: Prix d'achat moyenne par sac

B: Bénéfice

DPT: Dépense personne + taxes

Sommaire

INDEX DES TABLEAUX
INDEX DES FIGURES
ABREVIATIONS6
SOMMAIRE8
INTRODUCTION
PREMIERE PARTIE: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE13
CHAPITRE I: GENERALITES SUR COMBRETUM MICRANTHUM14
CHAPITRE II: GENERALITES SUR LES POLYPHENOLS38
CHAPITRE III: GENERALITES SUR LE STRESS OXYDATIF ET LES ANTIOXYDANTS
DEUXIEME PARTIE: ETUDES COMPARATIVES DU <i>COMBRETUM</i> MICRANTHUM RECOLTES SUR PLUSIEURS SITES
CHAPITRE IV: CADRE D'ETUDE74
CHAPITRE V: ETUDES PHYTOCHIMIQUES DES FEUILLES DE COMBRETUM MICRANTHUM
CHAPITRE VI: ACTIVITE ANTIOXYDANTE PAR LE TEST AU DPPH (1,1- DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZYL)
CHAPITRE VII: DISCUSSION
TROISIEME PARTIE: RECOLTE ET COMMERCIALISATION DU COMBRETUM MICRANTHUM
CHAPITRE VIII: GENERALITES SUR L'ETUDE D'UNE FILIERE 127
CHAPITRE IX: APPLICATION A LA FILIERE KINKELIBA132
CHAPITRE X: DISCUSSION

CONCLUSION GENERALE	155
REFRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	155
ANNEXES	170
TABLE DES MATIERES	181
PUBLICATIONS	191

INTRODUCTION

L'usage des plantes médicinales a toujours accompagné l'histoire de l'homme. Avec l'augmentation de la population, les difficultés d'accès aux infrastructures et aux services de la médecine moderne, le recours aux plantes médicinales s'est développé de façon substantielle.

Dans les pays d'Afrique noir, les soins de santé sur la base moderne trop onéreux poussent plus 80 % de la population à recourir aux guérisseurs dont l'un de leur arsenal thérapeutique sont les plantes médicinales (Ekly-Natey, 2012). Dans ces pays la médecine traditionnelle a longtemps occupé une place important dans le traitement de plusieurs infections. Malgré ces pratiques ésotériques, cette médecine tend à prendre des proportions importantes, du fait d'une part de sa pharmacopée riche et vaste et d'autre part de sa grande accessibilité.

Ainsi *Combretum micranthum*, communément appelé kinkéliba présente un long historique d'utilisation dans de nombreux pays d'Afrique. Il est employé depuis longtemps en médecine traditionnelle dans toute l'Afrique de l'ouest pour ces propriétés cholagogues et diurétiques (Kerharo, 1974). Le kinkéliba est trouvé principalement dans ces pays du sud du Sahara avec une forte concentration au Mali, au Burkina Fasso et au Sénégal (W1).

Au Sénégal le kinkéliba est l'une des plantes médicinales les plus utilisées tant dans le domaine thérapeutique que alimentaire. Il pousse dans des zones écologiquement différentes. Réparti de la Casamance maritime au fleuve Sénégal et forme des peuplements sur les plateaux de Thiès. Cette répartition très vaste du kinkéliba dans le territoire national et dans des écosystèmes différents, nous amène à penser qu'il est une possibilité de variation de l'espèce *Combrethum micranthum*.

Egalement, dans la croyance populaire, le Kinkéliba récolté au Nord et celui de la Casamance au sud n'ont pas le même goût. De même, dans le village de Sandiara et au niveau du plateau de Thiès, la tendance est de croire qu'il y a plusieurs variétés de Kinkéliba avec des caractères distincts. Ainsi nous nous proposons de faire une caractérisation chimique et pharmacologique des échantillons de kinkéliba récoltés dans différents endroits du Sénégal.

La plante est un milieu complexe composée de plusieurs principes actifs dont la synergie produit l'activité. Ainsi le kinkéliba contient des polyphénols qui semblent être responsables des propriétés invoqués pour les feuilles. Ces polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal, ce sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement de haut poids moléculaire (Bruneton, 2009).

Nos études chimiques porteront sur deux classes principales des polyphénols que sont les flavonoïdes et les tanins.

Ces molécules prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Ainsi nous aurons à étudier le pouvoir réducteur des feuilles de kinkéliba suivant les sites de récolte.

La présence d'hétéroside majoritaire tel que la vitexine a été confirmé par (Basséne, 1985). Sa présence dans les feuilles de kinkéliba serait parfaitement cohérente avec l'activité anti inflammatoire (Jentzsch, 1962). Ainsi nous aurons à isoler et à identifier ce composé phénolique.

La composition chimique très riche et les vertus énormes du kinkéliba, ont fait que, non seulement c'est une plante très utilisée au niveau local, mais également cette plante attire de plus en plus de scientifiques d'origines diverses. Ainsi nous nous proposons d'étudier la récolte et la commercialisation du kinkéliba dans certaines régions.

L'objectif global est d'étudier la variabilité chimique et pharmacologique du kinkéliba selon les zones et les périodes de récoltes et de structurer sa filière pour une meilleure valorisation du kinkéliba.

Cette thèse est présentée en trois parties :

- Une première partie consacrée aux généralités sur le *combretum micranthum*, les polyphénols et le stress oxydatif.
- Une deuxième partie dans laquelle nous aurons à:
 - ✓ Faire la caractérisation comparative du kinkéliba suivant les zones et les périodes de récoltes
 - ✓ Isoler et identifier le flavonoïde majoritaire des feuilles de kinkéliba.
 - ✓ Etudier l'activité antioxydante du kinkéliba suivant les sites et les périodes de récoltes.
- Une troisième partie dans laquelle nons étudierons la structuration de la filière kinkéliba.

PREMIERE PARTIE: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I: GENERALITES SUR COMBRETUM MICRANTHUM

I. HISTORIQUE

En 1891 le Docteur Rancon, médecin des colonies, accomplissant un voyage d'exploration dans la haute Gambie, a expédié du Sénégal à son maître Heckel Directeur des Musée Colonial de Marseille, des échantillons de kinkéliba. Ces feuilles étant 'employé avec succès, écrit – il, dans le cas de la fièvre bilieuse et bilieuse hématurique' (Kerharo, 1974).

Heckel croyant avoir affaire à une espèce botanique nouvelle, la décrit en cette même année 1891 et la dénomme *Combretum raimbaultii* en hommage au R.P. Raimbault qui en avait déjà fait connaître les propriétés et le mode d'emploi (Kerharo, 1974).

L'identification précise en tant qu'espèce botanique était faite, la question se posait de savoir si *Combretum micranthum* était bien le kinkéliba, car dans ce domaine aussi la confusion était grande et ne cesse de régner pendant un demisiècle. C'est qu'en effet la dénomination kinkéliba était attribuée par les européens et les africains eux-mêmes à toutes variétés de drogues n'ayant de commun entre elles que leur utilisation sous forme de décoction (Kerharo, 1974).

Il est admis depuis son inscription à la Pharmacopée française en 1937 que le véritable kinkéliba est le *Combretum micranthum* (Kerharo, 1974).

II. POSITION SYSTEMATIQUE

Combretum est un vaste genre, comprenant environ 250 espèces réparties dans les régions tropicales et subtropicales du monde entier. Environ 140 espèces existent en Afrique tropicale; environ 20 espèces sont endémiques de Madagascar.

Combretum micranthum, est une plante de la famille des Combrétacées. Cette famille est constituée de 18 genres avec 370 espèces (Balansard, 1952).

Selon la classification elle occupe:

Règne	Plantae
Sous règne	Trachéobionta
Classe	Dicotylédones
Ordre	Myrtales
Famille	Combretaceae
Genre	Combretum
Espèce	Combretum micranthum (G. Don)

III. SYNONYMES

L'espèce Sénégalaise de Heckel *Combretum raimbaultii* n'était pas nouvelle. A partir d'un échantillon de Sierra Leone, elle avait était décrite antérieurement par G. Don qui l'avait appelée *Combrethum micranthum*. En conséquence dès que les confrontations nécessaires furent faites et conformément aux règles taxonomiques, le nom données par Heckel tombe en synonymie tandis que celui de Don reste associer au nom de espèce. On a aussi comme synonymes entre autres: *Combretum altum* Perr., *Combretum floribundun* (Kerharo, 1974).

IV. NOMS EN LANGUES LOCALES

Ce serait une erreur de croire que le mot kinkéliba est Sénégalais ou français. Il est Guinéen et à l'origine était employé uniquement par les Soussou et les Foula du Foutadjalon. Il a ensuite connu une extension exceptionnelle et on peut assurer que du vernaculaire il est devenu vulgaire et c'est ainsi d'ailleurs que le comprend le codex français. Néanmoins en dehors des villes le *Combretum micranthum* est

qu'au Sénégal, on a recueilli quelques noms différents: Badiarankémãndãnko: Balantepsãgala; Bambara.....golobé, kolobé, golavé, ngolobé; Bassari a mbed; Baynouk.....si sãnkil, sankilo; Bayotte.....ohlõ, ohtõ; Coniagui.....kambidind; Créole Portugais.....bok, du ok, duko; Diola.....butik, bu sakin, bititikh; Floup.....bu tik; Malinké.....baro, bara, dé, bara mussona, kolodé; Mancagne.....bo hôk, bôk, bu huk; Mandingue.....patakaro, ku lomkalã, baro iro; Maure.....bufum el eif, bufumeid, bufumeid, fado; Sérère None.....tak; Peul.....talli, tallika, gugumi, gumuni; Sérère Safén.....tak; Sérère Sine.....ndag, Lālak, séséd, Raag;

Toucouleur.....talli, tallika;

désigné par les informateurs dans les langues locales (Kerharo, 1974). C'est ainsi

Wolof.....séxéw (Berhaut, 1997).

V. DESCRIPTION BOTANIQUE

V.1 port de la plante

Combretum micranthum peut se présenter comme un arbuste compact, buissonneux, sarmenteux ou comme un petit arbre à longues branches arquées de 2-4 (-10) m de haut ou comme une liane atteignant 20 m de long, caducifolié en enlaçant les branches des arbres voisins; notamment dans les forêts humides en basse Casamance.

La tige atteignant 10 cm de diamètre est à écorce écaillant en longues bandes fibreuses de couleur grise pâle avec tranche orange à rougeâtre (Aubreville, 1950).

Les figures 1, 2, 3 représentent respectivement des photos des pieds de kinkéliba à Casamance, à Sandiara (bassin arachidier) et à Diass (plateau de Thiès).



Figure 1: Pied de kinkéliba à Casamance (Tine, 2019)



Figure 2: Pied de kinkéliba à Sandiara (Tine, 2019)



Figure 3: Pied de kinkéliba à Diass (Tine, 2019)

V.2 Les feuilles

Les feuilles vert-clair au début des pluies, rougissent en s'asséchant, puis tombent en saison sèche. Ces feuilles sont opposées par deux ou verticillées de trois, simples et entières ; arrondies à leur base et acuminées au sommet.

Le pétiole atteignant 9 mm de long ne présente pas de stipules; glabre à sa base et recouvert d'écailles rougeâtres. Le limbe elliptique ou ovale peut atteindre 5 à 11 cm de long sur 2 à 7 cm de large avec un apex courtement acuminé, une base

arrondie à écailles brunes au-dessous; il présente 4 à 6 paires de nervures latérales pennatinervées; une nervure centrale saillante à la face inférieure, celleci présente des écailles rougeâtres et des touffes de poils à l'aisselle des nervures latérales. Les jeunes feuilles ont de nombreuses écailles visibles, poilues sur la nervure médiane et souvent également sur les nervures latérales principales (Aubreville, 1950).

Au plan anatomique, les feuilles de kinkéliba comportent des tissus criblés périmédullaires, des amas de fibres péricycliques, de nombreuses macles d'oxalate de calcium dans leurs parenchymes, on note surtout des poils tecteurs unicellulaires et des poils écailleux à tête pluricellulaire en rosace, ces derniers se localisent sur l'épiderme inférieur (Paris, 1956).

V.3 Les inflorescences

Les inflorescences sont des racèmes spiciformes, axillaires de 3 à 5 cm de long, à pédoncule écailleux, parfois fasciculé. La fleur est de type 4, hermaphrodite et complète avec 4S, 4P, 8ET, 1C. La corolle est blanchâtre ou rosée; l'ovaire infère, uniloculaire, renferme 2 à 3 ovules. Elles apparaissent en seconde partie de la saison sèche, plus ou moins avant ou au moment de l'apparition des premières pluies.

Le fruit est une samare à quatre ailes renfermant une seule graine (Pousset, 1989). Il est glabre, plus large que long et mesure 15 mm (Berhaut, 1997). La figure 4 représente un schéma d'interprétation des inflorescences de kinkéliba (W2).



1 =branche en fleurs; 2 =fruit

Figure 4: Inflorescences de kinkéliba redessiné et adapté par J.M. de Vries

VI. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE

Combretum micranthum est une combrétacées typiquement africaine, spontanée en Afrique de l'ouest. Son aire géographique est : Sénégal, Guinée, Gambie, Sierra-Léone, Cote d'Ivoire, Mali, Ghana, Niger, Bénin (Basséne, 1985). La figure 5 montre la répartition géographique du kinkéliba en Afrique (W2).

Il est aussi important de noter que *Combretum micranthum* est présent en savane sèche, souvent dégradée, sur des sols pierreux et graveleux, sur des affleurements rocheux et des termitières, souvent le long des cours d'eau, du niveau de la mer

jusqu'à 1000 m d'altitude. Il est commun par endroits voir dominant, et est indicateur de sols pauvres. *Combretum micranthum* est également une espèce indicatrice de brousse tigrée au Sahel. Il est résistant à la sécheresse et au feu.



Figure 5: Répartition du kinkéliba en Afrique

Au Sénégal, on le trouve partout ; il existe des zones de fort peuplement : la Casamance maritime, les plateaux de Thiès, autour des mares du sahel, dans les rebords de carapaces ferrugineux, les ravins, les galeries soudaniennes; dans certains secteurs, il est presque inexistant ou sporadique (W2).

VII. UTILISATIONS DU COMBRETUM MICRANTHUM

VII.1 Utilisations socio-culturelles

Combretum micranthum est une bonne plante à brouter pour le bétail et est important comme fourrage pendant la saison sèche au Nigeria. Au Sénégal, il semble être brouté seulement par les ânes, les moutons et les chèvres, mais pas autant par les bovins. Les fleurs sont très butinées par les abeilles.

Les feuilles, les tiges et l'écorce de racine sont une source de colorant jaune à jaune brunâtre pour les textiles et les nattes. Dans le nord du Nigeria, les tiges résistantes et pliables sont fractionnées et transformées en grands paniers, dont

l'intérieur et l'extérieur sont souvent enduits du fumier de vache, et qui sont utilisés pour stocker du grain ou enfermer des volailles. On confectionne des cordes avec l'écorce de tige. Le bois est très dur et utilisé comme bois de feu et pour faire du charbon de bois. Au Niger, la gomme de l'écorce est commercialisée (W2). Au Sénégal les tiges sont utilisées dans la fabrication des toits couverts, des tabourets, des lits, des arcs mais surtout dans la construction de palissades (figure 6) et de greniers (figure 7). Les différentes parties du kinkéliba utilisées dans divers domaines sont indiquées dans le tableau I.

Tableau I: Utilisations des différentes parties du kinkéliba

Parties de la plante Usages	Feuilles	Feuilles/fruits	Ecorces/fruits	Fleurs	Rameaux	Ecorces
Usages alimentaires et culinaires	Infusion	Tisane	Néant	Néant	Néant	Néant
Usages agricoles, pastoraux et vété- Rinaires	Fourrage	Fourrage	Ténifuges pour les chevaux et les ânes	Apiculture	Néant	Néant
Usages domestiques, artisanaux et in- Dustriels	Néant	Néant	Néant	Néant	Armenture des toits des cases et des greniers, meubles, paniers, bois de feu	Lien et cordage



Figure 6: Branches de kinkéliba utilisées comme palissade (Tine, 2018)



Figure 7: Branches de kinkéliba utilisées comme armenture de grenier (Tine, 2018)

VII.2 Utilisations empiriques médicinales

VII.2.1 Précautions d'emplois du Combretum micranthum

Pas spécialement toxique, le kinkéliba doit tout de même être utilisé à bon escient pour écarter les accidents. Afin qu'il conserve ses propriétés, le kinkéliba doit être gardé dans un endroit frais et sec, à l'abri des sources de chaleur et de forte éclairage.

Il est important que l'emballage soit maintenu étanche pour préserver les qualités de la plante. Son utilisation chez les femmes en période de grossesse ou qui allaitent doit faire l'objet d'un suivi médical strict.

Par ailleurs, il n'est pas conseillé de l'administrer à des enfants de moins de 2 ans sans l'avis d'un médecin (W3).

VII.2.2 Propriétés médicinales et bienfaits du Combretum micranthum

Les composés du kinkéliba en font un puissant désinfectant. Par ailleurs, ses vertus favorisent l'excrétion urinaire et la sécrétion biliaire.

Cette plante médicinale offre aussi une bonne protection pour les cellules hépatiques. C'est un puissant purgatif, dépuratif et diurétique qui agit efficacement contre les troubles digestifs.

Il n'est pas rare que le kinkéliba soit administré en complément pendant les régimes amaigrissants ou les périodes de jeun pour prévenir la constipation.

Outre son action tonifiante pour l'organisme, c'est également un stimulateur de l'appétit, un antipaludéen, un cholagogue, un anti-inflammatoire et un antibactérien (W3).

VII.2.3 Utilisation en médecine traditionnelle

Le kinkéliba est l'une des plantes sénégalaises les plus utilisées dans la pharmacopée traditionnelle sénégalaise. Il est utilisé dans divers niveaux curatifs et ceci en général sous forme de décoctions aqueuses (tableau II). Il est utilisé par

de nombreux peuples africains qui lui reconnaissent des propriétés exceptionnelles. La population locale le consomme en tisane depuis toujours pour se forger une santé de fer. D'ailleurs, l'infusion à base de *Combretum micranthum* est baptisée tisane de longue vie par les européens et les arabes.

Les propriétés diurétiques et cholagogues des feuilles sont connues de tous les africains.

Au Nigeria, la racine se prend comme antidote contre l'addiction aux médicaments. Avec de la poudre de fruits séchés on confectionne un onguent avec de l'huile, qui est appliqué sur les œdèmes et les abcès suppurants, également d'origine vénérienne, et sur les infections oculaires (W2).

L'enquête menée par Lengani, (2010) a rapporté que le kinkéliba est utilisé par les tradipraticiens pour traiter les maladies rénales au Burkina Faso.

En Casamance, les feuilles sont mâchées lorsqu'on s'attend à une période de malaria (Perry, 2004), également la poudre fine d'écorce de racine est triturée dans l'huile de palme ou avec du beurre de karité comme onguent dans les contusions, les entorses et comme embrocation pour massage avant et après un effort musculaire. La poudre de fruit est employée pour traiter les dermatoses chez les enfants (Burkill, 1995).

De leur côté les guérisseurs ne font pas mystère de l'emploi de cette drogue: dans le domaine de la thérapeutique avec *Combretum micranthum*, comme dans celui de la toxicologie avec *Erythophleum guineense**, il semble bien qu'ils soient satisfaits, pour couper court aux questions indiscrètes, d'avoir ainsi deux plantes à citer aux profanes curieux, la première chargé de tous les vertus, la seconde de tous les maux. L'utilisation du kinkéliba est classique dans la toux, les bronchites, le paludisme, la fièvre bilieuse hématurique et toutes les affections hépatobiliaires comme médicament d'appoint (Kerharo, 1974).

Les guérisseurs professionnels mettent en œuvre des préparations à base de kinkéliba et de diverses autres drogues pour le traitement du béri béri (*Lannea*, *Guiera*), des diarrhées infantiles, des hémorragies et des saignement de nez (*Gardenia*), de la lèpre (Jujubier, Gomme rouge et *Leptadenia*), l'énurésie (Jujubier), les blennorragies (arbre brosse à dents, *Cassia*), etc. (Kerharo, 1974).

L'étude comparative de l'activité antibactérienne des trois combrétacées: Combretum micranthum, Guiera sénégalensis et Teminalilia avicennioides a montré que ces trois espèces sont indiquées en médecine traditionnelle dans le traitement des diarrhées infantiles, des bronchites, de la toux, des maladies vénériennes et des plaies (Basséne, 1985).

Les feuilles et les racines bouillies servent en fumigations contre les fièvres et les courbatures; la décoction des racines est vermifuge. Elle sert aussi à laver et à soigner les plaies. Elle est employée contre les maux d'yeux en lavage et en compresse (Berhaut, 1997).

Le tableau II résume les différentes indications traditionnelles du kinkéliba.

Tableau II: Utilisations des différentes parties du kinkéliba en médecine traditionnelle (W2)

Partie de la plante Usages	Racines	Racines + feuilles	Ecorce	Rameaux	Feuilles	Fruits
Usages avérés en pharmacopée	Vermifuge, plaie, fièvres, syphilis, énurésie, stérilité, féminine.	Fièvre, courbatures	Fièvre, Courbatures.	Rhumatisme	Ictère et hépatite, hématurie, anorexie coliques et diarrhée, blennorragie, rhume, bronchite.	Gingivite

III. COMPOSITION CHIMIQUE

Pour expliquer les nombreuses propriétés de la plante, les chercheurs ont tenté de déterminer sa composition chimique. Ces études ont débuté depuis le 19 ^{éme} siècle. Cependant elles demeurent jusqu'à présent inachevées.

Ces études révèlent l'existence de plusieurs composés parmi lesquels, nous pouvons citer: des dérivés hydroxylés, des flavonoïdes, des tanins catéchiques et catéchols, des matières minérales, des acides organiques, des lipides, des alcaloïdes.

VIII.1 La fraction lipidique

L'étude chimique de la fraction insaponifiable de l'extrait lipidique des feuilles de *Combretum micranthum* montre la présence de trois types de dérivés hydroxylés : plusieurs alcools aliphatiques (C₁₆, C₁₈, C₂₆, C₂₈, C₃₀), deux alcools triterpéniques (probablement alpha amyrine et le lupéol) et surtout un stérol (le béta-sitostérol) (Basséne, 1989).

VIII.2 Les flavonoïdes

Des c-hétérosides ont été identifiés (Jentzsch, 1962); il s'agit de la vitexine (glucosyl-8-apigénine) et de l'isovitexine (glucosyl-6-apigénine).

L'existence de ces hétérosides flavoniques est confirmée par la suite par Basséne (1985). En outre il a mis en évidence dans les feuilles de kinkéliba la présence de deux autres flavonoïdes: l'homoorientine (glucosyl-6-lutéoline) et l'orientine (glucosyl-8- lutéoline).

Ainsi les feuilles de *Combretum micranthum* renferment deux groupes de C-flavonoïdes:

✓ Les dérivés de l'apigénine: la vitexine majoritaire et l'isovitexine en quantité non négligeable.

✓ Les dérivés de la lutéoline: l'orientine et l'homoorientine qui sont largement minoritaires par rapport aux précédents.

Quatre autres flavonoïdes ont été mis en évidence, mais n'ont pu être isolés en quantité suffisante pour être caractérisés sans ambiguïté (Olschwang, 1991).

VIII.3 Les tanins catéchiques et catéchols

Les tanins ont été les premiers composés mis en évidence dans les feuilles de kinkéliba. Paris et al. (1956) ont signalé la présence dans les feuilles des composés dont l'oxydation et la polymérisation provoquent le rougissement de la drogue; ainsi après avoir établi que la fraction tanique a un fort pouvoir cholagogue, il isola la combretum catéchine et le combrétanin.

VIII.4 Les proanthocyanidols et anthocyanidols

Daffé (1973) a mis en évidence des proanthocyanidols qui sont des monomères, dimères et trimères avec une structure de base constituée par: le procyanidol, le prodelphinidol et le propélargonidol. Les figures 8 et 9 montrent respectivement la structure chimique du proanthocyanidol et d'anthocyanidol.

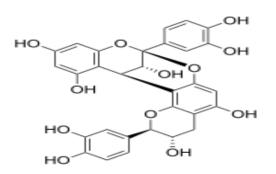


Figure 9: Structure chimique du proanthocyanidol

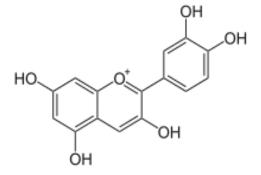


Figure 8: Structure chimique d'anthocyanidol

VIII.5 Les sels minéraux

D'après Heckel (1991), les feuilles de kinkéliba contiennent une quantité notable de nitrate de potassium.

La nature des minéraux contenus dans les cendres a été étudiée comme étant de la silice, du chlorure, du sulfate, du phosphate, du nitrate, du calcium, du potassium et de l'aluminium. La teneur en eau des feuilles est de l'ordre de 4 à 15 % (Paris, 1942).

VIII.6 Les acides organiques non phénoliques

Les chercheurs ayant travaillé dans la recherche de ces acides n'ont pas obtenu les mêmes résultats. C'est ainsi que Balansard (1952), en recherchant les facteurs responsables de l'activité diurétique d'un décoté, a mis en évidence plusieurs acides: malique, glycérique, glycolique et tartrique. Par contre Jentzsch (1962) n'a pas trouvé d'acides tartriques et glycoliques dans son échantillon.

Toutefois, la présence d'acide malique, citrique et oxalique a été confirmée plus tard (Daffé, 1973).

VIII.7 Les acides phénoliques libres et combinées

Jentzsch (1962) puis plus tard par Daffé (1973) ont révélé la présence d'acides galliques libres et combinés, ce dernier révèle en plus la présence d'acides féruliques. Les figures 10 et 11 montrent des structures d'acides phénoliques.

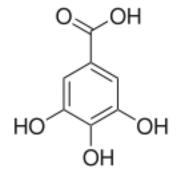


Figure 11: Structure chimique de l'acide gallique

Figure 10: Structure chimique de l'acide férulique

VIII.8 Substances glucidiques

La séparation de tous les sucres du kinkéliba (Basséne, 1985) a permis de distinguer d'une part glucose, galactose, fructose, saccharose et m-inositol et d'autre part les sucres alcool tels que le glycérol, l'érythritol, l'adonitol, le méthylpentitol, sorbitol et le mannitol.

VIII.9 Les substances alcaloïdiques

Paris (1942) a mis en évidence un composé alcaloïdique: la «Combretin». En 1956, Paris et Moyse-Mignon ont trouvé que la choline est la base majoritaire des feuilles de *Combretum micranthum*. Ils trouvèrent aussi la bétaïne; cependant, seule l'analyse par chromatographie sur papier est avancée comme preuve de cette affirmation (Basséne, 1985).

L'étude chimique des alcaloïdes du *Combretum micranthum* a été entreprise par d'autres auteurs afin de lever les ambiguïtés relevées à ce sujet.

C'est ainsi que Ogan (1972) identifia dans des échantillons du Nigéria, la "Combretin" de Lehmann comme étant la choline, mais là encore par comparaison de référence des Rf chromatographiques (Basséne, 1985).

Ogan isola deux bases quaternaires: les combrétines A et B, stéréoisomères de la bétonicine (méthyl-bétaïne).

Basséne (1986) a confirmé, étude structurale à l'appui, la présence d'hydroxystachydrine et de la choline précédemment décrie par Paris puis par Ogan. Il établit en plus la présence de stachydrine. Les figures 12 et 13 montrent respectivement la structure chimique de la stachydrine et de la choline.

$$O$$
 CH_3

Figure 12: Structure chimique de la stachydrine

Figure 13: Structure chimique de la choline

Simon (2011) a isolé et breveté de nouveaux alcaloïdes à base de pipéridine et de flavane comme composés présents dans la tisane de kinkéliba.

VIII.10 Les lipides

L'analyse chimique de l'extrait lipidique réalisée par chromatographie en phase gazeuse sur les esters méthyliques a permis d'identifier la présence d'une dizaine d'acides gras, dont trois majeurs : les acides palmitique, oléique et linoléique (Bassène, 1986 (a)). Le tableau III représente les acides gras des feuilles de kinkéliba.

Tableau III: Acides gras des feuilles de *Combretum micranthum* G.DON (Bassène, 1986 (a))

	Dénomination	Nombre de			% des
Nº Pic	de l'acide	carbones et de	TR en	TRR	acides gras
		doubles liaisons	mm		totaux
1	Myristique	C ₁₄ : 0	2,6	0,34	3,7
2	Inconnu		3,2	0,42	1,0
3	Palmitique	C ₁₆ : 0	4,6	0,61	37,8
4	palmitoléique	C ₁₆ : 1	5,6	0,74	4,2
5	Stéarique	C ₁₈ : 0	7,5	1,00	5,1
6	Oléique	C ₁₈ : 1	8,9	1,18	18,1
7	Linoléique	C ₁₈ : 2	11,0	1,46	7,1
8	Arachnidique	$C_{20}:0$	13,0	1,73	3,5
9	Linolénique	C ₁₈ : 3	14,9	1,98	16,0
10	Inconnu		19,0	2,53	1,2
11	Inconnu		22,8	3,04	2,1

TR: temps de rétention

TRR: temps de rétention relatif à celui de l'acide stéarique

IX. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES

IX.1 Action hépatobiliaire

L'action hépatobiliaire est bien expliquée par la présence de sorbitol, de mannitol, de m-inositol et peut-être de bien d'autres sucres réduits (Bassène, 1987). Cette action peut être elle-même renforcée par la présence de choline qui se trouve parmi d'autres alcaloïdes dans l'extrait aqueux des feuilles (Basséne, 1985).

IX.2 Action cholagogue

Pour l'action cholagogue, on peut citer comme principaux responsables les sucres, l'inositol, le sorbitol et les alcaloïdes du type choline et stachydrine. Selon Basséne (1986 (b)), la présence de choline justifie l'usage traditionnelle de la plante comme cholagogue.

Paris (1942), a vérifié chez le chien l'action cholagogue, a émis l'hypothèse que l'action sur la sécrétion biliaire est en rapport avec la présence d'acide gallique à fort pouvoir cholagogue.

Selon Kane (2005), citant Basséne (1987) et Olschwang (1991), les troubles digestifs sont couramment traités par les alditols présents dans la fraction glucidique (tant d'un point de vue cholagogue que de celui du transit intestinal).

Kane (2005) a mis en évidence des propriétés cholérétiques de la plante chez des rats sains et des rats cholestatiques. Ils ont montré que chez ces derniers l'effet cholérétique est observé si l'administration du kinkéliba se fait en même temps que l'instauration de la cholestase.

IX.3 Action lipotrope

En corrélation avec l'action hépatobiliaire, celle lipotrope du cyclitol est vraisemblablement renforcée par la présence de choline, dont l'existence a été démontrée dans la plante à côté d'autres alcaloïdes majoritaires dérivés de la stachydrine (Ogan, 1972), (Basséne, 1986); également l'inositol complète l'action lipotrope de la choline et des bétaïnes.

IX.4 Action diurétique

Ferrea (1991) signale la présence d'une grande quantité de nitrate de potassium qui peut expliquer l'action diurétique et hypotensive légère. Cette action est pharmacologiquement prouvée par Balansard (1952); il montre chez le lapin que la diurèse provoquée par le décocté de feuilles porte non seulement sur l'élimination de l'eau mais aussi sur l'élimination des chlorures et de l'urée avec un certain retard. Ces auteurs conclurent que la drogue est un diurétique tissulaire et hépatorénal.

Puis également d'autres auteurs identifièrent les flavonoïdes en particulier la vitexine qui pourrait renforcer l'action diurétique (Jentzsch, 1962) et (Basséne, 1985). L'intervention de ces flavonoïdes est envisagée au niveau des capsules de Malpighi.

IX.5 Effet hypotenseur

Valetas (1939) a montré que l'injection d'un extrait chez un chien anesthésié au chloralose à raison 2 ml/kg provoquait une hypotension fugace suivi d'une légère hypertension. De même la vitexine, flavonoïde majoritaire (2 g/kg de feuilles) aurait des propriétés hypotensives (ganglioplégique) et anti-inflammatoires (antihistaminique, antibradykinin et antisérotonine) (**Prabhakar**, 1981).

XI.6 Action anti-inflammatoire

Cette action ne semble pas être connue jusqu'à présent, alors que celle-ci serait parfaitement cohérente avec la présence de la vitexine flavonoïde majoritaire des feuilles de kinkéliba (Jentzsch, 1962).

Olumayokun (2003) confirme ces propos et montre que l'effet de 100 mg/kg de l'extrait aqueux des feuilles de *Combretum micranthum* est comparable à celui produit par l'indométacine (5 mg/kg), un médicament anti-inflammatoire.

XI.7 Activité antibactérienne

Taura (2009) a mis en évidence les activités antibactériennes et antifongiques des extraits d'organes de *Combretum micranthum*, contre *Pseudomonas aeruginosa*,

Klebssiella pneumoniae, Streptococcus pneumoniae, Salmonella typhi, Staphylococcus aureus, Escherichia colli et Candida albicans.

Il a montré que *Combretum micranthum* avait un plus large spectre d'activité que les antibiotiques commerciaux testés contre des isolats. Ces résultats confirment les travaux d'Ajibesin et *al.* (2002). Ces derniers ont justifié les modes d'indications en ethnomédecine des extraits de cette plante dans le traitement de divers maux.

Banfi et al. (2014) ont également déterminé l'activité antibactérielle des extraits bruts et des fractions purifiées au moyen de dosages sur disque d'agar et de puits des feuilles de *Combretum micranthum* et de *Guiera senegalensis* contre *Escherichia coli C1a* et *Staphylococcus aurens* MSSA (Methicillin Sensible S. Aurens) (ATCC 25293). L'extrait éthanolique des feuilles de *Combretum micranthum* (C.m4-P) et les extraits toluèniques des feuilles de *Guiera senegalensis* (G.s4-P) ont montré l'activité antibactérienne la plus pertinente. Deux fractions purifiées, désignées C.m4-P et G.s2-P, ont été isolées à partir des extraits bruts les plus actifs et leur efficacité antibactérienne a été étudiée sur un panel de neuf souches bactériennes cliniquement pertinentes. C.m4-P s'est avéré efficace contre les souches de Gram (-), alors que G.s2-P s'est avéré actif uniquement contre les souches de Gram (+) à une très faible concentration (en particulier pour une concentration minimale d'inhibition de 18,7 μg / ml et une concentration minimale bactérienne de 75 μg / ml).

XI.8 Activité antivirale et contre l'hépatite

Ferria et al. (1997) ont mis en évidence l'activité de l'extrait méthanolique de feuilles de *Combretum micranthum* in vitro sur les virus *Herpès simplex* (HSV1 et HSV2). Ils ont montré que cet extrait inhibe ces virus.

XI.9 Activité antidiabétique

Chika et al. (2010) ont démontré la propriété antidiabétique potentielle de l'extrait aqueux de feuille de *Combretum micranthum*, justifiant ainsi son utilisation

traditionnelle. Parmi les doses testées, celle de 100 mg/kg de l'extrait s'est révélée la plus efficace. Elle produit une activité hypoglycémique et antidiabétique significative, comparable à l'effet du médicament standard (0,6 mg/kg de glibenclémide).

De même Welch et al. (2017) ont montré par des tests chimiques et biologiques que les composés flavonoïques tels que: vitexine, isovitexine, orientine, homoorientine, identifiés dans l'extrait éthanolique du kinkéliba, pouvaient avoir diminuer l'expression des effets synergiques pour de l'ARNm phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK), et la production de glucose dans une lignée H4IIE hepatomacell, indiquant son utilisation potentielle dans le traitement du diabète insulinorésistant. Une étude in vivo supplémentaire sur des souris C57BL / 6J indique que le Kinkéliba peut réduire la glycémie plasmatique de manière liée à la dose, sans perte de poids significative ni toxicité (Welch, 2017). L'extrait d'acétate d'éthyle riche en flavonoïdes pourrait également augmenter la tolérance au glucose (GT) après l'administration de sept mauvaises herbes. Des expériences in vitro et in vivo soutiennent une nouvelle application potentielle de feuilles de kinkéliba comme agent antidiabétique (Welch, 2017).

CHAPITRE II: GENERALITES SUR LES POLYPHENOLS

I. DEFINITION ET ORIGINE BIOSYNTHETIQUE

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence d'aux moins deux groupes phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaire (Bruneton, 2009).

Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes; ils sont issus de deux grandes voies d'aromagenése (Knaggs, 2003):

- La voie la plus courante est celle qui, *via* le shikimate (acide shikimique), conduit à des oses aux aminoacides aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis, par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leur très nombreux dérivés: acides benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines, etc.
- L'autre voie part de l'acétate et conduit à des poly-β-cétoesters de longueur variable, les polyacétates qui engendrent, par cyclisation (réaction de CLAISEN qui est une condensation aldolique), des composés souvent polycycliques: chromones, isocoumarines, orcinols, depsides, depsidones, xanthones, quinines etc.

La pluralité structurale des composés phénoliques due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité, très fréquente, d'une participation simultanée du shikimate et de l'acétate à l'élaboration de composés d'origine mixte (flavonoïde *lato sensu*, stilbénes, pyrones, xanthones, etc.).

La participation du troisième synton élémentaire, le mévalonate est également possible bien que moins fréquente: dérivés mixte de shikimate et du mévalonate comme certaines quinones ou comme les furano- et pyranocoumarines, composés mixtes acétate mévalonate comme les cannabinoïdes. Dans quelques cas le troisième précurseur concoure à l'élaboration de la même structure : c'est entre autres celui des roténoïdes.

Ces remarques permettent donc de mieux appréhender la notion de composés phénoliques : dérivés non azoté dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique ou/et de celui d'un polyacétate (Bruneton, 2009).

II. CLASSIFICATION

Les polyphénols naturels regroupent donc un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques (acide gallique), à des composés hautement polymérisés, de plus de trente mille daltons, comme les tanins (acide tannique).

Les polyphénols sont communément subdivisés en phénols simples, acides phénoliques et coumarines, en naphtoquinones, en stilbénoïdes, en flavonoïdes, isoflavonoïdes et anthocyanes, et en forme polymérisées: lignanes, lignines, tanins condensés (W4).

Néanmoins les plus importants sont: les acides phénols, les coumarines, les flavonoïdes et les tanins.

II.1 Les acides phénoliques et les coumarines

II.1.1 Les acides phénoliques

II.1.1.1 Structures

Le terme acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La pratique courante en phytochimie a réservé cette dénomination aux seuls dérivés des acides benzoïques et cinnamiques (Bruneton, 2009).

• Acides-phénols dérivés de l'acide benzoïque:

Les acides-phénols en C₆-C₁, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont trés communs aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside (acides benzoïque, p-hydroxybenzoïques, salicylique, vanillique, syringique, vératrique, gallique, protocatéchique).

L'acide gallique et son dimére l'acide hexahydroxydiphénique sont les éléments constitutifs des tanins hydrolysables. On connait également les aldéhydes correspondant à ces acides: vanilline, anisaldéhyde, salicylaldéhyde (Lafay, 2008).

Acide-phénols dérivés de l'acide cinnamique:

La plupart des acides-phénols en C₆-C₃ (acides 4-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large; les autres (comme acide 2-coumarique) sont peu fréquents. Rarement libres, ou alors ce sont des artéfacts d'extraction, ils sont souvent estérifiés (Lafay, 2008):

- ✓ Esters d'alcools aliphatiques (acides mono- et dicaféyl-tartrique des Vitaceae ou de l'Orthosiphon aristatus, féruloyl-tartrique des Echinaceae, caféyl-malique de Parietaria officinatis);
- ✓ Esters de l'acide quinique, de l'acide chlorogénique (5-caféoyl-quinique) spécifique aux *Lamiaceae* et aux *Boraginaceae*.

Ils peuvent également être amidifiés (dérivés de la spermidine, de la tyramine, ou de la putrescine), ou combinés avec des sucres: esters du glucose ou éthers du glucose. La figure 14 montre des exemples structuraux d'acides phénoliques.

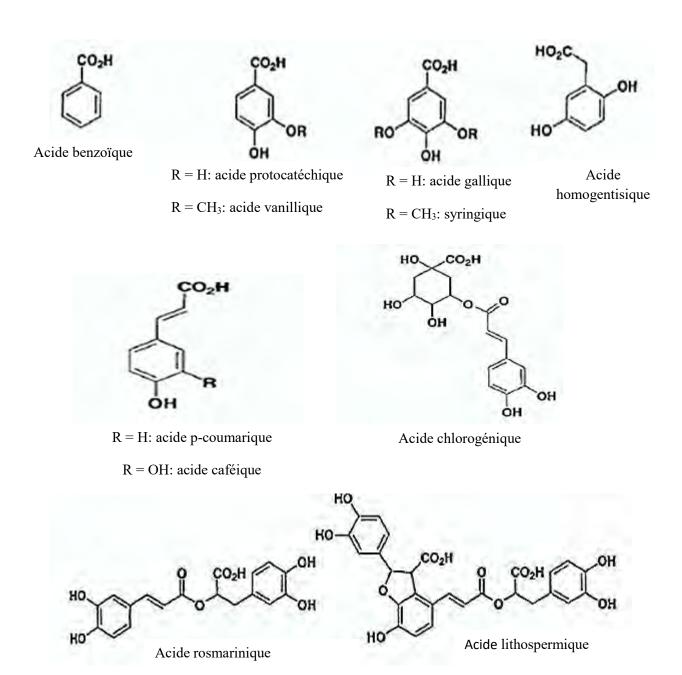


Figure 14: Exemples de structures d'acides phénoliques (Robbins, 2003)

II.1.1.2 Propriétés pharmacologiques et emplois des acides phénoliques Le rôle physiologique et/ou écologique de ces molécules est très mal connu. Les esters hétérosidiques phénylpropanoïques montrent des potentialités pharmacologiques intéressantes. Certaines d'entre eux sont des inhibiteurs enzymatiques : inhibition de la phosphodiestérase de l'AMPc (forsythiaside, plantamajoside), inhibition de l'aldose réductase (verbascoside ou actéoside). Le verbascoside, le forsythiaside et leurs homologues inhibent, aussi bien sur des granulocytes humains que sur des cellules péritonéales de rat, la 5-lipoxygénase.

Il en résulte une inhibition de la formation des hydroperoxydes des leucotriènes qui pourrait justifier l'emploi, par la médecine traditionnelle orientale (chine, japon), des fruits de *Forsythia* dans le traitement des maladies inflammatoires (Pan, 2003).

Les acides-phénols, présents en quantité notable dans les fruits et légumes, sont des piégeurs de radicaux libres c'est à dire des antioxydants. Ils jouent donc, comme les flavonoïdes et d'autres polyphénols, un rôle reconnu dans le maintien d'un état de santé et pourraient participer à la prévention de pathologies en partie liées à un excès de radicaux et au stress oxydatif. L'acide chlorogénique, comme l'acide caféique, inhibe (in vitro) les réactions de nitrosation et certains processus d'altération des acides nucléiques (Naczk, 2004).

II.1.2 Les coumarines

II.1.2.1 Structures

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », non vernaculaire de la fève tonka (*Dipteryx odorata* Willd., *Fabaceae*) d'où fut isolée, en 1820, la coumarine. Les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones que l'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxycinnamique (Z). Plus d'un millier de coumarines ont été décrites et les plus simples d'entre elles sont largement répandues dans tout le règne végétal. Certaines familles Angiospermes élaborent des structures très variés: *Fabaceae*, *Astoraceae*, et, surtout, *Apiaceae* et *Rutaceae* chez lesquels sont rencontrées les molécules les plus complexes.

Comme les autres dérivés phénylpropaniques, les coumarines sont issues du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique, l'acide 4-hydroxycoumarique. La spécificité du processus est l'hydroxylation en C-2 (c'est à dire en ortho du chaînon tricarboné); il y'a ensuite isomérisation photocatalysée de la double liaison (E \longrightarrow Z) et la lactanisation (Bourgand, 2006).

La figure 15 montre des exemples structuraux de coumarines.

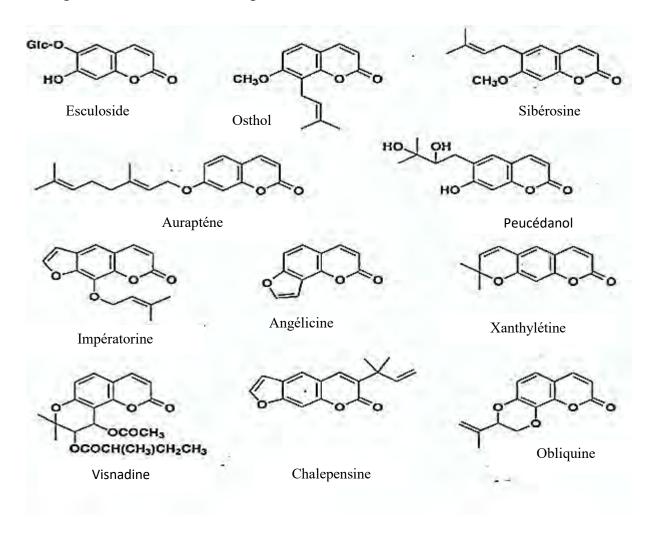


Figure 15: Exemples de structures coumariniques (Bourgand, 2006)

II.1.2.2 Propriétés pharmacologiques et emplois des coumarines

L'intérêt pharmacologique de ces plantes à coumarine est limité. L'esculoside est présenté comme veinotonique et vasculoprotecteur. L'extrait de mélilot est un médicament symptomatologique de l'insuffisance veinolymphatique. Certaines furanocoumarines sont photosensibilisantes. La visnadine et les pyranocoumarines par ses propriétés vasodilatatrices coronariennes sont présentées comme ayant une action favorable sur les troubles de la sénescence cérébrale (Bruneton, 2009).

La coumarine connue pour ces propriétés anti-œdémateuses, a fait l'objet d'études cliniques chez des patients atteints de cancers avancés: elle est immunostimulante et développerait une activité cytotoxique (Raiss, 2004).

II.2 Les flavonoïdes

II.2.1 Généralités sur les flavonoïdes

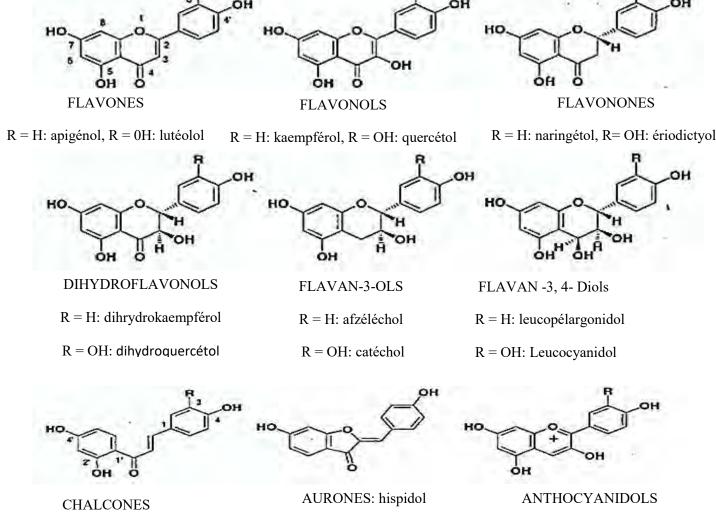
Les flavonoïdes constituent un groupe chimique relativement homogène. Ce sont des pigments naturels de couleur jaune (*flavus* signifie jaune) que l'on rencontre dans presque tous les végétaux. Si l'on s'accorde à dire que les flavonoïdes sont des métabolites secondaires, par contre leur rôle dans la plante est encore mal défini. (Basséne, 2012)

Plusieurs milliers de flavonoïdes ont été décrits et ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, possède le même élément structural de base, à savoir l'enchainement 2- phénylchromane. Ils peuvent être regroupés en une douzaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, lequel peut être ouvert ou recyclisé en un motif furanique (dihydrofuranone) (Anderson, 2006):

- 2- phénylbenzopyriliums, alias anthocyanes;
- 2-phénylchromones:
 - ✓ Flavones, flavonols et leurs dimères,
 - ✓ Flavanones et dihydroflavonols (dérivés 2,3-dihydrogénés);
- 2- phénylchromanes;
 - ✓ Flavanes,
 - ✓ Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols
- Chalcones et les dihydrochalcones (le cycle pyranique est ouvert);
- 2-benzylidéne-coumaranones (aurone)

Compte tenu de l'homogénéité structurale, on parle de flavonoïdes *lato sensu* pour ce vaste ensemble. Mais si l'on tient compte de leurs comportements et de leurs propriétés particulières, on aura les dérivés flavaniques, les anthocyanosides et les

isoflavonoïdes et conservés l'appellation de flavonoïdes *stricto sensu* pour les Flavones, les flavonols, leurs dérivés 2,3-dihydrogénés, aurones et chalcones (Bruneton, 2009). La figure 16 montre des exemples de structures flavonoïques.



R = H: isoliquiritigénine, R = OH: butéine

R = H: pélargonidol, R = OH: cyanidol

Figure 16: Exemples de structures flavonoïques (Anderson, 2006)

II.2.2 Origine biosynthétique des flavonoïdes

L'origine des flavonoïdes est inscrite en filigrane dans leur structure. Elle apparait bien dans celles des chalcones: condensation d'un «triacétate» (cycle A) et d'un acide cinnamique (cycle B), la cyclisation engendrant le cycle pyranique central. L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation catalysée par le

chalcone-synthase, de trois molécules de malonyl-CoA avec un ester de coenzyme A et d'un acide hydroxycinnamique, en règle générale le 4-coumaroyl-coenzyme A. Le produit de la réaction est un chalcone, la 4, 2',4',6'-tétrahydroxychalcone ou, si la condensation a lieu en présence d'une polyacétate-réductase à NADPH, une 6'-désoxychalcone, la 4, 2', 4'-trihydroxychalcone (Anderson, 2006).

Dans les conditions physiologiques normales, la chalcone tend à s'isomériser spontanément en flavanone racémique. En fait, la cyclisation de la chalcone est catalysée par une enzyme, la chalcone-isomérase, qui induit une fermeture (Anderson, 2006). La figure 17 montre la réaction biosynthétique des flavonoïdes.

Figure 17: Origine biosynthétique des flavonoïdes (Anderson, 2006)

II.2.3 Distribution et localisation des flavonoïdes

II.2.3.1 Distribution

La présence de flavonoïdes chez les algues n'a pas, à ce jour, été démontrée. S'ils sont fréquents chez les *Bryophyta* (mousse et hépatique), ce sont toujours des flavonoïdes *stricto sensu*, majoritairement des O- et C-hétérosides de flavones et des dérivés O-uroniques. Chez les *Ptéridophyta*, la variation structurale des flavonoïdes n'est guère plus grande, les *Psylotopsida* et *Lycopsida* étant caractérisées par la présence de biflavonoïdes, les *Equitopsida* par celle de proanthocyanidols. Les O-Hétérosides de flavonols dominent chez les *Filicopsida* qui, pour certaines, élaborent également de chalcones ou proanthocyanidols (Harborne, 1999).

Chez les Gymnospermes, les proanthocyanidols sont remarquablement constant et l'on note la présence, chez les *Cycadopsida* et les *Pinopsida* (à l'exception des *Pinaceae*), de biflavonoïdes absents chez les *Gnetopsida*; la distribution de ces composés et des hétérosides de flavones et de flavonols qui les accompagnent varie ici nettement en fonction de l'organe (bois, écorce, feuille) (Harborne, 1999).

C'est chez les angiospermes que la diversité structurale des flavonoïdes est maximale: ainsi une trentaine des types de flavonoïdes ont pu être identifiés chez les *Astéraceae* (Harborne, 2000).

II.2.3.2 Localisation

Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, hydrosolubles, s'accumulent dans les vacuoles et, selon les espéces, se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques. Lorsque les flavonoïdes sont présents au niveau de la cuticule foliaire, il s'agit presque toujours de génines libres dont la lipophilie est accrue par la méthylation partielle ou totale des groupements

hydroxyles. Cela concerne surtout des plantes de régions arides ou semi-arides, souvent pourvues de structures sécrétrices (Bruneton, 2009).

II.2.4 Propriétés biologiques

La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être «veinoactif », c'est-à-dire capable de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins
et de renforcer leur résistance. Chez l'animal, ils peuvent réduire les signes d'une
hypovitaminose C expérimentale. Cette propriété leur a valu, pendant un temps,
le nom de « vitamine P ». N'étant pas des vitamines (une carence en flavonoïdes
n'entraine aucun syndrome particulier), on parle ensuite de « facteurs vitaminique
P » ou, moins ambigüe, de « facteur P ». Ces termes ne sont plus guère utilisés:
on parle maintenant de « veinotropes » ou de « veinotonique » pour ces produits
naturels et leurs dérivés que le dictionnaire de spécialités range sous la rubrique
générale « vasculoprotecteurs et veinotonique » (Harborne, 2000).

Actuellement on s'intéresse surtout à l'interaction des flavonoïdes avec les radicaux et à ses conséquences possibles en termes de prévention, dans la mesure où ces micronutriments sont apportés en quantité notable par les fruits et les légumes. Beaucoup de travaux s'efforcent également de cerner, in vitro, l'activité de ces molécules sur les cellules et les systèmes impliqués dans la réponse immunitaire et l'inflammation (Harborne, 2000).

II.2.4.1 Flavonoïdes dans la résistances et perméabilité capillaire

Historiquement, la notion d'effet capillaro-protecteur est liée à l'observation suivant: certaines manifestations du scorbut, guéries par l'administration de jus de citron, ne le sont pas par l'administration du seul acide ascorbique (vitamine C). Il a donc été postulé que l'acide ascorbique ne pouvait agir qu'en association avec un facteur « C₂ » ou « P », d'abord identifié aux flavonoïdes *stricto sensu*, puis plus globalement, aux anthocyanosides et aux oligomères flavaniques (Bruneton, 2009).

Il est effectivement possible de montrer que toutes ces molécules sont capables de diminuer la perméabilité des capillaires et de renforcer leur résistance. La méthode la plus classique pour apprécier la résistance des capillaires consiste à mesurer la valeur de la dépression nécessaire pour provoquer la rupture. La dépression est obtenue par l'intermédiaire d'une ventouse appliquée sur la peau et la rupture se manifeste par la formation de pétéchies. Pour évaluer l'effet sur la perméabilité capillaire, il est possible de mesurer, chez l'animal, le temps d'apparition au niveau de la peau irritée de l'abdomen d'un colorant injecté par voies générale. Beaucoup d'autres méthodes peuvent être employés: inhibition de la fuite capillaire de protéine radiomarquées, induction de stase veineuse, études sur veines isolés etc. (Harborne, 2000).

II.2.4.2 Flavonoïdes et radicaux libres

De nombreuses propriétés, mise en évidence in vitro, sont invoquées pour expliquer l'action des flavonoïdes. Initialement, il a été postulé qu'il agirait sur des réducteurs de l'acide déhydroascorbique via le glutathion à l'encontre du quel il se comporte comme des donneurs d'électrons. L'économie d'acide est d'autant plus grande que le flavonoïde est réducteur (Anderson, 2006).

On considère maintenant, et plus globalement, que ces phénols qui sont les flavonoïdes piègent les radicaux formés dans divers circonstances (Anderson, 2006):

- Anoxie, qui bloque les flux d'électrons en amont des cytochromes oxydases et engendre la production de l'anion radical superoxyde (O₂•-). Le radical superoxyde agit avec les protons en dismutant en dioxygène et peroxyde d'hydrogéne;
- Inflammation, qui correspond, entre autres, à la production d'anion superoxyde (O₂•-) par la NADPH-oxyde membranaire des leucocytes activés, mais aussi à celle, des dismutations, de peroxyde d'oxygéne lequel, en présence d'ions ferreux, engendre le très réactif radical

d'hydroxyle (OH*, réaction de Fenton; il est aussi produit par les rayonnements électromagnétique) et d'autres espéces réactives (HOCL, chloramine, etc.).

Ces espèces normalement mis en jeu au cours des phénomènes de la phagocytose peuvent par exocytose, être libérées dans le milieu extérieur et y provoquer des dégâts biochimiques importants.

• Autoxydation lipidique. En général amorcée par le radical hydroxyle (ou par NO¹) qui arrache un hydrogéne à la chaine latérale d'un acide gras, elle forme un radical carboné (R¹). Ce dernier réagit avec l'oxygéne pour former des peroxydes cycliques et des radicaux hydroperoxydes (ROO¹) assurant la propagation de cette réaction en chaine. Il se forme également des radicaux alkoxyle lipophiles (RO¹).

Normalement la cascade de réaction découlant de l'appariement de l'un des électrons libres de l'oxygéne est interrompue par des systèmes enzymatiques: superoxyde dismutase (mitochondriale et cytoplasmique) qui transforme l'anion radical superoxyde (O₂•-) en peroxyde d'hydrogéne (H₂O₂) et dioxygène (O₂); catalase et glutathion - peroxydase qui réduise aussi bien les peroxydes (en eau) que, plus tardivement les hydroperoxydes (ROOH + 2GSH———> R-OH + H₂O + GS-SG) (Anderson, 2006).

Biochimiquement, les radicaux dont leur rôle est incomplètement élucidé, seraient responsables d'altérations des acides nucléiques et de mutation, d'initiation et de promotion de processus de cancérisation, ainsi que des dégradation cellulaires du fait, entre autres, de leurs réactions avec les phospholipides membranaires (Bruneton, 2009).

La majorité des auteurs admettent aujourd'hui, l'hypothèse selon laquelle les radicaux ont une part de responsabilité dans la genèse des lésions athéromateuses, dans l'apparition de certain cancers ou dans les dégénérescences nerveuses, voir

dans l'arthrite rhumatismale ou la cataracte. C'est sur cette base que se sont développé de trés nombreuse travaux, notamment épidémiologiques, sur le rôle préventif que pourraient jouer des molécules antioxydantes (capables de piéger les radicaux libres) comme les flavonoïdes, certains lignanes ou d'autres métabolites régulièrement apportés par la ration alimentaire (Bruneton, 2009).

De nombreux flavonoïdes *lato sensu* et, avec eux, beaucoup d'autres phénols (en particulier les tocophérols (vitamine E), réagissent avec les radicaux, empêchant ainsi les dégradations liées à leur intense réactivité. Il semble que la capacité antioxydante d'un flavonoïde dépende de son affinité pour les radicaux et donc de sa structure (*in vitro*, les flavanols sont plus actifs que les flavonols, eux-mêmes plus actifs que les flavanones) (Bruneton, 2009).

II.2.4.3 Flavonoïdes et inhibiteurs enzymatiques

En règle générale les flavonoïdes sont, in vitro, des inhibiteurs enzymatiques:

- Inhibition de l'histidine-décarboxylase par le quercétol ou la naringénine;
- Inhibition de l'élastase;
- Inhibition de la hyaluronidase, par les flavones et surtout par les proanthocyanidols, ce qui permet de conserver l'intégrité de la substance fondamentale de la gaine vasculaire;
- Inhibition non spécifique de la catéchol-O-méthyltransférase, ce qui augmente la quantité de catécholamines disponible et donc provoquant une élévation de la résistance vasculaire;
- Inhibition de la phosphodiestérase de l'AMPc ce qui pourrait explique entre autre, leur activité anti-agrégante plaquettaire ;
- Inhibition de l'aldose-réductase, impliqué dans la pathogénie de la cataracte par la quercitroside ainsi que par des méthoxyflavones
- Inhibition in vitro de la protéine-kinase, notamment par la lutéolol;

• Plusieurs flavonoïdes tels que cirsiliol, hypolaetine. sont de puissants inhibiteurs de la 5-lipoxygénase et donc de la production des leucotriènes médiateurs de l'inflammation et des manifestations allergiques. Plusieurs flavonoïdes (lutéolol, apigénol, chrysine, etc.) inhibent quant à eux la cyclo-oxygénase et l'agrégation plaquettaire. Ces propriétés démontrées *in vitro* pourraient expliquer en partie les activités anti-inflammatoires et antiallergiques habituellement attribuées à diverses plantes connues pour renfermer des flavonoïdes (Bruneton, 2009).

Cependant, plus rarement, les flavonoïdes peuvent stimuler une activité enzymatique : c'est le cas de la proline—hydroxylase. Cette stimulation favoriserait l'établissement de pontages entre les fibres de collagènes, renforçant ainsi leur solidité et leur stabilité, s'opposant à leur dénaturation. Cette activité au niveau du collagène semble être principalement le fait des oligomères flavanoliques (proanthocyanidols). On peut aussi remarquer que l'anion superoxyde semble être impliqué dans la protéolyse non enzymatique du collagène, les anthocyanosides inhibent ce processus dégradatif (Anderson, 2006).

II.2.4.4 Autres propriétés des flavonoïdes

Souvent présenté comme anti-inflammatoires, ce qui est compatible avec ce qui est connue de leurs interactions avec les polynucléaires et les thrombocytes ou encore avec le métabolisme de l'acide arachidonique, les flavonoïdes peuvent être antiallergiques, hépatoprotecteurs (isobutrine, hispiduline, flavanolignanes), antipasmodiques sur l'iléon de cobaye stimulé par divers agoniste (flavonoïdes du thym et autres *Lamiaceae*), hypocholestérolémiants (flavanones), diurétique, antibactériens, antiviraux *in vitro* (3-hydroxy et 3-méthoxyflavones non hétérosidiques) (Bruneton, 2009).

Un petit nombre de flavonoïdes sont anti-cancérogènes et inhibiteurs de la croissance des cellules tumorales *in vitro*: ils peuvent interagir avec les enzymes

du métabolisme des xénobiotique, avoir des effets anti-initiateurs et/ou anti promoteurs ou encore être cytostatiques, voire cytotoxiques. La plupart des flavonoïdes, *in vitro*, sont antimutagènes (Suschetet, 1997).

II.3 Les tanins

II.3.1 Généralités sur les tanins

Historiquement, l'importance des plantes à tanins est liée à leurs propriétés tannantes, c'est à dire à la propriété qu'ils ont de transformer la peau fraiche en un matériel imputrescible: le cuir. A l'heure actuelle, le tannage industriel est principalement obtenu par l'intermédiaire de composées minéraux mais, pendant plusieurs millénaires, il a nécessité le recours exclusif aux végétaux.

La résultante du tannage est l'établissement de liaisons entre les fibres de collagène de la peau, ce qui confère à cette dernière une résistance à l'eau, à la chaleur, à l'abrasion. Cette aptitude des tanins à se combiner aux macromolécules explique qu'ils précipitent la cellulose, les pectines, les protéines. Elle explique également leur astringence, cette âpreté caractéristique : en précipitant les glycoprotéines riches en proline que contient la salive, les tanins font perdre à celle-ci son pouvoir lubrifiant (Bruneton, 2009).

La combinaison entre les tanins et les macromolécules s'établit par l'intermédiaire d'interactions hydrophobes et de liaisons hydrogènes entre les groupements phénoliques des tanins et les protéines et les autres polymères. D'autres types de liaisons irréversibles doivent également intervenir pour assurer la stabilité dans le temps de la combinaison entre les tanins et les structures du collagène. C'est le cas des liaisons covalentes qui s'établissent après oxydation des phénols en quinones. Toutefois, une condition est nécessaire à la formation de ces liaisons: la masse moléculaire des tanins doit être comprise entre des limites bien définies. Si celles-ci est trop élevée, la molécule ne peut pas s'intercaler entre les espaces interfibrillaire de la macromolécule; si elle est trop faible, la molécule s'intercale,

mais ne peut pas former un nombre suffisant de liaisons pour assurer la stabilité de la liaison (Khanbabaee, 2001).

Ces propriétés ont conduit à l'adoption de la définition classique des tanins: « Composés phénoliques hydrosolubles ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présentent, à côtés des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines » (Smith, 1962).

Si cette définition est valable, elle a perdu de son intérêt depuis que l'on a pu préciser la structure chimique exacte de ces polyphénols qui sont la proanthocyanidols et les polyesters des acides gallique et ellagique.

Plus récemment Mole et Waterman, (1987) ont défini les tanins comme des « produits naturels phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses ».

II.3.2 Classification des tanins

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique: les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

II.3.2.1 Les tanins hydrolysables

Ils sont encore appelés tannoïdes, appartenant à la grande famille des hétérosides. Ce sont des polyesters de glucides et d'acide gallique et de ses dérivés comme l'acide digallique et l'acide ellagique. Par hydrolyse acide ou enzymatique (tannase), ces tanins sont scindés en oses et en acides phénols (Bassène, 2012).

Le sucre est généralement le glucose. L'acide-phénol est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation (déhydrohexahydroxydiphénolique = DHHDP; acide chébulique) dans le cas des tanins ellagiques (Khanbabaee, 2001).

Tanins galliques, tanins ellagiques et tanins déhydroellagiques sont caractéristiques des angiospermes dicotylédones sauf les Astéridae chez lesquelles ils sont généralement absents (Bruneton, 2009). La figure 18 montre l'origine probable des esters galliques du glucose et la filiation des tanins hydrolysables et la figure 19 montre quelques exemples de structures de ces dernières.

Acide 3-déshydroshikimique

Acide gallique

B -1- o - galloyl - D - glucose = β = glucogalline = 1

 $1,\,2,\,3,\,4,\,6$ - penta - o – galloyl - $\,\beta$ - D - glucose

Figure 18: Origine probable des esters galliques du glucose et filiation des tanins hydrolysables

Pédunculagine (R=H), Casuarictine (R=G, β), Potentilline (R=G, α)

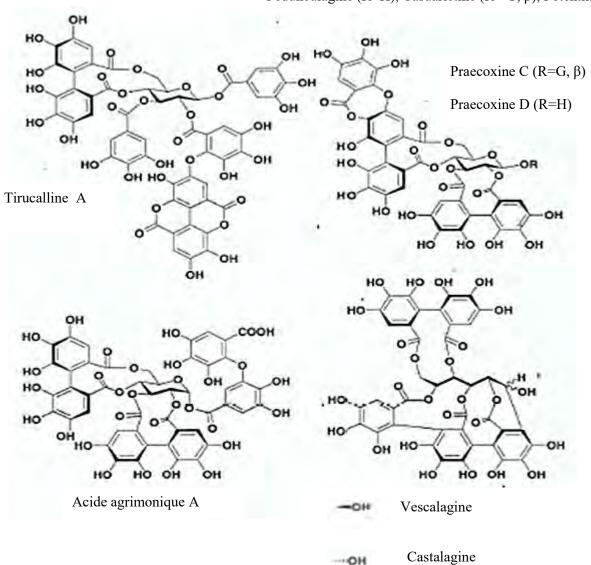
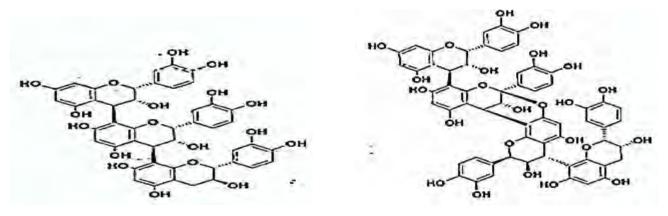


Figure 19: Exemple de structure de tanins hydrolysables

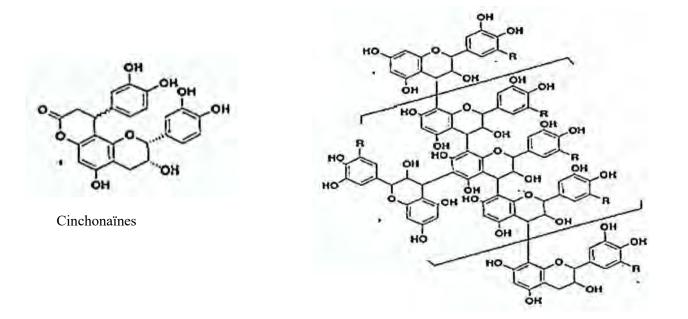
II.3.2.2 Tanins condensés

Encore appelés tanins non hydrolysables ou tanins vrais, les tanins condensés sont parfois classés parmi les flavonoïdes au sens large, car de structure voisine. Ce sont des dérivés du flavane et ils ne renferment pas de sucres dans leurs molécules. Ils ont tendance à se polymériser pour donner des produits rouges insolubles appelés phlobaphénes, à l'image des tanins de la noix de cola (*Cola nitida*) qui donnent le rouge de cola (Basséne, 2012). La figure 20 montre des exemples de structures de tanins condensés.



Trimére épicatéchol – $(4\beta - > 8)$ – épicatéchol - $(4\beta - > 8)$ - catéchol

Tétramére de l'épicatéchol



Structure générale d'un proanthocyanidol polymère: R= H, procyanidol, R= 0H prodelphinidol

Figure 20: Exemple de structures de tanins condensés (proanthocyanidoliques) (Xie, 2005)

II.3.3 Propriétés biologiques des tanins

La plupart des propriétés biologiques des tanins sont liées aux pouvoirs qu'ils ont de former des complexes avec les macromolécules, en particulier avec les protéines (enzymes digestives et autres, protéines fongiques ou virales). Il en est de même des problèmes qu'ils peuvent poser dans l'industrie agroalimentaire (trouble dans les bières), ou en agriculture (formation des acides humique) (Bruneton, 2009).

Pratiquement toutes les propriétés biologiques des tanins hydrolysables et des proanthocyanidols ont été mis en évidence *in vitro* et à des concentrations souvent sans rapport avec ce qui est envisagé chez l'humain. Il est souvent plus aventureux d'évoquer les effets en thérapeutique de ces molécules (ou extraits) tant leur biodisponibilité est très faible et que la connaissance de leur métabolisme, de la distribution et des effets de leurs métabolites est parcellaire (Bruneton, 2009).

Les activités biologiques des tanins peuvent être classées comme suites:

✓ Activités thérapeutiques dues à l'astringence

Les applications traditionnelles des plantes à tanins sont assez restreintes et découlent de leur affinité avec les molécules protéiques. Par voie externe, les tanins imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches sous-jacents ; ils ont également un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. En limitant la perte en fluides et empêchant les agressions extérieures, les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlure (Aron, 2008).

Par voie interne, ils exercent une action antidiarrhétique. Quelle que soit la voie d'administration (orale ou locale), les effets antiseptique, antibactérien et antifongique clairement démontrés de ces molécules peuvent être intéressants (Cos, 2004).

✓ Activité antioxydant

De nombreux tanins, particulièrement des tanins hydrolysables, inhibent la peroxydation des lipides induite par l'ADP et l'acide ascorbique sur les mitochondries hépatiques du rat. *In vitro*, ce sont (surtout les esters HHDP du glucose) des piégeurs de radicaux, des inhibiteurs de la formation de l'ion superoxyde et, pour certains d'entre eux, des inhibiteurs de la lipoxygénase des granulocytes péritonéaux du rat, mais pas de la cyclooxygénase (Okuda, 2005).

Rappelons ici que les flavanols et les proanthocyanidols (tanins condensés) du jus de raisin et du vin sont maintenant considérés par beaucoup comme les principaux responsables de l'effet préventif à l'égard des maladies cardiovasculaires qu'engendrerait une consommation modérée et régulière de vin rouge (Aron, 2008).

Dans le cas du jus de grenade, c'est aux propriétés antioxydantes particulièrement marquées des tanins ellagiques que l'on rapporte une capacité à limiter certains facteurs de risque des maladies cardiovasculaires (Okuda, 2005).

✓ Inhibition enzymatique

De façon assez générale, les tanins sont des inhibiteurs enzymatiques : blocage de la 5-lipoxygénase ; inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, de l'activation de la hyaluronidase, des glucosyltransférases impliquées dans la cariogenèse ; inhibition de la protéine-kinase C par les tanins ellagiques et les tanins complexes, etc (Bruneton, 2009).

✓ Autres activités

Quelques tanins ellagiques s'opposent à la mutagénicité de certains cancérogène et à la transplantation de tumeurs expérimentales (par stimulation des mécanismes immunitaires). Des effets inhibiteurs de la réplication des virus ont été décrits *in vitro*: inhibition de l'absorption du virus sur les cellules et inhibition de la

transcriptase inverse par des dimères procyanidoles et des dérivés galliques (Okuda, 2005).

Certains dimères procyanidoles seraient en partie responsables de l'activités inotrope cardiaque positive et coronarodilatatrices des sommités fleuries de l'aubépine. D'autres présenteraient des propriétés proches de celles des flavonoïdes: augmentation de la résistance capillaire, diminution de la perméabilité capillaire, augmentation du tonus veineux, stabilisation du collagène. Leur activité inhibitrice sur l'histidine décarboxylase, l'élastase et l'enzyme de conversion de l'angiotensine a été mis en évidence expérimentalement (Aron, 2008).

CHAPITRE III : GENERALITES SUR LE STRESS OXYDATIF ET LES ANTIOXYDANTS

I. LE STRESS OXYDATIF

Le stress oxydant se définit comme l'incapacité de l'organisme de se défendre contre les espèces réactives de l'oxygéne (ERO), en raison de la perturbation de l'équilibre endogènes entre ces derniers et les agents oxydants (Koechlin, 2006). Ce déséquilibre conduit potentiellement à des dégâts structuraux et fonctionnels (Bensakharia, 2018).

II. ORIGINES DES ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE (ERO)

De toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que l'on appelle radicaux primaires. Ces radicaux primaires peuvent dériver de l'oxygène par réduction à un électron tels l'anion superoxyde (O₂··) et le radical hydroxyle (OH·), ou de l'azote tel le monoxyde d'azote (NO·). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule; ce sont aussi des espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet O₂, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ils sont très réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux libres primaires et vice versa. L'ensemble des radicaux libres et leurs précurseurs sont appelé espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Favier, 2003).

Remarque : le radical peroxyle (ROO') et le radical alkoxyle (RO') sont aussi considérés comme espèces réactives de l'oxygène.

II.1 Définition des espéces réactives de l'oxygéne

Ainsi les ERO sont des espèces chimiques oxygénés telles que les radicaux libres rendues chimiquement très réactives par la présence d'électron de valence non

appariés dans l'orbitale le plus externe. L'équilibre est établit soit par oxydation (perte de cet électron libre) ou par réduction (gain d'un autre électron). Le caractère radicalaire de la molécule ne disparait pas, l'électron libre peut passer sur d'autres molécules, c'est le phénomène d'oxydation en chaine (Bensakharia, 2018).

II.2 Propriétés des espéces réactives de l'oxygéne

Les ERO sont des espéces électrophiles de courte durée de vie (quelques nanosecondes), elles font partie des systèmes ubiquitaire ayant une réactivité chimique délétère à l'égard des biomolécules; cette réactivité est inversement proportionnelle au pouvoir oxydant (Bensakharia, 2018)

II.3 Génération des espéces réactives oxygénées

✓ Au niveau de la respiration mitochondrial (figure 21), l'inhibition du transfert d'électrons par découplage de la phosphorylation oxydative entraine une modification du potentiel redox favorisant l'autooxydation des biomolécules et la génération des ERO.

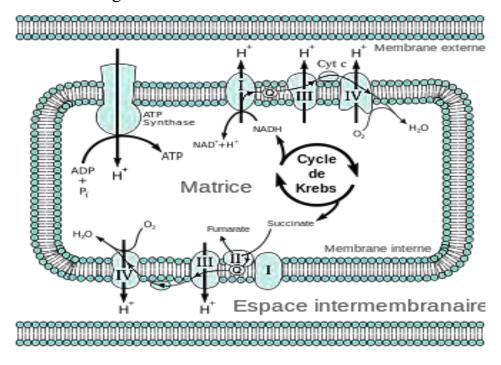


Figure 21: La chaîne respiratoire mitochondriale et formation de trois espèces radicalaires dans la mitochondrie: O₂·, OH·, H₂O₂ (Pryor, 2012)

Les complexes I et III sont les sources majeures d'ERO. Le pool de coenzyme Q (ubiquinone) va être régénéré par autooxydation. Au cours de cette régénération, l'anion superoxyde se forme d'une part, l'ubiquinol à l'aide du cytochrome c réductase va réduire le cytochrome c. Le cytochrome va permettre la réduction de l'oxygène en eau dans le cytoplasme de la cellule. L'ubiquinol perd un électron et est donc réduit en une espèce radicalaire qui est l'ubisemiquinone. L'ubisemiquinone va réduire l'oxygène en anion superoxyde dans la matrice de la mitochondrie. Le superoxyde dismutase va transformer l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène. Ce dernier se produisant en présence de Fe²⁺ ou Cu (Wardman, 1996) va être transformé en radical hydroxyle par la réaction d'Haber et Weiss (figure 22) à l'intérieur de la mitochondrie (Pryor, 2012).

$$Fe^{3+} + O_2^{-\bullet} \longrightarrow Fe^{2+} + O_2$$

 $Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^{\bullet}$ (Fenton reaction)
Net reaction: $O_2^{-\bullet} + H_2O_2 \longrightarrow OH^- + OH^{\bullet} + O_2$

Figure 22: Réaction d'Haber et Weiss

- ✓ L'exacerbation des phénomènes inflammatoires, et l'augmentation du taux de fer libre et d'autres métaux de transition est aussi responsable de la génération des ERO (Delattre, 2007).
 - NAD(P)H oxydase (ubiquitaire) : Au cours de la phagocytose : la NADPH oxydase est capable de réduire l'O₂ en O₂·- selon la réaction suivante :

$$NADPH + H^{+} + 2 O_{2} \rightarrow NADP^{+} + 2 O_{2}^{-} + 2H^{+}$$

Myéloperoxydase MPO: À l'intérieur de la vacuole phagocytaire,
 l'anion superoxyde est dismuté en peroxyde d'hydrogène qui à son tour va subir l'action de la Myéloperoxydase et former de l'acide hypochloreux.

✓ Par bioactivation lors des processus de biotransformation produit des radicaux libres suite à l'induction des oxyde nitrique synthétases (NOS) I, II, III et la stimulation des oxydases (NOX, MAO, XO) (Delattre, 2007).

II.4 Rôles des espéces réactives de l'oxygéne

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie (Favier, 2003).

II.4.1 Rôles non délétères

Les espéces réactives de l'oxygéne remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui, à part la phagocytose avec laquelle ils participent à la défense antibactérienne au cours des réactions de cytotoxicité face aux agents pathogènes, certaines ont été découvertes récemment.

La phagocytose des bactéries et parasites par les macrophages ou les polynucléaires s'accompagne d'une production d'espèces réactives de l'oxygène si brutale et intense qu'elle est connue, depuis les travaux de Baldridge sur le polynucléaire en 1933, sous le nom de « burst oxydatif », c'est-à-dire explosion respiratoire. Au sein du phagosome, l'activation de la NADPH oxydase et l'action des superoxydes dismutases (SOD) et NOS aboutissent à un mélange très corrosif de O₂·-, H₂O₂, HO·, ONOOH, avec en plus dans le polynucléaire HOCl et O₂. C'est ce mélange réactionnel, que l'Homme a imité en utilisant comme désinfectant l'eau de javel ou l'eau oxygénée, pour détruire l'ensemble des composants bactériens (Favier, 2003).

Les espèces réactives de l'oxygéne jouent également le rôle de second message, régulant plusieurs processus physiologiques, moléculaires, cellulaires et tissulaires, la destruction par apoptose de cellules tumorales, la transduction des signaux cellulaires, la régulation des gènes par un phénomène appelé contrôle redox, la modulation du métabolisme cellulaire par interaction ligand-récepteur,

la fécondation de l'ovule, le développement embryonnaire; la croissance; la prolifération; la différentiation et la survie cellulaire (Bensakharia, 2018).

Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire (Favier, 2003).

II.4.2 Rôles délétères

II.4.2.1 Dommages oxydatifs lipidiques

La peroxydation lipidique c'est l'ensemble des phénomènes d'oxydation non enzymatique (dégradation) spécifique des lipides. Ce mécanisme cible les constituants de la membrane principalement les acides gras polyinsaturés (-CH=CH-CH₂-CH=CH-), les lipides circulants (lipoprotéines) et le cholestérol non estérifiés libres. La péroxydation lipidique se déroule en trois étapes: l'initiation, la propagation et la terminaison (Bensakharia, 2018).

Le radical libre initiateur de la réaction, par transfert d'un atome d'hydrogéne du groupement méthylène séparant deux double liaisons de l'acide gras polyinsaturés, donnant naissance un site radicalaire selon la réaction suivante (Delattre, 2007).

$$RL + LH \longrightarrow L' + RH$$

L' subit une série de réaction dont la première avec l'oxygéne qui aboutit à la formation d'un radical peroxyde LO₂ selon la réaction suivante (Delattre, 2007):

$$L^{\bullet} + O_2 \longrightarrow LO_2^{\bullet}$$

LO₂• peut alors arracher un atome d'hydrogéne d'une autre molécule d'acide gras LH, très proche de la première (ce qui est le cas dans la membrane biologique) de telle sorte qu'il a de nouvelles formations de radicaux L• selon la réaction suivante (Delattre, 2007).

$$LO_2$$
 + LH — LOOH + L.

Dans ces conditions, une réaction en chaine s'installe propagée par les radicaux LO₂* et L*. Un tel processus susceptible de se produire au sein des bicouches lipidiques amplifie notablement le phénomène de péroxydation initié par les radicaux hydroxylés (Delattre, 2007).

$$LO_2$$
 + LO_2 LOOL + O_2 LOOL

L'hydropéroxyde donne par rupture spontanée LO' et OH

Les conséquences de la péroxydation lipidique proviennent de l'action conjuguée des métabolites primaire et secondaire. (Bensakharia, 2018).

- ✓ Une atteinte de l'intégrité des structures membranaires;
- ✓ Dysfonctionnement membranaire;
- ✓ Modification de la structure des lipoprotéines;
- ✓ Amplification des dommages cellulaires.

II.4.2.2 Dommages oxydatifs protéiques

Les dommages oxydatifs protéiques ciblent potentiellement les acides aminés soufrés (cystéines, méthionine) et aromatiques (trypsine, histidine) à cause de leurs sensibilité à ces attaques dues à l'abondance de groupement sulfhydrile (SH) dans leur structures.

L'action peut être directe sur les chaines peptidiques et latérales et produit des métabolites I. Elle peut être indirecte par glucation et formation de groupements carbonylés ou par lipooxydation, formation de base de schiff. (Pryor, 2012).

Ils ont pour conséquences de produire des changements structuraux majeurs par réticulation et fragmentation des structures protidiques à l'origine des modifications des propriétés des protéines (protéines oxydés et thermolabiles) responsables de nombreux altération des fonctions cellulaires suite à (Bensakharia, 2018):

- ✓ Des inhibitions enzymatiques,
- ✓ Pertes de spécificité Ligand-récepteur,
- ✓ Dénaturation des épitopes antigéniques,
- ✓ Perturbation métaboliques,
- ✓ Formation des produits de glucation avancés PGA ou AGE (Advanced Glycation End Products)
- ✓ Echappement à la dégradation et accumulation tissulaire.

II.4.2.3.Dommage oxydatif de l'ADN

Ces dommages ciblent l'ADN mithochondrial et nucléaire. H₂O₂ et O₂. ne sont assez réactifs pour altéré directement l'ADN, mais ils peuvent tous les deux générés le radical OH. La réaction de ce dernier avec l'ADN est susceptible de conduire à divers processus à savoir la formation d'adduits sur l'ADN, l'oxydation des bases et des résidus des sucres, des cassures de chaines par arrachement d'un atome d'hydrogène du 2-desoxyribose (simple ou double brin), pontages ADN-protéines dans les nucléoprotéines et formation des sites abasiques (Favier, 2003). La figure 23 représente les lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.

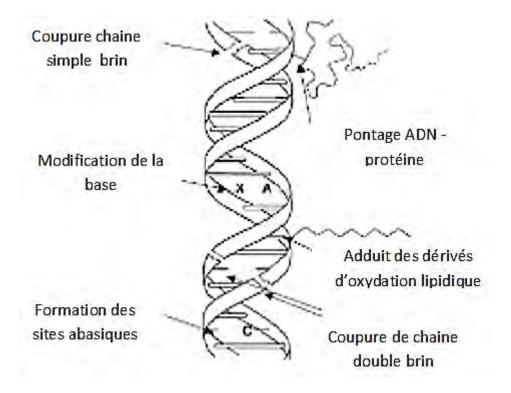


Figure 23: Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003)

Les conséquences sont:

- ✓ Altération de la fonction mitochondriale
- ✓ Formation d'espéces mutagènes
- ✓ Activation des systèmes de réparation

III. MOYEN DE LUTTE CONTRE LE STRESS OXYDATIF: LES ANTIOXYDANTS

III.1 Définition

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce dernier.

III.2 Moyens de défenses endogènes

III.2.1 Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la première ligne de défense principalement représentés par:

Les enzymes ou protéines antioxydantes : Superoxyde dismutase (SOD), Catalase (CAT) et Glutathion peroxydase (GPX) (Matés, 1999). Elaborés par notre organisme avec l'aide des certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (Mika, 2004).

Leurs activités et leurs localisations dans la cellule sont complémentaires et assurent l'élimination des anions superoxydes et du peroxyde d'hydrogène dans tous les compartiments intracellulaires (Haleng, 2007).

✓ Superoxyde dismutase (SOD): métaloenzymatique ubiquitaire

Elle élimine l'anion superoxyde par dismutation selon la réaction

$$O_2$$
 + 2H⁺ SOD $H_2O + O_2$

Cette réaction a pour conséquence la réduction de la disponibilité de $O_2^{\bullet -}$, limitation de la cascade radicalaire (•OH, ONOO-)

Le H₂O₂ est pris en charge par des enzymes de relai.

- ✓ Catalase enzyme héminique ubiquitaire située à l'intérieur des globules rouges, elle élimine H₂O₂ par dismutation qui se fait en deux étapes.
- 1. Catalase (FeIII) + H_2O_2 \longrightarrow catalase (FeV) + H_2O_2
- ✓ Système Glutathion peroxydase / Glutathion réductase (GPX / GR)

La sélénoproteine ubiqutaire (750 formes) élimine 70 % des peroxydes organiques et 94 % de H₂O₂ par réduction selon les réactions suivantes

1.
$$2GSH + ROOH$$
 G-S-S-G + ROH + H₂O G-S-S-G + NADPH + H $^{\bullet}$ 2GSH + NADP $^{\bullet}$

2. Thiorédoxine peroxydase (Trs): selenoenzyme

NADPH dépendante éliminent (H₂O₂, ROOH, ONOO⁻) par la réduction selon la réaction suivante:

$$ROOH + NADPH + H$$
 ROH + $H_2O + NADP$

III.2.2 Les antioxydants non enzymatiques

Ces composés antioxydants sont synthétisés dans les cellules de l'organisme, le plus important est sans doute le glutathion qui protège, non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le monoxyde d'azote (Favier, 2003).

Glutathion: C'est un tripeptide naturel, la L-γ-glutamyl-Lcystéinylglycine hydrosoluble (cytoplasme, noyau, mitochondries) dont le GSH constitue 90 % de sa teneur totale. Le glutathion est le cofacteur de nombreuses enzymes antioxydantes (GPx) il permet la réduction protéines oxydées par conjugaison aux espèces électrophiles selon les réactions suivantes (Delattre, 2007):

1.
$$GSH + R' \rightarrow GS' + RH$$

2.
$$GS' + GS' \rightarrow GSSG$$

Protéines transporteuses : par séquestration des métaux impliqués dans la génération des ERO, par exemple : la transferrine et le Fer.

On a aussi d'autres composés réducteurs d'origine métabolique, parmi lesquels on peut citer l'acide lipoïque, L-arginine, ubiquinone; l'acide urique, la mélatonine, la transferrine (Pham-huy, 2008) et bilirubine (Algeciras-Schimnich, 2007) et Coenzyme Q₁₀ (Haleng, 2007).

III.3 Moyens de défenses exogènes

III.3.1 Vitamine E

Sous forme d'α-tocophérol (la plus active et la plus absorbée), antioxydant majeur des structures lipidiques, il possède aussi une autre action, la neutralisation d'O₂.

III.3.2 Vitamine C

Acide ascorbique, c'est un agent réducteur et chélateur sous forme d'acide déshydro-L-ascorbique (DHA), il réagit directement sur les radicaux libres et élimine H₂O₂.

III.3.3 Provitamine A

Ce sont les caroténoïdes, β-carotène qui sont les précurseurs de la vitamine A. Elles interrompent le processus de la peroxydation lipidique.

III.3.4 Autres vitamines

On peut citer les facteurs vitamine P (flavonoïdes), Coenzyme Q₁₀.

III.3.5 Les oligoéléments

Sélénium, Zinc, cuivre, comme cofacteurs de la GPx, SOD₁, SOD₃ respectivement.

DEUXIEME PARTIE: ETUDES COMPARATIVES DU COMBRETUM MICRANTHUM RECOLTES SUR PLUSIEURS SITES

CHAPITRE IV: CADRE D'ETUDE

I. PRESENTATION DES SITES DE RECOLTES

Le matériel biologique utilisé dans ce présent travail a été récolté dans trois sites du Sénégal qui sont: Diass sur le plateau de Thiès, Sandiara dans le centre ouest du pays et Essyl en basse Casamance.

La figure 24 montre la position géographique des zones de récolte sur le territoire national.

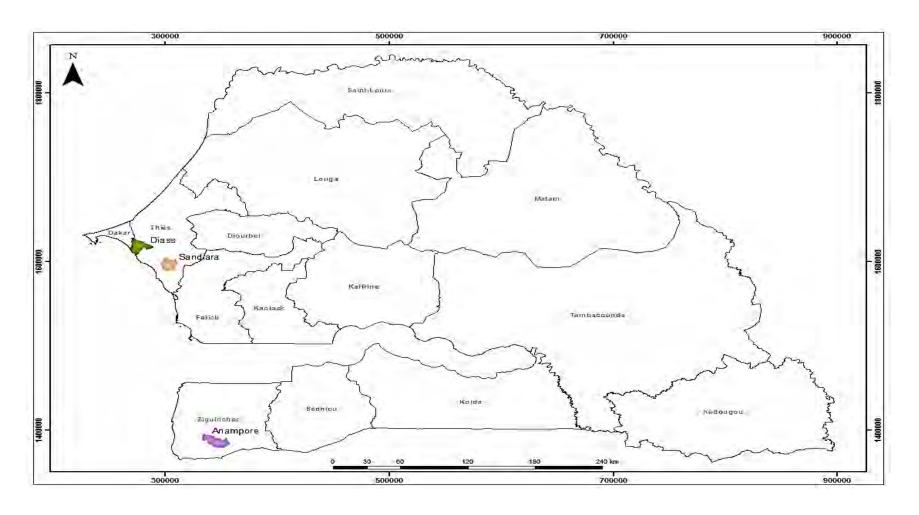


Figure 24: Carte de localisation de Diass, de Sandiara et d'Essyl (INP, 2018)

II. LA MORPHOPEDOLOGIE

Le kinkéliba pousse sur des sols pierreux et graveleux surtout au niveau des affleurements rocheux et des termitières. Cependant il peut pousser sur des sols de nature différente. A Diass il pousse sur des sols ferrugineux tropicaux non ou peu lessivés, sur colluvions (figure 25); à Sandiara sur des sols ferrugineux tropicaux non ou peu lessivés plus ou moins bien drainés (figure 26) et à Essyl on le trouve sur des sols faiblement ferralitiques, sols ferrugineux tropicaux, sols peu évolués (figure 27).

II.1 Diass

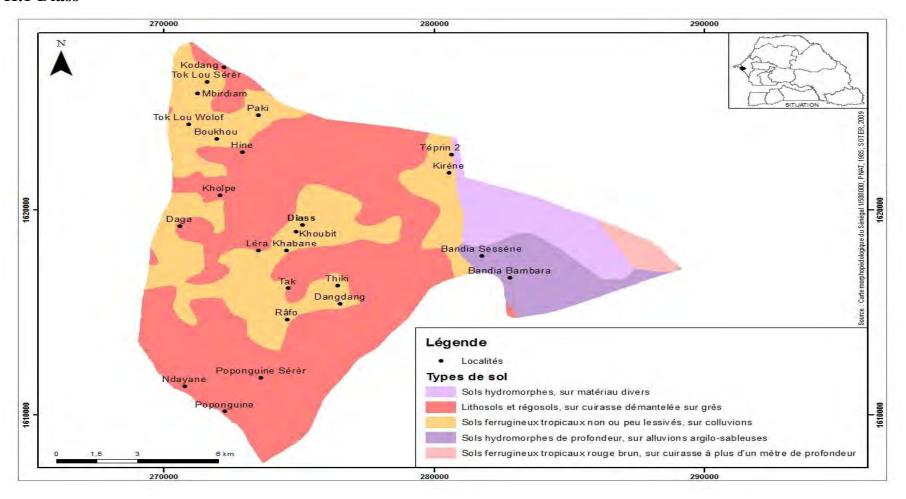


Figure 25: Carte topographique de Diass et environs (INP, 2018)

II.2 Sandiara

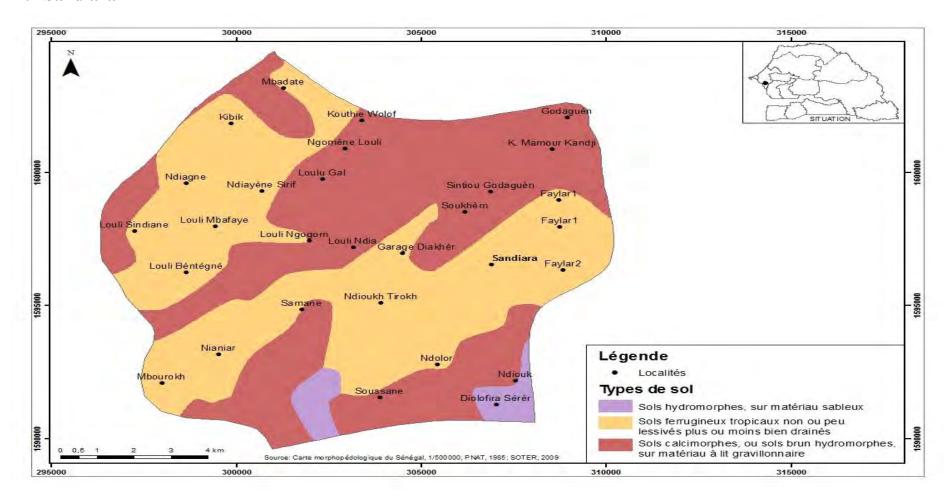


Figure 26: Carte topographique de Sandiara et environs (INP, 2018)

II.3 Essyl

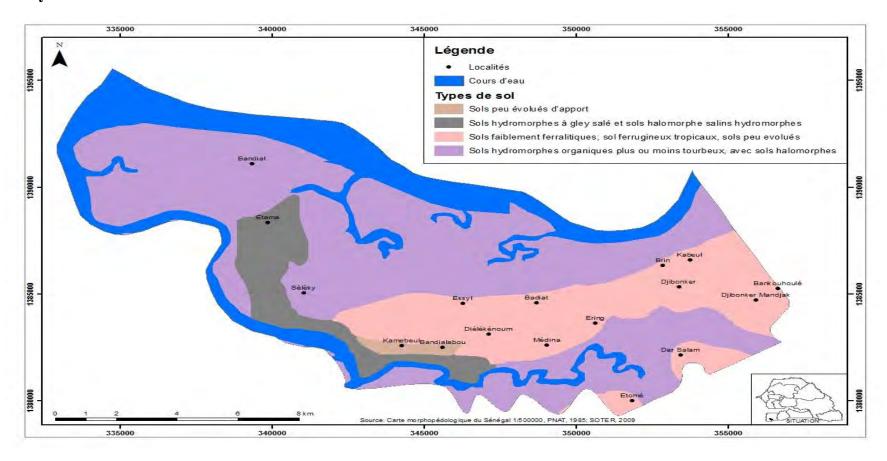


Figure 27: Carte topographique d'Essyl et environs (INP, 2018)

III. PLUVIOMETRIE

On retrouve *C. micranthum* dans des régions du Sénégal ayant des pluviométries différentes. Le tableau IV montre les données pluviométriques de Diass, Sandiara et Essyl de 2014 à 2017 et du mois de juin au mois de janvier. Notre période de récolte va du mois juillet 2016 au mois de janvier 2017 avec respectivement un total pluviométrique en période de saison des pluies et en période post saison des pluies à Diass, Sandiara et Essyl de: 351,7 mm et 1,1 mm; 497,2 mm et 7,2 mm; 1451,8 mm et 36,4 mn. Le tableau IV représente les données pluviométriques de Diass, Sandiara et Essyl de 2014 à 2017 du mois de juin au mois janvier.

Tableau IV: Données pluviométriques de Diass, Sandiara et Essyl (ANACIM, 2018)

Stations	Années	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier	Total annuel
	2014	0	2,1	111,9	98,2	22,7	0	0	0	234,9
1SS	2015	0	171,1	150,4	207,4	39,7	2,5	0	0	571,1
Diass	2016	0	120	126,7	105	1,1	0	0	0	353,5
	2017	17,2	106,4	137,3	86,5	25,9	0	0	0	373,3
	2014	1,3	14,5	249,5	182,1	3,1	0	0	0	450,5
Sandiara	2015	0	104,0	448,7	355,5	42,5	2,2	0	0	952,9
Sanc	2016	0	165,8	129,9	201,5	5,7	1,5	0	0	504,4
	2017	37,2	143,4	195,6	226,1	43,6	0	0	0	782,9
	2014	58,4	485,1	733,4	491,1	82,7	0,4	0,0	0	1516,9
	2015	31,5		417,4	337,9	361,5	78,8	2,1	0	1714,3
Essyl	2016	65,3	406,2	509,9	535,7	36,4	0	0	0	1559,5
Щ	2017	61,2	380,8	748,1	300,9	33,5	0	0	0	1524,5

CHAPITRE V: ETUDES PHYTOCHIMIQUES DES FEUILLES DE COMBRETUM MICRANTHUM

I. MATERIEL ET REACTIFS

Matériel végétal: Il est constitué de poudre de feuilles de *Combretum micranthum*. Des séries de récoltes ont été effectuées en période de saison des pluies et en période de post saison des pluies dans les différents sites: Sandiara: saison des pluies 2016 (juillet, aout, septembre); post saison des pluies 2016-2017 (octobre, décembre, janvier); Diass: saison des pluies 2016 (juillet et septembre), post saison des pluies 2017 (janvier); Essyl: saison des pluies 2016 (aout), post saison des pluies 2017 (janvier). Les feuilles sont ensuite séchées à l'ombre puis réduites en poudre à l'aide d'un broyeur.

Matériel de laboratoire:

- Verrerie (soxhlet, ampoule à décanté, bécher, erlenmeyer, éprouvette graduée, verre de montre, ballon), pipette, cuve chromatographique.
- Appareils: évaporateur rotatif (marque Stuart), balance de précision, spectrophotomètre UV-Visible (marque Biosystems BTS-350), centrifugeuse (marque Jouan Italia SVL, Made in EC), étuve (marque Binder), four (marque Nabertherm), lampe UV, broyeur (marque Brabender).
- Papier filtre, coton, plaque chromatographique.

Solvants et réactifs:

- Solvants: méthanol, butanol, éthanol, eau distillée, acétate d'éthyle, éther de pétrole.
- Réactifs: carbonate de sodium, Folin Denis, caséine, acide tannique, chlorure d'aluminium, acide acétique, chlorure ferrique, acide gallique, carbonate de calcium.

II. METHODES

II.1 Teneur en eau

II.1.1 Principe

Par chauffage à 100-105 0 C pendant 1 heure, la poudre convenablement divisée perd l'eau qu'elle contient (Bassène, 2012).

II.1.2 mode opératoire

Une capsule contenant un poids P de poudre de *Combretum micranthum* est introduite dans une étuve à 100 – 105 °C. Au bout de 1 heure 30 mn la capsule est retirée de l'étuve et pesée après perte à la dessiccation jusqu'à poids constant. Son poids devient P'. La teneur en eau est déterminée à partir de la formule suivante.

$$\% Eau = \frac{(P-P')}{P} *100$$

II.2 Teneur en cendre

II.2.1 Principe

Il consiste à évaluer la teneur en éléments minéraux des drogues après incinération de celles-ci.

II.2.2 Mode opératoire

La drogue de poids P est convenablement séchée à l'étuve à une température de 100 - 105 °C. Après retrait, il est placé dans un dessiccateur. Le poids obtenu après la pesée est P'. Par la suite, la capsule chargée de poudre desséchée est incinérée dans un four à 550 °C pendant quatre heures. La pesée à lieu au millième (1/1000) de gramme près. Le poids obtenu est P''. La teneur en cendres est obtenue à partir de la formule suivante.

% Cendres =
$$\frac{P''}{P'}$$
 * 100

II.3 Teneur en fer

II.3.1 Principe

L'ion ferreux (Fe²⁺) forme avec la phénanthroline -1,10 un complexe rouge qui est utilisé pour la détermination de faibles concentrations de fer. Tout d'abord, le Fe³⁺ est réduit en Fe²⁺ par l'addition d'hydroxylamine:

$$4Fe^{3+} + 2NH_20H \longrightarrow 4Fe^{2+} + N_20 + 4H^+ + H_20$$

La phénanthroline réagit avec l'ion Fe^{2+} pour former un complexe rouge orange. La coloration se développe en quelques minutes et devient stable pendant de longues périodes. Il est toutefois important de préparer les solutions d'une même série simultanément afin que le temps de réaction soit identique pour chacune des solutions. Comme la coloration est stable à 2 < ph > 9, de l'acétate de sodium est ajouté pour tamponner le milieu.

Le spectre d'absorption du complexe dans le domaine du visible (400 – 700 nm) montre un maximum à 508 nm. Ainsi, pour obtenir un maximum de sensibilité, c'est cette longueur d'onde qui sera utilisé pour le dosage du fer en se référant aux normes (NF-T90-017).

II.3.2 Mode opératoire

II.3.2.1 Préparation de la solution mère

Un échantillon de 3 g de poudre de kinkéliba a été calciné à 550⁰ C pendant 2 heures. Après récupération du creuset, sous la hotte, on ajoute 5 ml de HCL concentré. Le mélange est agité doucement pour dissoudre les cendres, on chauffe légèrement si nécessaire. Après filtration, le volume est ajusté à 100 ml.

II.3.2.2 Dosage du fer

Dans une fiole de 100 ml, contenant 20 ml de la solution mère précédente on ajoute successivement 1 ml d'hydroxylamine à 5 % dans l'eau, 5 ml de la solution ferroïne à 5 % dans l'eau et 8 ml d'une solution d'acétate de sodium (63 g dans

250 ml d'eau). Après incubation pendant 10 mn, le volume est ajusté à 100 ml et l'absorbance est lue à 508 nm.

II.4 Les extractibles

II.4.1 Extraction

20 g de poudre de *Combrethum micrantum* sont introduits dans un ballon contenant 200 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 30 mn puis on filtre après refroidissement. L'extraction est répétée pendant 2 fois de suite sur le marc et dans les mêmes conditions.

II.4.2 Dessiccation

Le solvant est évaporé au moyen d'un évaporateur rotatif. Le concentré est repris avec de l'éthanol dans une boite de pétri préalablement pesé (poids P) puis placée à l'étuve à température de moins de 100 °C pour un séchage total; le poids final correspond à P'. L'extractible est calculée à partir de la formule suivante :

$$\%$$
 extractible = $\frac{\text{Poids extrait sec}}{\text{Poids drogue séche}} * 100$

II.5 Recherche des saponosides

Les saponosides sont des hétérosides caractérisés entre autres par leur pouvoir aphrogéne en solution aqueuse.

II.5.1 Extraction

On fait une décoction sous reflux de 1 g de poudre de *Combretum micranthum* dans 100 ml d'eau distillée pendant 30 mn. Après filtration, le volume est ajusté à 100 ml.

II.5.2 Mesure de « l'indice de mousse » (IM)

Dans une série de 10 tubes calibrés numérotés de 1 à 10, sont répartis successivement 1, 2, 3, 4.....10 ml du décocté. Dans chaque tube, on ajuste le

volume à 10 ml par addition d'eau distillée; puis on agite pendant 15 secondes dans le sens de la longueur (2 agitations par seconde) ; on laisse reposer 15 mn et enfin on mesure la hauteur de la mousse. Le tube X dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm va servir de base au calcul de l'indice de mousse

II.5.3 Calculs « l'indice de mousse » (IM)

X ml de décocté à 1 % = X/100 g de drogue. Les tubes étant dilués dans 10 ml d'eau distillée, la concentration dans le tube est donc égale à X/1000

L'indice de mousse (IM) est: IM = 1000/X

Remarque:

- ✓ Si la hauteur de la mousse est inférieure à 1 cm dans tous les tubes, l'indice de mousse est inférieur à 100.
- ✓ Si cette hauteur est supérieure à 1cm dans tous les tubes, il faut faire une nouvelle détermination après avoir dilué le décocté au 1/10^{eme} ou plus.

II.6 Séparation et identification des tanins et des flavonoides par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

***** Extraction et préparation des extraits

Une décoction éthanolique sous reflux de poudre de feuilles de *Combrethum micrantum* a été effectuée, l'extrait obtenu est concentré par évaporation, le concentré est récupéré dans un verre de montre puis séché à l'étuve à une température de moins de 100 °C. 2,5 μg de cet extrait est dissous dans 200 μl d'alcool.

❖ Technique

Les différents échantillons sont déposés sur la plaque de chromatographique à l'aide de micropipettes. La plaque est ensuite introduite dans la cuve où se trouve

l'éluant approprié. Apres migration, la plaque est retirée puis séchée. On pulvérise ensuite le révélateur approprié.

II.6.1 Séparation et identification des tanins par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

II.6.1.1 Matériels et réactifs

- Support : plaque de cellulose
- Solvant éluant : acétate d'éthyle méthanol eau (40V/8V/5V)
- Dépôts :
- ✓ Extraits de feuilles de kinkéliba dans du méthanol,
- ✓ Témoin: solution d'acide gallique
 - Révélateur : mélange chlorure ferrique, acide acétique, eau (2V/2V/96V)

II.6.1.2 Mode opératoire

Le témoin et les extraits à analyser sont déposés sur la plaque. Apres migration dans la cuve, la plaque est ensuite séchée à la température ambiante, puis révélée avec FeCl₃. Les tanins donnent des taches de couleur brune noirâtre ou des spots de couleur marron.

II.6.2 Séparation et identification des flavonoïdes par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

II.6.2.1 Matériels et réactifs

- Support : plaque de cellulose
- Solvant éluant : acide acétique à 15% dans l'eau
- Dépôts:
- ✓ Extraits de feuilles de kinkéliba dans du méthanol;
- ✓ Témoin: vitexine dans du méthanol;
- Révélateur : chlorure d'aluminium à 15 % dans le mélange eauméthanol (1V/1V).

• Observation : sous lampe UV à 365 nm

II.6.2.2 Mode opératoire

Le témoin et les extraits à analyser sont déposés sur les plaques de cellulose. Apres migration, la plaque est ensuite séchée a l'étuve à 100 °C pendant 5 minutes, puis on pulvérise une solution de chlorure d'aluminium à 15 % dans du méthanol.

La plaque est observée sous la lampe UV à 365 nm, afin de voir les spots fluorescents. La présence de flavonoïdes est caractérisée par des spots jaunâtres.

II.7 Dosage des polyphénols

Les polyphénols sont constitués principalement de tanins, de flavonoïdes, et d'acides phénoliques.

II.7.1 Dosage des polyphénols totaux et des tanins

II.7.1.1 Principe

La teneur de ces composés phénoliques des extraits de *Combretum micranthum* a été estimée par la méthode de Folin - Ciocalteu (Li, 2007) qui est basé sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (WO42-) phosphomolybdique (Mo042-) du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation des produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans l'extrait.

II.7.1.2 Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide tannique

Une solution d'acide tannique de concentration égale à 2,5 mg/100 ml est préparée. Puis une série de dilution est effectuée à partir de cette solution dans 9 tubes à essai (tableau 5), dans lesquels on ajoute 2 ml de réactif de Folin et Denis puis 2 ml d'une solution saturée de carbonate de sodium 3 mn après. La lecture est faite à 670 nm après centrifugation à 4000 tours/mn pendant 4 mn.

II.7.1.3 Extraction

Cette opération consiste à faire un chauffage au reflux de 20 g de poudre de feuilles avec 250 ml d'éthanol durant 15 mn. Apres refroidissement, le contenu du ballon est filtré sur coton. Cette opération est reprise 2 fois de suite sur le marc. Les extraits ainsi obtenus sont réunis et complétés à 1 litre.

II.7.1.4 Dosage des polyphénols totaux

L'extrait éthanolique des feuilles de *Combretum micranthum* précédant est dilué à 1/100. Pour cela, on introduit 0,1 ml de l'extrait alcoolique dans un tube à essai, puis on complète à 10 ml avec de l'éthanol, puis on ajoute 2 ml du réactif de Folin Denis et 3 mn plus tard 2 ml d'une solution saturée de carbonate de sodium (Na₂CO₃). Apres centrifugation des tubes pendant 4 mn à 4000 tours/mn; la lecture au spectrophotomètre est faite suivant les mêmes conditions que précédemment.

Le pourcentage de polyphénols totaux est donné par la relation suivante:

%
$$PT = (Q_{PT}/PED)*100$$

PED: prise d'essai après dessiccation

Q_{PT}: quantité en polyphénols totaux en mg dans les 1000 ml de solution mère qui est égale à:

$$Q_{PT} = C (mg/ml)*100*1000$$

C (mg/ml) = la concentration en polyphénols totaux dans 1 ml extrait, obtenu à partir de l'équation de la droite d'étalonnage de l'acide tannique, il correspond à une moyenne de trois essais (n = 3).

II.7.1.5 Dosage des tanins

Ce dosage est basé sur le principe selon lequel les tanins ont la propriété de se fixer sur la caséine.

Le dosage s'effectue en trois étapes :

- ➤ D'abord le dosage des polyphénols totaux qui correspond à PT;
- Ensuite la fixation des tanins par la caséine et leur élimination par filtration;
- ➤ Et enfin le dosage des polyphénols résiduels dans le filtrat qui correspond à PR.

Ce mode de dosage n'est pas direct. La concentration en tanins est obtenue par déduction des polyphénols résiduels (PR) des polyphénols totaux (PT) par la relation suivante.

$$\%$$
 Tanins = ($\%$ PT) – ($\%$ PR)

Sur 30 ml de l'extrait éthanolique à 1 %, on ajoute 3 g de caséine. Apres 3 heures d'agitation, la solution est filtrée et le filtrat est ajusté à 30 ml. La solution ainsi obtenue est utilisée pour les besoins du dosage. Sur 10 ml de ce filtrat sont ajoutés 2 ml de réactif de Folin puis 3 mn plus tard, 2 ml d'une solution saturée de carbonate de sodium (Na₂CO₃). Apres centrifugation à 4000 tours/mn pendant 4 mn, les absorbances sont mesurées à 670 nm.

Le pourcentage de polyphénols résiduels est donné par la relation suivante:

$$\% PR = (Q_{PR} / PED)*100$$

PED: prise d'essai après dessiccation

Q_{PR}: quantité en polyphénols résiduels en mg dans 20 g de poudre de kinkéliba qui est égale à:

$$Q_{PR} = C (mg/ml)*100*1000$$

C (mg/ml) = la concentration en polyphénols résiduels dans 1 ml extrait, obtenu à partir de l'équation de la droite d'étalonnage de l'acide tannique, correspondant à une moyenne de trois essais (n = 3).

II.7.2 Dosage des flavonoïdes

II.7.2.1 Principe

Les flavonoïdes donnent avec le chlorure d'aluminium des complexes de couleur jaune. L'intensité de cette coloration est mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 450 nm.

La teneur en flavonoïdes des extraits de *Combretum micranthum* a été estimée par la méthode de Paris et Jacquemin (1975).

II.7.2.2 Préparation de la gamme d'étalonnage de la vitexine

La gamme d'étalonnage est faite avec de la vitexine purifiée en solution méthanolique en dissolvant 3,64 mg dans 20 ml soit une concentration de 0,182 mg/ml. Une série de dilution est faite avec cette solution mère pour l'établissement de la gamme d'étalonnage. A 2 ml de chaque dilution on ajoute 3 ml d'une solution de chlorure d'aluminium à 2,5 % dans l'eau puis successivement 5 ml d'une solution aqueuse d'acétate de sodium à 10 %, puis on ajuste à 25 ml. La lecture est faite au bout de 40 mn à 345 nm avec un blanc sans AlCl₃ (tableau 6).

II.7.2.3 Extraction

5 g de poudre de feuilles de *Combretum micranthum* sont extraits avec 200 ml d'éthanol à 96 °C bouillant, contenant 0,5 g de carbonate de calcium. On maintient l'ébullition sous reflux pendant 30 mn; après décantation, une seconde extraction avec 200 ml de méthanol est nécessaire pour extraire tous les flavonoïdes. Les deux extraits sont réunis et évaporés à sec. Le résidu est repris par un mélange méthanol - eau (3 - 1); filtré sur coton et ajusté à 20 ml.

II.7.2.4 Dosage

1 ml de cette dernière solution est dilué à 25 ml par du méthanol. A 2 ml de cette dilution, on ajoute successivement 3 ml de chlorure d'aluminium à 2,5 % dans l'eau, 5 ml d'une solution aqueuse d'acétate de sodium à 10 %; puis on ajuste à 25

ml avec du méthanol et on mélange. La lecture est faite à 345 nm avec un blanc sans AlCl₃, au bout de 40 mn.

Le pourcentage en flavonoïdes est donné par la relation suivant:

$$\% F = (Q_F / PED)*100$$

PED: prise d'essai après dessiccation

Q_F: quantité en flavonoïdes en mg dans 5 g de poudre qui est égale à:

$$Q_F = C (mg/ml)*20*25$$

C (mg/ml) = la concentration en flavonoïdes dans 1 ml extrait, obtenu à partir de l'équation de la droite d'étalonnage de la vitexine, qui correspond à une moyenne de trois essais (n = 3).

Les tableaux V et VI représentent respectivement la gamme d'étalonnage de l'acide tannique et de la vitexine.

Tableau V: Gamme d'étalonnage de l'acide tannique

	Tubes								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Solution mère (µl)	0	250	500	750	1000	1250	1500	1750	2000
Eau distillée (μl)	2500	2250	2000	1750	1500	1250	1000	750	500
Concentration (mg/ml)	0	0,0025	0,005	0,0075	0,01	0,0125	0,015	0,0175	0,02
Absorbance	0	0,1211	0,212	0,363	0,4488	0,5495	0,6497	0,8422	0,9567

Tableau VI: Gamme d'étalonnage de la vitexine

	Tubes				
	1	2	3	4	5
Solution mère (µl)	100	200	300	400	500
Méthanol (µl)	900	800	700	600	500
Concentrations (mg/ml)	0,0182	0,0364	0,0546	0,0728	0,091
Absorbance	0,140	0,160	0,390	0,585	0,98

II.8 Isolement de la vitexine des feuilles de Combretum micranthum

II.8.1 Extraction

500 g de poudre de feuilles de *Combretum micranthum* sont dégraissés au soxhlet avec 3 litres d'éther de pétrole puis extraits avec 3 litres d'éthanol jusqu'à épuisement complet.

II.8.2 Isolement par précipitation

L'extrait éthanolique est concentré au maximum possible puis repris avec 500 ml d'eau chaude. L'extrait aqueux obtenu est dégraissé à nouveau avec 2 litres d'éther de pétrole puis fractionné avec 2 litres de butanol; l'extrait butanolique est évaporé à sec puis repris avec une quantité minimale de méthanol; on observe la formation d'un précipité brut au bout d'une semaine à la température ambiante. Ce précipité est recueilli puis lavé à trois reprises avec du méthanol puis recristallisé dans le même solvant; on a un nouveau précipité sous 24 heures dans les mêmes conditions. La figure 28 représente le schéma dichotomique adopté pour isoler la vitexine.

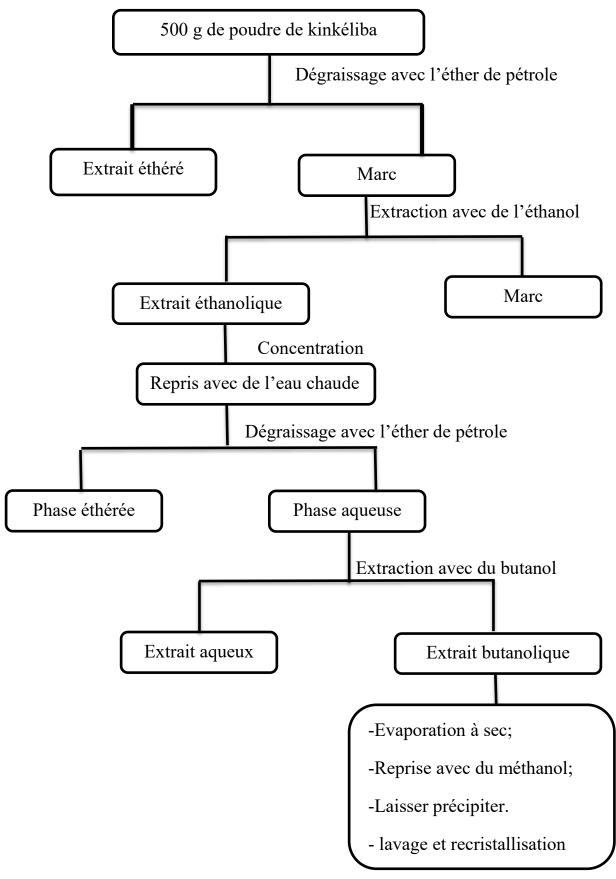


Figure 28: Schéma dichotomique d'isolement de la vitexine

II.8.3 Identification

II.8.3.1 Identification par CCM

II.8.3.1.1 Matériels et réactifs

- Support: plaque de cellulose
- Solvant éluant : acide acétique à 15% dans l'eau
- Dépôts:
 - Solutions des précipités obtenus
 - -Témoin: Solution de vitexine dans du méthanol,
- Révélateur : chlorure d'aluminium à 15 % dans le mélange eauméthanol (1V/1V).
- Observation : sous lampe UV à 365 nm

II.8.3.1.2 Méthodologie

La solution témoin et les précipités précédents sont déposés à 1 cm du bord inférieur de la plaque de cellulose. Apres élution et migration, la plaque est ensuite séchée a l'étuve à 100 °C pendant 5 minutes, puis on pulvérise une solution de chlorure d'aluminium à 15 % dans du méthanol. La plaque est observée sous la lampe UV à 365 nm, afin de voir les spots fluorescents. La présence de la vitexine est caractérisée par des spots jaunâtres de forte densité.

II.8.3.2 Identification par HPLC

La formule chimique et le degré de pureté ont été déterminés sur la base HCLP/UV/MS combinées.

II.8.3.2.1 Matériel et réactifs

- Appareil: Agilent 1100 series HPLC/UV-Vis/MSD (Waldbronn, Germany).
- Colonne: Prodigy 5u OSD (3) 100 A, 150 * 3,20 mm 5 microns.
- Solvant: eau distillée, acide formique, acétonitrile

II.8.3.2.2 Méthodologie

Ce test a été fait en préparant:

• Phases mobile:

A: eau modifiée avec 0,1% d'acide formique;

B: acétonitrile avec 0,1% d'acide formique.

- Gradient de 10 % pendant 2 mn, 10 à 20 % de 2 à 12 mn, 20 à 40 % de 12 à 22 mn, de 40 à 60 % de 22 à 25 mn puis en maintenant 60 % de 25 à 28 mn et 60 à 10% de 28 à 30 mn.
- Température de la colonne: 25 °C
- Concentration d'injection: 1,0 mg / ml dans le méthanol
- Débit: 0,6 ml / min
- Volume d'injection: 10 μl
- Détection UV: 350nm

II.8.3.3 Identification par RMN

La structure moléculaire a été identifiée sur la base des données RMN ¹H/¹³C.

II.8.3.3.1 Matériels et réactifs

- Appareil: RMN multinucléaire Bruker Ultrashield 400 MHz
- Précipité obtenue (10 mg, 0,023 mmol) dilué dans du DMSO (diméthylsulfoxyde)

II.8.3.3.2. Méthodologie

On prépare une solution de la substance à identifier, en prenant 10 mg soit 0,023 mmol dissous dans 0,8 ml de DMSO. Cette solution sera utilisée pour les besoins de la RMN.

III. RESULTATS

III.1 Teneur en eau, en cendre, en fer et rendement en extractibles

La teneur en eau et en cendres la plus importante est enregistrée à Essyl suivie des teneurs enregistrées au niveau de Diass et ensuite celles enregistrées à Sandiara. Pour les extractibles, Diass a la teneur la plus importante suivi de Sandiara et

ensuite Essyl. Alors que la teneur en fer est plus importante à Essyl qu'à Diass et Sandiara.

Les teneurs en eau, en cendre et en extractibles des feuilles de kinkéliba de Diass, de Sandiara et d'Essyl en période de saison des pluies et en période post saison des pluies ainsi que la teneur en fer des feuilles récoltées dans les trois sites sont représentées dans le tableau VII. L'analyse statistique est effectuée par le logiciel de Statview et révèle un niveau de significativité 5 %.

Tableau VII: Teneur en eau, en cendre, en fer et le rendement en extractibles des feuilles de *Combretum micranthum* récoltées à Diass, à Sandiara et en Essyl

Périodes et lie	eux de récolte	Eau %	Cendre %	Extractible %	Fer (mg/100g)
Diass	Saison des pluies	$11,4 \pm 0,35$	$4,27 \pm 0,38$	26,49 ± 1,43	
	Post saison des pluies	11,5 ± 3,35	$3,99 \pm 0,35$	27,99 ± 1,68	6,5
Sandiara	Saison des pluies	8,85 ±0,67	$3,69 \pm 0,5$	24,62 ± 1,84	
	Post saison des pluies	8,6±1,31	$4,71 \pm 0,5$	23,42 ± 2,41	5,75
Essyl	Saison des pluies	12,45 ± 2,29	4,77± 0,54	$20,02 \pm 3,92$	
	Post saison des pluies	9,5 ± 0,71	6,90 ± 0,12	$20,68 \pm 0,97$	24,16

III.2 Teneur en saponosides

Les tests de détermination de l'indice de mousse ont montré, sur l'ensemble des échantillons récolté sur les trois sites et durant deux périodes de récoltes, une hauteur de mousses égale à 1 cm, ce qui reflète la présence de saponosides.

Les indices de mousse des feuilles de kinkéliba récoltées à Diass, à Sandiara et en Essyl en période de saison des pluies et en période post saison des pluies sont représentés dans le tableau VIII.

Tableau VIII: Indices de mousse (IM) des feuilles de *Combretum micranthum* récoltées à Diass, à Sandiara et en Essyl

Périodes et lie	IM	
Diass	Saison des pluies	333,33
	Post saison des pluies	500
Sandiara	Saison des pluies	333,33
	Post saison des pluies	500
Essyl	Saison des pluies	500
	Post saison des pluies	500

IM = indice de mousse

III.3 Séparation et identification des principes actifs

III.3.1 La chromatographie sur Couche Mince des tanins

La figure 29 représente le chromatogramme obtenu après révélation des tanins. Il montre que les tanins sont représentés par des spots de couleur bleue noirâtre ou de couleur marron. Ceux de couleur noirâtre sont les plus représentés dont le plus intense présente un Rf de 0,411; détecté au niveau de tous les extraits. Le spot de couleur marron ayant un Rf de 0,632 qui est le plus intense est observable au niveau de tous les autres dépôts. Les Rf des autres spots sont répertoriés dans le tableau IX.

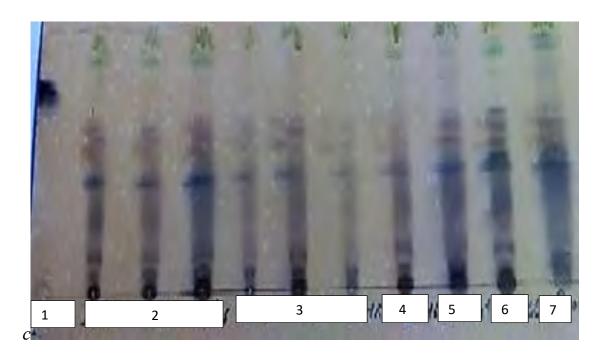


Figure 29: Chromatogramme des tanins

Photo: (Tine, 2018)

Plaque: cellulose

Eluant: acétate d'éthyle – méthanol – eau (40V/8V/5V)

Révélateur: mélange chlorure ferrique, acide acétique, eau (2V/2V/96V)

Dépôts: 1= AG, 2 = SPS, 3 = PSPS, 4 = SPE, 5 = PSPE, 6 = SPD, 7 = PSPD

Tableau IX: Rapport frontal d'acide gallique et d'extraits de feuilles kinkéliba

Dépôts	Rf des composés
Acide gallique	0,764
	0,632
SPS, PSPS, SPE,	0,558
PSPE, SPD, PSPD	0,411
	0,257
	0,147
	0,073

III.3.2 La chromatographie sur Couche Mince des flavonoïdes

Après séchage de la plaque au niveau de l'étuve à 100 °C et pulvérisation de l'AlCl₃, son observation sous la lumière ultra violette, montre des spots de couleur jaunâtre (figure 30). Sur les six dépôts faits, on observe les mêmes spots de Rf respectifs 0,646 et 0,739. Le tableau X montre les valeurs de Rf des différents flavonoïdes.

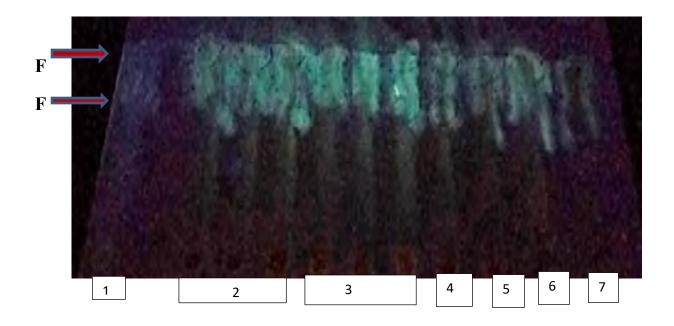


Figure 30: chromatogramme des flavonoïdes (Tine, 2018)

Plaque: cellulose

Eluant: acide acétique à 15 % dans l'eau

Révélateur: chlorure d'aluminium à 15% dans le mélange eau-méthanol (1V/1V).

Dépôts: 1= vitexine, 2 = SPS, 3 = PSPS, 4 = SPE, 5 = PSPE, 6 = RSPD, 7 = PSPD

Tableau X: Rapport frontal de la vitexine et d'extraits de feuilles de kinkéliba

Dépôts	Rapport frontal
Vitexine	0,634
	0,646
SPS, PSPS, SPE, PSPE, SPD,	
PSPD	
	0,736

III.4 Dosage des polyphénols

III.4.1 Dosage des polyphénols totaux et des tanins

L'équation de la droite de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide tannique (figure 31) obtenue par Excel est: y = 47,433x - 0,0158; $R^2 = 0,9911$, cette équation a permis de donner les concentrations des différents échantillons.

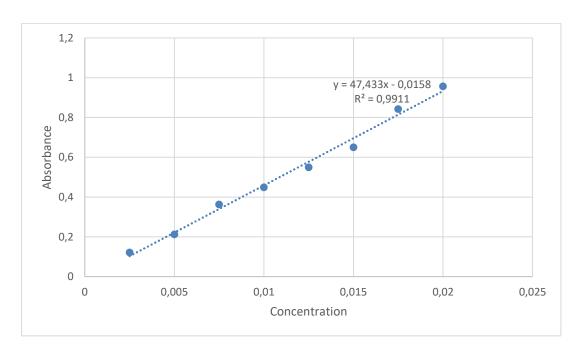


Figure 31: Courbe d'étalonnage de l'acide tannique

III.4.2 Dosage des flavonoïdes

L'équation de la droite de régression de la courbe d'étalonnage de la vitexine (figure 32) obtenue par Excel est: y = 11,566x - 0,1805; $R^2 = 0,9175$, cette équation a permis de donner les concentrations des différents échantillons.

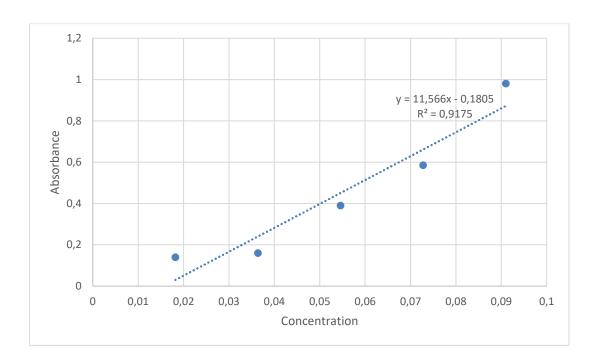


Figure 32: Courbe d'étalonnage de la vitexine

Les résultats montrent que les teneurs en polyphénols totaux exprimées en équivalents acide tannique pour 100 g de matières sèches (EAT/100 g) en période de saison des pluies et post saison des pluies sont respectivement: Sandiara $8,5\pm1,31$ et $10,44\pm2,19$ EAT/100 g; Essyl $10,53\pm4,6$ et $17,17\pm0,73$ EAT/100 g; Diass $13,57\pm1,7$ et $16,37\pm0,69$ EAT/100 g; celles des tanins sont respectivement: Sandiara $3,4\pm1,23$ et $5,1\pm2,08$ EAT/100 g; Essyl $4,63\pm1,6$ et $9,52\pm0,02$ EAT/100 g; Diass $8,51\pm1,25$ et $9,1\pm0,47$ EAT/100 g. Les teneurs en flavonoïdes, exprimées en équivalents vitexine pour 100 g de matières sèches (EV/100 g), en période de saison des pluies et post saison des pluies sont respectivement: Sandiara $0,63\pm0,45$ et $0,43\pm0,006$ EV/100 g; Essyl $0,31\pm0,021$ et $0,31\pm0,06$ EV/100 g; Diass $0,69\pm0,07$ et $0,63\pm0,005$ EV/100 g.

Ces résultats montrent que les feuilles récoltées en période post saison des pluies sont plus riches en polyphénols totaux et tanins que celles récoltées en période de saison des pluies; pour ce qui concerne les flavonoïdes les différences sont moins notables.

Le tableau XI représente les teneurs en polyphénols totaux, en tanins et en flavonoïdes dans les feuilles de *Combretum micranthum* suivant les sites et les périodes de récolte. L'analyse statistique par statview révèle un niveau de significativité de 5 %.

Tableau XI: Teneur en polyphénols totaux, en tanins et en flavonoïdes dans les feuilles de *Combretum micranthum* récoltées à Diass, à Sandiara et en Essyl

Périodes et lieux de récolte		Polyphénols	tanins %	Flavonoïdes
		totaux %		%
Diass	Saison des pluies	$13,57 \pm 1,7$	8,51±1,25	$0,69 \pm 0,07$
	Post saison des pluies	$16,37 \pm 0,69$	$9,1 \pm 0,47$	$0,63 \pm 0,005$
Sandiara	Saison des pluies	$8,5 \pm 1,31$	$3,4 \pm 1,23$	$0,63 \pm 0,45$
	Post saison des pluies	$10,44 \pm 2,19$	$5,1 \pm 2,08$	$0,43 \pm 0,06$
Essyl	Saison des pluies	$10,53 \pm 4,6$	$4,63 \pm 1,6$	$0,31 \pm 0,021$
	Post saison des pluies	$17,17 \pm 0,73$	$9,52 \pm 0,02$	$0,31 \pm 0,06$

III.5 Méthode rapide d'isolement de la vitexine des feuilles de kinkéliba

III.5.1 Rendement

A partir de 500 g de feuilles de kinkéliba, on obtient 0,0576 g de précipité recristallisé soit un rendement de 0,013 % par gramme de matières sèches de poudre de kinkéliba.

III.5.2 Identification par CCM

La figure 33 représente le chromatogramme obtenu après révélation par du ALCl₃. Il montre que la vitexine ainsi que le précipité recristallisé présentent un spot de couleur jaune intense et un spot de couleur bleue limpide; de Rf respectif 0,666 et 0,533. Le tableau XII représente les Rf des différents dépôts.

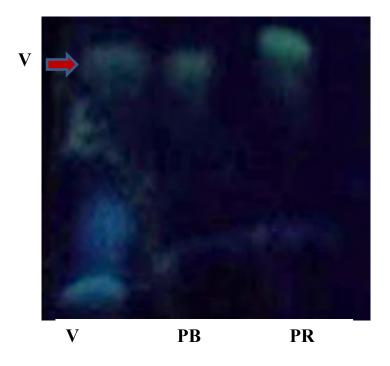


Figure 33: chromatogramme de la vitexine (Tine, 2018)

Plaque: cellulose

Eluant: acide acétique à 15 % dans l'eau

Révélateur: chlorure d'aluminium à 15% dans le mélange eau-méthanol (1V/1V)

Dépôts: V: vitexine PB: précipité brut PR: précipité recristallisé

Tableau XII: Rapport frontal de la vitexine, du précipité brute et recristallisé

Dépôt	Rf
	0,666
V, PB, PR	0,533

III.5.3 Identification par HPLC/UV-Vis/MSD

Le degré de pureté est de 94,790 % sur la base de la détection HPLC/UV-Vis/MS. La figure 34 représente le chromatogramme HPLC/UV de la vitexine à 350 nm.

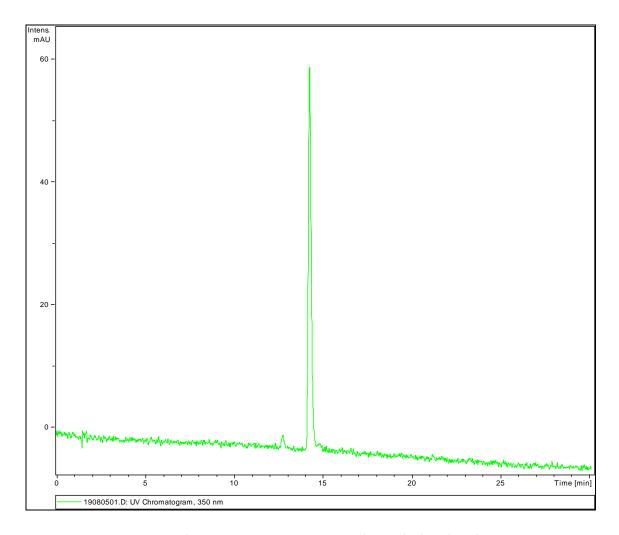


Figure 34: Chromatogramme HPLC/UV de la vitexine à 350 nm

III.5.4 Identification par RMN

La structure a été identifiée comme étant la vitexine sur la base des données RMN ¹H et ¹³C. Les spectres d'affectation des pics en RMN ¹H et ¹³C sont représentés respectivement sur les figures 35 et 36.

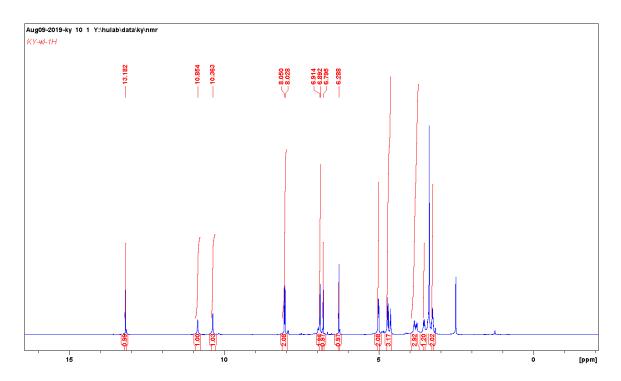


Figure 35: Spectre RMN du proton de la vitexine

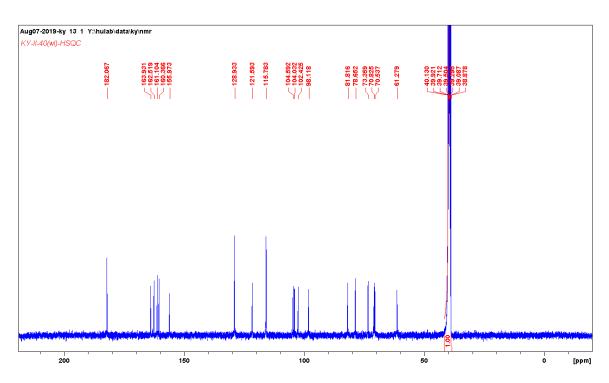


Figure 36: Spectre RMN du ¹³C de la vitexine

Le spectre RMN ¹H (DMSO, 400 MHz) représenté par la figure 35 montre trois groupes de protons par ordre de déblindage décroissant:

- 13,182 ppm (s, 1H, -OH⁵), 10,854 ppm (s, 1H, -OH⁷), δ 10,363 ppm (s, 1H, -OH⁴);
- 8,050-8,028 ppm (2H, d, J = 8.8 Hz, H²' et H⁶'), 6,915-6,892 ppm (2H, d, J = 8.8 Hz, H³' et H⁵').
- 6,795 ppm (s, 1H, H³), 6,288 ppm (s, 1H, H⁶).

Le spectre RMN ¹³C (DMSO, 100 MHz) représenté sur la figure 36 révèle que le HSQC a été fait; les carbones identifiés à travers des pics illustrant leurs déplacements chimiques (δ). Le spectre RMN ¹³C montre trois groupes de protons par ordre de déblindage décroissant:

- 182,0666 ppm (C⁴), 163,9312 ppm (C²), 162,5187 ppm (C⁷), 161,1039 ppm (C⁵), 160,3663 ppm (C⁹), 155,9732 ppm (C⁴).
- 128,9325 ppm (C^{2'} et C^{6'}), 121,5925 ppm (C^{1'}), 115,7833 ppm (C^{3'} et C^{5'}), 104,5919 ppm (C¹⁰), 104,0316 ppm (C³), 102,4253 ppm (C⁸).
- 98,1179 ppm (C⁶), 81,8159 ppm (C⁵"), 78,6516 ppm (C³"), 73,3595 ppm (C¹"), 70,8252 ppm (C⁴"), 70,5368 ppm (C²"), 61,2785 ppm (C⁶").

Les données corrélatives des déplacements chimiques (δ) des protons et des carbones sont représentées dans le tableau XIII.

Tableau XIII: Données corrélatives des déplacements chimiques (δ) des protons et des carbones

Proton (δ H en ppm)	Carbone de fixation	Carbones vicinaux (δ C en ppm)
	(δ C en ppm)	
13,182 (S, 1H, -OH ⁵)	161,1039 (C ⁵)	104,5919 (C ¹⁰) - (98,1179) C ⁶
10,854 (S, 1H, -OH ⁷)	162,5187 (C ⁷)	(98,1179) C ⁶ - (102,4253) C ⁸
10,363 (S, 1H, -OH ⁴ ')	155,9732 (C ⁴ ')	(115,7833) C ³ '- (115,7833) C ⁵ '
8,050 - 8,028 (2H, d,		(121,5925) C ¹ '- (115,7833) C ³ '
$J = 8.8 \text{ Hz}, \text{H}^{2'}$	128,9325 (C ² ' et C ⁶ ')	
8,050 - 8,028 (2H, d,		(121,5925) C ¹ '- (115,7833) C ⁵ '
$J = 8.8 \text{ Hz}, H^{6'}$		
6,915 - 6,892 (2H, d,		(128,9325) C ² '- 155,9732 C ⁴ '
$J = 8.8 \text{ Hz}, H^{3'}$	115,7833 (C ³ ' et C ⁵ ')	
6,915 - 6,892 (2H, d,		(128,9325) C ⁶ '- 155,9732 C ⁴ '
$J = 8.8 \text{ Hz}, H^{5'})$		
6,795 (S, 1H, H ³)	104,0316 (C ³)	(163,9312)C ² - (182,0666) C ⁴
6,288 (S, 1H, H ⁶)	98,1179 (C ⁶)	$(161,1039) C^5 - (162,5187) C^7$
	121,5925 (C ¹ ')	(128.9325) C ² '-(128.9325) C ⁶ '-
-		$(128.9325) C^2$

S: singulet; d: doublet; J:fréquence en Hertz; H:proton; C: carbone

Les spectres RMN du 1 H et du 13 C ont révélé que les protons singulets de déplacement chimiques (δ) 13,182-10,854-10,363 ppm (S, 1H, -OH) corrèlent respectivement avec les carbones de δ égaux à 161,1039 ppm (C^{6}), 162,5187 ppm (C^{7}) et 155,9732 ppm C^{4} .

Les protons de δ égaux à 8,050-8,028 ppm (2H, d) corrèlent avec les carbones C^2 et C^6 de δ 128,9325 ppm. Ceux de δ égaux à 6,915-6,892 ppm (2H, d) corrèlent avec les carbone C^3 et C^5 de δ égal à 115,7833 ppm (2H, d). Alors que le proton

de δ égale à 6,795 ppm (S, 1H) corrèle avec les carbone C³ de δ égal à 104,0316 ppm et celui de 6,288 ppm (S, 1H) corrèle avec le C⁶ de δ égal à 98,1179 ppm.

Sur la base des données RMN ¹H et ¹³C, la structure est identifié à la vitexine, dont la formule chimique est: C₂₁H₂₀O₁₀. La figure 37 montre le schéma de la molécule de vitexine.

Figure 37: Structure chimique de la vitexine (glucosyl-8- apigénine)

La désignation des protons et des carbones de la molécule de la vitexine en fonction de la RMN ¹H et ¹³C est représentée dans le tableau XIV.

Tableau XIV: Désignation des protons et carbones en fonction de la RMN ¹H et ¹³C de la vitexine

N ⁰ carbone	δ proton (ppm)	δ carbone (ppm)
2	-	163,9312 (C ²)
3	6,795 (s, 1H, H ³)	104,0316 (C ³)
4	-	182,0666 (C ⁴)
5	13,182 (s, 1H, -OH ⁵)	161,1039 (C ⁵)
6	6,288 (s, 1H, H ⁶)	98,1179 (C ⁶)
7	10,854 (s, 1H, -OH ⁷)	162,5187 (C ⁷)
8	-	102,4253 (C ⁸)
9	-	160,3663 (C ⁹)
10	-	104,5919 (C ¹⁰)
1′	-	121,5925 (C ¹ ')
2′	8,050-8,028 (2H, d, H ² ')	128,9325 (C ²)
3′	6,915-6,892 (2H, d, H ³ ')	115,7833 (C ^{3'})
4′	10,363 (s, 1H, -OH ⁴)	155,9732 (C ⁴ ')
5′	6,915-6,892 (2H, d, H ⁵ ')	115,7833 (C ⁵ ')
6′	8,050-8,028 (2H, d, H ² ')	128,9325 (C ⁶)
1"	-	73,3595 (C ¹ '')
2"	-	70,5368 (C ² '')
3"	-	78,6516 (C ³ '')
4"	-	70,8252 (C ⁴ '')
5"	-	81,8159 (C ⁵ '')
6′′	-	61,2785 (C ⁶ '')

CHAPITRE VI: ACTIVITE ANTIOXYDANTE PAR LE TEST AU DPPH (1,1-DIPHENYL-2PICRYLHYDRAZYL)

I. MATERIEL ET REACTIFS

I.1 Matériel végétal

Il est constitué de la même poudre de feuilles de *Combretum micranthum* annoncée ci-dessus.

I.2 Matériel de laboratoire

- Verrerie: bécher, erlenmeyer, éprouvette graduée, verre de montre, ballon, tubes à essais.
- Appareils: micropipette, évaporateur-rotatif, balance, spectrophotomètre, étuve (marque Binder), broyeur (marque Brabender)
- Papiers filtre, coton, port à tubes
- Solvants et réactifs: éthanol, DPPH, acide ascorbique

II. METHODOLOGIE

II.2 Préparation de la solution DPPH

La méthode utilisée est celle de (Molyneux, 2003). Le radical DPPH se prépare en dissolvant 4 mg du réactif de DPPH dans 100 ml d'éthanol 95°. Après dissolution complète, la solution est conservée à l'abri de la lumière à 4 °C pendant au moins 16 heures.

II.3 Préparation de la série de dilution et mesure de l'absorbance Il consiste à :

Mesurer l'absorbance de la solution de DPPH ainsi préparée avant les tests.
 Si l'absorbance est supérieure à 1, diluer avec de l'alcool jusqu'à obtenir

une valeur inférieure à 1. Elle correspond à la valeur de l'absorbance au

temps To.

• Préparer une solution mère de 250 μg/ml de chaque drogue puis une série

de dilution est faite pour obtenir les concentrations suivantes :

250 - 125 - 62,5 - 31,25 - 15,62 - 7,81 μg/ml

• Dans chaque tube à essai contenant 50 µl d'extrait à une concentration

donnée, on ajoute 950 µl de la solution de DPPH précédemment diluée.

• Incuber les tubes pendant 30 mn à l'abri de la lumière et à la température

ambiante.

• Mesurer les absorbances à 517 nm

• L'acide ascorbique utilisé comme référence est testé aux mêmes

concentrations et dans les mêmes conditions.

II.4 Expression des résultats

Trois essais ont été effectués pour chaque concentration du produit testé. Les

résultats sont d'abord exprimés en pourcentage d'inhibition (PI) de l'activité

antiradicalaire et en concentration radicalaire permettant de piéger 50 % des

radicaux libres (CI₅₀).

La CI₅₀ s'obtient à partir du graphique représentant le pourcentage de piégeage

(PI %) en fonction de la concentration. Cette valeur dépend de la concentration

de DPPH utilisée pour le test (Fall, 2013).

Plus la valeur de CI₅₀ est petite, plus l'activité de l'extrait est grande (Pokorny,

2001).

II.4.1 Calcul des pourcentages d'inhibition

Les pourcentages d'inhibition sont calculés selon la formule suivante :

 $PI = (A_0 - A_1)*100/A_0$

A₀: Absorbance du DPPH

115

A1: Absorbance après ajout dans l'extrait à une concentration donnée après un temps donné

II.4.2 Détermination de CI₅₀

La détermination de CI₅₀ est effectuée grâce au logiciel statgraphics

III. RESULTATS

III.1 Evaluation des pourcentages d'inhibition

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'acide ascorbique et par les extraits suivant les saisons, en fonction des différentes concentrations sont relevés dans le tableau 1 (annexe 1) et représentés sur la figure 38 pour la période de saison des pluies et figure 39 pour la période de post saison des pluies.

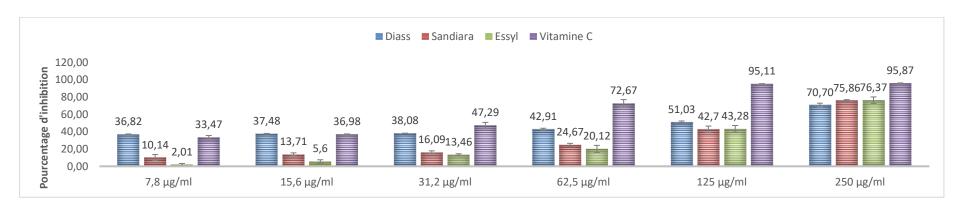


Figure 38: Evaluation du pourcentage d'inhibition du DPPH par rapport à l'acide et aux extraits de feuilles de *Combrethum micranthum* récoltées en période de saison des pluies à Diass, à Sandiara et à Essyl

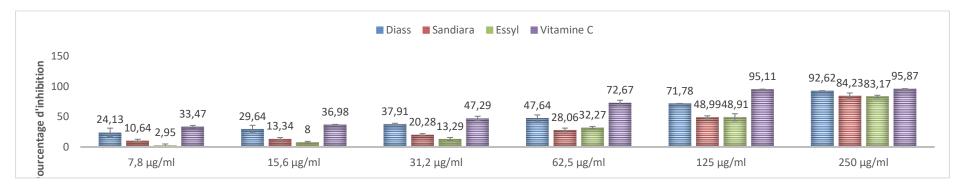


Figure 39: Evaluation du pourcentage d'inhibition du DPPH par rapport à l'acide et aux extraits de feuilles de *Combrethum micranthum* récoltées en période post saison des pluies à Diass, à Sandiara et à Essyl

SP: période saison des pluies; PSP: période post saison des pluies; AS: acide ascorbique; n=3 pour chaque pourcentage d'inhibition

***** En période de saison des pluies (SP)

A toutes les concentrations testées, l'acide ascorbique, ainsi que les extraits éthanoliques des feuilles de *Combretum micranthum* récoltées à Diass, à Sandiara et à Essyl inhibent significativement (p < 0,0001) et de manière dose dépendante le DPPH comme l'atteste la figure 38.

L'acide ascorbique utilisé comme référence, à des concentrations testées élevées présente un pourcentage d'inhibition supérieur à celui des extraits. Mais à des concentrations faibles l'acide ascorbique présente des PI inférieurs à ceux enregistrés pour les extraits des feuilles récoltées à Diass, alors que les autres extraits présentent des PI largement inférieurs à celui de l'acide.

Aux faibles concentrations l'extrait des feuilles de *Combretum micranthum* récoltées à Essyl présente les pourcentages d'inhibition les plus faibles, inférieurs à ceux de Sandiara, qui sont également inférieurs à ceux Diass.

Aux concentrations les plus élevées, les extraits des feuilles *Combretum micranthum* récoltées à Essyl, à Sandiara et à Diass présentent des pourcentages d'inhibition qui augmentent progressivement en fonction de la concentration: à 62,5 µg/ml on a respectivement 20,12 \pm 4,07 %; 24,67 \pm 2,25 % 42,91 \pm 1,05 %; à 125 µg/ml on a respectivement 43,28 \pm 3,87%; 42,7% \pm 2,28 %; 51,03 \pm 1,3 % et à 250 µg/ml on a respectivement 76,37 \pm 3,74 %; 75,86 \pm 3,02 %; 70,70 \pm 2,2 %.

✓ En période post saison des pluies (PSP)

La variation des PI des extraits des feuilles de *Combrethum micrantum* récoltées dans les trois sites et durant la période post saison des pluies est illustrée par la figure 39; les valeurs sont plus élevées par rapport à la saison précédente, tout en restant inférieures aux PI de l'acide. Cependant à la dernière concentration le PI des feuilles récoltées à Diass reste le plus élevé suivi de celui de Sandiara.

Néanmoins les extraits inhibent significativement (p < 0,0001) et de manière dose dépendante.

II.2 Evaluation de la concentration d'inhibition à 50 % (CI₅₀)

En période de saison des pluies, les feuilles de *Combrethum micrantum* récoltées à Essyl, à Sandiara et à Diass ont des CI_{50} respectivement égales à $150,5\pm3,36$ µg/ml; $155\pm4,6$ µg/ml et $177,83\pm8,93$ µg/ml, alors qu'en période de post saison des pluies ces CI_{50} deviennent plus faibles, respectivement égalent à $130,17\pm6,51$ µg/ml; $119,9\pm10,78$ µg/ml et $59,5\pm4,13$ µg/ml. Pour l'acide ascorbique la valeur est de 34,58 µg/ml. Les valeurs des CI_{50} sont rapportées le tableau 2 (Annexe 2) et sur la figure 40.

Autrement dit que l'extrait éthanolique des feuilles récoltées à Diass présente la CI₅₀ la plus faible et cela pour les deux périodes de récolte. Suivi par celle des feuilles récoltées à Essyl pour la période de saison des pluies et de celle des feuilles récoltées à Sandiara pour la période post saison des pluies. La CI₅₀ de l'acide ascorbique reste toujours inférieure à celle de tous les extraits et pour chaque période.

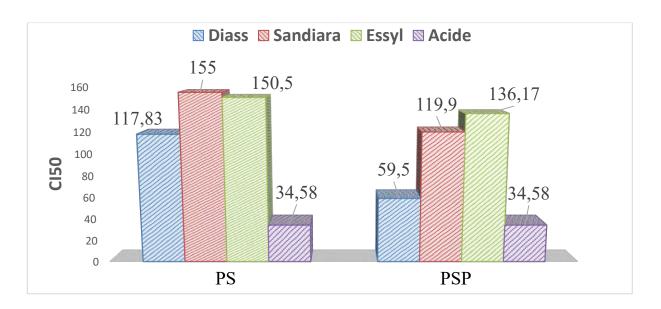


Figure 40: Evaluation du CI₅₀ du DPPH par rapport à celui des extraits de feuilles de *Combretum micranthum* récoltées en période de saison des pluies à Diass, à Sandiara et en Essyl

SP: période saison des pluies; PSP: période post saison des pluies; AS: acide ascorbique; n=3 pour chaque concentration testée

CHAPITRE VII: DISCUSSION

I. TENEUR EN EAU, EN CENDRES ET RENDEMENT EN EXTRACTIBLE

La teneur en eau des feuilles de *Combretum micranthum* est de l'ordre de 4 à 15% (Paris, 1942). Nos études ont révélé que la teneur en eau et en cendres la plus élevée et la quantité extractible la plus faible est enregistrée à Essyl pendant la période de saison des pluies; la teneur en eau et en cendres la plus faible est enregistrées à Sandiara à la même période tandis que la quantité d'extractibles la plus importante est enregistrée à Diass et à la période post saison des pluies.

Ainsi on retient que la quantité d'extractible est plus importante dans les zones moins humides (Diass et Sandiara). Avec des sols ferrugineux tropicaux non ou peu lessivés sur colluvions à Diass et des sols ferrugineux tropicaux non ou peu lessivés plus ou moins bien drainés à Sandiara. Alors qu'Essyl ayant la pluviométrie la plus élevée avec des sols faiblement ferralitiques, sol ferrugineux tropicaux, sol peu évolué présente la teneur en extractible la moins importante. On obtient l'inverse pour la teneur en eau et en cendre qui sont plus importantes à Essyl.

Quant à la teneur en fer, les feuilles récoltées à Essyl présentent une teneur quatre fois plus importante que celles des feuilles récoltées à Diass et à Sandiara.

II. CCM

On note la présence de même type de tanins dans tous les extraits. Les tanins galliques et catéchiques sont identifiés respectivement par l'apparition de spots bleue noirâtre, marron; dont les plus denses sont respectivement ceux de Rf=0,411 et de Rf=0.632.

On note la même remarque pour les flavonoïdes, le chromatogramme révèle les mêmes substances flavoniques dans tous les extraits; avec des spots jaunâtres de RF respectif 0,646 et 0,739. Le fait que les spots trainent nous donne une idée de l'importance des flavonoïdes dans les feuilles de kinkéliba. Parmi ceux-ci la vitexine de même l'isovitexine sont considérés comme les flavonoïdes majeurs de ces feuilles (BASSENE, 1987).

III. DOSAGE

Les feuilles récoltées à Sandiara et Diass sont plus riches en flavonoïdes que celles récoltées à Essyl; cependant c'est dans les feuilles récoltées de ce dernier site que l'on enregistre la teneur en polyphénols totaux et en tanins la plus importante, avec une valeur légèrement plus importante que celles récoltées à Diass.

On a noté aussi que les feuilles récoltées en période post saison des pluies sont plus riches en polyphénols totaux et tanins qu'en flavonoïdes que celles récoltées en période de saison des pluies; pour celles récoltées en cette dernière saison elles sont plus riches en flavonoïdes qu'en polyphénols totaux et en tanins; sauf pour les feuilles récoltées en Essyl où on observe une teneur en flavonoïdes légèrement plus importante en période post saison des pluies qu'en période de saison des pluies.

Ces teneurs intéressantes en polyphénols totaux, en tanins et en flavonoïdes viennent confirmer les travaux de Bassène (1981); En effet, il avait trouvé pour des feuilles récoltées en octobre et décembre à Nguékokh (proche de Diass) des teneurs en flavonoïdes respectives de 0,8 % et 1,2 % exprimées en équivalent vitexine.

Cette variation de la teneur en composés phénoliques pourrait être due à la fois au stress hydrique et à la nature du sol des sites de récoltes. Les feuilles récoltées sur des sites moins pluvieux, avec des sols ferrugineux tropicaux non ou peu lessivés sur colline à Diass et des sols ferrugineux tropicaux non ou peu lessivés plus ou moins bien drainés à Sandiara sont plus riches en flavonoïdes; alors que celles récoltées à Essyl enregistrant la pluviométrie la plus intéressante et des sols

faiblement ferralitique, sol ferrugineux tropicaux, sol peu évolué enregistre la teneur en polyphénols totaux et en tanins la plus important.

IV. ACTIVITE ANTIRADICALAIRE

Les feuilles récoltées à Diass présentent l'activité antioxydante la plus importante suivie de celles récoltées à Sandiara, celles récoltées à Essyl présente l'activité la plus faible.

Sur les trois sites de récoltes l'activité antioxydante des feuilles de *Combretum micranthum* est plus importante en période post saison des pluies. Alors que celles récoltées en période de saison des pluies piègent moins les radicaux libres.

Cette forte réduction de l'extrait éthanolique des feuilles en faveur de la période post saison des pluies pourrait être expliquée par une plus forte présence de polyphénols. Car dans les trois sites de récoltes la teneur en polyphénols totaux et le CI₅₀ des feuilles de kinkéliba restent toujours plus importantes en période post saison des pluies qu'en période de saison des pluies.

Cette corrélation entre les teneurs en phénols totaux et l'activité antiradicalaire a été montrée par Hatano, (1989), et plus tard par Chen, (1995). Selon ce dernier, les groupements fonctionnels présents dans les composés phénoliques en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres.

Cela a été confirmé également par les travaux de Bidier (2011) qui ont montrés que toute activité biologique est liée à la présence de certains métabolites à l'intérieur des tissus de la plante. Ainsi ils ont démontré que Distemonanthus benthamianus, Chrysophyllum perpulchrum, Mitragyna ciliata, Trichilia prieuriana, Sherboumia bignoniifollia, Parquetina nigrescens, Ageratum conyzoïdes et Millettia zechiana contiennent les polyphénols et des flavonoïdes, métabolites responsables de l'activité antioxydante et antiradicalaire. Ils ont trouvé entre autres que les deux plantes ayant les teneurs les plus élevées en

phénols totaux à savoir: Chrysophyllum perpulchrum (74,08 \pm 1,8 mg/gms) et Distemonanthus benthamianus (70,17 \pm 0,84 mg/gms) ont les plus fortes activités antiradicalaires exprimées en CI50 qui sont respectivement de 4,00 \pm 0,288 μ g/ml et 4,50 \pm 0,288 μ g/ml). A côté de ces dernières on a Millettia zechiana et Ageratum conyzoïdes enregistrant des CI₅₀ respectivement égales à 96 \pm 0,577 μ g/ml et 76 \pm 0,577 μ g/ml, qui sont plus proches de celle enregistrée pour les feuilles de kinkéliba; pour des teneurs en polyphénols totaux inférieur à 30 mg/gms.

Toute fois ces résultats pourraient être comparés à ceux de Touré et al. (2011). Ce dernier a évalué les propriétés antioxydantes de l'extrait aqueux et éthanolique des feuilles de kinkéliba récoltés en Guinée. Le piégeage du radical DPPH donne des CI_{50} de $9,1\pm0,28$ mg/ml pour l'extrait aqueux et $8,02\pm0,34$ mg/ml pour l'extrait à l'éthanol. Cet écart des valeurs antiradicalaire des feuilles de kinkéliba de la Guinée et du Sénégal pourrait être dû à la variation de la teneur en polyphénols, ou à la différence des conditions pédologiques et climatiques.

V. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DE LA VITEXINE

Le CCM révèle la présence d'une substance majoritaire par sa densité de spot jaunâtre et de Rf=0,666, qui pourrait être la vitexine. On a également une substance moins dense, de spot bleue limpide, qui pourrait être l'isovitexine ou de l'acide.

Le spectre obtenu avec la HPLC/UV/MS montre un seul pic à 350 nm caractéristique de la vitexine avec un temps de rétention de 14 -15 mn et un degré de pureté égale à 94,790 %. Ces résultats sont confirmés par les données spectrales résultantes de l'analyse combinée par RMN ¹H/¹³C donnant un structure chimique caractéristique du glucosyl-8- apigénine.

Le rendement qui est de 0,013 % par gramme de matières de poudre de kinkéliba nous montre la valeur quantitative de la vitexine dans les feuilles de *Combretum*

micranthum. Néanmoins, on peut avoir un rendement plus intéressant avec le HPLC (Bassène, 1985) qui avez trouvé 0,56 μg de vitexine dans 45 μg d'extrait brut aqueux soit une teneur de 1,24 % par gramme d'extrait.

TROISIEME PARTIE: RECOLTE ET COMMERCIALISATION DU COMBRETUM MICRANTHUM

CHAPITRE VIII: GENERALITES SUR L'ETUDE D'UNE FILIERE

I. DEFINITION ET ROLE D'UNE ETUDE DE FILIERE

Selon Duteurtre (2000) la filière est un système d'agents qui concourent à produire, transformer, distribuer et consommer un produit. L'étude d'une filière est une analyse très précise de tout un système généré par un produit (Terpend, 1997).

C'est une étude exhaustive de tous ceux qui interviennent dans la filière, de leur environnement, des actions qui sont menées et des mécanismes qui ont abouti à de telles actions (Terpend, 1997); autrement dit c'est l'analyse de la succession d'actions menées par des acteurs pour produire, transformer, vendre, et consommer un produit (Terpend, 1997).

Ces actions menées successivement, parallèlement ou d'une manière complémentaire, peuvent se découper en grands ensembles ou systèmes comme: la production, la transformation, la commercialisation et la consommation. Chacun de ces ensembles englobe une série d'actions plus ou moins importantes qui permettent de passer d'un ensemble à un autre, dans une suite logique d'intervention.

L'étude d'une filière permet de connaître d'une manière approfondie les tenants et les aboutissements de tout l'environnement d'un produit. Elle permet de mettre en évidence (Terpend, 1997):

- ➤ les points forts et les points faibles du système et, à partir de là, d'établir précisément les politiques et les actions à mener pour renforcer les aspects positifs et faire disparaitre les contraintes;
- ➤ les acteurs qui interviennent d'une manière directe ou indirecte dans le système;

- ➤ les synergies, les effets externes, les relations de coopérations et ou d'influences ainsi que les nœuds stratégiques dont la maitrise assure la domination de certains agents;
- ➤ le goulet d'étranglement et les liaisons intersectorielles;
- La progression des coûts action par action afin de déterminer la formation du prix final. Celui-ci permet une analyse comptable du système et un calcul de rentabilité. C'est un outil de bilan financier global et/ou partiel du produit.

L'étude de la filière n'est pas seulement économique, au sens strict du mot, ou comptable; elle est aussi géographique, politique; sociologique. Beaucoup de facteurs interviennent dans la vie d'un produit, de sa phase initiale (conception-production) à sa phase terminale (consommation).

II. ORGANISATION D'UNE ETUDE DE FILIERE

II.1 Délimitation de la filière étudiée

Cette phase consiste à définir précisément les produits à étudier (matières premières ou produits finis), à délimiter sur le plan vertical (hauteur), horizontal (largeur) et en volume (épaisseur) l'étendue de la filière et à préciser les espaces géographiques et temporels sur lesquels la filière va être décrite.

Le principe de la filière veut qu'il y ait une progression verticale d'un produit. Cependant, une analyse horizontale doit souvent être envisagée pour étudier l'environnement et le rôle de tous les intervenants sur une action précise, c'est à dire ceux qui ont une action directe (comme les producteurs, les commerçants, les transformateurs, etc.), et ceux qui ont une action plus éloignée (banques, ONG, projet, ministères, etc.). D'autre part , le degré de précision et/ou de profondeur dans l'information obtenue à chaque stade de la filière permet de délimiter son « épaisseur » (étude approfondie de la manière de travailler du commerçant avec description des autres activités qu'il assure, la charge familiale qu'il a et qui

expliquera l'utilisation de ses bénéfices, ou bien analyse de l'environnement uniquement national, régional ou international, etc.) (Terpend, 1997).

II.2 La collecte de l'information

Elle doit se faire à partir d'une information précise et détaillée pour chaque stade de la filière considérée. Cette information peut venir de différentes sources dont les deux principales sont l'information bibliographique et l'information obtenue sur le terrain (Terpend, 1997).

II.2.1 L'information bibliographique

Selon le produit et l'ampleur retenue de la filière, on doit déterminer les organismes ou les entreprises auprès desquels il trouvera des documents qui lui seront utiles. Pour le cas d'un produit agricole il y a deux sources principales d'informations bibliographiques (Terpend, 1997):

- le secteur public avec entre autres les ministères concernés (agriculture, commerce, plan, finance), les centres de recherches, les entreprises publiques, chambres d'agricultures et de commerces etc.
- le secteur privé qui, pour certains produits, a des entreprises suffisamment bien équipées en études diverses sur les produits étudiés, on peut citer aussi les bailleurs de fonds et les ONG.

Cette recherche documentaire est souvent menée de pair avec la recherche sur le terrain.

II.2.2 L'information sur le terrain

L'information sur le terrain est sans aucun doute la plus importante car elle permet de bien comprendre les tenants et les aboutissants de la filière étudiée. Elle permet de vérifier et d'actualiser les informations bibliographiques et surtout d'aller plus en profondeur dans la compréhension, à un stade donné de la filière (Terpend, 1997).

Cette information s'obtient en rencontrant tous les acteurs de la filière étudiée, qu'ils soient directement actifs dans la filière comme les producteurs, les commerçants, les transformateurs, les transporteurs ou les consommateurs, semi-actifs comme les banquiers, les administrations, ou en retrait comme les bailleurs de fonds ou les ONG.

Pour collecter cette information, deux possibilités complémentaires sont offertes à l'expert: l'interview et la visite de terrain.

II.3 L'analyse de l'information

L'analyse des informations obtenues doit se faire à plusieurs niveaux: les fonctions, les aspects géographiques, commerciaux, organitionnels, économiques et financiers, politiques et sociaux. Elle permet de mettre en évidence les synergies, les relations de coopération et/ou d'influence, les nœuds stratégiques, les lieux de pouvoir et de décision, les goulets d'étranglement et les liaisons intersectorielles, ainsi que la progression des coûts. Tout ceci doit apparaître dans l'analyse de filière, ce qui veut dire que les questionnaires et les informations recherchées doivent permettre de faire ce type d'analyse (Terpend, 1997).

II.4 Formulation d'un diagnostic

Après une analyse plus ou moins précise et large de l'information selon les besoins de l'étude, il faut formuler un diagnostic sur la filière étudiée qui résume et coordonne l'ensemble des analyses faites précédemment.

Pour aider à la formulation de ce diagnostic, il est important de prendre en compte l'appréciation des acteurs de la filière.

C'est-à-dire à partir de l'analyse de l'information collectée telle qu'elle est décrite plutôt et du diagnostic émis par les acteurs de la filière. On a entre les mains toutes les informations nécessaires pour formuler un diagnostic et faire des recommandations. Dans ce diagnostic, on doit résumer la situation de la filière en fonction de ses points forts et de ses points faibles (Terpend, 1997).

II.5 Les recommandations

Le diagnostic effectué va permettre de mettre en évidence les contraintes de la filière. C'est à partir de celles-ci que se feront les recommandations.

Une deuxième matrice permettra de résumer ces contraintes et de mettre en évidence celles qui se retrouvent le plus souvent, ou bien celles qui sont de véritables goulots d'étranglement pour la filière dans son ensemble (Terpend, 1997).

CHAPITRE IX: APPLICATION A LA FILIERE KINKELIBA

I. METHODOLOGIE

La filière Kinkéliba n'a jamais fait l'objet d'une étude standard c'est pourquoi les données bibliographiques qui devaient nous servir de support au niveau des ministères concernés, des organismes statistiques et de la douane nationale sont très limitées ou quasiment inexistantes. Ainsi pour mener à bien le travail nous nous sommes contentés des données collectées sur le terrain.

I.1 Méthodes et moyens de collecte des données

Les méthodes de collectes de l'information sont liées de la nature des donnés recherchées (Dieng, 2017) qui peuvent être quantitatives ou qualitatives.

La méthode utilisée dans ce présent travail est basée surtout sur des entretiens structurés qui sont faits au moyen d'un guide d'entretien en forme de questionnaires. Le guide d'entretien est un ensemble de questions-thèmes élaborées en fonction des objectifs visés et qui permet de répertorier l'ensemble des points à aborder lors de l'entretien (Albarello, 2003). Cependant, la liste des points qui composent le guide n'est pas figée, la personne qui anime l'entretien a la latitude de poser des questions supplémentaires en vue de rebondir sur certains sujets évoquées par la (les) personne(s) interrogée(s) (Dieng, 2017).

Cela nous a permis d'avoir des données socio-économiques qui peuvent également être obtenues par le biais d'observations et de discussions à vive voix avec nos différents interlocuteurs.

I.1.1 Enquête par questionnaire

Le questionnement aussi appelé entretien structuré est une technique d'enquête qui utilise des questions fermées ou semi fermées avec des options de réponse

définies à l'avance (Dieng, 2017). Il permet de collecter aussi bien des données qualitatives que quantitatives (Brechon, 2012).

Les enquêtes qualitatives consistent à interroger un petit nombre de personnes qui s'expliquent longuement par entretien; Il s'agit souvent de comprendre les motivations des individus, ce qui les fait vivre et agir. A partir des paroles recueillies on peut élaborer des conclusions sur les modes de raisonnement et leur logique à l'œuvre dans les différentes catégories de populations. Alors que les enquêtes quantitatives consistent à faire répondre des individus à des questionnaires standardisés; les différentes modalités de réponse à chaque question sont prévues d'avance, de manière à pouvoir facilement analyser les réponses en totalisant les scores de chacune. L'enquête quantitative dénombre donc les comportements déclarés, les pratiques et les opinions des individus (Brechon 2012).

I.1.2 Observations

C'est également l'une des méthodes à laquelle nous avons fait recours. L'observation consiste à aller au niveau des lieux de vente pour constater l'intérêt que la clientèle et les commerçants portent au produit. Il arrive qu'on procède à des achats ou à du marchandage pour apprivoiser l'enquêté et avoir la bonne information ou pour faire des comparaisons sur les prix par unité et par poids. On a également à revenir sur des points de vente ou au niveau d'un commerçant pour observer la vitesse d'écoulement de la marchandise.

I.2 Zones de collecte des données

Le kinkéliba bien que très consommé dans tout le Sénégal, sa commercialisation est plus importante au niveau des zones urbaines en particulier dans la région de Thiès qui est une zone de production, de commercialisation et la région de Dakar considérée comme une zone de commercialisation et de consommation. Ce sont ces régions qui ont été ciblées dans le cadre de cette étude. A Thiès les zones de ventes et de production ciblées sont l'axe Diass, Sindia, kiniabour et environ et

l'axe Pout, Thiès ville (au niveau du marché), Lalane et environs; à Dakar on a choisi deux marchés fards dans la vente de kinkéliba: les marchés de Grand Yoff er de Thiaroye. Pour la consommation on a choisi les parcelles Assainies et environs.

I.3 Acteurs enquêtés et fonctions

Nos questionnaires ont été administrés aux herboristes et ou tradipraticiens, collecteurs et ou fournisseurs, aux détaillants, aux consommateurs et transformateurs.

Cependant il faut préciser que la plupart des herboristes sont des tradipraticiens et à ce qui concerne le kinkéliba, presque tous les tradipraticiens interrogés ne s'intéresse pas trop à la plante, car disent-ils sa vente comme plante médicinale se fait au compte-gouttes; des espéces de la même famille comme *Guiera senegalensis* sont plus prisées à leur niveau. C'est pourquoi lors de nos enquêtes on était confronté à un dilemme à savoir si nous devons étudier la filière kinkéliba comme plantes médicinales ou bien l'étudier comme une plante ayant des vertus thérapeutiques mais utilisées couramment comme tisane dans le cadre alimentaire. En effet au Sénégal, même ceux qui ne se soignent pas l'utilisent par habitude sans se soucier de ses vertus thérapeutiques.

Finalement sans se détourner de notre objectif qui est de structurer le marché du kinkéliba on a décidé de soumettre la fiche d'enquête uniquement aux herboristes de métier ou herboristes/tradipraticiens en écartant les tradipraticiens. Ces herboristes de métier ou herboristes/tradipraticiens seront considérés comme des détaillants à part entière.

Il faut préciser également que les fournisseurs sont d'habitude des collecteurs et dés fois peuvent être des détaillants surtout dans les zones de productions. Cependant on peut noter la présence de collecteurs de métier.

I.3.1 Les collecteurs et ou fournisseurs

Les collecteurs/fournisseurs sont des vendeurs communément appelés «bana bana»; que l'on peut considérer comme des grossistes. Ils assurent la collecte du matériel végétal au niveau des zones de production et la vente en gros.

I.3.2 Herboristes et ou tradipraticiens

Selon le projet de loi sur la médecine traditionnelle et la pharmacopée au Sénégal, « est herboriste, celui qui connaît les usages et qui vend les plantes médicinales ». Alors qu'un tradipraticiens en plus de connaitre les vertus médicinales des espéces végétales, disposent généralement de connaissances sur les autres ressources naturelles pouvant soigner (peau d'animaux, coquilles....); ils exercent une pratique médicale non conventionnelle reposant sur des approches présentées comme traditionnelles dans certaines communautés. Les pratiques mystiques et l'usage des plantes sont indissociables dans leur manière de traiter. Les rites secrets sont transmis de génération en génération, des parents aux descendants. A leur niveau le kinkéliba est vendu en détail comme plante médicinale.

I.3.3 Les détaillants

Ce sont des acteurs qui profitent de la disponibilité des ressources pour mener une activité lucrative (Dieng, 2017). En d'autres termes un détaillant est un commerçant qui trouve et achète des produits auprès des fournisseurs et qu'il revend aux consommateurs pour générer un profit.

I.3.4 Les consommateurs

Selon Wikipédia un consommateur est une personne qui réalise un ensemble d'actes à propos d'un produit depuis son achat jusqu'à son utilisation ultime. Et ceci en vue de satisfaire au mieux ses attentes tout au long de la durée normale prévue d'utilisation. Ceci recouvre abusivement indistinctement différents rôles: acheter, approvisionner, bénéficiaire, usager, payeur.

I.3.5 Les transformateurs

C'est le maillon le moins exploité dans ce marché mais qui promet d'être trés prisé dans l'avenir si on tient compte des exigences de la clientèle et du marché.

I.4 Collectes des données auprès des acteurs de la filière

I.4.1 Collecte de données auprès des collecteurs et ou fournisseurs

Ils ont été choisi au hasard ou suite à une recommandation par d'autres acteurs de la filière. On les a rencontrés aussi bien dans la région de Dakar que celle Thiès. Deux questionnaires celui des collecteurs et celui des commerçants (Annexe 5) leurs ont été soumis renfermant les rubriques suivantes:

- Identification
- Localisation
- Activités socio-économiques
- Fonction dans la filière
- Approvisionnement (lieu et technique)
- Organisation du marché
- Coût supportés
- Rentabilités

I.4.2 Collectes des données auprès des herboristes et ou tradipraticiens

Ceux qui s'intéressent à la plante ont été retrouvés à Dakar et ils sont herboristes ou herboristes/tradipraticiens. On leur a soumis le questionnaire des commerçants car ils s'activent seulement dans la vente en détail.

I.4.3 Collecte des données auprès des détaillants

C'est eux qui assurent surtout la circulation du produit dans les zones de commercialisation. Les zones ciblées sont les lieux de productions comme Diass, Sindia, Kiniabour, Lalane, Pout ainsi que Thiès ville et deux marchés de Dakar. Les différentes rubriques des questionnaires sont identiques aux précédentes.

I.4.4 Collectes des données auprès des consommateurs

Leurs questionnements nous permettrons de confirmer des informations recueillies au préalable sur la provenance du produit. Parcelles assainies, Grand Yoff et HLM Grand Yoff ont été ciblés comme zones d'étude. Ils ont été soumis à une fiche d'enquête (Annexe 6) portant différents thèmes que sont:

- Identification
- Localisation
- Approvisionnement (lieu et prix)

I.4.5 Collectes des données auprès des transformateurs

Cela n'était pas facile de trouver un transformateur de kinkéliba, mais néanmoins il (s) est (sont) soumis à un questionnaire (Annexe 7) portant sur les thèmes suivants.

- Identification
- Approvisionnement
- Transformation

II. RESULTATS

II.1 Analyses fonctionnelles des acteurs de la filière

Il s'agit d'identifier les acteurs impliqués dans les différents maillons de la filière et de décrire leurs fonctions ou rôles dans la filière.

Suite au dépouillement des questionnaires on a pu enquêter 8 herboristes /tradipraticiens, 26 collecteurs/fournisseurs et 50 détaillants.

Le tableau 3 (annexe 2) représente la répartition spatiale des acteurs s'activant dans la commercialisation du kinkéliba dans nos zones d'études représentées graphiquement sur la figure 41.

Pour la consommation on a choisi la banlieue Dakaroise; selon leur disponibilité 91 consommateurs ont été interviewés répartis comme suit: 31 à Grand Yoff, 46 aux Parcelles Assainies, 14 aux HLM Grand Yoff.

Pour le maillon transformateur on a pu rencontrer qu'une seule transformatrice officielle.

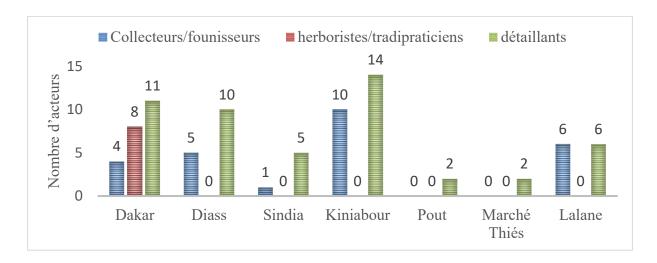


Figure 41: Répartition spatiale des enquêtés s'activant dans la commercialisation du kinkéliba dans les régions enquêtés

Ces acteurs de la filière kinkéliba peuvent être répartis suivant leurs âges (figure 42), leurs sexes (figure 43) et leurs modes d'approvisionnement (figure 44).

Les moins de 50 ans sont rencontrés chez les herboristes/tradipraticiens et chez les commerçants détaillants. Les collecteurs/fournisseurs occupent la tranche d'âge la plus élevée. Les acteurs de sexe masculin se trouvent chez les herboristes et ceux de sexe féminin assurent la collecte, la fourniture et la vente en détail. Les tableaux 4 et 5 (Annexe 3) représentent respectivement la répartition des acteurs de la filière suivant leurs âges, leurs sexes.

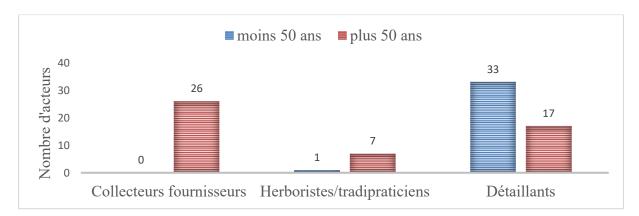


Figure 42: Répartition des acteurs de la filière kinkéliba suivant leur âge

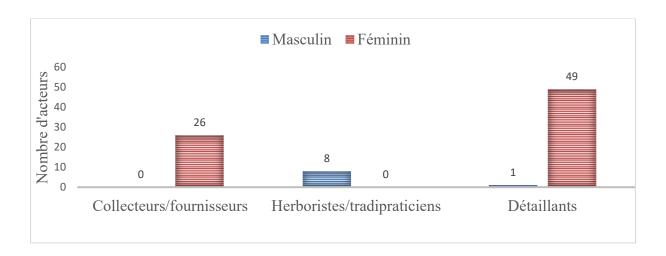


Figure 43: Répartition des acteurs de la filière kinkéliba suivant le sexe

Tous les collecteurs/fournisseurs s'approvisionnent du produit d'eux-mêmes contrairement aux herboristes qui achètent à chaque fois; tandis que les détaillants et les consommateurs peuvent s'approvisionner d'eux même ou s'approvisionner par achat. Le tableau 6 (Annexe 3) représente la répartition des acteurs de la filière suivant leurs modes d'approvisionnement.

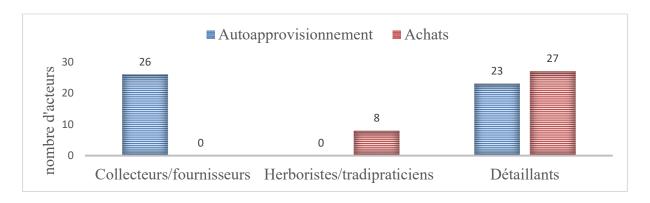


Figure 44: Répartition des acteurs de la filière kinkéliba suivant le mode d'approvisionnement

II.1.1 Les collecteurs et ou fournisseurs

Leur rôle dans le marché du kinkéliba consiste soit de se déplacer des zones de production aux zones de commercialisation pour approvisionner les herboristes/ tradipraticiens et les détaillants, soit de rester dans la zone de production et assurer l'approvisionnement de certains détaillants sur place.

Les techniques de récolte utilisées sont: l'usage d'une machette pour couper les rameaux, méthode non recommandé car pouvant freiner ou ralentir la régénérescence des feuilles. Ils peuvent utiliser également le couteau ou la main pour couper seulement les feuilles. Le choix des feuilles est basé sur certains critères que sont la taille, l'odeur qu'elles dégagent oubien la maturité des feuilles qu'ils lient à la floraison ou non de la plante.

Ce sont ces collecteurs et ou fournisseurs qui se chargent aussi du séchage, les feuilles fraichement récoltées peuvent être étalées sur une natte ou bien sur un moustiquaire de sorte que l'air puisse circuler entre les feuilles et que les rayons de soleil puissent atteindre presque toutes les feuilles; cette dernière méthode est utilisée pour empêcher que les feuilles ne soient salies par la poussière ou pour éviter que les animaux domestiques tels que les volailles et les ruminants ne dispersent ou ne mangent les feuilles. Les techniques de séchage sont représentées par la figure 45.





Figure 45: Techniques de séchages de feuilles de kinkéliba utilisées par les collecteuses et fournisseuses à Diass (Tine, 2018)

Apres séchage c'est eux également qui se chargent du triage en enlevant les feuilles qui ont changé de couleur c'est à dire celles qui sont devenues rougeâtres ou jaunâtres, elles enlèvent également les petits rameaux qui sont collectés avec

les feuilles. Après ce travail elles passent à l'emballage par sachets pour la vente en détail ou l'entassement dans des sacs pour la vente en gros (figure 48). La préparation de l'emballage et leurs techniques de triage sont représentées respectivement par les figures 46 et 47.



Figure 46: Préparation des emballages pour la vente en détail à Diass (Tine, 2018)



Figure 47: Séance de triage et d'emballage des feuilles de Kinkéliba à Lalane (Tine, 2018)

On a rencontré trois catégories de collecteurs/fournisseurs suivant les lieux:

➤ Ceux des zones de production telle que Diass, Sindia, kiniabour, Lalane et environs: ils ne travaillent que sur le kinkéliba spécialisés dans la cueillette et la vente en gros comme fournisseurs. On ne les trouve pas dans le marché mais dans les maisons où ils aménagent un local pour stocker les feuilles déjà séchées et triées. La figure 48 montre une méthode de conditionnement des feuilles de kinkéliba



Figure 48: Feuilles de kinkéliba entassées dans de grands sacs en plastique destinées au stockage à Diass (Tine, 2018)

Les deux autres catégories de collecteurs/fournisseurs se trouvent dans

les zones de commercialisation. Dans le cadre de nos études, les uns sont rencontrés au marché de Grand Yoff en collaboration avec les herboristes. Ces fournisseurs sont bien déterminés et sous l'appui d'ENDA SANTE, ils auraient reçu une formation sur la manière de cueillir et de sécher les feuilles ou les autres organes des plantes médicinales (exemple cueillir les feuilles matures seules et sécher à l'ombre). Les autres, se trouvent au marché de Thiaroye, ils viennent de zones de production non ciblées dans nos études. On les trouve dans des endroits bien déterminés dans ce marché où ils s'installent en groupes, ils ne vendent pas seulement du kinkéliba, ils viennent avec des produits divers tels que du mil, oseille, niébé, pain de singe, cure dent mais également des organes d'autres plantes médicinales telle que *Gueira senegalensis*, *Balanites aegyptiaca*; ils restent sur place le temps d'écouler leurs produits en gros.

On peut trouver également les produits en vente dans les quartiers mais dans ce dernier lieu de vente nos études ont révélé que ces femmes optent pour la vente en gros en sachets.

II.1.2 Les herboristes et ou tradipraticiens

Ceux enquêtés sont concentrés dans les villes et particulièrement à Dakar répartis entre le marché de Thiaroye et celui de Grand Yoff. Ceux de ce dernier marché forment la catégorie la plus structurée, regroupée sous forme de petit réseau financé par pharmacie sans frontière ayant également à travailler avec ENDA SANTE qui leur a côtoyé des cantines. A part le kinkéliba ils vendent des organes d'autres plantes médicinales et assure la vente en détail.

II.1.3 Les détaillants

C'est le maillon le plus dynamique du marché kinkéliba, car il est pratiqué par tous les autres acteurs de la filière y compris occasionnellement les collecteurs et ou fournisseurs. On les trouve aussi bien dans les zones de production qu'au niveau des marchés.

Ceux des zones de production peuvent être les fournisseurs eux-mêmes ou d'autres vendeuses spécialisées dans la vente en détail. Ce qui fait que statiquement le nombre de ces fournisseurs chevauche avec ceux des détaillants proprement dit. Ces derniers se retrouvent souvent sur les axes routiers Diass, Sindia, kiniabour, Lalane, Pout, on les voit vendre en détail des bottes et des sachets de kinkéliba (figure 50). Ils vendent le kinkéliba avec d'autres produits comme les fruits, légume (tomates, haricots verts), de l'eau fraiche, des agrumes et même des bancs et des tabourets au niveau de Lalane. A Dakar on les retrouve au niveau du marché Thiaroye, ils peuvent être des hommes ou des femmes vendeuses en plus du kinkéliba d'autres produits tels que du « lalo », oseilles, pain de singe etc (figure 49). Au marché de Grand Yoff ce sont surtout des herboristes/tradipraticiens cités plutôt qui vendent en détail avec une clientèle

particulière. La dernière catégorie de détaillants est représentée par les boutiquiers qui résident dans les quartiers qui sont plus proches des consommateurs.

Les figures 49 et 50 représentent respectivement des étals de détaillants au marché de Thiaroye et à Lalane.



Figure 49: Vente de sachets de kinkéliba au marché de Thiaroye (Tine, 2018)



Figure 50: Vente de sachets et de bottes de feuilles de kinkéliba au bord de la route à Lalane (Tine, 2018)

II.1.4 Les consommateurs

L'étude de ce maillon de la filière nous permettra de comprendre le circuit du kinkéliba dans les zones de forte consommation. Ils représentent le maillon le plus vaste de la filière kinkéliba car étant très prisé dans la société Sénégalaise et au niveau de toutes les couches sociales. Nous avons choisi des zones d'études reconnues par la densité et la diversité de la population qui sont: Grand Yoff, HLM Grand Yoff, Parcelles Assainies.

II.1.5 Les transformateurs

Le kinkéliba bien que très consommé au Sénégal, ne fait pas l'objet de grande transformation il n'est consommé que comme tisane suite à une décoction ou une infusion des feuilles. Cependant, à la recherche des différents maillons que

constitue la filière kinkéliba on est tombé par hasard sur une transformatrice des feuilles kinkéliba en infusette, en sirop et en jus. Ce dernier nous confirme avec facture à l'appui la transformation et l'exportation du kinkéliba parmi divers produit vers les Etats Unis d'Amérique (USA).

II.2 Environnement institutionnel

II.2.1 Enda – santé

L'ONG Enda Tiers Monde à travers la filière Enda Santé Plantes Médicinales (ESPM), créée en 1987, s'est longtemps investie dans l'accompagnement des populations. ESPM a développé dès 2002 un réseau d'herboristeries afin d'optimiser la commercialisation des plantes médicinales. Dans ce cadre, 10 herboristeries ont été équipés de cantines et de matériels de balayage et de nettoyage. A la fin de l'année 2004, 50 autres cantines ont été fournies, ce qui fait un total de 60 pour la seule région de Dakar. La mise en place de cet équipement s'est accompagnée d'une série de formations visant à renforcer la capacité des herboristes en matière d'hygiène et de salubrité mais aussi au niveau des techniques de conservation, de transformation, de conditionnement et de commercialisation.

Partenaires de ESPM, ces herboristes sont regroupés aujourd'hui au sein d'une association baptisée « Réseau Vendre Autrement » qui compte 80 membres à Dakar et 100 à Touba, et dont le but est de promouvoir la vente des plantes médicinales en mettant l'accent sur la sécurité et la santé des populations.

Afin de donner davantage d'autonomie à ces herboristes, ESPM a mis en place une ligne de crédit spécifique qui leur permet d'acheter les équipements nécessaires.

II.2.2 Les eaux et forêts

Les services des eaux et forêts ont en charge la gestion des ressources forestières ainsi que la protection des espéces. Mais le kinkéliba considéré comme une espece banale ne bénéficie pas d'une politique particulière comme le guiera (*Guiera*

senegalensis) ou le bissap (*Hibiscus sabdariffa*) qui sont également des espéces banales. Mais néanmoins il faut noter que toute espèce végétale bénéficie d'une protection.

II.2.3 Collectivités locales

La mairie est une collectivité territoriale qui a pour principale mission de satisfaire les besoins quotidiens de la population. Parmi ces attributions on a l'aménagement et l'entretien des marchés entre autres l'éclairage, la sécurité, l'assainissement. Les fonds de gestion des marchés proviennent surtout d'une part de l'argent de location des kiosques construites par la mairie ou/et des taxes payés par les vendeurs ayant un étal dans le marché.

II.3 Les structures financières

La structure financière qui existe consiste en un système de tontines où les opérateurs versent, suivant un temps prédéfini, une somme d'argent. A termes chacun reçoit l'ensemble des avoirs qu'il aura versé par tranches. Dans ce système aussi, les membres peuvent bénéficier de prêts ponctuels.

CHAPITRE X: DISCUSSION

I. ANALYSE FONCTIONNELLE DE LA FILIERE

Selon Terpend (1997), l'analyse fonctionnelle doit partir de la manière dont l'acteur décrit son rôle et son action dans la filière et l'appréciation qu'il a de sa situation au sein de celle-ci. Il est parfois important de savoir comment l'acteur visualise la filière, et sa position et son importance dans la filière; la manière dont les autres acteurs perçoivent cet acteur-là dans le cadre de leurs activités: il faut alors analyser les relations et les échanges.

Ainsi le kinkéliba étant une plante qui pousse à l'état sauvage, ils n'y a pas de producteurs au sens propre. Pour s'en procurer il suffit de sillonner les zones propices pour son développement qui sont d'habitude les rebords de carapaces ferrugineux, les ravins, les galeries soudaniennes. La période de forte production va du mois de juin au mois de janvier. En dehors de cette période on ne peut l'avoir que chez les fournisseurs qui en stockent lors des périodes à forte production. Cependant, la vente se fait durant toute l'année. On note des périodes d'intense commercialisation et des périodes de raréfaction.

Durant la première période dans les zones de production, l'activité de collecte est très intense; il y a assez de kinkéliba dans la brousse; les vendeurs s'approvisionnent d'eux mêmes, ce qui fait qu'une autre catégorie de collecteurs et ou fournisseurs vient s'ajouter à ceux qui s'activent fidèlement à ce travail. Ainsi la vente se fera à des poids assez conséquents mais à prix fixe. Les collecteurs et fournisseurs profitent également de cette période pour stocker le maximum possible de produits déjà séchés et triés.

En cas de rareté l'activité de la collecte est laissée aux vieilles femmes récolteuses / fournisseuses citées plus tôt; il faut préciser également qu'à cette période ces collecteuses s'intéressent plus à la vente en détail car jugée plus bénéfique. Ainsi, les plus habiles peuvent aller vendre eux-mêmes le kinkéliba au marché et les plus âgées peuvent confier leurs marchandises à des commerçants qui sont en permanence au marché.

On peut noter aussi que durant cette période de déficit, ces zones de production deviennent plus éloignées et plus inaccessibles, ainsi ces vieilles femmes collecteuses peuvent se rabattre sur les hommes qui collectent par charrette qu'ils vendent à un prix qui peut atteindre 6000 F la charrette, qui après séchage peut donner l'équivalent 10 sacs 5 kg. A cette période les prix par sac dans ces zone de production peut allez jusqu'à 1500 F contre 600 F à 1000 F pendant la forte production par sac de 5 kg, alors que les sacs de poids moyen 9,75 kg sont vendus à 2000F.

A ce niveau la vente en détail se fait par bottes de 100 F à 200 F suivant la taille ou par sachets dont le prix est de 100 F de poids variant de 250 g à 300 g et 200 F pour des sachets de 400 g à 475 g (tableau XXI).

Dans les zones de commercialisation comme Dakar, l'approvisionnement varie suivant les lieux de vente.

Au marché de Grand Yoff les fournisseurs sont des hommes spécialisés dans la collecte d'organes de plantes médicinales (racines, feuilles, écorces) ayant une clientèle bien ciblée qui sont les herboristes / tradipraticiens. Ils vendent par sac 5 kg entre 1750 F et 2000 F et des sacs de 9,5-10 kg entre 5000 F et 5500 F. Au niveau du marché de Thiaroye les fournisseurs sont des femmes venant des zones de production qui vendent par sac de 5 kg de moyenne à 1500 F ou des sacs de 9,5 à 10 kg vendu à 3750F. Et enfin au niveau des boutiques des quartiers, les fournisseurs sont des commerçantes itinérantes qui sont d'habitude des collecteuses et ou fournisseuses venant des zones de production qui les approvisionnent non pas en sacs mais par sachets de poids variant entre 150-175 g qu'ils livrent en quantité à 75 F l'unité.

A Dakar le poids et le prix de la vente en détail dépendent également des localités. Au marché de Grand Yoff le prix est à 200 F pour des sachets de poids moyen 200 g et à Thiaroye c'est à 100F pour des sachets de poids moyen de 162,5g. En cas de raréfaction du produit les prix restent les mêmes mais le poids des sachets diminue.

Les consommateurs quant à eux, peuvent s'approvisionner à divers niveau soit au marché, soit dans les boutiques des quartiers. Certains d'entre eux se procurent du kinkéliba auprès de leurs parents ou de leurs proches qui se trouvent dans les zones de production. Les enquêtes ont révélé qu'effectivement certains de ces derniers s'approvisionnent au niveau des zones de production ciblées dans le cadre de cette étude. Les autres s'approvisionnent ailleurs dans le territoire national et même hors du pays.

Le tableau XV récapitule les prix de vente par sac et par sachet suivant les lieux d'étude.

Tableau XV: Récapitulation des prix de vente par sac et par sachet suivant les lieux d'étude

Poids/Prix				Prix de
		Prix de vente	Poids	vente par
Lieux	Poids sac en kg	par sac en F	sachets en g	sachet en
				FCFA
Zone de production	5 kg	600 F – 1000 F	400 à 475 g	200 F
	9,5 à 10kg	2000 F	/	/
	7,5 a 10kg	2000 1	250 à 300 g	100F
Marché Thiaroye	5 kg	1500 F		
	9,5 à10 kg	3750 F	150 à 175 g	100 F
	7,0 0.0 0.0			
Marché Grand Yoff	5 kg	1750 à 2000 F		
	9,5 à 10 kg	5000 à 5500 F	200 g	200 F
	7,5 a 10 kg	3000 a 3300 F		
Boutique	-	-	150 à 175 g	100 F

II. COUTS SUPPORTES PAR LES ACTEURS ET VALEUR AJOUTEE DE LA FILIERE KINKELIBA

Les coûts supportés dépendent des acteurs et des lieux de vente. Les collecteurs/fournisseurs les coûts supportés sont rarement constatés et quand ils sont là ils viennent de l'acquisition du produit ou du transport. En effet ces acteurs pour la plus part s'approvisionnent du produit d'eux mêmes et non loin des zones habitations, ce qui fait que pour la plus part, ils n'ont pas à supporter les coûts d'achat du produit ou du transport. C'est seulement en cas de rareté que certains se rabattent sur des collecteurs oubien ils payent le transport pour se rendre eux mêmes au niveau des zones de production devenues plus éloignées.

Les coûts supportés par les commerçants (détaillants) dans les zones de commercialisation sont l'achat du produit ainsi que les frais d'emballages. Les commerçants (herboristes) ayant des fournisseurs non situés dans le marché; les frais de transport sont partagés avec leurs fournisseurs après livraison.

Il s'y ajoute dans les deux cas les frais de taxes municipaux; on peut noter également les frais de main d'œuvre qui regroupe les frais de repas, de gardiennage et de transport du commerçants (Dieng, 2017).

Le tableau XVI donne la répartition des coûts supportés par les commerçants dans diverses zones de commercialisation ainsi que la valeur ajoutée et le bénéfice pour un sac de poids moyen de 9,75 kg.

Tableau XVI: Répartition des coûts supportés par les commerçants (détaillants) dans diverses zones de commercialisation ainsi que la valeur ajoutée et bénéfice pour un sac de poids moyen de 9.75 kg

			Zone de com	mercialisation
		Zone de production	Marché	Marché
			Thiaroye	Grand Yoff
Prix de vente mo	yen par sac			
de poids moyo	-	3545 F	6000 F	9750 F
(PVMs	sc)			
Prix d'achat mo	yen par sac			
de poids moye	de poids moyen 9,75 kg		3750 F	5250 F
(PAMsc)				
Frais	Sachets			
intermédiaire	plastiques	500 F	500 F	500 F
	Main	-	300 F	300 F
Dépenses	d'œuvre			
personne +	Frais de			
taxe (DPT)	taxe	100	150 F	150 F
	« diouty »			
	Transport	-	-	1000
Dépense totale (DT)		2600 F	4700 F	7200 F
Bénéfice (B)		945 F	1300 F	2550 F
Valeur ajou	tée (VA)	1045 F	1750 F	4000 F

$$PVMsc = (Psc/Pst) PVMst$$

PVMsc: Prix de vente moyen par sac; Psc: poids moyenne par sac; Pst: Poids moyen par sachet; PVMst: Prix de vente moyen par sachet

Bénéfice
$$(B) = MPVsc-DT$$

PVMsc: Prix de vente moyen par sac; DT: Dépense totale

Valeur ajouté
$$(VA) = B + DPT$$

B: Bénéfice; DPT: Dépense personne + taxe; PAMsc: Prix d'achat moyen par sac.

Ainsi on remarque que le bénéfice et la valeur ajoutée sont positifs et évoluent de manière croissante des zones de productions aux zones de commercialisation. Les herboristes détaillants enregistrent plus 50 % de la valeur ajoutée; des valeurs proches de celle du fruit de ditax (*Detarium senegalense*) dont la commercialisation en détail génère 51 % de la valeur ajoutée, tandis que la cueillette des fruits représente 11 % (Dieng, 2017).

III. CONTRAINTES ET ATOUTS DE LA FILIERE

On sait que le kinkéliba pousse à l'état sauvage sur presque l'ensemble du territoire national. Mais vue l'expansion des villes ou des villages surtout au niveau de nos zones d'étude, la plupart de nos interlocuteurs nous ont soulignés comme contraintes majeures la raréfaction de la plante. Maintenant leurs sites d'approvisionnement ont carrément changé, surtout dans la zone de Diass. Autrefois la collecte se faisait aux environs des maisons, mais maintenant avec l'expansion des lieux d'habitations et la construction des nouvelles infrastructures (aéroport de Diass, autoroute à péage); ils peuvent parcourir des kilomètres pour s'approvisionner du côté de Kiréne, Campement, Diobass, Soum, Soudiamolle et du côté de Thiès Diassap et environs; cela pousse même certains à abandonner la collecte du kinkéliba.

Mise à part cette raréfaction, on peut noter le problème de l'emballage. Auparavant les vendeurs utilisaient des écorces ou des feuilles de rônier pour confectionner des bottes de kinkéliba, mais maintenant l'utilisation de sachets est plus prisée. Certains utilisent les sachets de 10 F alors que d'autres utilisent des rouleaux de sachets plastiques qui sont très sollicités dans les zones de production par les détaillants. Le prix du rouleau est de 5000 avec 40 à 50 sachets par rouleaux.

Les atouts de la filière sont liés à sa forte demande. Les vertus thérapeutiques les plus connues par la population sont son action hypotensive, amaigrissante et rarement hypoglycémiante. Ce qui fait que le kinkéliba est très consommé. A cela s'ajoute sa forte consommation dans le domaine alimentaire comme tisane pour le petit déjeuner surtout pour ceux qui ne supportent pas le café mais aussi chez les enfants ou bien chez les personnes à faible revenu. Cette forte consommation fera que la filière sera toujours présente, mais qui nécessite plus d'intérêts du côté institutionnel pour être formalisée et plus structurée.

CONCLUSION GENERALE

Le kinkéliba est utilisé depuis longtemps en médecine traditionnelle dans toute l'Afrique de l'Ouest pour ses propriétés cholagogues et diurétiques.

Au Sénégal dans la croyance populaire, le Kinkéliba récolté au Nord et celui de la Casamance au Sud n'ont pas le même goût. Ce dernier est généralement plus amer. De même, dans le village de Sandiara et au niveau du plateau de Thiès, la tendance est de croire qu'il y a plusieurs variétés de Kinkéliba avec des caractères distincts. Ainsi nous nous sommes proposés de caractériser les échantillons de kinkéliba récoltés dans différents endroits du Sénégal, à savoir Diass, Sandiara et Essyl.

L'objectif global visé est de vérifier à travers des caractérisations chimiques et pharmacologiques s'il existe des variations du kinkéliba selon les zones de récolte, ensuite d'étudier le marché national. Des séries de récoltes ont été effectuées en période de saison des pluies et en période de post saison des pluies dans les différents sites.

Une étude qualitative et quantitative a concerné les teneurs en eau, cendres, sels minéraux, extractibles à l'eau, saponosides, tanins, flavonoïdes, polyphénols totaux. L'activité antioxydante des extraits de feuilles a été également évaluée pour les échantillons récoltés dans les différents sites.

Ainsi on retient que la quantité d'extractible est plus importante dans les zones moins humides comme Diass et Sandiara, alors qu'elle est moins importante à Essyl zone plus pluvieuse. On obtient l'inverse pour la teneur en cendres et en fer qui sont plus importantes à Essyl qu'à Diass et Sandiara.

Les feuilles récoltées à Sandiara et Diass sont plus riches en flavonoïdes que celles récoltées à Essyl; cependant c'est dans les feuilles récoltées de ce dernier site que l'on enregistre les teneurs en polyphénols totaux et en tanins les plus importantes.

Cette variation de la teneur en composés phénoliques pourrait être due à la fois au stress hydrique et à la nature du sol des sites de récoltes. Les feuilles récoltées sur des sites moins pluvieux, avec des sols ferrugineux tropicaux non ou peu lessivés sur colline à Diass et des sols ferrugineux tropicaux non ou peu lessivés plus ou moins bien drainés à Sandiara sont plus riches en flavonoïdes; alors que celles récoltées à Essyl enregistrant la pluviométrie la plus importante et des sols faiblement ferralitiques, sol ferrugineux tropicaux, sols peu évolués sont plus riches en polyphénols totaux.

Pour l'activité antioxydante, on a noté que sur les trois sites de récoltes l'activité des feuilles de *Combretum micranthum* est plus importante en période post saison des pluies. Les feuilles récoltées à Diass présentent l'activité antioxydante la plus importante suivie de celles récoltées à Sandiara, alors que celles récoltées à Essyl présentent l'activité la plus faible.

La vitexine que nous avons isolé et purifiée à partir des feuilles, sera dosée ultérieurement dans les feuilles provenant de ces sites.

Il serait intéressant d'élargir cette étude comparative de cette espèce vers d'autres zones de production tel que le Ferlo ou le Sénégal oriental voir même dans d'autres zones situées hors du territoire national afin de promouvoir le kinkéliba et de le démarquer des autres plantes médicinales.

Pour avoir des éléments de la filière kinkéliba, une enquête a été menée auprès de différentes catégories d'acteurs : collecteurs, fournisseurs, détaillants, herboristes, tradipraticiens, consommateurs. Chacune de ces catégories a été définie.

La période de forte production va du mois de juin au mois de janvier. En dehors de cette période on ne peut l'avoir que chez les fournisseurs qui en stockent lors des périodes de forte production. Cependant, la vente se fait durant toute l'année. On note des périodes d'intense commercialisation et des périodes de raréfaction.

Les sites de production et de collecte sont : Diass, Sindia, Kiniabour, Pout, Thies et Lalane. Les lieux de vente sont les marchés de Thiaroye, Grand Yoff. Les lieux de consommation ciblés sont : HLM Grand Yoff, Parcelles Assainies et HLM Grand-Yoff.

Les feuilles de kinkéliba sont récoltées et séchées sur place dans les zones de production. Pour le commerce de gros, le conditionnement se fait dans des sacs en plastique de contenance moyenne 9,75 Kg. Pour la vente au détail, des sachets de 150-175 g à 100 F à Thiaroye, 200 g à 200 F à Grand-Yoff, 275 g à 100 F dans les zones de production.

Les collecteurs dans les zones de production sont essentiellement des femmes de plus de 50 ans d'âge. Les acteurs de sexe masculin se trouvent essentiellement chez les herboristes et les tradipraticiens.

Le kinkéliba bien que très consommé au Sénégal, ne fait pas l'objet de grande transformation il n'est consommé que comme tisane suite à une décoction ou une infusion des feuilles.

Dans la filière Kinkéliba ont peut relever un certain nombre de contraintes. En effet, à cause de l'expansion des villes ou des villages, les infrastructures (l'autoroute à péage, l'aéroport de Diass) surtout au niveau de nos zones d'étude, la plupart de nos interlocuteurs nous ont soulignés comme contraintes majeures la raréfaction de la plante.

La filière présente néanmoins des atouts : la forte demande et les applications médicinales actuelles et potentielles. Il y a une nécessité de mieux structurer la filière afin de la booster et de protéger l'espèce.

REFRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1. **Ajibesin K., Ekpo B.A. 2002:** Comparative antimicrobial activities of the leaves of *Combretum micranthum* and *C. racemosu*,. s.l.: Global journal of Medical sciences, 1(1): 13-17.
- **2. Albarello L. 2003:** Devenir praticien chercheur: comment concilier la recherche et la pratique sociale. De Boeck Supérieur, Bruxelles, 136 p.
- 3. Algeciras-Schimnich A., Cook W. J., Milz T. C., Saenger A. K., Karon B. S. 2007: Evaluation of hemaglobin interference in capillary heel-stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. Clinical Biochemistry, 40, 1311-1316.
- **4.** Anderson O. M., Markham, K. R. éds. 2006: Flavanoids: chemistry, biochemistry and applications, CRC Press, Boca Raton.
- **5. Aron P. M., Kennedy J. A. 2008:** Flavan-3-ols nature, ocurrence and biological activity, Mols. Nutr. food Res., 52, 79 104.
- 6. Aubreville. 1950: Clé de détermination.
- 7. Ayoola G. A. I., Ipav S. S., Solidiya M. O., Adepoju Bello A. A., Coker H. A. B. et Odugbemi T. O. 2008: Phytochemical sceening and free radical scavenging activities of the fruits and leaves of *allanblackia floribunda* (Guttiferae); s.l.: International journal of health research; 1(2): 81 93.
- **8.** Balansard J., Arnoux M. 1952: Diurése et kinkéliba: les facteurs responsables de l'action diurétique. Marseille, 29 : Bull. Soc. Pharm.
- 9. Banfi S., Caruso E., Orlandi V., Barbieri P., Cavallari S., Vigano P., Clerici P. et Chiodarod L. 2014: Activité antibactérienne des extraits de feuilles de *Combretum micranthum* et de *Guiera senegalensis* (*Combetaceae*) university of Insubria, Varese, Italy. Research Journal of Microbiology.

- **10. Basséne E. 1986 (a):** Acide gras des feuilles de *Combretum micranthum* G. DON (Kinkéliba). s.l.: Herba Hungarica, 25(2): 7-14.
- 11. Basséne E. 1985: Etude de la composition chimique du *Combretum micranthum* G. Don (kinkéliba) *Combretaceae*; thése doctorat science: Pharmacie. Dakar.
- 12. Bassène E., Laurance A., Olschwang D., Pousset J.L. 1985: Dosage de la vitexine par chromatographie liquide haute performance dans un extrait brut de *Combretum micranthum* G. DON. Journal of Chromatography
- **13.** Basséne E. 1987: Flavonoides du *Combretum micranthum* G. DON (Kinkéliba): Plantes médicinales et phytothérapie.
- **14. Basséne E. 2012:** Initiation a la recherche sur les subtances naturelles: Presse universitaire Dakar.
- **15. Basséne E. 1986 (b):** Les alcoloides du *Combretum micrathum* G.DON (kinkéliba): Annales Pharmaceutiques Française.
- **16. Basséne E. 1987:** Plantes médicinales africaines, études des sucres réduits dans les feuilles de *Combretum micranthum* G. Don (kinkéliba): Journal of African Plants, 6:85 95.
- 17. Basséne E., Olschwang D., Miralles J., Pousset J.L. 1986: Plantes médicinales africaines. Les alcaloides du *Combretum micranthum* G. Don (kinkéliba): Ann. Pharm. Fr., 44, 191 196.
- **18.** Basséne E., olschwang D., Pousset J. L. 1981: Caractérisation de l'inositol et du sorbitol, principes actifs probables du kinkéliba *Combretum micranthum* G. Don: Dakar Médical, 26 (2): 219 225.

- **19. Basséne E., Olschwang D., Pousset J.L. 1987:** Flavanoides du *Combretum micranthum* G. Don (kinkéliba): Plantes Médicinales et Phytothérapie, XXI, n⁰ 173 176.
- **20.** Basséne E., Olschwang D., Pousset J. L., 1989: Etude de l'insaponifiable de l'extrait de lipide des feuilles de *Comnretum micranthum* G. Don (kinkéliba): Herba Hungarica, 28(1-2):75 78.
- **21. Bensakharia A. 2018:** Toxicologie générale; chapitre IX: Stress oxydatif n⁰ 1-17.Université Alger.
- **22. Berhaut J. 1997:** Flore illustrée du Sénégal, Tome 2.
- Bidie A. P., N'Guessan B. B., Yapo A. F., N'Guessan J. D., Djaman A. J. 2011: Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. Sciences et Nature 8 (1): 1–11.
- **23. Bourgand F., Hehn A. Larbat R. et al. 2006:** Biosynthesis of coumarin in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome p 450 enzyme: Phytochem. Rev., 5, 293-308.
- **24. Brand-williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995:** Use of a free radical mathod to evaluate antioxydant activity. Lebensmitel Wissenschauft and technologie, 28: 25-30.
- **25. Brechon P. 2012:** Enquétes qualitatives, enquétes quantitatives: Presse universitaire de Grenoble, p. 8 et 10.
- **26. Bruneton J. 2009:** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales: Ed. 4, p. 272 541.
- 27. Burkill H. M. 1995: The useful plants of west tropical africa. Vol. 3, Royal botanic gardens kew; 2ed. P. 50 483. In Sangaré O. 2005: Evaluation de

- Cochlospermum tinctorium, Entada africana et Combretum micranthum dans le traitement des hépatites A à Bamako, Thése de pharmacie.
- **28.** Candeias P., Wardman P., Luis P. 1996: Fenton Chemistry: An Introduction. Radiation Research Vol. 145, n⁰ 5, p. 523-531.
- **29. Chen C. W., Ho C. T. 1995:** Antioxidant properties of polyphenols extracted from green tea and black tea. J Lipids, 2: 35-46.
- **30.** Chika A., Bello S. O., **2010:** Antihyperglycaemic activity of aqueous leaf extract of *Combretum micranthum (Combretaceae)* in normal and alloxaninduced dia- betic rats. J Ethnopharmacol;129:34e7.
- **31.** Clayden J., Greeves N., Warren S., Wothers P. 2003: Chimie organique. Edition De Boeck Université, Bruxelle, Belgique, 1508 p
- **32.** Cos P., De Bruyne T., Hermans N. et al. 2004: Proanthocyanidins in health care: current and new trends. Curr. Med. Chem., 11, 1345 1359.
- **33.** Crété P. 1965: Précis de botanique systématique des angiospermes Tome II . Paris Masson, p. 429.
- **34. Daffé B. M. 1973:** Recherche sur la flore médicinale médicinale du Sénégal: Antiaris africana (Engels), *Combretum micranthum* G. Don, *Combretum glutinosum* (Perr), Thése de Doctorat Sciences Pharmaceutiques.
- **35. Delattre J., Beaudeux J. L., Bonnefont-Rousselot D. 2007:** Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques (broché): Lavoisier. ISBN 978-2-7430-1955-6.
- **36. Dieng S. D. 2017:** Identification et évaluation des services écosystémiques fournis par *Cordyla pinnata* (Lepr. Ex A. Rich. Milne Redh), *Detarium microcarpum* (Guill. et Perr.) et *Detarium senegalense* (J. F. Gmel.): cas de la Forét Classée de Patako et de ses environs. Thése doctorat environnement.

- **37. Duteurtre G. 2000:** Méthode d'analyse des filiéres. Synthése de l'atélier du 10 14 avril 2000 LRVZ, N'djaména.
- **38.** Eklu-Natey R. D., Balet A: Pharmacopée africaine : Dictionnaire et monographies multilingues du potentiel médicinal des plantes africaines : Afrique de l'Ouest Edition: Traditions et médecine : Éditions d'en bas, p.V.
- **39. Fall A. D. 2013:** Etude phytochimique et recherche de l'activité antiradicalaire des feuilles de *Aphania senegalensis*. Mémoire de master taxonomie, biodiversité et ethnobotanique, Faculté des Sciences et Techniques Université Cheick Anta Diop.
- **40. Favier A. 2003:** Mécanisme biochimique: Le stress oxydatif: Intérét conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique p. 108 115.
- 41. Ferrea F., Canessa A., Sampietro F., Cruciani M., Romussi G., Heckel E. 1991: De l'emploie des feuilles de *Combretum micranthum raimboutii* contre la fiévre bilieuse hématurique des pays chauds; répertoire de pharmacie. In Sangaré O., 2005, Evaluation de *Cochlospermum tinctorium*, *Entada africana* et *Combretum micranthum* dans le traitement des hépathite A à Bamako. Thése de pharmacie.
- **42.** Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J. P. 2007: Le stress oxydant, Rev. Med. Liége, 62, 628-663.
- **43.** Hatano T., Edamatsu R., Hiramatsu M., Mori A., Fujita Y., Yasuhara T., Yoshida T., Okuda T., 1989: Effects of the Interaction of Tannins with Coexisting Substances. VI. Effects of Tannins and Related Polyphenols on Superoxide Anion Radical, and on 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical, Chem. Pharm. Bull, 37(8): 2016-2021.

- **44. Harborne J. B., Baxter H., éds. 1999:** The handbook of the natural flavonoids, Wiley, Chichester.
- **45. Harborne J. B., Williams C. A. 2000:** Advances in flavonoids research since 1992, phytochemistry. 55. 481 504.
- **46. Heckel E. 1991:** De l'emploi des feuilles de *Combretum micranthum* raimboutii contre la fiévre bilieuse hématurique des pays chauds; répertoire de pharmacie. In Sangaré O., 2005, Evaluation de *Cochlospermum tinctorium*, *Entada africana* et *Combretum micranthum* dans le traitement des hépathite A à Bamako. Thése de pharmacie.
- **47. Jentzsch P., Spiegel K., Fuchs L. 1962:** The constituents of the leaves of *Combretum micranthum*; Planta Médica, 10(1). In Olschwang D., Basséne E., Colonna J.P., Tradition africaine et analyse scientifique l'utilisation du kinkéliba (Combretum micranthum G Don) en Afrique de l'ouest; Epistéme n⁰2.
- **48.** Kane M. O., Diallo A. S., Sarr M., Diéye A. M., Ba A., Samb A., Guéye L. **2005:** Activité cholérétique d'un décocté de *Combretum micranthum* G. Don sur des rats cholestatiques; . s.l. : Médicicine d'Afrique noire; vol. 52, n⁰12, pp 691 694.
- **49. Kerharo J., Adam. 1974:** La pharmacopée Sénégalaise traditionnelle; plantes médicinales et toxiques; Ed. Vigot Frére, Paris, 1011p, pp 343-345.
- **50. Khanbabaee K., Van Ree T. 2001:** Tannins: Classification and définition, Nat. Prod. Rep., 18, 641 649.
- **51. Knaggs A. R., 2003:** The biosynthesis of shikimate metabolites, Nat. Prod. Pep. 20, 119 136.

- **52. Koechlin C. 2006:** Oxygéne, stress oxydant et supplémentations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme 20, 165-177.
- **53.** Lafay S., Gil-Izquierdo, A. 2008: Bioavailability of phénolic acids. s.l.: Phytochem. Rev., 7, 301-311.
- **54.** Lengani A., Lambouado Fulbert Lompo L.F., Guissou I.P., Nikiema J.B., **2010:** Médecine traditionnelle et maladies des reins au Burkina Faso, Néphrologie et Thérapeutique; 35 39.
- 55. Li B. H., Cheng K. W., Wong C. C., Fan K. W., Chen F., Jiang Y. 2007. Evaluation of antioxydant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalggae. Food chemistry, 102: 771-776.
- **56. Malgras D. 1992:** Arbres et arbustes guérisseurs des savanes: Ed. Karthala et ACCT, p 128 129.
- **57. Matés J. M., Perez-Gomez C., Castro N. I. 1999:** Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem, 32, 595-603. 1999.
- **58. Mika K., Minibayeva F., Beckett R., Luthje S. 2004:** Possible functions of Milane H. 2004. La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère péroxydant ou thérapeutiques. Thése de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I. 155p.
- **59. Mole S., Waterman P. G. 1987:** Acritical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies: Oecologia (Berlin) 72: 137.
- **60. Molyneux P. 2003:** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxydant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol., 26 (2): 211 219.
- **61.** Naczk M., Shahibi F. 2004: Extraction and analytis of phenolics in food: J. chromatogr. (A), 1054, 95-111.

- **62. Ogan A. U. 1972:** The alkaloids in the leaves of *Combretum micranthum*: Studies on West African Médecinal plants; Planta médica 21 (2); 210 217.
- **63. Okuda T. 2005:** Systematics and health effects of chemically distinct tannins in médicinal plants, phytochemistry. 66, 2012-2031.
- **64. Okuda T., Yoshida T. Hatano T. 2000:** Correlation of oxidative transformations of hydrolysable tannins and plant evolution, phytochimistry. 55, 513-529.
- **65. Olschwan D., Basséne E., Colonna J. P., 1991:** Tradition africaine et analyse scientifique l'utilisation du kinkéliba (*Combretum micranthum* G Don) en Afrique de l'Ouest. s.l.: Epistémé n⁰ 2.
- **66.** Olumayokun A., Olajide Makin de M. and Divit T. O., 2003: Evaluation of the anti-inammatory property of the extract of *Combretum micranthum* G. Don (Combretaceae); Inflammopharmacology; Vol. 11, n0 3, pp. 293 298.
- 67. Pan J., Yuan, C., Lin C. et al. 2003: Pharmacological activities and méchanism of natural phenyl-propanoid glucosides,. Pharmazie, 58, 767-775
- **68. Paris R. 1942:** An African Combretaceae, "kinkéliba", *Combretum micranthum* G.Don ou *Combretum raimbaulti*; Phytothérapie; n⁰3: p 82 83.
- **69. Paris R., Jacquemin H. 1975:** Sur les feuilles de deux Quinquinas de Madagascar (Cinchona ledgeriana Moens et C. succirubra Pavon). Etude particulière des polyphénols (acides phénols, anthocyanes et flavonoides): Ann. Pharm. Fr.; 33(2): 73-76.
- **70. Paris R, Moyse H. 1956:** Sur une Combretacée africaine, le kinkéliba, Bultin des Sciences Pharmacologiques. In Sangaré O., 2005: Evaluation de *Cochlospermum, tinctorium, Entada africana* et *Combretum micranthum* dans le traitement des hépatites A à Bamako, Thése de pharmacie.

- **71. Perry F., Staub H., Goetz P. 2004:** Kinkéliba, *Combretum micranthum* G. Don (kinkéliba) ou *Combretum raimbaultii*; phytothérapie; p 82 83.
- **72. Pham-huy M., Hébuterne X. 2008:** Free Radicals, Antioxydants in Disease and Health . s.l. : International Journal of Biochemical Science, 4(2): 89-96.
- **73. Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. 2001:** Antioxydants in food, pratical applications, Woolhead Publishing limited. ISBN: 185573 463 X.
- **74. Pousset J., 1989:** Plantes Médicinales Africaine. Utilisation, pratique, ellipse; volume 1; Paris
- **75.** Prabhakar M.C., Hassina B., Kumar I., Shamsi M.A., Khan M.S.Y. 1981: Pharmalogical investigations on vitexin. Planta Medica, 43, n° 4, 396 403.
- **76. Pryor W. A 2012:** Bio-Assays for Oxidative Stress Statuts. Elsevier. pp 97-100. ISBN 978-0-08-092992-7.
- 77. Raiss M., Templier I., Beani J. C. 2004: PUV Athérapie and cancers cutanés: étude rétrospective chez 106 malades ayant recu des doses élevées de PUVA: Ann Dermatol. Venereol., 131, 437-443.
- **78. Robbins R. J. 2003:** Phénolic acids in foods an overview of analytical methodology, J. A. gric.: Food. chem. 51-2866-2887.
- **79. Rouessac F., Rouessec A. 2004:** Analyse chimique: Méthodes et techniques instrumentales modernes. Ed. 6, chap.2, p. 36-42.
- **80.** Sangaré O. 2005: Evaluation de *Cochlospermum tinctorium*, *Entada africana* et *Combretum micranthum* dans le traitement hépatites A à Bamako, Thése de pharmacie.
- 81. Silverstein R. M., Webster F. X., Kiemle D. J. 2007: Identification spectrométrie des composés organiques, deuxiéme édition. Edition de Boeck Univer-

- sité, 501p, Belgique.
- **82. Simon J., Wu Q., Welch C. 2011:** Novel piperidine-flavan alkaloid compounds derived from african herb tea kinkeliba as antidiabetic agents. Patent N°.WO/2011/140066.
- 83. Smith E. C., Swain T. 1962: Biochimie comparative: Presse académique New York.
- **84. Suschetet M. 1997:** Microconstituants végétaux présumés protecteurs in "alimentation et cancer", (Riboli E. Decloitre F. et Collet-Ribbing, C., éds), chap 24, p. 458-506, Tec. 8 Doc.: Lavoisier, Paris.
- **85. Taura D.W. 2009:** Evaluation des activités antimicrobiennes du *Combretum micranthum*: Bayero Journal des Sciences Pures et Appliquées; Volume 2 n⁰1 Bajopas Juin; 2(1): 183 185.
- **86. Terpend N. 1997:** Guide pratique de l'approche filiére: Le cas de l'approvisionnement et de la distrubition des produits alimentaires dans les villes. FAO.
- **87. Touré A., Xueming X., Bangoura M. 2011:** In vitro antioxydant and radical scavenging of Guinean kinkeliba leaf (*Combretum micranthum* G. Don) extrait. Journal Natural Product Research.
- **88.** Valetas J. 1939: Contribution à l'étude du kinkéliba (Combretum micranthum (G. Don); Thése Doct. Pharm. (univ). Toulouse. In Sangaré O., 2005, Evaluation de *Cochlospermum tinctorium, entada africana* et *Combretum micranthum* dans le traitement des hépatites A à Bamako, Thése pharmacie.
- **89. Xie D. Y, Dixon R. A. 2005:** Proanthocyanidin biosynthesis Still more questions than answars? Phytochemistry, 66, 2127 2144.
- 90. Welch C., Zhen J., Bassène E., Raskin I., Simon J. E., Wu Q., 2017: Bioactive polyphenols in kinkéliba tea (Combretum micranthum) and their

glucose-lowering activities. Rutgers University USA. Journal of Food and Drug Analysis.

WEBOGRAPHIE

W1-http://ecologistesud.e-monsite.com/blog/do/tag/combretum-micranthum-kinkeliba (consulté le 15/11/19)

W2-https://uses.plantnet-project.org/fr/Combretum_micranthum_(PROTA) (consulté le 13/09/18)

W3-http://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plantemedicinale/kinke liba.htm (consulté le 02/01/2018)

W4:(http://www.fr.sgs.com/fr/polyphenols_oct_04_y.gervaise.pdf consulté le 01/05/2008

ANNEXES

Tableau 1: Evaluation des pourcentages d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique et les extraits de feuilles de *Combrethum micrantum* par saison et par lieu de récolte

			Pource	entages d'inhibi	ition %		
C (μg/ml)		SP			PSP		
	Diass	Sandiara	Essyl	Diass	Sandiara	Essyl	AS
7,8	$36,82 \pm 0,54$	$10,14 \pm 2,71$	$2,01 \pm 1,31$	$24,13 \pm 0,24$	$10,64 \pm 3,64$	$2,95 \pm 2,01$	$33,47 \pm 2,12$
15,6	$37,48 \pm 0,48$	$13,71 \pm 0,78$	$5,6 \pm 1,98$	$29,64 \pm 0,48$	$13,34 \pm 2,63$	8 ± 1,33	$36,98 \pm 0,38$
31,2	$38,08 \pm 0,14$	$16,09 \pm 1,81$	$13,46 \pm 1,05$	$37,91 \pm 0,65$	$20,\!28 \pm 1,\!97$	$13,29 \pm 2,4$	$47,29 \pm 3,4$
62,5	$42,91 \pm 1,05$	$24,67 \pm 2,25$	$20,12 \pm 4,07$	$47,64 \pm 1,43$	$28,06 \pm 4,66$	$32,27 \pm 1,67$	$72,67 \pm 4,39$
125	$51,03 \pm 1,3$	$42,7 \pm 2,28$	$43,28 \pm 3,87$	$71,78 \pm 0,52$	$48,99 \pm 5,99$	$48,91 \pm 5,96$	$95,11 \pm 0,34$
250	$70,70 \pm 2,2$	$75,86 \pm 3,02$	$76,37 \pm 3,74$	$92,62 \pm 3,28$	$84,23 \pm 2,35$	$83,17 \pm 2,14$	$95,87 \pm 0,4$

SP: période saison des pluies; PSP: période post saison des pluies; AS: acide ascorbique; n=3 pour chaque concentration testée

Tableau 2: Evaluation des CI₅₀ de l'acide et des feuilles de *Combretum micranthum* récoltées à Diass, à Sandiara et en Essyl en période de saison des pluies et post saison des pluies

Saisons et		SP			PSP		AS
lieux de récolte	Diass	Sandiara	Essyl	Diass	Sandiara	Essyl	
CI50 μg/ml	$117,83 \pm 8,93$	155±4,6	150,5±3,36	$59,5 \pm 4,13$	119,9±10,78	136,17±6,54	34,58±4,4

Tableau 3: Répartition spatiale des enquêtés s'activant dans la commercialisation du kinkéliba dans les régions de Dakar et de Thiès

Acteurs	Herboristes/	Collecteurs/	Détaillants
Lieux	Tradipraticiens	Fournisseurs	
Dakar	8	4	11
Diass	0	5	10
Sindia	0	1	5
kiniabour	0	10	14
Pout	0	0	2
Marché Thiès	0	0	2
Lalane	0	6	6
Effectif total	8	26	50

Tableau 4: Répartition des acteurs de la filière kinkéliba suivant leur âge

	Collecteurs/	Herboristes/	Détaillants
	fournisseurs	tradipraticiens	
Moins 50 ans	0	1	33
Plus 50 ans	26	7	17
Effectif total	26	8	50

Tableau 5: Répartition des acteurs de la filière kinkéliba suivant le sexe

	Collecteurs/	Herboristes/	Détaillants
	fournisseurs	tradipraticiens	
Masculin	0	8	1
Féminin	26	0	49
Effectif total	26	8	50

Tableau 6: Répartition des acteurs de la filière kinkéliba suivant le mode d'approvisionnement

	Collecteurs/	Herboristes/	Détaillants
	fournisseurs	tradipraticiens	
Auto-approvisionnement	26	0	23
Achat	0	8	27
Effectif total	26	8	50

COLLECTE D'INFORMATIONS POUR L'ETUDE DE LA FILIERE DU KINKELIBA (Combretum micranthum)

Questionnaire administré aux commerçants

I. Identification	<u>ı</u> :		
1) Sexe :			
○ Homm	e	Femme	
2) Age:			
3) Localité:			
Région :		Localité:	•••••
II. <u>Activité</u>			
4) Quel est votre	rôle dans la filière?		
O Grossiste	⊙ Détaillant	O Autre	
10) Depuis combi	en de temps commerci	ılisez-vous le kinkéli	ba ?
11) Commerçial	isez-vous d'autres proc	uits?	
12)Quelles sont kinkéliba?	les activités d'accomp	gnement de la comm	nercialisation du
o E	mballage	séchage	
13) Quelle autre	activité menez-vous ?		
III. Approvisionne	ment :		
	tre fournisseur ou v		
15) Quel est la pr	rovenance du produit?		
16) Quelle est la	quantité acquis par jou	par semaine ou par	mois ?

17)Quelle est la nature du produi	t acquis?
O Frais	O Séché
18) Quelle sont les contrainte	es d'approvisionnement du kinkéliba?
IV. <u>Organisation du</u>	marché :
19)Quel est l'organisation tempo	raire du marché?
Tous les jours	O Autre
20)Quel est l'organisation spatia	le du marché?
Accessible one	on accessible
21) Quels sont les acteurs de la fi	ilière se trouvant dans le marché?
Grossiste seul Détail	llant seul • Les deux à la fois
22) Comment vous vous êtes org	anisé entant qu'acteur d'une filière occupant
le même marché ?	
23) Par rapport à ce produit mend	é vous des activités particulières ?
24) Si Oui les quelles?	
25) Qui fixe les prix de vente ?	
26) Ils sont fixés en fonction de c	quoi ?
O Quantité O Qualité	
27) Si c'est la qualité quels sont l	les critères ?
• Provenance	o nature des feuilles
28) Si c'est la quantité quelle est	l'unité de mesure ?
29) Quelle est la nature du produ	it vendu?
• Séché 0 frais	
30) Quel est le prix de vente ?	
31) Qui sont vos clients?	

Consommateur	() I ransformateu	ir OAutre	
32) Quelle est la destination	on du produit ?		••••
33)Quels est le rhume d'éc	coulement du produ	uit par jour, par semaine et j	par
mois ?			
V. <u>Cout supporté</u> :			
1	1	ortez dans la réalisation de v	
VI. <u>Rentabilité</u> :			
33) Quels sont les rentabilités	de la vente?		

COLLECTE D'INFORMATIONS POUR L'ETUDE DE LA FILIERE DU KINKELIBA (Combretum micranthum)

Questionnaire administré aux consommateurs

III. <u>Identificati</u>	<u>on :</u>
1) Sexe:	
2) Age:	
3) Localité:	
Région:	
4) Quel est le mode d'ap	provisionnement du produit ?
Acheté auprès des	commerçant • auto approvisionnement
5) Si c'est une auto appre	ovisionnement, quel est le lieu ?
6) Si vous acheté, à quel	prix et où?
7) Quelle est la quantité	schetée ?
8) Quel est le niveau d'a	cessibilité du produit?
• Très accessible	O Peu accessible O Pas accessible
9) Quelle est la nature du	produit acheté ?
• Brute	• Transformé
10) Etes-vous adaptez a	u produit ?
O Qui	ONon

Annexe 6

COLLECTE D'INFORMATIONS POUR L'ETUDE DE LA FILIERE DU KINKELIBA (Combretum micranthum)

Questionnaire administré aux collecteurs

IV. <u>Identific</u>	<u>ation :</u>	
1) Sexe:		
2) Age:		
3) Localité:		
Région: II. <u>Activité</u>	Ville:	
4) Quel est votre rôle	dans la filière?	
5) Quelles sont vos si	tes de récolte ?	
6) Quelles techniques	utilisez-vous?	
7) Quelles instrument	s utilisez-vous ?	
8) Est-ce que c'est vo	us qui se charge du séchage?	
9) Si oui comment séc	chez-vous les feuilles?	
10) Mener vous d'aut	res activités dans la filière?	
III. Commer	cialisation	
11) Vous vous charge	ez de la commercialisation?	
Oui	Non	
12) Si non qui la fait?		

13) Si oui qui sont vos client?
14) Vous vendez à quelle unité?
15) Vous vendez à quel prix?

Annexe 7

COLLECTE D'INFORMATIONS POUR L'ETUDE DE LA FILIERE DU KINKELIBA (Combretum micranthum)

I. Acteur: Transformateur Nom: Prénom: Région :..... Ville :..... 1) Quel est votre fournisseur ou votre mode d'approvisionnement du produit ? Acheté auprès des grossistes • auto approvisionnement 1.1 Si vous acheté, à quel prix et où ?..... 1.2 Si c'est une auto approvisionnement, où et quel est le cout de la main d'œuvre ? 1.3 Quel sont les coûts de transport ? 1.4 Quel est la provenance de l'argent utilisé pour ces dépenses ? O Crédit:.... • Autres:.... 1.5 Quel est la provenance du produit ?..... 1.6 Quelle est la quantité acquis par jour par semaine ou par mois ?........ 1.7 Quelle est la nature du produit acquis ? **O**Frais Séché II. Transformation 2) Quels sont le(s) produit(s) finis?..... 3) Quel est le coût de transformation ?..... 4) Quel est le prix de revient?..... 5) Exportez-vous?..... 6) A quel prix ?..... 7) Quel est la quantité exportée ?..... 8) Quelle est la périodicité d'exportation?.....

9) Quelle est la destination?.....

Table des matières

INDEX DES TABLEAUX	1
INDEX DES FIGURES	3
ABREVIATIONS	6
SOMMAIRE	8
INTRODUCTION	10
PREMIERE PARTIE: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	13
CHAPITRE I: GENERALITES SUR COMBRETUM MICRANTHUM	14
I. HISTORIQUE	14
II. POSITION SYSTEMATIQUE	14
III. SYNONYMES	15
IV. NOMS EN LANGUES LOCALES	15
V. DESCRIPTION BOTANIQUE	17
V.1 PORT DE LA PLANTE	17
V.2 LES FEUILLES	18
V.3 LES INFLORESCENCES	19
VI. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE	20
VII. UTILISATIONS DU COMBRETUM MICRANTHUM	21
VII.1 UTILISATIONS SOCIO-CULTURELLES	21
VII.2 UTILISATIONS EMPIRIQUES MEDICINALES	25
VII.2.1 Précautions d'emplois du Combretum micranthum	25
VII.2.2 Propriétés médicinales et bienfaits du Combretum micranthum	25
VII.2.3 Utilisation en médecine traditionnelle	25
III. COMPOSITION CHIMIQUE	29

VIII.1 La fraction lipidique	29
VIII.2 LES FLAVONOÏDES	29
VIII.3 LES TANINS CATECHIQUES ET CATECHOLS	30
VIII.4 LES PROANTHOCYANIDOLS ET ANTHOCYANIDOLS	30
VIII.5 LES SELS MINERAUX	30
VIII.6 LES ACIDES ORGANIQUES NON PHENOLIQUES	31
VIII.7 LES ACIDES PHENOLIQUES LIBRES ET COMBINEES	31
VIII.8 SUBSTANCES GLUCIDIQUES	31
VIII.9 LES SUBSTANCES ALCALOÏDIQUES	32
VIII.10 LES LIPIDES	33
IX. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES	34
IX.1 ACTION HEPATOBILIAIRE	34
IX.2 ACTION CHOLAGOGUE	34
IX.3 ACTION LIPOTROPE	34
IX.4 ACTION DIURETIQUE	35
IX.5 Effet hypotenseur	35
XI.6 ACTION ANTI-INFLAMMATOIRE	35
XI.7 ACTIVITE ANTIBACTERIENNE	35
XI.8 ACTIVITE ANTIVIRALE ET CONTRE L'HEPATITE	36
XI.9 ACTIVITE ANTIDIABETIQUE	36
CHAPITRE II: GENERALITES SUR LES POLYPHENOLS	38
I. DEFINITION ET ORIGINE BIOSYNTHETIQUE	38
II. CLASSIFICATION	39
II.1 LES ACIDES PHENOLIQUES ET LES COUMARINES	39
II.1.1 Les acides phénoliques	39
II.1.1 Structures	39
II.1.1.2 Propriétés pharmacologiques et emplois des acides p	hénoliaues 41

II.1.2 Les coumarines	42
II.1.2.1 Structures	42
II.1.2.2 Propriétés pharmacologiques et emplois des coumarines	43
II.2 LES FLAVONOÏDES	44
II.2.1 Généralités sur les flavonoïdes	44
II.2.2 Origine biosynthétique des flavonoïdes	45
II.2.3 Distribution et localisation des flavonoïdes	48
II.2.3.1 Distribution	48
II.2.3.2 Localisation	48
II.2.4 Propriétés biologiques	49
II.2.4.1 Flavonoïdes dans la résistances et perméabilité capillaire	49
II.2.4.2 Flavonoïdes et radicaux libres	50
II.2.4.3 Flavonoïdes et inhibiteurs enzymatiques	52
II.2.4.4 Autres propriétés des flavonoïdes	53
II.3 LES TANINS	54
II.3.1 Généralités sur les tanins	54
II.3.2 Classification des tanins	55
II.3.2.1 Les tanins hydrolysables	55
II.3.2.2 Tanins condensés	58
II.3.3 Propriétés biologiques des tanins	59
CHAPITRE III: GENERALITES SUR LE STRESS OXYDATIF E	T LES
ANTIOXYDANTS	62
I. LE STRESS OXYDATIF	62
II. ORIGINES DES ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE (ERO)	62
II.1 DEFINITION DES ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE	62
II.2 Proprietes des especes reactives de l'oxygene	63
II.3 GENERATION DES ESPECES REACTIVES OXYGENEES	63
II.4 ROLES DES ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE	65

II.4.1 Rôles non délétères	65
II.4.2 Rôles délétères	66
II.4.2.1 Dommages oxydatifs lipidiques	66
II.4.2.2 Dommages oxydatifs protéiques	67
II.4.2.3.Dommage oxydatif de l'ADN	68
III. MOYEN DE LUTTE CONTRE LE STRESS OXYDATIF:	LES
ANTIOXYDANTS	69
III.1 DEFINITION	69
III.2 Moyens de defenses endogenes	69
III.2.1 Les antioxydants enzymatiques	69
III.2.2 Les antioxydants non enzymatiques	71
III.3 MOYENS DE DEFENSES EXOGENES	71
III.3.1 Vitamine E	71
III.3.2 Vitamine C	72
III.3.3 Provitamine A	72
III.3.4 Autres vitamines	72
III.3.5 Les oligoéléments	72
DEUXIEME PARTIE: ETUDES COMPARATIVES DU <i>COMBRE</i> MICRANTHUM RECOLTES SUR PLUSIEURS SITES	
CHAPITRE IV: CADRE D'ETUDE	74
I. PRESENTATION DES SITES DE RECOLTES	74
II. LA MORPHOPEDOLOGIE	76
II.1 Diass	77
II.2 SANDIARA	78
II.3 Essyl	79
III PLUVIOMETRIE	80

CHAPITRE V: ETUD	ES	PHYTOCHIMIQUES	DES	FEUILLES	DE
COMBRETUM MICRANT	ΉU	<i>IM</i>	•••••		82
I. MATERIEL ET REACT	TIF	S			82
II. METHODES	•••••		• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		83
II.1 TENEUR EN EAU	••••				83
II.1.1 Principe					83
II.1.2 mode opératoire			•••••		83
II.2 TENEUR EN CENDRE.	• • • • •		•••••		83
II.2.1 Principe			•••••		83
II.2.2 Mode opératoire	·		•••••		83
II.3 TENEUR EN FER	• • • • •		•••••		84
II.3.1 Principe					84
II.3.2 Mode opératoire	·		• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		84
II.3.2.1 Préparation	de l	la solution mère	•••••		84
II.3.2.2 Dosage du fe	er		• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		84
II.4 LES EXTRACTIBLES	• • • • •		• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		85
II.4.1 Extraction			• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		85
II.4.2 Dessiccation			• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		85
II.5 RECHERCHE DES SAP	ONC	OSIDES	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		85
II.5.1 Extraction					85
II.5.2 Mesure de « l'in	dice	e de mousse » (IM)			85
II.5.3 Calculs « l'indic	e d	e mousse » (IM)			86
II.6 SEPARATION ET IDE	ENT.	IFICATION DES TANINS E	T DES	FLAVONOIDES	PAR
CHROMATOGRAPHIE SUR	Co	UCHE MINCE (CCM)			86
II.6.1 Séparation et	idei	ntification des tanins pe	ar Chr	omatographie	sur
Couche Mince (CCM)					87
II.6.1.1 Matériels et	réa	ctifs			87
II.6.1.2 Mode opérat	oire	e	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		87

II.6.2 Séparation et identification des flavonoïdes par Chromatogra	phie sur
Couche Mince (CCM)	87
II.6.2.1 Matériels et réactifs	87
II.6.2.2 Mode opératoire	88
II.7 Dosage des polyphenols	88
II.7.1 Dosage des polyphénols totaux et des tanins	88
II.7.1.1 Principe	88
II.7.1.2 Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide tannique	2 88
II.7.1.3 Extraction	89
II.7.1.4 Dosage des polyphénols totaux	89
II.7.1.5 Dosage des tanins	89
II.7.2 Dosage des flavonoïdes	91
II.7.2.1 Principe	91
II.7.2.2 Préparation de la gamme d'étalonnage de la vitexine	91
II.7.2.3 Extraction	91
II.7.2.4 Dosage	91
II.8 Isolement de la vitexine des feuilles de <i>Combretum micranth</i>	<i>IUM</i> 94
II.8.1 Extraction	94
II.8.2 Isolement par précipitation	94
II.8.3 Identification	96
II.8.3.1 Identification par CCM	96
II.8.3.1.1 Matériels et réactifs	96
II.8.3.1.2 Méthodologie	96
II.8.3.2 Identification par HPLC	96
II.8.3.2.1 Matériel et réactifs	96
II.8.3.2.2 Méthodologie	96
II.8.3.3 Identification par RMN	97
II.8.3.3.1 Matériels et réactifs	97
II.8.3.3.2. Méthodologie	

III. RESULTATS	97
III.1 TENEUR EN EAU, EN CENDRE, EN FER ET RENDEMENT EN EXTRACTIBLES	97
III.2 TENEUR EN SAPONOSIDES	100
III.3 SEPARATION ET IDENTIFICATION DES PRINCIPES ACTIFS	100
III.3.1 La chromatographie sur Couche Mince des tanins	100
III.3.2 La chromatographie sur Couche Mince des flavonoïdes	102
III.4 Dosage des polyphenols	104
III.4.1 Dosage des polyphénols totaux et des tanins	104
III.4.2 Dosage des flavonoïdes	104
III.5 METHODE RAPIDE D'ISOLEMENT DE LA VITEXINE DES FEUILLES	DE
KINKELIBA	106
III.5.1 Rendement	106
III.5.2 Identification par CCM	106
III.5.3 Identification par HPLC/UV-Vis/MSD	107
III.5.4 Identification par RMN	108
CHAPITRE VI: ACTIVITE ANTIOXYDANTE PAR LE TEST AU DPPH ((1,1-
DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZYL)	.114
I. MATERIEL ET REACTIFS	. 114
I.1 Materiel vegetal	.114
I.2 Materiel de laboratoire	.114
II. METHODOLOGIE	. 114
II.2 Preparation de la solution DPPH	.114
II.3 PREPARATION DE LA SERIE DE DILUTION ET MESURE DE L'ABSORBANCE	.114
II.4 Expression des resultats	.115
II.4.1 CALCUL DES POURCENTAGES D'INHIBITION	.115
II.4.2 DETERMINATION DE CI ₅₀	.116
III. RESULTATS	.116

III.1 EVALUATION DES POURCENTAGES D'INHIBITION	116
II.2 EVALUATION DE LA CONCENTRATION D'INHIBITION A $50\%(\text{CI}_{50})$	119
CHAPITRE VII: DISCUSSION	121
II. CCM	121
III. DOSAGE	122
IV. ACTIVITE ANTIRADICALAIRE	123
V. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DE LA VITEXINE	124
TROISIEME PARTIE: RECOLTE ET COMMERCIALISATION	DU
COMBRETUM MICRANTHUM	126
CHAPITRE VIII: GENERALITES SUR L'ETUDE D'UNE FILIERE	127
I. DEFINITION ET ROLE D'UNE ETUDE DE FILIERE	127
II. ORGANISATION D'UNE ETUDE DE FILIERE	128
II.1 DELIMITATION DE LA FILIERE ETUDIEE	128
II.2 LA COLLECTE DE L'INFORMATION	129
II.2.1 L'information bibliographique	129
II.2.2 L'information sur le terrain	129
II.3 L'ANALYSE DE L'INFORMATION	130
II.4 FORMULATION D'UN DIAGNOSTIC	130
II.5 LES RECOMMANDATIONS	131
CHAPITRE IX: APPLICATION A LA FILIERE KINKELIBA	132
I. METHODOLOGIE	132
I.1 METHODES ET MOYENS DE COLLECTE DES DONNEES	132
I.1.1 Enquête par questionnaire	132
I.1.2 Observations	
I.2 ZONES DE COLLECTE DES DONNEES	133
I.3 ACTEURS ENQUETES ET FONCTIONS	134

I.3.1 Les collecteurs et ou fournisseurs	135
I.3.2 Herboristes et ou tradipraticiens	135
I.3.3 Les détaillants	135
I.3.4 Les consommateurs	135
I.3.5 Les transformateurs	136
I.4 COLLECTES DES DONNEES AUPRES DES ACTEURS DE LA FILIERE	136
I.4.1 Collecte de données auprès des collecteurs et ou fournisseurs	136
I.4.2 Collectes des données auprès des herboristes et ou tradipration	ciens. 136
I.4.3 Collecte des données auprès des détaillants	136
I.4.4 Collectes des données auprès des consommateurs	137
I.4.5 Collectes des données auprès des transformateurs	137
. RESULTATS	137
II.1 ANALYSES FONCTIONNELLES DES ACTEURS DE LA FILIERE	137
II.1.1 Les collecteurs et ou fournisseurs	139
II.1.2 Les herboristes et ou tradipraticiens	143
II.1.3 Les détaillants	143
II.1.4 Les consommateurs	144
II.1.5 Les transformateurs	144
II.2 Environnement institutionnel	145
II.2.1 Enda – santé	145
II.2.2 Les eaux et forêts	145
II.2.3 Collectivités locales	146
II.3 LES STRUCTURES FINANCIERES	146
HAPITRE X: DISCUSSION	147
I. ANALYSE FONCTIONNELLE DE LA FILIERE	147
II. COUTS SUPPORTES PAR LES ACTEURS ET VALEUR AJOU	JTEE DE
LA FILIERE KINKELIBA	150
III CONTRAINTES ET ATOUTS DE LA FILIERE	153

CONCLUSION GENERALE	
REFRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	159
ANNEXES	170
TABLE DES MATIERES	181
PUBLICATIONS	191

PUBLICATIONS

Résumé:

Le kinkéliba est utilisé depuis longtemps en médecine traditionnelle dans toute l'Afrique de l'Ouest pour ses propriétés cholagogues et diurétiques. Au Sénégal, la consommation est importante surtout au niveau des villes comme Dakar. L'objectif global visé est de caractériser sur les plans chimiques et pharmacologiques des échantillons de kinkéliba récoltés dans différents endroits du Sénégal à savoir Diass, Sandiara et Essyl. Ces sites de récolte diffèrent par leur pluviométrie moyenne et la nature des sols. Les prélèvements ont été effectués durant et après la saison des pluies. Ainsi on retient que la quantité d'extractible est plus importante dans les zones moins humides comme Diass et Sandiara, alors qu'elle est moins importante à Essyl zone plus pluvieuse. On obtient l'inverse pour la teneur en eau et en cendres et en fer qui sont plus importantes à Essyl qu'à Diass et Sandiara. Les feuilles récoltées à Sandiara et Diass sont plus riche en flavonoïdes que celles récoltées à Essyl qui par contre sont plus riches en polyphénols totaux et en tanins. En ce qui concerne l'activité antioxydante, sur les trois sites de récoltes l'activité des feuilles de *Combretum micranthum* est plus importante en période post saison des pluies. Les feuilles récoltées à Diass présente l'activité antioxydante la plus importante suivie de celles récoltées à Sandiara, celles récoltées à Essyl présente l'activité la plus faible.

Une enquête a été menée auprès de différentes catégories d'acteurs afin d'avoir des éléments de filière pour le kinkéliba. Les sites de production et de collecte qui approvisionnent Dakar sont : Diass, Sindia, Kiniabour, Pout, Thies et Lalane. Les principaux lieux de vente en gros sont les marchés de Thiaroye et de Grand Yoff. Le bénéfice ainsi que la valeur ajouté est positif et évolue de manière croissante des fournisseurs/collecteurs aux détaillants. La filière kinkéliba, avec ses contraintes et surtout ses atouts, mérite d'être mieux structurée.

CHARACTERIZATION OF *COMBRETUM MICRANTHUM* G. DON (KINKELIBA) IN DIFFERENT REGIONS OF SENEGAL - HARVESTING AND MARKETING.

Summary

Kinkeliba has long been used in traditional medicine throughout West Africa for its cholagogic and diuretic properties. In Senegal, consumption is important especially at the level of cities like Dakar. The overall objective is to characterize chemically and pharmacologically samples of Kinkeliba collected in various locations in Senegal namely Diass, Sandiara and Essyl. These harvest sites differ in their average rainfall and the nature of the soil. Samples were taken during and after the rainy season. Thus it is held that the amount of extractible is greater in less humid areas like Diass and Sandiara, while it is less important in Essyl more rainy area. The reverse is true for the water and ash and iron content, which is higher in Essyl than in Diass and Sandiara. The leaves harvested at Sandiara and Diass are richer in flavonoids than those harvested at Essyl which, on the other hand, are richer in total polyphenols and tannins. Regarding antioxidant activity, at the three harvest sites the activity of Combretum micranthum leaves is greater in the post-rain season. The leaves harvested at Diass have the highest antioxidant activity followed by those harvested at Sandiara, while those harvested at Essyl have the lowest activity.

A survey was carried out among various categories of actors in order to have elements of the sector for kinkeliba. The production and collection sites that supply Dakar are: Diass, Sindia, Kiniabour, Pout, Thies and Lalane. The main wholesale locations are the Thiaroye and Grand Yoff markets. Profit and added value is positive and is evolving from suppliers / collectors to retailers. The kinkeliba sector, with its constraints and especially its strengths, deserves to be better structured.

Spécialité: Chimie et biochimie des produits naturels

Mots clés: Combretum micranthum, kinkéliba, caractérisation, commercialisation.