

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union – Discipline – Travail

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

Année: 2014 -2015

N° _____

THESE

Présentée en vue de l'obtention du :

DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

Mme DONGO née ALLECHI Cho Gertrude

**ELABORATION DES SPECIFICATIONS ANALYTIQUES
(ORGANOLEPTIQUE, PHYSICO-CHIMIQUE ET
PHYTOCHIMIQUE) D'UN PHYTOMEDICAMENT
ANTIPALUTIQUE : « DIE KOUADIO »**

Soutenue publiquement le 05 février 2015

COMPOSITION DU JURY:

Président : **M. KOUADIO Kouakou Luc**, Professeur Titulaire

Directeur de thèse : **M. MALAN Kla Anglade**, Professeur Titulaire

Assesseurs : **M. MENAN Eby Ignace Hervé**, Professeur Titulaire

: **M. AMIN N'cho Christophe**, Professeur Agrégé



**Administration et Personnel Enseignant de L'UFR
Sciences Pharmaceutiques et Biologiques**

HONORARIAT

Directeurs/Doyens Honoraires	Professeur RAMBAUD André
	Professeur FOURASTE Isabelle
	Professeur BAMBA Moriféré
	Professeur YAPO Abbé †
	Professeur MALAN Kla Anglade
	Professeur KONE Moussa †

I. ADMINISTRATION

Directeur	Professeur ATINDEHOU Eugène
Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie	Professeur Ag INWOLEY Kokou André
Sous-Directeur Chargé de la Recherche	Professeur Ag OGA Agbaya Serge
Secrétaire Principal	Monsieur BLAY Koffi
Secrétaire Principal Adjoint	Madame AKE Kouadio Api Eugénie
Documentaliste	Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert
Intendant	Monsieur GAHE Alphonse
Responsable de la Scolarité	Madame DJEDJE Yolande

II. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

1. PROFESSEURS TITULAIRES

Mme AKE Michèle	Chimie Analytique
M. ATINDEHOU Eugène	Chimie Analytique,
Mme ATTOUNGBRE	Biochimie et Biologie
M. DANO Djédjé Sébastien	Toxicologie
Mme KONE BAMBA	Pharmacognosie
MM KOUADIO Kouakou	Hydrologie, Santé Publique

MALAN Kla Anglade	Chimie Analytique, Contrôle
MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie
MONNET Dagui	Biochimie et Biologie
Mme SAWADOGO DUNI	Hématologie
M YOLOU Séri Fernand	Chimie Générale

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM ABROGOUA Danho Pascal	Pharmacologie
AHIBOH Hugues	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme AKE EDJEME N'guessan Angèle	Biochimie et Biologie Moléculaire
MM AMARI Antoine Serges G.	Législation
AMIN N'cho Christophe	Chimie Analytique
DEMBELE Bamory	Immunologie
GBASSI K Gildas	Chimie Minérale
INWOLEY Kokou André	Immunologie
KABLAN Brou Jérôme	Pharmacologie
KOFFI Angely Armand	Pharmacie Galénique
Mme KOUAKOU Siransy N.	Pharmacologie
MM KOUASSI Dinard	Hématologie
LOUKOU Yao Guillaume	Bactériologie-Virologie
OGA Agbaya Stéphane	Santé publique et Economie de la santé
OUASSA Thimotée	Bactériologie Virologie
OUATTARA Mahama	Chimie Thérapeutique
MM YAPI Ange Désiré	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
YAVO William	Parasitologie - Mycologie
ZINZENDORF Nanga Yessé	Bactériologie-Virologie

3. MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

M. DIAFOUKA François Biochimie et Biologie de la Reproduction

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme BARRO KIKI Pulchérie Parasitologie - Mycologie
MM BONY François Nicaise Chimie Analytique
CLAON Jean Stéphane Santé Publique
DALLY Laba Galénique
DJOHAN Vincent Parasitologie -Mycologie
EZOULIN Miezan Jean Marc Toxicologie
Mme IRIE N'GUESSAN Amenan Pharmacologie
M. KASSI Kondo Fulgence Parasitologie -Mycologie
Mme KOUASSI AGBESSI Thérèse Bactériologie-Virologie
M. MANDA Pierre Toxicologie
Mmes POLNEAU Vallée Sandrine Biophysique, Mathématiques
SACKOU KOUAKOU Julie Santé Publique
SANGARE Mahawa Biologie Générale
SANGARE Tigori Béatrice Toxicologie
VANGA Abo Henriette Parasitologie -Mycologie
M. YAYO Sagou Eric Biochimie et Biologie Moléculaire

5. ASSISTANTS

MM ADJOUNGOUA Attoli Léopold Pharmacognosie
ADJAMBRI Adia Eusebé Hématologie
Mme AFFI-ABOLI Mihessé Roseline Immunologie
Mme AKA-ANY-GRA Armelle A. S. Pharmacie Galénique

MM AMICHIA Attoumou Magloire	Pharmacologie
ANGORA Kpongbo Etienne	Parasitologie
Mme AYE YAYO Mireille	Hématologie
MM BROU Amani Germain	Chimie Analytique
CABLAN Mian N'Ddey Asher	Bactériologie-Virologie
Mlle DIAKITE Aïssata	Toxicologie
M. DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Pharmacologie
Mlle DOTIA Tiepordan Agathe	Bactériologie-Virologie
M EFFO Kouakou Etienne	Pharmacologie
Mlle FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Pharmacognosie
Mme HOUNSA Annita E. Epse Alla	Santé Publique
MM KABRAN Tano Kouadio Mathieu	Immunologie
KAMENAN Boua Alexis Thierry	Pharmacologie
KACOU Alain	Chimie Thérapeutique
Mlle KONATE Abibatou	Parasitologie-Mycologie
M KONAN Konan Jean Louis	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme KONE Fatoumata	Biochimie et Biologie Moléculaire
MM KOUAKOU Sylvain Landry	Pharmacologie
KOUAME Denis Rodrigue	Immunologie
KPAIBE Sawa Andre Philippe	Chimie Analytique
LATHRO Joseph Serge	Bactériologie-Virologie
Mme LEKADOU KORE Sylvie	Santé Publique
M. N'GUESSAN Alain	Galénique
Mmes N'GUESSAN-BLAO Amino Rebecca J.	Hématologie
OUAYOGODE-AKOUBET Aminata	Pharmacognosie
M TRE Eric Serge	Chimie Analytique
Mme YAO ATTIA Akissi Régine	Santé publique
M.YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale

6. IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa	Professeur Titulaire
Feu YAPO Abbé Etienne	Professeur Titulaire
Feu COMOE Léopold	Maître de Conférences Agrégé
Feu GUEU Kaman	Maître Assistant
Feu ALLADOUM Nambelbaye	Assistant
Feu COULIBALY Sabali	Assistant
Feu TRAORE Moussa	Assistant
Feu YAPO Achou Pascal	Assistant

III. ENSEIGNANTS VACATAIRES

1. PROFESSEURS

M. ASSAMOI Assamoi Paul	Biophysique
M. DIAINE Charles	Biophysique
M. OYETOLA Samuel	Chimie Minérale
M. ZOUZOU Michel	Cryptogamie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mme TURQUIN née DIAN Louise	Biologie Végétale
MM. YAO N'Dri	Pathologie Médicale
KOUAKOU Tanoh Hilaire	Botanique et Cryptogamie

3. NON UNIVERSITAIRES

MM AHOUSI Daniel Ferdinand	Secourisme
DEMPAH Anoh Joseph	Zoologie
N'GOZAN Marc	Secourisme
KONAN Kouacou	Diététique
KONKON N'Dri Gilles	Botanique, Cryptogamie
Mme PAYNE Marie	Santé Publique

COMPOSITION DES DEPARTEMENTS DE L'UFR

DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

I. BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

Professeur LOUKOU Yao Guillaume	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeurs OUASSA Timothée ZINZENDORF Nanga Yessé	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs KOUASSI AGBESSI Thérèse CABLAN Mian N'Dédey Asher DOTIA Tiepordan Agathe LATHRO Joseph Serge	Maître Assistante Assistant Assistante Assistant

II. BIOCHIMIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE, BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION ET PATHOLOGIE MEDICALE

Professeur MONNET Dagui	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs AHIBOH Hugues AKE EDJEME N'Guessan Angèle DIAFOUKA François HAUHOUOT-ATTOUNGBRE M.L	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégée Maître de Conférences Maître de Conférences Agrégée
Docteurs YAYO Sagou Eric KONAN Konan Jean Louis KONE Fatoumata	Maître Assistant Assistant Assistante

III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Professeur SAWADOGO Duni	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs DEMBELE Bamory	Maître de Conférences Agrégé

INWOLEY Kokou André	Maître de Conférences Agrégé
KOUASSI Dinard	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs SANGARE Mahawa	Maître Assistant
AFFI-ABOLI Mihessé Roseline	Assistante
ADJAMBRI Adia Eusebé	Assistant
AYE YAYO Mireille	Assistante
KABRAN Tano K. Mathieu	Assistant
KOUAME Denis Rodrigue	Assistant
N'GUESSAN-BLAO A. Rebecca S.	Assistante
YAPO Assi Vincent De Paul	Assistant

IV. CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

Professeur ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs MALAN Kla Anglade	Professeur Titulaire
AKE Michèle	Professeur Titulaire
YOLOU Séri Fernand	Professeur Titulaire
AMIN N'cho Christophe	Maître de Conférences Agrégé
GBASSI K. Gildas	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs BONY Nicaise François	Maître Assistant
BROU Amani Germain	Assistant
KPAIBE Sawa Andre Philippe	Assistant
M.TRE Eric Serge	Assistant

V. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE

Professeur YAPI Ange Désiré	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeur OUATTARA Mahama	Maître de Conférences Agrégé
Docteur KACOU Alain	Assistant

**VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET
ZOOLOGIE**

Professeur MENAN Eby Ignace H.	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeur YAVO William	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs BARRO KIKI Pulchérie	Maître Assistante
DJOHAN Vincent	Maître Assistant
KASSI Kondo Fulgence	Maître Assistant
VANGA ABO Henriette	Maître Assistante
ANGORA Kpongbo Etienne	Assistant
KONATE Abibatou	Assistante

**VII. PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE,
COSMETOLOGIE, GESTION ET LEGISLATION
PHARMACEUTIQUE**

Professeur KOFFI Armand A.	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
AMARI Antoine Serge G.	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs DALLY Laba Ismaël	Maître Assistant
AKA-ANY Grah Armelle A.S.	Assistante
N'GUESSAN Alain	Assistant

**VIII. PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE,
CRYPTOGAMIE,**

Professeur KONE BAMBA Diénéba	Professeur Titulaire Chef de Département
Docteurs ADJONGOUA Attoli Léopold	Assistant
FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Assistante
OUAYOGODE-AKOUBET A.	Assistante

IX. PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE, ET PHYSIOLOGIE HUMAINE

Professeur KABLAN Brou Jérôme	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeurs ABROGOUA Danho Pascal KOUAKOU SIRANSY N'doua G.	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs IRIE N'GUESSAN Amenan G. AMICHIA Attoumou M. DJADJI Ayoman Thierry Lenoir EFFO Kouakou Etienne KAMENAN Boua Alexis KOUAKOU Sylvain Landry	Maître Assistante Assistant Assistant Assistant Assistant Assistant

X. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire Chef de Département par intérim
Docteur POLNEAU VALLEE Sandrine	Maître Assistante

XI. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE

Professeur KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs DANO Djédjé Sébastien OGA Agbaya Stéphane	Professeur Titulaire Maître de Conférences Agrégé
Docteurs CLAON Jean Stéphane EZOULIN Miézan Jean Marc MANDA Pierre SACKOU KOUAKOU J. SANGARE TIGORI B. DIAKITE Aïssata	Maître Assistant Maître Assistant Maître Assistant Maître Assistante Maître Assistante Assistante

HOUNSA-ALLA Annita Emeline	Assistante
LEKADOU KORE Sylvie	Assistante
YAO ATTIA Akissi Régine	Assistante



Dédicace

A LA SAINTE TRINITE

Béni le Seigneur oh mon âme !

N'oublie aucun de ses bienfaits

Béni le Seigneur oh mon âme !

Béni le Seigneur à jamais.

Tu m'as donnée l'intelligence et c'est toi qui as permis que je parvienne à cette étape de ma vie, merci Seigneur pour tous tes bienfaits.

A MON REGRETTE PERE, ALECHI SONAN JEAN

Tu as voulu que je devienne pharmacienne et ce, depuis le lycée, une époque où je portais peu d'intérêt à cette profession, et pour cela tu n'as pas hésité à te sacrifier pour m'offrir tout ce que je te demandais. Tu nous as quittés, sans voir ce jour que tu as tant attendu, puisse Dieu t'accueillir dans sa sainte demeure.

A MA MERE, Mme ALLECHI TOKPA MADELEINE

Tu m'as toujours soutenu par tes prières, tes conseils et tes finances. Puisse tous ces efforts être rendus au centuple.

A MON EPOUX, KOUASSI DONGO CONSTANT

Je t'appelle "Pti bonheur" parce qu'après Dieu tu es celui qui me comprend, me supporte et m'aime.

Merci pour ta présence dans ma vie, ton soutien et que Dieu t'accorde grâce, paix et bénédiction.

A MON FILS NOAH,

Tu es mon petit bijou et ma joie de vivre, que Dieu te bénisse et te donne de grandir en âge, en sagesse et en intelligence.

A MES FRERES ET SCEURS

Constant, Rodolphe, Appolinaire, Désiré, Félicité, Marie-rose, Nadège, Isabelle, Valérie, Laeticia et Marie ruth.

Merci pour la confiance que vous avez toujours eu à mon égard.

Que Dieu vous bénisse !

A MES ONCLES

Colonel Marc Kokola, Victor N'gbesso et Assamoi Mérimé,

Merci pour tout le soutien que vous m'avez apporté.

Que Dieu vous bénisse et vous le rende au centuple.

A MES TANTES

Mamy Bony, Mme Etchi Florentine, Tokpa Jeanne

Que Dieu vous bénisse!

A maman Ello Elisabeth, reçois ma profonde gratitude, puisse Dieu te donner au-delà de tes espérances.

A papa Adjeye Aimé François, que Dieu te bénisse.

A LA FRATERNITE DIVINE ESPERANCE

Vous êtes ma seconde famille, que le Seigneur vous bénisse et vous comble au-delà de vos espérances.

A MES AMIES

Manuela, Chefiath, Monique, Doris et Yacine, merci pour tout ce que vous faites pour moi.

Que Dieu vous bénisse!



Remerciements

Nos remerciements vont à l'endroit de tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de cette thèse particulièrement :

A tous les Maîtres de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques,

A Docteur Bony Nicaise, Chef de service et le personnel du LCM (Laboratoire de Contrôle du Médicament) du Laboratoire National de la Santé Publique,

A Docteur Amontchi des Laboratoires S Terre pour sa contribution à cette thèse,

A Docteur Kacou Alain, Pharmacien assistant au Département de Chimie Thérapeutique,

A M et Mme Dagbo pour votre soutien matériel et financier.



A nos Maîtres et Juges

**A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY
Monsieur le professeur KOUADIO Kouakou Luc**

- Professeur Titulaire d'Hydrologie et de Santé Publique à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ;
- Chef du laboratoire d'hygiène et du service de contrôle des eaux de l'Institut National d'Hygiène Publique ;
- Responsable du Diplôme d'Etude Universitaire d'Homéopathie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ;
- Responsable du DESS d'Hygiène Alimentaire à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ;
- Responsable de la Maîtrise Professionnalisée de la Santé Publique à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques.

Cher Maître,

Nous voudrions vous remercier pour l'honneur que vous nous faites de présider ce jury de notre thèse, votre rigueur, votre simplicité et votre amour pour le travail bien fait sont autant de qualités qui suscitent l'admiration de tous.

Que Dieu vous bénisse!

**A NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THESE
Monsieur le Professeur MALAN KLA ANGALDE**

- Professeur titulaire de chimie analytique à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques
- Doyen honoraire à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques
- Directeur du Laboratoire National de la Santé Publique
- Membre du conseil national de l'Ordre des Pharmaciens
- Responsable du DESS de contrôle de qualité des médicaments, aliments, et produits cosmétiques
- Membre de l'Académie National de Pharmacie de France ;
- Membre de l'académie des sciences, des cultures, des arts et de la diaspora (ASCAD)
- Membre de la Société des Experts Chimistes de France ;
- Officier dans l'ordre du mérite de l'enseignement Supérieur ;
- Commandeur de l'ordre de l'enseignement supérieur
- Chevalier dans l'ordre de la Santé Publique
- Expert de l'OMS

Cher Maître,

*Nous voudrions vous témoigner toute notre reconnaissance car vous avez sans hésité
accepter d'être notre Directeur de thèse.*

*Ce fut un très grand honneur pour nous d'avoir travaillé à vos côtés : vous êtes si
emprunt de grandes qualités intellectuelles, d'humilité et de rigueur. Sachez, Cher
Maître, que vous êtes une référence pour nous.*

Que Dieu vous bénisse!

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le Professeur MENAN Eby Ignace Hervé

- Professeur Titulaire de Parasitologie et Mycologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan
- Chef du département de Parasitologie – Mycologie – Zoologie – Biologie Animale
- Docteur ès sciences pharmaceutiques et biologiques de l'Université de Montpellier I
- Directeur du Centre de Diagnostic et de recherche sur le SIDA et les autres maladies infectieuses (CeDReS)
- Directeur Général de CESAM, laboratoire du Fonds de Prévoyance Militaire
- Officier supérieur des Forces Armées Terrestres de Côte d'Ivoire
- Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan (Lauréat du concours 1993)
- Lauréat du prix PASRES-CSRS des trois meilleurs chercheurs ivoiriens 2011
- Président de la Société Ivoirienne de Parasitologie (SIPAM)
- Secrétaire Général adjoint de la Société Africaine de Parasitologie (SOAP)
- Vice-Président du Groupe scientifique d'Appui au PNL
- Membre du groupe français des «Experts de Biologie du VIH» ESTHER
- Membre du Comité National des Experts Indépendants pour la vaccination et les vaccins de Côte d'Ivoire
- Membre du conseil scientifique de l'Université FHB

Cher Maître,

Nous sommes très honorée pour la faveur que vous nous faites de siéger à ce Jury. Votre amour pour le travail bien fait, votre simplicité et votre disponibilité suscitent l'admiration de tous.

Nous vous prions de recevoir, Cher Maître, l'expression de notre profonde gratitude.

Que Dieu vous bénisse!

A NOTRE MAITRE ET JUGE
Monsieur le Professeur AMIN N'cho Christophe

- Professeur agrégé en chimie analytique, bromatologie à l'université Félix Houphouët Boigny
- Chef de service adjoint du laboratoire d'hygiène publique de l'institut national d'hygiène publique
- Docteur en pharmacie diplômé de l'université de Cocody
- Ancien interne des hôpitaux
- Docteur ès sciences pharmaceutiques et biologiques de l'université de Montpellier 1
- Biologiste, Titulaire du Master de contrôle qualité des médicaments, aliments et produits cosmétiques, du DEA en conception, réalisation, valorisation du médicament issu de la pharmacopée africaine option chimie analytique et bromatologie, maîtrise professionnalisée option santé publique de l'université Félix Houphouët Boigny
- Membre de la SOACHIM

Cher Maître,

Nous tenons à vous dire sincèrement merci pour la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger à ce jury, ainsi que pour tous les conseils que vous nous avez prodigués.

Que Dieu vous bénisse!

Table des matières

ABREVIATIONS	5
LISTE DES TABLEAUX	6
LISTE DES FIGURES	7
INTRODUCTION	8
PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE	12
I- MEDICAMENTS ANTIPALUDIQUES A BASE DE PLANTES	13
I-1 Médicaments à base de plantes	13
I-2 Médicaments antipaludiques	13
I-2-1 Définition	13
I-2-2 Classification des antipaludiques	14
I-2-3 Plantes utilisées en tant qu'antipaludiques	15
I-2-4 Groupes de composés phytochimiques naturels antipaludiques	17
I-2-4-1 Composés alcaloïdiques naturels antipaludiques	17
I-2-4-2 Composés phénoliques naturels antipaludiques	20
I-2-4-3 Composés terpéniques naturels antipaludiques	22
I-2-4-4 Autres composés naturels antipaludiques	24
II- EVALUATION D'UN MEDICAMENT A BASE DE PLANTES	25
II-1 Analyse des caractères généraux	25
II-1-1 Caractères organoleptiques	25
II-1-2 Etude microscopique	26
II-2 Essais physico-chimiques	26
II-2-1 Détermination des cendres	26
II-2-2 Perte à la dessiccation ou taux d'humidité	27
II-3 Recherche de contaminants	27

II-3-1 Contaminants microbiologiques	27
II-3-2 Résidus de produits phytosanitaires et pesticides	27
II-3-3 Recherche des métaux lourds	28
II-3-4 Recherche des substances radioactives	28
II-3-5 Recherche des solvants résiduels	28
II-4 Contrôles galéniques et biogaléniques	29
II-4-1 Contrôle galénique	29
II-4-1-1 Test d'uniformité de teneur et de masse	29
II-4-1-2 Test de dureté	29
II-4-2 Contrôle biogalénique	30
II-4-2-1 Test de délitement	30
II-4-2-2 Test de dissolution	30
II-5- Etude de stabilité	30
II-6 Détermination des spécifications phytochimiques	31
II-6-1 Recherche des composés alcaloïdiques	31
II-6-1-1 Extraction	31
II-6-1-2 Détermination des composés alcaloïdiques	31
II-6-2 Recherche des composés phénoliques	33
II-6-2-1 Extraction	33
II-6-2-2 Détermination des composés phénoliques	33
II-5-3 Recherche des composés terpéniques	34
II-6-3-1 Extraction	34
II-6-3-2 Détermination des composés terpéniques	34

DEUXIEME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE	35
I- MATERIEL ET METHODES	36
I-1 Matériel	36
I-1-1 Echantillonnage	36
I-1-2 Matériel de laboratoire	37
I-1-2-1 Appareillage	37
I-1-2-2 Verrerie et autre matériel de laboratoire	37
I-1-2-3 Produits et réactifs chimiques	38
I-1-2-3-1 Produits chimiques	38
I-1-2-3-2 Réactifs de travail	39
I-1-2-3-3 Substances de référence	40
I-2 Méthodes	41
I-2-1 Détermination des caractères organoleptiques	41
I-2-2 Essais physico-chimiques	42
I-2-2-1 Taux d'humidité	42
I-2-2-2 Détermination des éléments minéraux	42
I-2-3 Détermination des paramètres phytochimiques	45
I-2-3-1 Recherche des groupes phytochimiques	45
I-2-3-1-1 Principe	45
I-2-3-1-2 Mode opératoire	45
I-2-3-2 Dosage des polyphénols totaux	49
I-2-3-2-1 Principe	49
I-2-3-2-2 Mode opératoire	50
I-2-3-2-3 Expression des résultats	50
II- RESULTATS	51
II-1 Caractères organoleptiques	52
II-2 Essais physico-chimiques	52
II-2-1 Taux d'humidité	52

II-2-2 Cendres totales et minéraux	53
II-2-2-1 Cendres totales	53
II-2-2-2 Minéraux	53
II-3 Paramètres phytochimiques	55
II-3-1 Recherche des composés phytochimiques	55
II-3-1-1 Recherche des grands groupes phytochimiques	55
II-3-1-2 Recherche des groupes de composés phytochimiques	56
II-3-2 Analyse quantitative : dosage des polyphénols totaux	58
III- DISCUSSIONS	59
III-1 Caractères organoleptiques	61
III-2 Essais physico-chimiques	61
III-2-1 Taux d'humidité	61
III-2-2 Cendres totales et minéraux	62
III-2-3 Analyse phytochimique	63
III-2-3-1 Analyse qualitative phytochimique	63
III-2-3-2 Analyse quantitative : dosage des polyphénols totaux	66
CONCLUSION	68
PERSPECTIVES	70
REFERENCES	72
ANNEXES	81

Abréviations

A : Absorbance

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CI : Concentration Inhibitrice

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

CPT : Concentration en Polyphénols Totaux

EDS : Spectromètre à Diffusion d'Énergie

FeCl₃ : Trichlorure de fer

H₂SO₄ : Acide sulfurique

J : jour

Kg : Kilogramme

LCM : Laboratoire de Contrôle du Médicament

LNSP : Laboratoire National de la santé Publique

m/m : masse par masse

MEB : Microscope Electronique à Balayage

mg : milligramme

ml : millimètre

mp: mélange de témoins

NP : Natural Product

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PEG : Poly Ethylène Glycol

ppm : Partie par million

UFR : Unité de Formation et de Recherche

UV : Ultra-violet

µm : micro-mètre

Liste des tableaux

	Pages
Tableau I : Classification des antipaludiques-----	14
Tableau II: Quelques plantes à activité antipaludique-----	16
Tableau III: Recherche des grands groupes phytochimiques par CCM-----	47
Tableau IV: Recherche des groupes de composés phénoliques par CCM-----	48
Tableau V: Recherche des groupes de composés terpéniques par CCM-----	49
Tableau VI: Caractères organoleptiques des différents lots de "Diè Kouadio"-----	52
Tableau VII: Taux d'humidité dans les différents lots de produits analysés-----	52
Tableau VIII: Teneur en cendres totales des différents lots de "Diè Kouadio"-----	53
Tableau IX: Teneur en minéraux des différents lots de "Diè Kouadio"-----	53
Tableau X: Recherche des grands groupes phytochimiques par CCM-----	55
Tableau XI: Recherche des groupes de composés phénoliques par CCM-----	56
Tableau XII: Recherche des groupes de composés terpéniques par CCM-----	57
Tableau XIII: Teneur en polyphénols totaux des différents lots de "Diè Kouadio" - --	58
Tableau XIV: Spécifications du phytomédicament "Diè Kouadio"-----	67

Liste des Figures

	Pages
Figure 1 : Structure de la Quinine (<i>Cinchona sp</i>)-----	18
Figure 2 : Structure de la Cryptolépine-----	19
Figure 3 : Structure de la Manzamine-----	19
Figure 4 : Structure de la Dioncophylline C-----	20
Figure 5 : Structure de la Licochalcone A-----	21
Figure 6 : Structure de l'Acide éllagique-----	22
Figure 7 : Structure de l'Artémisinine (<i>Artemesia sp</i>)-----	24
Figure 8 : Structure de l'Axisonitrile-----	24
Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la concentration en polyphénols totaux-----	50
Figure 10 : Teneur en minéraux des différents lots du phytomédicament "Diè Kouadio"	54
Figure 11 : Chromatogramme CCM des grands groupes phytochimiques-----	55



Introduction

Les médicaments à base de plantes ont représenté la première source de soins de santé partout dans le monde depuis les premiers jours de l'espèce humaine et sont encore largement utilisés [30]. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) indique que la grande majorité de la population mondiale utilise des remèdes à base de plantes pour répondre à leurs besoins de santé [63].

Cette pratique s'est considérablement développée ces dix dernières années, suite à la politique de promotion de la médecine traditionnelle suivie par l'OMS. Les pays ont sollicité et sollicitent encore l'assistance de l'organisation pour recenser des phytomédicaments sûrs et efficaces dans le cadre des systèmes nationaux de soins de santé [32].

La qualité des médicaments à base de plantes a un impact direct sur leur innocuité et leur efficacité. Des rapports ont montré des effets secondaires associés aux falsifications et à la présence de contaminants (métaux lourds, pesticides et micro-organismes) [65].

L'évaluation de la qualité des médicaments à base de plantes, utilisés en Afrique est difficile, car ce sont des mélanges complexes de plusieurs drogues végétales ou de préparations à base de drogues végétales auxquels peuvent être associés des drogues minérales et/ou animales. Aussi, la source, la récolte et la préparation des matières premières sont très variables [81,16].

Le Département de Chimie Analytique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan, s'inscrivant dans le cadre de la valorisation des médicaments traditionnels, initie des travaux visant à proposer des protocoles d'élaboration des spécifications analytiques des médicaments traditionnels.

Ces spécifications analytiques permettront la maîtrise de la constance de la composition chimique, l'authentification et le contrôle de qualité des médicaments traditionnels.

Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes intéressés à un phytomédicament antipaludique, compte tenu du fait que le paludisme demeure actuellement la parasitose la plus meurtrière dans le monde, surtout dans les pays en voie de développement [49]. En effet, plus de deux milliards d'individus sont exposés au risque palustre dans le monde; soit 40% de la population mondiale; et on estime à 500 millions le nombre de cas cliniques survenant chaque année. Le paludisme tue entre 1 et 3 millions de personnes, dont 80% en Afrique subsaharienne, essentiellement des enfants de moins de 5ans. Un enfant meurt du paludisme toutes les 30 secondes en Afrique [4].

De plus, le développement de la chimiorésistance du parasite aux antipaludiques usuels pose un grave problème de santé publique. Dans ce contexte, la recherche de médicaments ayant de nouveaux mécanismes d'action est nécessaire pour assurer le contrôle de la maladie.

Notre présente étude avait :

Pour **objectif général** :

☞ Définir sur la base des résultats d'analyses les spécifications organoleptiques, physico-chimiques et phytochimiques d'un phytomédicament antipaludique: " Diè Kouadio"

et comme **objectifs spécifiques**:

- Décrire les caractères organoleptiques ;
- Définir les caractéristiques physico-chimiques ;
- Déterminer les caractéristiques phytochimiques ;
- Proposer les spécifications analytiques du phytomédicament.

Notre travail s'articulera autour de deux grandes parties :

- La première partie, bibliographique, définira les médicaments antipaludiques à base de plantes et les différents paramètres d'évaluation de leur qualité ;
- La deuxième partie, relative à notre travail analytique, présentera le matériel et la méthodologie utilisés, les résultats obtenus et les discussions qui en découlent.



**Première partie :
Revue bibliographique**

I- Médicaments antipaludiques à base de plantes

I-1 Médicaments à base de plantes

Les **médicaments à base de plantes** sont définis comme des produits médicinaux finis, qui contiennent comme substance active exclusivement des plantes (parties aériennes ou souterraines), d'autres matières végétales (algues) ou des associations de plantes, à l'état brut ou sous forme de préparations.

Exceptionnellement, dans certains pays, les médicaments à base de plantes peuvent également contenir par tradition, des principes actifs naturels, organiques ou inorganiques, qui ne sont pas d'origine végétale [82].

Les **drogues végétales** sont des produits issus de plantes fraîches ou desséchées, utilisées à des fins thérapeutiques. Les drogues végétales sont parfois des plantes entières, le plus souvent des parties de plantes (racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, graines...).

Les **préparations à base de drogue(s) végétale(s)** sont constituées de drogue(s) végétale(s) en fragments ou en poudre, d'extraits, de teintures, d'huiles grasses, d'huiles essentielles, de sucres.

I-2 Médicaments antipaludiques

I-2-1 Définition

Un antipaludique est un produit naturel, de synthèse ou d'hémi synthèse qui, administré par voie orale ou par voie parentérale, ou encore par voie rectale, à dose unique ou à doses répétées permet de détruire le parasite ou bloquer sa croissance dans le but de prévenir ou de guérir la maladie palustre [25].

I-2-2 Classification des antipaludiques

Tableau I : Classification des antipaludiques

SCHIZONTOCIDES	Antipaludiques d'origine naturelle : <ul style="list-style-type: none">- Alcaloïdes du quinquina : Quinine (Quinimax®);- Dérivés du quinghaosu: Artémisinine et dérivés (Paluther®).
	Antipaludiques de synthèse : <ul style="list-style-type: none">- Amino-4-quinoléines: Amodiaquine (Camoquin®);- Amino-alcools: Luméfantine (Coartem®); Méfloquine (Méphaquin®);- Antifoliques, antifoliniques: Sulfadoxine-Pyrimétamine (Fansidar®); Proguanil (Paludrine®) Antibiotiques: <ul style="list-style-type: none">- Cyclines: Doxycycline (Doxy®)- Macrolides: Azithromycine (Azix®)
GAMETOCIDES	Amino-8-quinoléines: Primaquine (Primaquine®).

I-2-3 Plantes utilisées en tant qu'antipaludiques

L'utilisation des plantes dans le traitement du paludisme a montré un intérêt croissant suite à la découverte de la quinine et de l'artémisinine.

Les enquêtes ethnobotaniques et ethnopharmacologiques ont, entre autres permis de recenser des plantes utilisées traditionnellement dans le traitement du paludisme; et bon nombre d'entre elles ont été étudiées puis validées comme possédant des propriétés antipaludiques (tableau II).

Des études ethnobotaniques réalisées dans différents pays d'Afrique de l'Ouest a permis de répertorier plusieurs plantes antipaludiques parmi lesquelles nous avons *Azadiracta indica* (Meliaceae) dont l'extrait aqueux est actif in vivo et ne présente pas de toxicité sur le modèle murin [28].

Nous pouvons citer également *Combretum micranthum* (Combretaceae) et *Khaya senegalensis* (Meliaceae) qui sont utilisées traditionnellement sous forme de décoction dans le traitement du paludisme en Côte d'Ivoire. Les extraits éthanoliques de ces plantes, testés in vitro en comparaison à la chloroquine, ont révélé une action antiplasmodiale,

(CI50 < 50µg/ml) aussi bien sur les souches sensibles que résistantes à la chloroquine [39].

Tableau II : Quelques plantes à activité antipaludique

Noms scientifiques	Familles	Parties utilisées	Références
<i>Ageratum conyzoides</i>	Asteraceae	Feuilles	N'Guessan K. et al. (2009) [41]
<i>Alafia barteri</i>	Apocynaceae	Feuilles, racines	Lasisi, A.A et al. (2012) [44]
<i>Alchornea cordifolia</i>	Euphorbiaceae	Feuilles	Mustofa, 2000 [51]
<i>Azadiracta indica</i>	Meliaceae	Feuilles, écorces	Isah et al. (2003) [28]
<i>Cassia occidentalis</i>	Cesalpiniaceae	Ecorce de racines	Tona L, 1999 [70] Tona L, 201[69]
<i>Cassia siamea</i>	Cesalpiniaceae	Ecorces, feuilles	G.F. Nsonde-Ntandou et al. (2005) [55]
<i>Cassia singueana</i>	Fabaceae	Ecorce de racines	Adzu B, 2003 [1]
<i>Combretum micranthum</i>	Combretaceae	Feuilles	Ancolio et al. (2002) [2]
<i>Croton lobatus</i>	Euphorbiaceae	Tige, feuilles	Weniger et al. (2004) [74]
<i>Gomphrena celooides</i>	Amaranthaceae	Tige, feuilles	Gessler et al. (1994) [26]
<i>Khaya senegalensis</i>	Meliaceae	Ecorce, feuilles	El Tahir et al. (1999) [22]
<i>Morinda morindoides</i>	Rubiaceae	Feuilles	Kamanzi A. et al. (2004) [34]
<i>Nauclea latifolia</i>	Rubiaceae	Racines	Benoit et al. (1998) [14] Azas et al. ((2002) [7]
<i>Pterocarpus erinaceus</i>	Fabaceae	Feuilles	Karou et al. (2003) [27]
<i>Sida acuta</i>	Malvaceae	Plante entière	Karou et al. (2003) [37]
<i>Terminalia macroptera</i>	Combretaceae	Ecorce de racines	Sanon S, 2003 [66]
<i>Tetrapleura tetraptera</i>	Fabaceae	Fruit	J.E. Okokon et al. (2007) [56]
<i>Thalia geniculata</i>	Maranthaceae	Plante entière	Weniger et al. (2004) [74]
<i>Vernonia colorata</i>	Asteraceae	Tige, feuilles	Kraft C, 2003 [43] Benoit F, 1996 [15]
<i>Visnia guineensis</i>	Hypericaceae	Plante	François G, 1999 [23]

I-2-4 Groupes de composés phytochimiques naturels antipaludiques

Les plantes médicinales utilisées traditionnellement comme antipaludiques ont été répertoriées au cours d'enquêtes ethnobotaniques effectuées par de nombreux auteurs. Celles-ci ont permis d'isoler et de mettre en évidence différents composés ou molécules à l'origine de l'activité thérapeutique.

Les molécules actives, isolées des plantes médicinales antipaludiques, peuvent être classées en groupes phytochimiques parmi lesquels, on peut citer :

I-2-4-1 Composés alcaloïdiques naturels antipaludiques

Les composés alcaloïdiques sont des substances azotées, basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative. On distingue diverses classes chimiques : Quinoléine, Isoquino-léine, Indole, Tropane, β -carboline, Morphinane.

Parmi ces molécules, nous pouvons citer la quinine : première molécule issue de la recherche pour le traitement du paludisme. En effet, c'est en 1820 que les pharmaciens Pelletier P.J et Caventou J. B. isolent, pour la première fois, le principe actif de l'écorce de quinquina (la quinine) utilisée dans le traitement de la fièvre et du paludisme [67]. La quinine est un alcaloïde ; elle est toujours utilisée dans le traitement du paludisme, à l'exception de quelques zones en Asie où circulent des souches de *Plasmodium falciparum* de sensibilité réduite. Elle est encore très largement utilisée, que ce soit par voie orale, intraveineuse ou même rectale [9].

Son origine est toujours végétale car son extraction de l'écorce des quinquinas, très riche en produits actifs, est plus simple et moins onéreuse que sa synthèse.

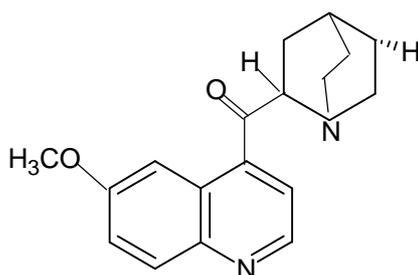


Figure 1: Structure de la Quinine (*Cinchona sp*)

On a également la cryptolépine : alcaloïde indolique isolé de *Cryptolepis sanguinolenta* : une plante grimpante utilisée traditionnellement en Afrique de l'Ouest dans le traitement du paludisme. Cette molécule a été aussi extraite de *Sida acuta* (*Malvaceae*) : une plante possédant des propriétés antipaludiques [26]. L'activité de la cryptolépine a été décrite, pour la première fois, sur la souche multirésistante K1 de *Plasmodium falciparum* puis, confirmée en 2001, sur une souche chloroquinosensible de *Plasmodium falciparum*, avec une concentration inhibitrice CI50 de 0,44 µg/ml [40,78]. Cependant, elle s'est révélée toxique et l'étude de son activité antipaludique n'a pas été poursuivie.

Récemment, des auteurs ont élaboré différentes voies de synthèse permettant la synthèse de 16 analogues de la cryptolépine. L'évaluation de l'activité antipaludique de ces dérivés a montré que six dérivés :

1,2-dichlorocryptolépine, 7-bromo-2-chlorocryptolépine, 7-bromo-2-fluorocryptolépine, 7-bromo-3-chlorocryptolépine, 2,8-dichlorocryptolépine et 2-bromo-7-nitrocryptolépine, avaient de bonne activité antipaludiques (IC₅₀ inférieure à 0,1µM), avec des concentrations inhibitrices dix fois plus faible que celle de la cryptolépine [59].

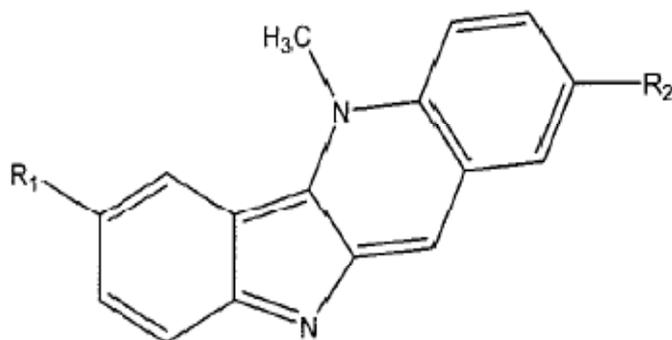


Figure 2 : Structure de la Cryptolépine

- La manzamine fut isolée de plusieurs espèces d'éponges marines trouvées dans les eaux tropicales. La manzamine est un alcaloïde de la classe des β -carboline qui a montré avec un de ces dérivés (la 8-hydroxymanzamine) la capacité de prolonger la survie des souris fortement parasitées par *P. berghei* après une injection intra péritonéale de 50 mg/ml [3].

Puisque toutes les voies de synthèse de la manzamine A sont connues [76], elles pourraient être exploitées pour la synthèse d'autres dérivés à des fins d'études de type structure-activité.

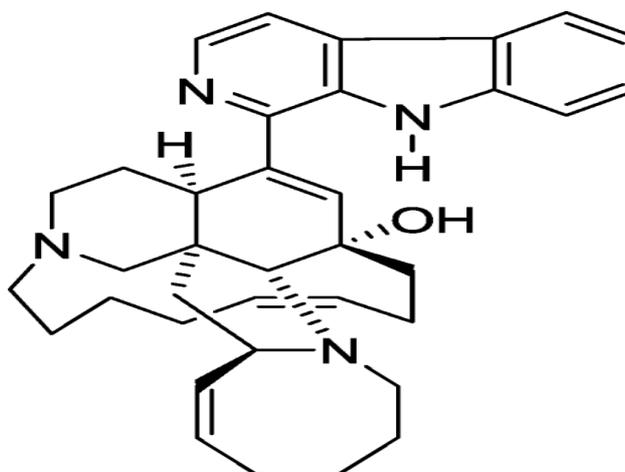


Figure 3: Structure de la Manzamine

-La dioncophylline C : alcaloïde dérivé des naphtylisoquinoléines, fut isolée de diverses espèces de lianes tropicales appartenant aux familles des Dioncophyllaceae et des Ancistrocladaceae. L'étude de l'activité antipaludique de cette molécule ainsi que celle de deux dérivés voisins, la dioncophylline B et le dioncopeltine A, isolés des mêmes espèces, a montré une bonne corrélation entre l'activité antipaludique *in vitro* et *in vivo* [24].

La Dioncophylline C s'est révélée la plus intéressante : à une dose de 50 mg/Kg/j, *in vivo*, elle entraîne, sans effets toxiques apparents, une élimination complète des parasites après quatre jours d'administration par voie orale chez des souris infectées par *Plasmodium berghei*.

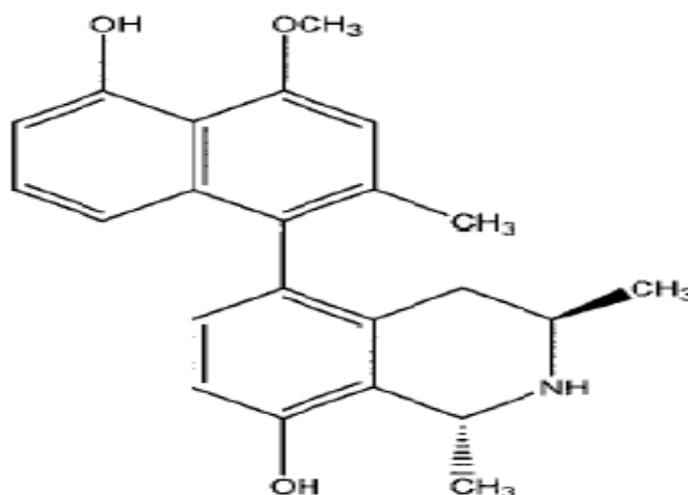


Figure 4 : Structure de la Dioncophylline C

I-2-4-2 Composés phénoliques naturels antipaludiques

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances dont l'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside.

Ce sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique ou/et de celui d'un polyacétate. Des molécules antipaludiques dérivées des composés phénoliques ont été mises en évidence ces dernières années :

- la *Licochalcone A*, flavonoïde (chalcone) isolé à partir des racines de *Glycyrrhiza inflata* [19] a montré une activité antipaludique intéressante ($IC_{50} = 1,8 \mu M$). D'autres études de types structure-activité réalisées sur l'un des dérivés de cette molécule, la 1-(2,5-dichlorophényl)-3-(4-quinolinyl)-2-propène-1-one, ont montré une activité huit fois plus intéressante que la licochalcone A avec une IC_{50} de $0,23 \mu M$.

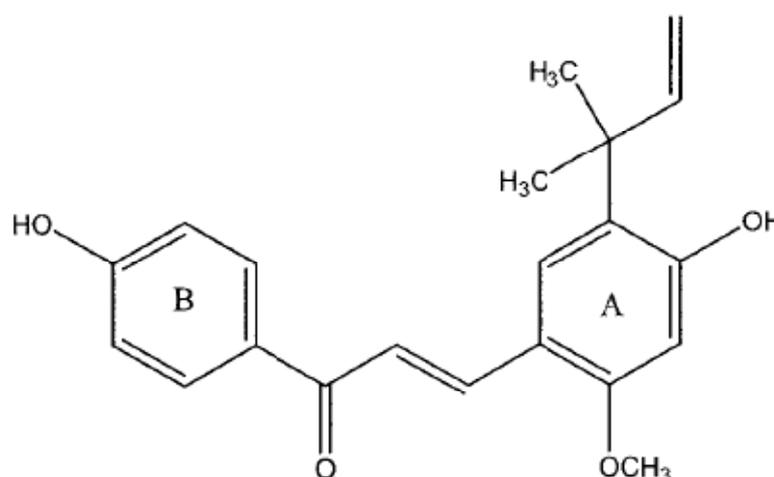


Figure 5 : Structure de la Licochalcone A

-Au cours des années récentes, les propriétés pharmacologiques d'un acide phénolique (l'acide éllagique), ont été explorées. Concernant l'activité antipaludique, des études [71] ont démontré l'inhibition de la croissance de *P. falciparum*, par l'acide ellagique, extrait de la plante *Terminalia calobuxus* originaire de Nouvelle Calédonie, avec une CI_{50} de 103 à 145ng/ml.

Des résultats similaires ont été obtenus par *Banzouzi* [8] pour l'acide ellagique extraite cette fois, d'une plante Ouest Africaine : *Alchornea cordifolia*. *Dell'Agli et al* [21] après expérimentations *in vitro* utilisant la β -hématine, suggèrent que l'acide ellagique, de part sa capacité à former des liaisons π - π , agirait comme les quinoléines en inhibant la détoxification de l'hème.

Les tests *in vivo* de l'acide ellagique sur le modèle murin du paludisme par *Plasmodium vinckei petteri* montrent aussi un bon index thérapeutique (> 4000) sur les souris traitées par voie intrapéritonéale.

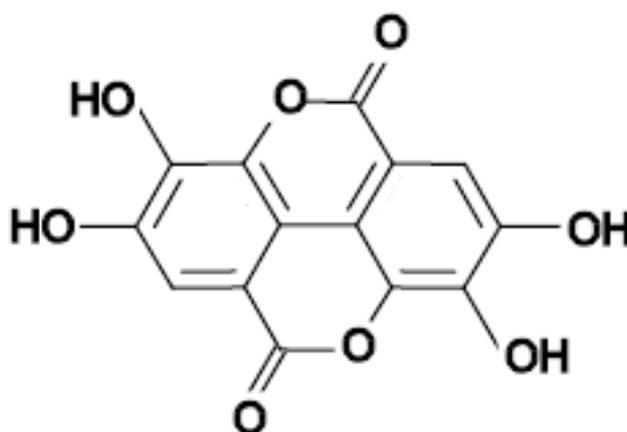


Figure 6 : Structure de l'Acide éllagique

I-2-4-3 Composés terpéniques naturels antipaludiques

Les composés terpéniques sont formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités pentacarbonées ramifiées dérivées du 2-méthylbutadiène. Il s'agit de composés issus de la condensation d'un nombre variable d'unités isopréniques.

La très grande majorité des terpènes sont spécifiques du règne végétal mais on peut en rencontrer chez les animaux : phéromones et hormones juvéniles, diterpènes des organismes marins. Les composés terpéniques se distinguent en monoterpéniques, diterpéniques, triterpéniques et stéroïdes, tétraterpéniques.

La recherche de médicaments antipaludiques a eu un regain d'intérêts suite à la découverte de l'Artémisinine (sesquiterpène lactonique) utilisée actuellement dans le traitement du paludisme.

En effet, c'est à la suite des ravages faits par le paludisme dans les rangs de l'armée nord-vietnamienne que Mao Tsé Toung a mis en route, en 1967, le projet « 523 » qui était un programme secret de recherche sur le traitement du paludisme, basé sur l'étude des traitements de la médecine traditionnelle chinoise [45]. L'Académie de Médecine Traditionnelle Chinoise a confié cette recherche à l'un de ses membres, Youyou TU, jeune pharmacienne ; et c'est à l'issue de ses recherches que la molécule d'artémisinine ou Qinghaosu a été isolée d'*Artemisia annua* sous forme cristalline en 1972. Sa structure chimique a été déterminée en 1975 : c'est un sesquiterpène lactone avec un pont endoperoxyde (pont reliant deux atomes d'oxygène).

Des dérivés semi-synthétiques ont été préparés à partir de la molécule d'artémisine : dihydroartémisinine, artemether, artesunate et arteether. La durée de vie de ces dérivés est nettement inférieure à celle de l'artémisinine (quelques mois pour l'artesunate [27]) et leur efficacité n'est pas sensiblement supérieure à celle de l'artémisine. L'avantage de l'artesunate est d'être hydrosoluble et facilement utilisable par voie intraveineuse.

L'artémisinine a un rôle anti-inflammatoire, antipyrétique et est active sur le *Plasmodium falciparum*.

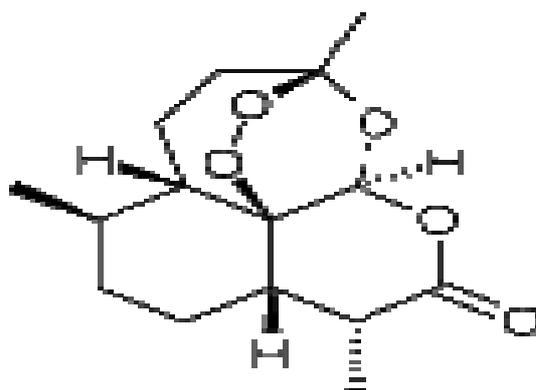


Figure 7: Structure de l'Artémisinine (*Artémisia sp*)

I-2-4-4 Autres composés naturels antipaludiques

D'autres molécules telles que l'axisonitrile-3 et la diisocyanoadociane ont été isolées d'éponges marines. L'activité antimalarique et le mode d'action de ces isonitriles a été rapportée par *Wright et collaborateurs* [77, 79]. Ces travaux ont montré que l'axisonitrile-3 et la diisocyanoadociane interagissent avec la ferriprotoporphyrine du parasite en formant un complexe très solide.

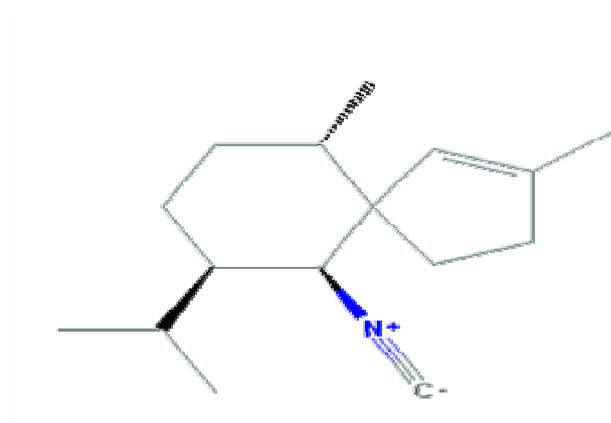


Figure 8 : Structure de l'Axisonitrile

II- Evaluation d'un médicament à base de plantes

En général, le contrôle de qualité des produits à base de plantes prend en compte trois aspects [36,52]:

- ❖ Identification et l'authentification des drogues végétales : paramètres botaniques,
- ❖ Pureté : Absence d'éléments étrangers et de contaminants,
- ❖ Composition qualitative et quantitative.

II-1 Analyse des caractères généraux

II-1-1 Caractères organoleptiques

Le Contrôle des caractères organoleptiques porte sur l'aspect, la couleur, l'odeur et la saveur [63]. Il permet une reconnaissance immédiate de la drogue et peut servir entre autre à vérifier son degré de pureté selon la présence ou non d'éléments étrangers, de moisissures et de détecter d'éventuelles altérations ou falsifications.

Les éléments étrangers se composent :

- Parties étrangères : tout élément qui provient de la plante-mère mais ne constitue pas la drogue,

Matières étrangères : tout élément qui est étranger à la plante-mère, d'origine végétale ou minérale [75]. La présence d'éléments étrangers est appréciée par un examen macroscopique minutieux et on admet généralement un taux maximum de 2% *m/m*. Ceux qui sont destinés à d'autres voies d'administration que la voie orale doivent être conformes à la monographie qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques et des substances pour usage pharmaceutique non stériles de la pharmacopée européenne [62].

Quant aux médicaments à base de plantes présentés sous des formes galéniques devant être stériles (collyres et injectables), ils doivent satisfaire à l'essai de stérilité, c'est-à-dire, ne renfermer aucun micro-organisme.

➤ *L'aspect*

L'analyse porte sur la limpidité et la fluidité des liquides, l'homogénéité des poudres et des produits pâteux, la forme et la dimension des cristaux solides.

➤ *La couleur*

Un changement de couleur peut signaler une altération de la drogue liée à de mauvaises conditions de conservation ou à une péremption.

➤ *L'odeur*

Elle est souvent caractéristique pour les préparations d'origine naturelle. Une odeur anormale permet de déceler une souillure ou une altération.

➤ *La saveur*

Certaines drogues sont caractérisées immédiatement du fait de leur saveur très amère telle que la quinine.

Cet essai doit être pratiqué avec discernement surtout dans le cas de produits toxiques, à goût très prononcé et pour les réceptions en série où la langue finit par s'accoutumer à la saveur.

II-1-2 Etude microscopique

C'est un examen utile pour dissiper un doute ou confirmer une diagnose. Il peut être pratiqué sur des coupes d'organes ou sur une drogue pulvérisée [75].

II-2 Essais physico-chimiques

II-2-1 Détermination des cendres

➤ **Cendres totales**

Les cendres totales constituées de matières minérales, permet d'évaluer le degré de pureté de la plante (une addition, volontaire ou non, de terre ou de sable au moment de la récolte, ou un lavage insuffisant de la matière première, augmentant le taux de cendres), ainsi que de déterminer les agents de fertilisation utilisés durant la culture.

Il est à noter que certaines plantes, riches en minéraux (oxalate de calcium pour certaines Solanacées, silice pour la prêle) présentent un taux de cendres naturellement élevé [75].

➤ **Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique**

Les cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique sont constituées par le résidu obtenu après extraction des cendres sulfuriques ou des cendres totales par l'acide chlorhydrique et rapporté à 100g de drogue [61].

II-2-2 Perte à la dessiccation ou taux d'humidité

Un pourcentage d'eau trop élevé permet à un certain nombre de réactions enzymatiques de se développer, entraînant des conséquences néfastes sur l'aspect des drogues, leurs caractères organoleptiques, leurs propriétés thérapeutiques.

En outre, une humidité résiduelle favorise le développement de microorganismes (bactéries, moisissures, levures) [75].

II-3 Recherche de contaminants

II-3-1 Contaminants microbiologiques

Selon la Pharmacopée Européenne [62], la qualité microbiologique les médicaments à base de plante destinés à une administration par voie orale doit satisfaire aux essais suivants :

- Dénombrement des germes aérobies totaux: 10 000
- Absence d'Escherichia coli.

II-3-2 Résidus de produits phytosanitaires et pesticides

Les produits phytosanitaires sont des substances destinées à être utilisées comme régulateurs de croissance des plantes, comme défoliants, comme agents de dessiccation, ainsi que les substances appliquées sur les cultures, soit avant,

soit après la récolte, pour protéger les produits contre la détérioration durant l'entreposage ou le transport. [75].

Les pesticides sont des substances ou association de substances destinées à repousser, détruire ou combattre les ravageurs et les espèces indésirables de plantes et d'animaux, causant des dommages ou se montrant nuisibles durant la production, la transformation, le stockage ou la mise sur le marché de substances médicinales d'origine végétale.

II-3-3 Recherche des métaux lourds

Les métaux lourds incriminés sont le cadmium, le plomb et le mercure. Les teneurs limites maximales prévues sont, hors exceptions de 5 ppm pour le plomb, de 0,5 ppm pour le Cadmium et de 0,1ppm en ce qui concerne le mercure [75]. Selon la nature et l'origine de la drogue, d'autres métaux lourds peuvent être recherchés : le Cuivre, le Nickel, le Fer, le Zinc, l'Arsenic...

II-3-4 Recherche des substances radioactives

La norme officielle, adoptée par la communauté européenne pour les produits d'origine alimentaire, se situe à un maximum de 600 Bq/kg [75].

II-3-5 Recherche des solvants résiduels

Les médicaments à base de plantes sont préparés à partir d'un nombre limité de solvants parmi lesquels, on trouve : le méthanol, l'isopropanol et plus rarement l'acétone, l'acétate d'éthyle, le n-butanol, l'hexane et l'heptane. Les teneurs en méthanol et en isopropanol doivent généralement rester inférieures à 0.05 % (500 ppm) [75].

II-4 Contrôles galéniques et biogaléniques

II-4-1 Contrôle galénique

Les médicaments, après leur fabrication, subissent toute une série de tests afin d'évaluer la qualité, la sécurité d'emploi et l'efficacité. Ces tests sont réalisés sur des unités de médicaments ou des lots de médicaments choisis de manière aléatoire. L'utilisation ou la commercialisation du lot des médicaments dépend des résultats obtenus.

II-4-1-1 Test d'uniformité de teneur et de masse

Les tests d'uniformité de teneur et de masse visent à s'assurer que les teneurs individuelles en principe actifs et les masses individuelles des comprimés ; (capsules; sachets...) se trouvent dans les limites raisonnables par rapport à la teneur moyenne et à la masse moyenne d'un échantillon d'unités prélevées au hasard [17].

II-4-1-2 Test de dureté

Il est réalisé uniquement sur les comprimés et s'articule autour de deux mesures :

- La mesure de la résistance à la rupture ;
- La mesure de la friabilité des comprimés ou mesure de la résistance à l'effritement.

Ces différents tests permettent de déterminer la capacité, l'aptitude des comprimés à résister plus ou moins aux chocs. Le test est réalisé sur dix comprimés au moyen d'un friabilisateur. Selon le Codex, la perte de masse doit être inférieure à 1%.

II-4-2 Contrôle biogalénique

II-4-2-1 Test de délitement

Selon le Codex, le délitement est l'étape qui précède la dissolution du principe actif contenu dans le comprimé.

L'intérêt de ce test est de savoir si le comprimé peut se désagréger dans le tractus gastro-intestinal en un laps de temps convenable [17,62].

II-4-2-2 Test de dissolution

Il consiste à mesurer la cinétique de dissolution d'un principe actif dans un milieu donné à partir de sa forme galénique.

II-5 Etude de stabilité

Les études de stabilité permettent de maîtriser la variabilité de la qualité des médicaments à base de plantes sous l'action du temps et d'agents extérieurs.

L'appréciation de la stabilité d'un médicament terminé est fondée sur la connaissance de la réactivité chimique et de l'altérabilité du principe actif.

Les études de stabilité seront réalisées dans des conditions de dégradation forcée et aussi en temps réel dans des conditions normales de conservation.

Les études de dégradation forcée constituent une approche de détermination prévisionnelle de la stabilité du principe actif ou du produit fini et ces résultats seront confirmés par les études de la stabilité du médicament terminé en temps réel.

Ces essais portant sur trois lots au minimum doivent prendre en compte les aspects suivants :

- stabilité des principes actifs
- stabilité des caractéristiques essentielles
- conditionnement
- efficacité des conservateurs
- conditions de conservation (température, humidité, lumière).

II-6 Détermination des spécifications phytochimiques

Pour déterminer les spécifications phytochimiques d'un médicament à base de plantes, on utilise une méthode appelée screening phytochimique. Le screening (criblage) phytochimique est un ensemble de procédés analytiques effectués sur une plante ou une partie de plante en vue de mettre en évidence la présence de composés d'intérêt thérapeutique et justifier ou non son emploi.

II-6-1 Recherche des composés alcaloïdiques

II-6-1-1 Extraction

L'extraction des alcaloïdes est basée sur leur différence de solubilité en milieu acide et en milieu alcalin ; ils vont ainsi pouvoir être séparés des autres constituants du végétal qui possèdent les mêmes solubilités quel que soit le pH.

Il existe trois (3) types généraux d'extraction des alcaloïdes :

- Extraction par les solvants organiques non polaires;
- Extraction par les solvants organiques polaires;
- Extraction par l'eau acide [18].

II-6-1-2 Détermination des composés alcaloïdiques

➤ Caractérisation

Les réactions générales de précipitation des alcaloïdes sont fondées sur la capacité qu'ils ont de se combiner aux métaux et aux métalloïdes. Dans la pratique, on emploie une solution iodo-iodurée :

€ **Le réactif de DRAGENDORFF** (tétraiodobismuthate de potassium) : on obtient un précipité rouge orangé;

€ **Le réactif de MAYER** (tétraiodomercurate de potassium) : on obtient un précipité blanc jaunâtre.

Les réactions citées ci-dessus permettent de caractériser la présence des alcaloïdes mais la spécificité de ces réactifs n'est pas absolue. En pratique courante, on utilise la CCM et la CLHP en phase normale ou inverse (avec les solvants de type eau-méthanol ou eau-acétonitrile). La non volatilité de la quasi-totalité des alcaloïdes limite l'usage de la CPG à quelque cas particuliers. Dans le cas de la CCM, les réactifs de Dragendorff et l'iodoplatinate de potassium sont le plus souvent utilisés pour la révélation des plaques [18].

➤ **Dosage**

Le dosage des alcaloïdes totaux se fait, soit par gravimétrie ; soit par spectrophotométrie ou par une méthode volumétrique après leur extraction à l'aide d'une méthode générale (le plus souvent en milieu alcalin) en s'assurant à chaque étape que l'épuisement a été total.

Lorsqu'on veut doser un constituant ou un groupe de constituants dans une drogue déterminée, on a recours à des techniques spectrophotométriques, colorimétriques, fluorimétriques, densitométriques.

II-6-2 Recherche des composés phénoliques

II-6-2-1 Extraction

Les composés phénoliques sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires et leur extraction est généralement obtenue à l'aide d'un alcool ou une solution hydro-alcoolique [18].

II-6-2-2 Détermination des composés phénoliques

➤ Caractérisation

La mise en évidence des composés phénoliques peut se faire par des réactions colorées à l'aide des réactifs généraux des phénols (le chlorure ferrique, le phosphomolybdate-phosphotungstate, la vanilline chlorhydrique...), mais celles-ci sont préférentiellement mises en œuvre après chromatographie d'un extrait éthanolique.

La CCM utilise des mélanges de solvants contenant le plus souvent un acide (acétique, formique) et des supports de type cellulose ou silice ou un mélange des deux et les plaques sont ensuite révélées par les réactifs généraux ou plus spécifiques du composé recherché [18].

Ainsi les flavonoïdes sont révélés par le réactif de NEU composé de deux solutions préparées extemporanément à partir du Natural Product (NP) et du Poly éthylène glycol (PEG).

Les coumarines et les quinones sont révélées par le réactif de Bornträger et on utilise le trichlorure de fer (FeCl_3) pour les tanins.

➤ Dosage

Le dosage des polyphénols totaux se fait par spectrométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu.

On utilise des méthodes chromatographiques telles que HPLC ainsi que des méthodes de détection UV ou coulométrique.

La méthode analytique de choix est la CHLP. Elle est mise en œuvre sur des phases inverses (ex : colonne C18), éluées avec des mélanges d'eau, d'alcools, et/ou d'acétonitrile et d'acide (pour limiter l'ionisation).

II-6-3 Recherche des composés terpéniques

II-6-3-1 Extraction

Les terpénoïdes sont extraits par les solvants apolaires (éther de pétrole, chloroforme, dichlorométhane) et les hétérosides sont extraits par les solvants polaires (l'eau, alcool).

Dans le cas des principes volatiles, l'extraction se fera, soit par distillation dans la vapeur d'eau de plantes à essence ou de certains de leurs organes, soit par expression [18].

II-6-3-2 Détermination des composés terpéniques

➤ Caractérisation

La méthode utilisée le plus souvent est la CCM. Pour la révélation des plaques, on peut utiliser les réactifs suivants : vanilline sulfurique ou l'ansal-déhyde sulfurique pour les composés terpéniques de façon globale.

En ce qui concerne les groupes de composés terpéniques, on utilise : le réactif de Liebermann pour caractériser les triterpènes et stéroïdes, la vanilline sulfurique pour les principes amers, l'acide chlorhydrique et l'acide acétique pour les iridoïdes. On utilise la vanilline sulfurique pour caractériser les saponosides tandis que les cardiotoniques sont révélés au moyen de l'acide sulfurique.

➤ Dosage

Le dosage des terpènes se fait par spectrométrie de masse ou par chromatographie en phase gazeuse.



**Deuxième Partie :
Etude expérimentale**

Cadre de l'étude

Notre étude a porté sur l'élaboration des spécifications analytiques (caractères organoleptiques, physico-chimiques et phytochimiques) d'un médicament à base de plantes "Diè Kouadio" utilisé dans le traitement du paludisme et vendu en officine de pharmacie. L'étude a été réalisée sur une période de 6 mois (Février- Juillet 2012) conjointement dans les laboratoires suivants :

- Laboratoire de Chimie Analytique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ;
- Laboratoire de Contrôle du Médicament (LCM) du Laboratoire National de la Santé Publique (LNSP);
- Laboratoire d'analyses de PETRO-CI (zone industrielle de Yopougon).

I- Matériel et méthodes

I-1 Matériel

I-1-1 Echantillonnage

Notre échantillonnage est constitué de 4 lots du phytomédicament "DIE Kouadio" provenant du même fabricant.

En effet, le Diè Kouadio est un mélange à base de trois drogues végétales :

- feuilles et écorces de Neem (*Azadiracta indica*);
- feuilles de kinkéliba (*Combretum micranthum*);
- feuilles et écorces de khaya (*Khaya senegalensis*).

Le "DIE Kouadio" est présenté sous forme de gélules et utilisé dans le traitement du paludisme en Côte d'ivoire.

- Les lots 1 (2009) et 2 (2010) sont des échantillons reçus au laboratoire de Chimie Analytique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques pour analyse;
- Les lots 3 (2011) et 4 (2012) proviennent d'une officine de pharmacie du district d'Abidjan.

Nous avons choisi de travailler sur des lots ayant des périodes de production différentes pour mieux apprécier la variabilité des paramètres d'analyse.

I-1-2 Matériel de laboratoire

I-1-2-1 Appareillage

- Balance analytique Sartorius BP 221 S ;
- Bain marie PRECISTREM SELECTA ;
- Evaporateur rotatif Rotavapor ;
- Microscope électronique à balayage (MEB FEG Supra 40 VP Zeiss) ;
- Chauffe ballon avec régulateur de température ;
- Dessiccateur avec gel de silice anhydre DUOBLOC SCIENTIFIQUE ;
- Etuve SELECTA ;
- Dispositif pour chromatographie sur couche mince (cuve en verre 20X20X10cm, pulvérisateur, Lampe de WOOD).

I-1-2-2 Verrerie et autre matériel de laboratoire

- Ballons à fond rond en pyrex et à colle rodé 250ml ;
- Fioles ;
- Entonnoirs ;
- Papier filtre de type WHATSMAN ;
- Spatules ;
- Tubes à essai ;
- Eprouvettes graduées 10 et 50ml ;
- Micropipettes et embouts ;

- Béchers;
- Erlenmeyers.

I-1-2-3 Produits et réactifs chimiques

I-1-2-3-1 Produits chimiques

Tous les produits chimiques utilisés sont de qualité analytique :

- Acide acétique glacial PROLABO®
- Acide chlorhydrique SCHARLAU®
- Acide formique
- Acide sulfurique PROLABO®
- Ammoniac PANREAC®
- Anhydride acétique PROLABO®
- Anisaldéhyde PROLABO®
- Butanol MERCK®
- Chloroforme PROLABO®
- Chlorure de fer III PROLABO®
- Dichlorométhane PROLABO®
- Diéthylamine MACALAI
- Ethanol pur PROLABO®
- Ether diéthylique
- Fast Blue B MERCK®
- Formiate d'éthyle
- Hexa chloroplatinate d'hydrogène PANREAC®
- Iodure de potassium PROLABO®
- Méthanol PANREAC®
- Pastilles de soude IJC ®
- Polyéthylène glycol 4000
- Potassium hydroxyde PROLABO®
- Toluène MERCK®

- Vanilline MERCK®.

I-1-2-3-2 Réactifs de travail

➤ **Réactif de Dragendorff**

Solution 1 : Dissoudre 1,7g de nitrate de bismuth basique et 20g d'acide tartrique dans 80 ml d'eau.

Solution 2 : Dissoudre 16g d'iodure de potassium dans 40 ml d'eau.

Solution de réserve : Mélanger des volumes égaux de solution 1 et 2.

La solution de réserve se conserve plusieurs mois au réfrigérateur.

Solution de vaporisation : Dissoudre 10g d'acide tartrique dans 50 ml d'eau et ajouter cette solution à la solution de réserve.

➤ **Fast Blue B**

- Solution à vaporiser 1 : Solution fraîchement préparée de sel de bleu solide B (à 0,5 % dans 1l d'eau).
- Solution à vaporiser 2 : Solution de soude 0,1 mol/l.
- Vaporiser successivement avec 1 puis avec 2.

➤ **Trichlorure de Fer**

Solution de chlorure de fer(III) (5% dans l'acide chlorhydrique 0,5 mol/l).

➤ **Vanilline Sulfurique**

- Solution 1 : solution éthanolique à 5% d'acide sulfurique.
- Solution 2 : solution éthanolique à 1% de vanilline.
- La plaque est vaporisée vigoureusement avec 5ml de la solution 1, suivie immédiatement par 5 ml de la solution 2.

➤ **Réactif de NEU**

- Solution1: Solution méthanolique à 1% de diphenylboryloxyethanolamine (Natural Product).
- Solution 2 : Solution éthanolique à 5% de Polyéthylèneglycol (PEG) 4000.

La plaque est vaporisée avec 10 ml de la solution 1, suivie immédiatement de 8 ml de la solution 2.

➤ **Réactif de Borntrager**

Solution éthanolique à 10% d'hydroxyde de potassium.

➤ **Réactif de Libermann Burchard**

Préparer à basse température et juste avant emploi une solution de 5ml d'anhydride acétique, 5 ml d'acide sulfurique concentré et 50 ml d'éthanol 95%. Après pulvérisation, chauffer la plaque de CCM à 110°C pendant 10 minutes. Les composés révélés présentent une fluorescence à 366 nm.

I-1-2-3-3- substances de référence

- Acétate d'éthyle
- Acide gallique
- Acide ursolique
- Aloïne
- α pinène
- Artémisinine
- Atropine
- β carotène
- β sitostérol
- Caryophyllène

- Codéine
- Coumarine
- Digitoxine
- Glycyrrhizine
- Linalol
- Quinine
- Quercétine
- Rutine
- Tanin
- Yohimbine

I-2 Méthodes

I-2-1 Détermination des caractères organoleptiques

On procède à une analyse sensorielle qui est basée sur la perception des différents paramètres suivants:

- La *couleur* : appréciée par l'œil ;
- L'*aspect* : on évalue l'homogénéité ou l'hétérogénéité;
- L'*odeur* : perçue en s'inspirant de certaines substances volatiles ;
- Le *goût ou saveur* : acide, aigre, amer, astringent, salé ou sucré.

I-2-2 Essais physico-chimiques

I-2-2-1 Taux d'humidité

- Principe

La détermination du taux d'humidité est basée sur la perte à la dessiccation exprimée en pourcentage m/m [61].

- Mode opératoire

Dans une capsule à fond plat d'un diamètre de 50mm et d'une hauteur d'environ 30mm, peser 0,5g de poudre.

Dessécher à l'étuve (100-105°C) pendant 3h. Laisser refroidir dans un dessiccateur contenant du gel de silice anhydre, puis peser. Exprimer le résultat en pourcentage (m/m) [61].

- Méthode de calcul

$$H(\%) = \frac{mf}{mi} \times 100$$

H : taux d'humidité

mi : masse initiale

mf : masse finale

I-2-2-2 Détermination des éléments minéraux

➤ Détermination des cendres totales

- Principe

Il consiste à éliminer la matière organique par carbonisation en vue d'obtenir un résidu constitué de minéraux.

- Mode opératoire

Chauffer au rouge un creuset de silice pendant 30 mn. Laisser refroidir dans un dessiccateur, puis peser. Sauf indication contraire, introduire dans le creuset 1,00g de poudre.

Dessécher pendant 1h à 100- 105°C, puis incinérer dans un four à moufle, à une température de $600 \pm 25^\circ\text{C}$.

- Méthode de calcul

$$C_t = (m_i - m_f) \times 100$$

C_t : Cendres totales

m_i : masse initiale

m_f : masse finale

L'échantillon ne doit s'enflammer à aucun moment de l'opération. Continuer l'incinération jusqu'à masse constante. Après chaque incinération, laisser refroidir le creuset au dessiccateur. Si les cendres contiennent encore des particules noires, après une incinération prolongée, les reprendre à l'eau chaude et filtrer sur un filtre sans cendre. Incinérer à nouveau le résidu avec le filtre. Réunir le filtrat et les cendres, évaporer prudemment à siccité et incinérer jusqu'à masse constante [62].

➤ **Dosage des minéraux**

L'appareil utilisé dans le cadre de cette analyse est le MEB/EDS. Il s'agit d'un microscope électronique à balayage, équipé d'un détecteur de rayons-x relié à une plateforme de microanalyse EDS.

- Principe de détection des rayons -X

C'est la méthode de la Spectrométrie à Diffusion d'Energies (EDS).

Les rayons-X émis dépendent de la nature de l'échantillon.

Pour identifier la composition chimique des éléments minéraux, effectue une mesure de l'énergie de transition des électrons au niveau des nuages électroniques des séries K, L et M des atomes de la cendre.

L'appareil donne les résultats en pourcentage (m/m) de cendres qui sont ramenés en pourcentage (m/m) de l'échantillon.

- Mode opératoire

- Prélever environ 10 mg du résidu de l'échantillon de cendre;

- Etaler le résidu sur un plot apprêté avec du carbone adhésif à double faces. La répartition sur le plot doit être le plus homogène possible ;

- Fixer le plot sur le porte objet du MEB/EDS (porte objet à 1 plot, porte objet à 8 plots) ;
- Monter le porte objet d'échantillon prêt sur la platine de la chambre du MEB pour la Microanalyse-RX (EDS).

I-2-3 Détermination des paramètres phytochimiques

I-2-3-1 Recherche des groupes phytochimiques

I-2-3-1-1 Principe

La méthode de recherche est basée sur le principe de la chromatographie sur couche mince décrite par *Wagner et al* [72].

I-2-3-1-2 Mode opératoire

➤ **Méthodes d'extraction**

- *Extraction des composés alcaloïdiques,*
 - Peser 2g de poudre,
 - Humidifier avec 2 ml d'une solution d'ammoniac à 10%,
 - Ajouter 10 ml de méthanol sur l'extrait et porter au bain marie pendant 10 mn ; puis filtrer sur papier filtre Whattman.
- *Extraction des composés polaires (composés phénoliques, principes amères)*
 - Peser 2 g de poudre,
 - Chauffer à reflux avec 20 ml de méthanol pendant 10mn, puis filtrer sur papier filtre Whattman,
 - Concentrer le filtrat.
- *Extraction des composés apolaires (composés terpéniques, coumarines, phénols acides)*
 - Peser 2g de poudre ;

- Chauffer à reflux avec 20 ml de dichlorométhane pendant 15 mn, puis filtrer sur papier filtre Whattman ;
- Evaporer le filtrat à sec, puis reprendre le résidu avec 1 ml de toluène.
 - *Extraction des saponosides*
- Peser 2g de poudre ;
- Chauffer à reflux avec 20 ml de méthanol pendant 10mn, puis filtrer sur papier filtre Whattman ;
- Concentrer le filtrat à 2 ml, puis ajouter 1 ml d'eau ;
- Extraire avec 6 ml de n-butanol saturé avec de l'eau.
 - *Extraction des cardiotoniques*
- Peser 2g de poudre ;
- Chauffer à reflux avec 10 ml de méthanol 50% et 20ml acétate de plomb 10% pendant 10 mn, puis filtrer sur papier filtre Whattman ;
- Extraire deux fois avec 20 ml de dichlorométhane ;
- Evaporer à sec les extraits dichlorométhaniques, puis reprendre le résidu avec 1 ml d'un mélange dichlorométhane-méthanol (1/1).

➤ **Conditions chromatographiques sur couche mince**

Les différentes conditions opératoires sont répertoriées dans les tableaux suivants :

Tableau III : Recherche des grands groupes phytochimiques par CCM

	Phase mobile	Témoins	Révélation	Interprétation (réaction positive)
Composés alcaloïdiques	Toluène / acétate d'éthyle / diéthylamine (70 / 20 / 10)	Mélange 1 (papavérine, atropine yohimbine, quinine, codéine)	Réactif de DRAGENDORF puis 5% de nitrite de sodium	Tâche brune, orangée
Composés phénoliques	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8)	Mélange 2 (acide gallique, quercétine, rutine, aloïne, coumarine, tanin)	FeCl ₃ / HCl (5%)	Tâche grise, bleue, bleu- violette et rouge- marron
Composés terpéniques	Toluène / acétate d'éthyle (93 / 7)	Mélange 3 (linalol, α-pinène, caryophyllène, artémisinine, β- sitostérol, digitoxine, β-carotène)	Vanilline sulfurique ; Chauffage à 110°C	Tâche bleue, verte, violette rouge, marron

Tableau IV: Recherche des groupes de composés phénoliques par CCM

	Phase mobile	Témoins	Révélation	Interprétation (réaction positive)
Flavonoïdes Phénols acides	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8)	Acide gallique, quercétine, rutine,	Réactif de NEU (NP/ PEG) UV 365 nm	- Tache orange, jaune-vert, verte (flavone, flavonol, flavanone) - Fluorescence bleue (phénol acide carboxylique)
Anthocyanes	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8)	-	Visible	Tache jaune, rouge à bleu-violet,
Tanins	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8)	Tanin	FeCl ₃ / H ₂ O Visible	- Tache bleue sombre (tanins galliques) - Tache brune verdâtre (tanins condensés)
Coumarines	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8)	Coumarine	Réactif de BORNTRÄGER UV 365nm	Fluorescence bleue
Quinones	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8)	Aloïne	Réactif de BORNTRÄGER UV 365nm	Fluorescence rouge, jaune

Tableau V: Recherche des groupes de composés terpéniques par CCM

	Phase mobile	Témoins	Révélation	Interprétation (réaction positive)
Triterpènes et stéroïdes	Toluène- acétate d'éthyle (93- 7)	Acide ursolique, β - sitostérol, glycyrrhizine, digitoxine	Réactif de Liebermann UV 365nm	- Bleue, bleu-vert
Iridoides	Toluène- acétate d'éthyle (75- 25)	–	HCl / acide acétique visible	-Bleu, bleu-noir - Marron clair à sombre
Saponosides	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8)	Glycyrrhizine,	Vanilline sulfurique Chauffage à 110°C / visible	- Bleu, bleu-violet - Rouge ou jaune marron
Cardiotoniques	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8)	Digitoxine	H ₂ SO ₄ , UV 365 nm	- Bleu, marron, vert, jaunâtre

I-2-3-2 Dosage des polyphénols totaux

I-2-3-2-1 Principe

Le dosage est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu (mélange d'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique) pour donner un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 750 nm. Elle est proportionnelle au taux de composés phénoliques en équivalent d'acide gallique.

I-2-3-2-2 Mode opératoire

✓ *Préparation des solutions étalons*

Dans des fioles jaugées de 100ml, prélever 1 ; 2 ; 3 ; 5 ml d'une solution d'acide gallique (500 mg/l) et compléter au volume avec de l'eau. Nous obtiendrons une gamme de solutions à 50 ; 100 ; 150 et 250 mg/l.

✓ *Dosage*

Dans une fiole jaugée de 100 ml, introduire en respectant l'ordre suivant :

- 1ml d'extrait ou de solution étalon ;
- 50 ml d'eau distillée ;
- 5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu,
- 20 ml de solution de carbonate de calcium.

Porter à 100 ml avec l'eau distillée. Agiter pour homogénéiser. Attendre 30 mn pour avoir une stabilisation de la réaction.

Déterminer l'absorbance à 750 nm par rapport à un blanc.

I-2-3-2-3 Expression des résultats

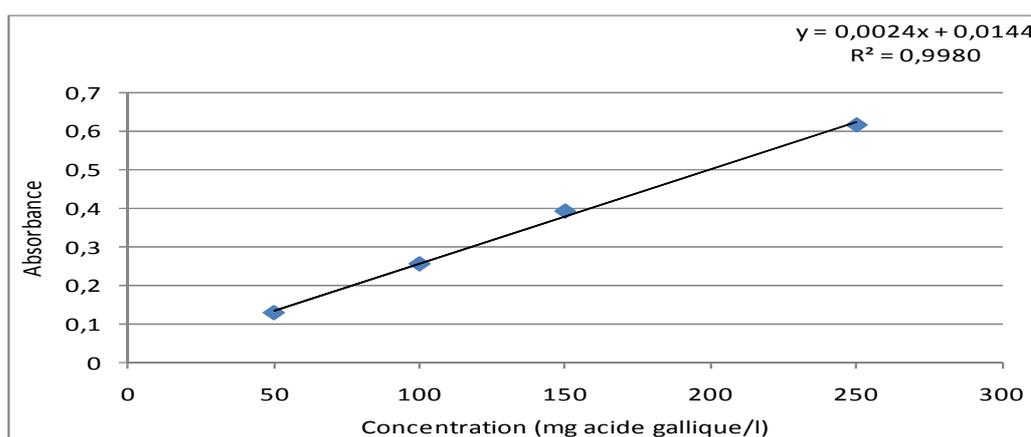


Figure 9 : Courbe de la gamme étalon de la concentration en polyphénols totaux

$$C_{PT} = (A - 0,0144) / 2,4$$

C_{PT} : concentration en polyphénols totaux (g d'acide gallique / 100g de poudre)

A : absorbance



Résultats

II-1 Caractères organoleptiques

Tableau VI : caractères organoleptiques des différents lots de "Diè Kouadio"

Paramètres	Lot 1(2009)	Lot 2(2010)	Lot 3 (2011)	Lot 4 (2012)
Couleur	Vert-brun	Vert-brun	Vert-brun	Vert-brun
Odeur	Forte	Forte	Forte	Forte
Saveur	Très amère	Très amère	Très amère	Très amère
Aspect	Poudre avec de fins fragments			

Les caractères organoleptiques restent inchangés d'un lot à un autre.

II-2 Essais physico-chimiques

II-2-1 Taux d'humidité

Tableau VII : Taux d'humidité dans les différents lots de produits analysés

	Lot 1 (2009)		Lot 2 (2010)		Lot 3 (2011)		Lot 4 (2012)	
Taux d'humidité (%)	7,49		6,98		4,45		6,40	
	7,60	7,57	6,95	6,94	4,49	4,54	6,31	6,36
	7,62		6,89		4,68		6,37	
Ecart type	0,07		0,04		0,12		0,04	

De façon générale, nous constatons que le taux d'humidité varie d'un lot à un autre et le lot 3 présente un très faible taux d'humidité.

II-2-2 Cendres totales et minéraux

II-2-2-1 Cendres totales

Tableau VIII : Teneur en cendres totales des différents lots de "Diè Kouadio"

	Lot 1(2009)		Lot 2(2010)		Lot 3(2011)		Lot 4(2012)	
Cendres totales (%)	10,66	10,61	10,22	10,22	7,36	7,43	7,26	7,23
	10,55		10,26		7,49		7,21	
	10,62		10,18		7,44		7,22	
Ecart type	0,05		0,04		0,06		0,03	

La teneur en cendres totales varie d'un lot à un autre mais les valeurs sont proches deux à deux (lots 1 et 2 ; lots 3 et 4).

II-2-2-2 Minéraux

Tableau IX : Teneur en minéraux des différents lots de "Diè Kouadio"

Minéraux	Lot1(2009)	Lot2(2010)	Lot3(2011)	Lot4(2012)	Moyenne	Ecart type
Sodium (Na)	0,003	0,003	0,004	0,002	0,003	0,001
Magnésium (Mg) (%)	0,078	0,08	0,112	0,043	0,078	0,028
Aluminium (Al) (%)	0,015	0,016	0,013	0,005	0,012	0,005
Silicium (Si)	0,051	0,061	0,05	0,016	0,045	0,020
Phosphore (P) (%)	0,021	0,022	0,041	0,015	0,025	0,011
Soufre (S)	0,007	0,008	0,008	0,004	0,007	0,002
Chlore (Cl)	0,03	0,034	0,045	0,024	0,033	0,009
Potassium (K) (%)	0,074	0,077	0,3	0,113	0,141	0,107
Calcium (Ca) (%)	0,3	0,321	0,604	0,3	0,381	0,149
Titane (Ti)	0,002	0,002	0,002	0,001	0,002	0,0005
Manganèse (Mn) (%)	0,006	0,005	0,007	0,004	0,005	0,001
Fer (Fe) (%)	0,009	0,013	0,01	0,003	0,009	0,004

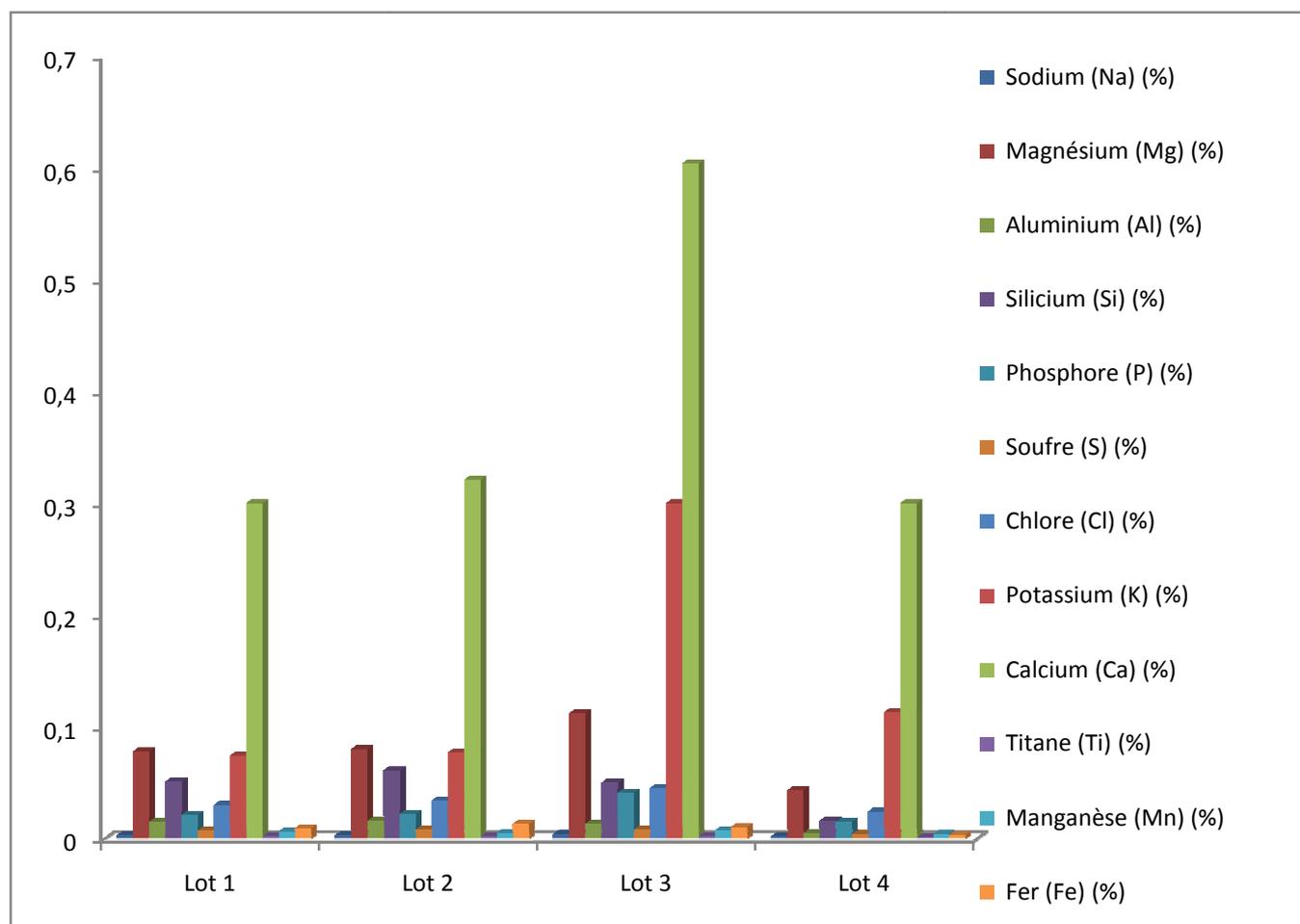


Figure 10 : Teneur en minéraux des différents lots du phytomédicament "Diè Kouadio"

Les lots 1 ; 2 et 4 présentent sensiblement la même concentration en minéraux tandis qu'au niveau du lot 3 les concentrations sont très élevées.

II-3 Paramètres phytochimiques

II-3-1 Recherche des composés phytochimiques

II-3-1-1 Recherche des grands groupes phytochimiques

Tableau X : Recherche des grands groupes phytochimiques par CCM

	Lot1(2009)	Lot2(2010)	Lot3(2011)	Lot4(2012)
Composés alcaloïdiques	±	±	±	±
Composés phénoliques	+++	+++	+++	+++
Composés terpéniques	++	++	++	+++

(-) = Absence ; (±) = Traces ; (+) = Peu abondant ; (++) = Abondant ; (+++) = Très abondant

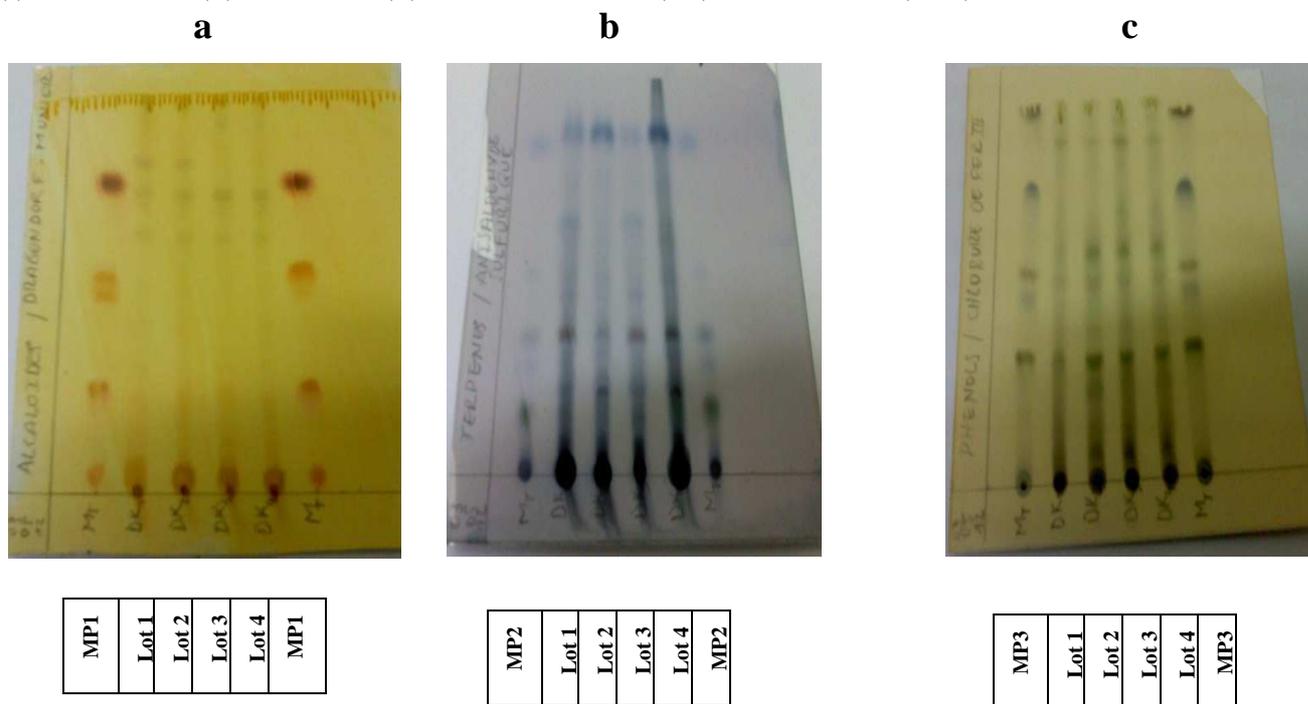


Figure 11 : Chromatogramme CCM des grands groupes phytochimiques

a) Composés alcaloïdiques, b) Composés phénoliques, c) Composés terpéniques

L'observation du tableau et des différents chromatogrammes permet de dire que les composés phénoliques sont très abondants dans les échantillons analysés, les composés terpéniques sont peu abondant et des alcaloïdes à l'état de traces dans tous les lots de phytomédicament.

II-3-1-2 Recherche des groupes de composés phytochimiques

➤ Recherche des composés phénoliques

Tableau XI : Recherche des groupes de composés phénoliques par CCM

	Lot1(2009)	Lot2(2010)	Lot3(2011)	Lot4(2012)
Acides phénols	++	++	++	++
Flavonoïdes	+	++	++	++
Tanins	+	++	++	++
Anthocyanes	-	-	-	-
Coumarines	+	+	+	+
Quinones	++	++	++	++

(-) = Absence ; (±) = Traces ; (+) = Peu abondant ; (++) = Abondant ; (+++) = Très abondant

Les composés phénoliques sont abondants dans les échantillons de médicament et se distinguent en flavonoïdes, tanins, quinones et coumarines.

Nous constatons que les flavonoïdes et les tanins sont peu abondants au niveau du lot 1 et plus abondants au niveau des lots 2, 3 et 4. En ce qui concerne les acides phénols, coumarines et les quinones, il n'y a pas de variation de leur abondance dans tous les lots de phytomédicament quelle que soit la période de production.

On note une absence d'anthocyanes.

➤ Recherche des composés terpéniques

Tableau XII : Recherche des groupes de composés terpéniques par CCM

	Lot 1(2009)	Lot 2(2010)	Lot 3(2011)	Lot 4(2012)
Stérols et triterpènes	++	++	++	+++
Iridoides	-	-	-	-
Saponosides	-	-	-	-
Cardiotoniques	-	-	-	-

(-) = Absence ; (±) = Traces ; (+) = Peu abondant ; (++) = Abondant ; (+++) = Très abondant

Les composés terpéniques sont présents dans les différents lots de phytomédicaments et sont représentés par les stérols et triterpènes, très abondants au niveau du lot 4.

Il n'ya pratiquement pas de variation de la composition en composés terpéniques d'un lot à un autre.

On note une absence de saponosides, de cardiotoniques et d'iridoides.

II-3-2 Analyse quantitative: dosage des polyphénols totaux

Tableau XIII : Teneur en polyphénols totaux des différents lots de "Diè Kouadio"

	Lot 1(2009)		Lot 2(2010)		Lot 3(2011)		Lot 4(2012)	
Polyphénols	0,090		0,096		0,085		0,106	
totaux (g/100g	0,094	0,093	0,088	0,093	0,090	0,089	0,098	0,102
de poudre)	0,095		0,095		0,092		0,102	
Ecart type	0,0026		0,0044		0,0036		0,0040	

Les teneurs moyennes en polyphénols totaux sont identiques au niveau des lots 1 et 2, cependant on note une légère variation au niveau des lots 3 et 4 avec une valeur moyenne peu faible au niveau du lot 3.

On note variation relative de la teneur en polyphénols totaux d'un lot à un autre.



Discussions

Le "Diè Kouadio" est un médicament à base de drogues végétales utilisé dans le traitement du paludisme, présenté sous forme de gélule et commercialisé dans des officines de pharmacie en Côte d'Ivoire.

En vue de définir les spécifications organoleptiques, physico-chimiques et phytochimiques, nous avons travaillé sur 4 lots de phytomédicament produits respectivement en 2009, 2010, 2011 et 2012.

Les lots 1 et 2 (lot 1-2009 et lot 2-2010) étaient soumis au laboratoire de Chimie Analytique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques pour analyse et les lots 3 et 4 (lot 3-2011 et lot 4-2012) ont été obtenus en officine de pharmacie du district d'Abidjan.

En effet, le "Diè Kouadio" est un produit à base d'un mélange de trois drogues végétales à savoir:

- Les feuilles de Neem (*Azadiracta indica*) dont l'activité antipaludique a été décrite et testée sur le *plasmodium* [28, 50].
- L'écorce de khaya (*Khaya senegalensis*) qui présente une activité antipaludique contre *Plasmodium falciparum* 3D7, sensible à la chloroquine et contre *Plasmodium falciparum* Dd2 résistant à la chloroquine [22,54]. Le *Khaya* est connu pour ses propriétés antipaludiques et fébrifuges [6].

Par ailleurs le khaya possède des propriétés anti-inflammatoires et hypothermisantes [46, 68, 47] qui pourraient intervenir de façon synergique dans le traitement du paludisme.

- Et les feuilles de kinkéliba (*Combretum micranthum*) dont l'activité antipaludique a déjà été décrite [2,15].

III-1 Caractères organoleptiques

L'analyse des caractères organoleptiques montre que les paramètres : couleur, aspect, odeur et saveur restent inchangés ; c'est-à-dire qu'ils ne varient pas d'un lot à un autre quelle que soit la période de production du phytomédicament. Le principe actif végétal de "Diè Kouadio" est sous forme de poudre de couleur vert-brun avec de très fins fragments, ayant une forte odeur végétale et de saveur très amère qui pourrait justifier la présentation sous forme de gélule.

On constate que la couleur des poudres de "Diè Kouadio" reflète la composition en drogues végétales du mélange. La détermination des paramètres organoleptiques pourrait constituer de ce fait, un paramètre de contrôle de qualité du médicament, car ils restent inchangés quelque soit l'état du médicament (le lot 1 étant périmé).

Il n'ya donc pas de variation des paramètres organoleptiques d'un lot à un autre.

III-2 Essais physico-chimiques

III-2-1 Le taux d'humidité

Le taux d'humidité pour la plupart des lots (1,2, et 4) oscille entre 6,4 % et 7,5% ; par contre, on observe une valeur nettement faible qui avoisine 4,5% pour le lot 3. Cette variation peut être le fait d'une étape complémentaire dans le procédé de dessiccation au cours de la production du phytomédicament en 2011.

Nous pouvons dire que les valeurs obtenues sont acceptables même si elles ne sont pas stables, compte tenu du fait que le taux d'humidité n'excède pas 10%.

Cependant, la valeur 10% représente le taux limite d'humidité pour la monographie de certaines drogues végétales de la Pharmacopée Européenne 6ème édition [62].

Dès lors ; la conservation des échantillons ou médicaments pourrait se faire sans risque de contamination par les micro-organismes car plus le taux d'humidité est élevé plus la probabilité de souillure de la préparation par des germes est grande.

III-2-2 Cendres totales et minéraux

Les valeurs de cendres totales que nous avons obtenues après analyse des 4 lots de phytomédicaments oscillent entre 7,23% et 10,61% (tableau X).

Nous avons constaté que la teneur en cendres totales est plus importante au niveau des anciens lots (lots 1 et 2) et faible au niveau des lots produits récemment (lots 3 et 4) indiquant une altération du phytomédicament par dégradation de la matière organique dans le temps. Les éléments minéraux contenus dans nos échantillons de médicaments et qui ont été détectés par la méthode d'analyse (MEB) sont : le sodium, le magnésium, l'aluminium, le silicium, le phosphore, le soufre, le chlore, le potassium, le calcium, le titane, le manganèse et le fer.

Le calcium est le minéral le plus abondant dans nos échantillons de médicament; viennent ensuite, le potassium et le magnésium.

En ce qui concerne les minéraux, ils sont tous présents dans tous les lots de phytomédicaments et leur concentration ne varie pratiquement pas d'un lot à un autre en dehors du lot 3 où elle est très élevée atteignant parfois le double de la valeur du même minéral dans les autres lots.

Dans les résultats, nous avons constaté que le lot 3 avait le plus faible taux d'humidité et, inversement, il présente la plus forte concentration en minéraux. Notons également que les écorces de *Khaya senegalensis* sont riches en minéraux [53]. On retrouve aussi les mêmes minéraux dans *Azadiracta indica* *Combretum micranthum* [5, 31,50].

Nous savons que les minéraux jouent un rôle très important dans l'organisme et s'ils sont retrouvés en quantité importante dans un produit destiné

à être administré tel quel, ce dernier pourrait être utilisé comme complément alimentaire en plus de ses propriétés thérapeutiques.

La composition minérale du "Diè Kouadio" reflète la composition en éléments minéraux des drogues végétales du mélange.

III-2-3 Analyse phytochimique

La détermination des caractéristiques phytochimiques est essentielle pour les phytomédicaments, car le "Diè Kouadio" est un médicament à base de drogues végétales et les allégations d'effet antipaludique doivent être définies par ses caractéristiques qualitatives et quantitatives en composés phytochimiques.

III-2-3-1 Analyse qualitative phytochimique

La détermination qualitative des caractéristiques phytochimiques était basée sur la méthode de screening phytochimique de Wagner et Bladt [72].

- Composés alcaloïdiques

La recherche globale des composés alcaloïdiques par CCM révèle une quasi-absence (figure 11a et tableau XII) de composés alcaloïdiques (sous forme de trace) dans tous les lots de phytomédicaments.

Il n'y a pas de variation de la teneur en alcaloïdes d'un lot à un autre quelle que soit la période de production du phytomédicament. Cette très faible présence de composés alcaloïdiques est en accord avec la composition en drogues végétales utilisée qui sont elles mêmes dépourvues d'alcaloïdes types.

En effet, les écorces de *Khaya senegalensis* et les feuilles d'*Azadiracta indica* ne contiennent pas d'alcaloïdes [29,48] ; de ce fait, les traces d'alcaloïdes dans le phytomédicament sont certainement dues à la présence des feuilles de *Combretum micranthum* [11, 12, 20, 57, 60,73].

On peut dire que l'activité antipaludique du phytomédicament "Dié Kouadio" n'est pas liée aux alcaloïdes. Cependant, il existe de nombreux composés phytochimiques antipaludiques qui sont des dérivés alcaloïdiques (quinine, cryptolépine, dioncophylline C, manzamine) [3, 9, 24, 40, 59, 67, 76, 80].

La quasi-absence d'alcaloïdes dans nos échantillons de "Dié Kouadio" pourrait constituer un paramètre spécifique de contrôle de qualité du phytomédicament en vue de détecter d'éventuelles falsifications ou ajouts frauduleux.

- *Les composés phénoliques*

La recherche globale des composés phénoliques par CCM a révélé une présence très abondante (tableau XII) de composés phénoliques dans tous les lots de phytomédicaments avec des profils chromatographiques similaires (figure 9b). L'analyse spécifique (tableau XIII) a permis de caractériser des acides phénols, flavonoïdes, coumarines, tanins, quinones et de mettre en évidence l'absence d'anthocyanes dans les 4 lots du phytomédicament.

On pourrait dire également qu'il n'y a pas de variation de la composition en éléments phytochimiques d'un lot à un autre.

Cette abondance de composés phénoliques est en accord avec la composition en drogues végétales du phytomédicament "Dié Kouadio" car les feuilles d'*Azadiracta indica*, les écorces de *Khaya senegalensis* et les feuilles de *Combretum micranthum* contiennent des composés phénoliques [5, 10, 11, 13, 20, 35, 42, 48, 58, 60].

Il faut noter que les acides phénols (*l'acide éllagique*), les flavonoïdes et les *chalcones* (*licochalcone A*) sont des molécules dont les propriétés antipaludiques ont été mises en évidence par différents auteurs [8, 19, 21, 56, 71].

Les flavonoides, les acides phénols et les coumarines agissent aussi sur l'amélioration de l'absorption de l'artémisinine dans la paroi intestinale ainsi que sur la diminution de sa métabolisation améliorant ainsi l'efficacité thérapeutique de la molécule [64].

Les composés phénoliques peuvent également inhiber les récepteurs membranaires responsables de la résistance du plasmodium ; de ce fait leur présence dans le médicament serait bénéfique et pourrait contribuer de façon significative à l'activité antipaludique [79].

- *Les composés terpéniques*

Les analyses par CCM des 4 lots du phytomédicament "Diè Kouadio" ont permis de mettre en évidence la présence de composés terpéniques dans tous les lots, avec des profils chromatographiques similaires. Par contre, l'intensité de coloration ou richesse est plus abondante au niveau du lot 4 (figure 11c).

En ce qui concerne les groupes de composés terpéniques, nous avons caractérisé les stérols et triterpènes (tableau XIV) qui représentent la majorité des composés terpéniques dans tous nos échantillons de médicament avec une richesse plus importante au niveau du lot 4. Les stérols et triterpènes sont également présents dans les 3 drogues végétales qui composent le mélange (les feuilles d'*Azadiracta indica*, les écorces de *Khaya senegalensis* et les feuilles de *Combretum micranthum*) [29, 48, 58].

La présence de stérols et de triterpènes dans le "Diè Kouadio" est en accord avec la composition en drogues végétales du mélange.

Nous pouvons dire qu'il y'a une stabilité de la composition chimique en terpènes.

On note également l'activité antiplasmodiale de dérivés terpéniques comme l'artémisinine (sesquiterpène) [45].

III-2-3-2 Analyse quantitative : dosage des polyphénols totaux

Nous avons réalisé le dosage des polyphénols totaux compte tenu du fait que les composés phénoliques représentent le groupe phytochimique majoritaire du "Diè Kouadio".

La teneur en polyphénols totaux oscille entre 0,089 et 0,102g/100g de poudre d'un lot à un autre. Toutefois, cette variation est relativement faible d'un lot à un autre. Des études ont mis en évidence la présence de polyphénols totaux dans *Azadiracta indica*, *Khaya senegalensis* et *Combretum micranthum* [5, 42,83], notons aussi que *Combretum micranthum* renferme 13 à 18% de polyphénols [33, 38,73].

On constate une légère variation entre la teneur moyenne en polyphénols dans nos échantillons et celle des plantes prise individuellement. Les différentes caractéristiques ou spécifications organoleptiques, physico-chimiques et phytochimiques du phytomédicament "Diè Kouadio" sont résumées dans le tableau XIV à la page suivante.

**Tableau XIV: Caractéristiques physico-chimiques et phytochimiques du
phytomédicament "Dié Kouadio"**

Paramètres	Spécifications
Caractères organoleptiques:	
Odeur	Forte, caractéristique
Saveur	Très amère
Couleur	Verte
Aspect	Poudre avec de fins fragments
Essais physicochimiques:	
Taux d'humidité (%).....	4 - 8
Cendres totales (%).....	7 - 11
Sodium.....	0,002 - 0,004
Magnésium.....	0,040 – 0,120
Potassium.....	0,070 – 0,120
Calcium.....	0,300 – 0,600
Fer.....	0,003 - 0,015
Analyse qualitative:	
Alcaloïdes.....	+/-
Composés phénoliques.....	+++
Flavonoïdes.....	++
Quinones.....	++
Tanins.....	++
Anthocyanes.....	-
Coumarines.....	+
Composés Terpéniques.....	++
Stérols et triterpènes.....	++
Analyse quantitative:	
Polyphénols totaux (g/100g)	0,088 - 0,102



Conclusion

La détermination des spécifications analytiques (organoleptiques, physico-chimiques et phytochimiques) du phytomédicament antipaludique "Diè Kouadio" nous a permis de savoir que ce phytomédicament, présenté sous forme de gélules, est constitué de fins fragments de poudre ayant une odeur forte, caractéristique, de saveur très amère dont la couleur varie du brun au vert-brun.

L'analyse des paramètres physico-chimiques a révélé un taux d'humidité compris entre 4 et 8% avec un taux de cendres oscillant entre 7-11% riche en minéraux (calcium ; magnésium ; sodium ; phosphore...). La phytochimie a mis en évidence la présence de nombreux composés phénoliques ainsi que des stérols et triterpènes avec une quasi-absence de composés alcaloïdiques. Sur le plan quantitatif, la teneur en polyphénols totaux se situe entre 0,088 et 0,102 g/100g de poudre.

Ces différents résultats nous ont permis de présenter un bulletin des spécifications physico-chimiques succinctes de qu'on pourrait appliquer pour le contrôle de qualité des différents lots de "Diè Kouadio".

En outre, on pourrait dire que cette méthode d'analyse est bonne et même fiable parce qu'elle nous permet d'obtenir des informations utiles pour évaluer la qualité du phytomédicament ainsi que la sécurité d'emploi.



Perspectives

- ☞ Faire l'étude micrographique de la poudre végétale du " Diè Kouadio" ;
- ☞ Affiner les caractéristiques phytochimiques ;
- ☞ Déterminer les paramètres microbiologiques;
- ☞ Faire la recherche des contaminants ;
- ☞ Réaliser les contrôles galéniques et biogaléniques ;
- ☞ Faire l'étude de stabilité du phytomédicament.



Références

- 1- Adzu B, Abbah J, Vongtau H, Gamaniel K.** Studies on the use of *Cassia singueana* in malaria ethnopharmacy.
Journal of Ethnopharmacology. 2003; 88: 261-267.
- 2-Ancolio C, Azas N, Mahiou V et al.** Antimalarial activity of extracts and alkaloids isolated from six plants used in traditional medicine in Mali and Sao Tome. *Phytotherapy Research*. 2002; 16: 646-649.
- 3- Ang K, Holmes M.J, Higa T et al.** *In vivo* antimalarial activity of the beta-carboline alkaloid Manzamine A.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2000; 44: 1645–1649.
- 4- Aris P.** Malaria. *Nature Biotechnology*. 2000; 18: 111-112.
- 5 -Atangwho IJ, Ebong PE, Eyong EU.** Comparative chemical composition of leaves of some antidiabetic medicinal plants: *Azadirachta indica*, *Vernonia amygdalina* and *Gongronema latifolium*
African Journal of Biotechnology. 2009; 8 (18): 4685-4689.
- 6- Atawodi SE, Ameh, DA, Ibrahim S et al.** Indigenous knowledge system for treatment of trypanosomiasis in Kaduna state of Nigeria.
J.Ethnopharmacol. 2002; 79 (2): 279-282.
- 7- Azas N, Laurencin N, Delmas F et al.** Synergistic *in vitro* antimalaria activity of plant extracts used as traditional remedies in Mali.
Parasitology Research. 2002; 88:165-171.
- 8 - Banzouzi JT, Prado R, Menan H et al.** *In vitro* antiplasmodial activity of extracts of *Alchornea cordifolia* and identification of an active constituent: ellagic acid. *J. Ethnopharmacol*. 2002; 81:399-401.
- 9- Barennes H, Munjakazi J, Verdier F et al.** An open randomized clinical study of intrarectal versus infused Quinimax for the treatment of childhood cerebral malaria in Niger.
Trans R Soc Trop Med Hyg 1998; 92 : 437-440.
- 10- Basco L R, Ruggieri C, Le Bras J.** Molécules antipaludiques, mécanismes d'action, mécanisme de résistance, relation structure-activité des schizontocides sanguins. Paris : Masson ,1994.
- 11- Bassene E, Olschwang D, Pousset J-L.** Plantes médicinales africaines 23 : Flavonoïdes du *Combretum micranthum*, g. Don (kinkeliba).
Plantes médicinales et phytothérapie. 1987 ; 21 :173-176.

- 12- Bassene E, Olschwang D, Pousset J-L.** Plantes médicinales africaines. Les alcaloïdes du *Combretum micranthum* g. Don (kinkeliba).
Annales Pharmaceutiques Françaises.1986 ; 44 : 191-196.
- 13- Bassene E, Laurance A, Olschwang D et al.** Plantes médicinales africaines 19 : Dosage de la vitexine par chromatographie liquide haute performance dans un extrait brut de *Combretum micranthum* g. Don.
Journal of Chromatography. 1985 ; 346 : 428-430.
- 14 – Benoit-Vical, F, Valentin A, Cournac V et al.** In vitro antiplasmodial activity of stem and root extracts of *Nauclea latifolia* (Rubiaceae).
Journal of Ethnopharmacology.1998; 61: 173-178.
- 15- Benoit F, Valentin A, Pelissier Y et al.** In vitro antimalarial activity of vegetal extracts used in West African traditional medicine.
Am J Trop Med Hyg.1996; 54(1):67-71.
- 16- Booker A, Johnston D, Heinrich M.** Value chains of herbal medicines - research needs and key challenges in the context of ethnopharmacology. Journal of Ethnopharmacology. 2012; 140 (3):624-633.
- 17- Brossard D.** Les formes solides. Analyse pratique du médicament, Ed. Med. Int, 2002, pp.964-970.
- 18- Bruneton J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.
Paris : Ed. TEC et DOC, 1999 ; 1120.
- 19- Chen M, Theander TG, Christensen SB et al.** Licochalcone A: a new antimalarial agent inhibits *in vitro* growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* and protects mice from *P. yoelii* infection. Antimicrobial Agents and Chemotherapy.1994; 38: 1470-1475.
- 20- D'Agostino M, Biagi C, De Feo V et al.** Flavonoids of *Combretum micranthum*. Fitoterapia. 1990; 61: 477.
- 21- Dell'Agli M, Parapini S, Basilico N et al.** In vitro studies on the mechanism of action of two compounds with antiplasmodial activity.
Planta Med.2003; 69:162-164.

- 22- El-Tahir A, Satti GM, Khalid SA.** Antiplasmodial activity of selected sudanese medicinal plants with emphasis on *Acacia nilotica*.
Phytotherapy Research. 1999;13: 474–478.
- 23 - Francois G, Steenackers T, Assi LA et al.** Vismione H and structurally related anthranoid compounds of natural and synthetic origin as promising drugs against the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*: structure-activity relationships. Parasitol Res. 1999; 85(7):582-588.
- 24- Francois G, Timperman G, Eling W et al.** Naphthylisoquinoline alkaloids against malaria : Evaluation of the curative potential of dioncophylline C and dioncopeltine A against *Plasmodium berghei in vivo*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1997; 41:2533-2539.
- 25- Gentillini M, Cames E, Duflo B et al.** Médecine tropicale. Paris : Médecine Sciences. Flammarion 1993. 928P.
- 26- Gessler M.C, Nkunya M.H.H, Mwasumbi L.B et al.** Screening tanzanian medicinal plants for antimalarial activity.
Acta tropica. 1994; 56: 65–77.
- 27- Houzé S, Munier A, Paoletti X et al.** Shelf Life of Predosed Plates Containing Mefloquine, Artemisinin, Dihydroartemisinin, and Artesunate as Used for In Vitro *Plasmodium falciparum* Susceptibility Assessment. J Clin Microbiol 2007; 45: 2734-2736.
- 28- Isah AB, Ibrahim YK, Iwalewa, E.O.** Evaluation of the antimalarial properties and standardization of tablets of *Azadiracta indica* (Meliaceae) in mice. Phytotherapy Research. 2003; 17: 807-810.
- 29- ISRA. Dakar, CNRA.** Utilisation des feuilles de neem pour le contrôle des insectes ravageurs de niébé. Dakar :ISRA ; 1997.8p.
- 30- Jayasuriya DC.** A review of legislation concerning plants. 1990 Unpublished Report.
- 31- Jentzch P, Spiegel K, Fuchs L.** The constituents of the leaves of *Combretum micranthum* G. Don. *PlantaMedica*.1962; 10 (1): 1-8.
- 32 - Journal International de la Médecine Tropicale** 2009.

- 33- Juliani H.R, Koelliker Y, Bucuk M et al.** Quality and consumer studies in the USA of african herbal teas for the natural product industry development in sub-sahara Africa. In: A.C.S.S.S. Brossard, American Chemical Society, Washington. African natural plant products: Discoveries and challenges in quality control. Brossard:A.C.S.S.S, 2009.
- 34- Kamanzi Atindehou K, Schmid C, Brun R et al .** Antitrypanosomal and antiplasmodial activity of medicinal plants from Cote d'Ivoire. Journal of Ethnopharmacology. 2004 ; 90: 221–227.
- 35- Kamaté, B. (1998).** Etude botanique et phytochimique *Combretum micranthum* G. Don (Combretaceae). Th pharm : Bamako, 1998, 34.
- 36- Kamboj A.** Analytical evaluation of herbal drugs. In: Vallisuta O, Olimat SM. Drug Discovery Research in Pharmacognosy. Croatia: InTech, 2012.
- 37- Karou D, Dicko M.H, Sanon S et al.** Antimalarial activity of *Sida acuta* Burm. f. (Malvaceae) and *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). Journal of Ethnopharmacology. 2003; 89: 291–294.
- 38- Karou D, Dicko M.H, Simpore J et al.** Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of burkina faso. African Journal of Biotechnology. 2005; 4: 823-828.
- 39- Kipré G.R, Guédé-Guina F, Grellier P et al.** Activité Antiplasmodiale de *Olox subscorpioidea* Oliv. et *Morinda morindoides* Bak. Milne-Redh. Journal of Ethnopharmacology A. 2011; 133: 850-855.
- 40- Kirby G.C, Paine A, Warhurst D.C et al.** *In vitro* and *in vivo* antimalarial activity of cryptolepine, a plant-derived indoloquinoline. Phytotherapy Research. 1995; 9: 359–363.
- 41- Koffi N, Beugré K, Guédé N. Z et al.** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte d'Ivoire). Sciences & Nature. 2009; 6 (1) : 1- 15.
- 42- Konaté K, Kiendrébéogo M, Ouattara M.B et al.** Antibacterial Potential of Aqueous Acetone Extracts From Five Medicinal Plants used Traditionally to Treat Infectious Diseases in Burkina Faso. Current Research Journal of Biological Sciences. 2011; 3(5): 435-442.

43 – Kraft C, Jenett-Siems K, Siems K et al. In vitro antiplasmodial evaluation of medicinal plants from Zimbabwe.
Phytother Res.2003; 17(2):123-128.

44- Lasisi A.A, Olayiwola M.A, Balogun S.A et al. Phytochemical composition, cytotoxicity and *in vitro* antiplasmodial activity of fractions from *Alafia barteri* olive (Hook F.Icon) Apocynaceae.
Journal of Saudi Chemical Society (2012).

45- Li Y, Wu YL. How Chinese scientists discovered qinghaosu (artemisinin) and developed its derivatives? What are the future perspectives? Med Trop. Mars 1998;58 (3 Suppl) : 9-12.

46- Lompo M. Activité anti-inflammatoire des extraits d'écorces de tronc de *Khaya senegalensis* A. JUSS (Méliaceae) : mise au point d'une forme galénique topique (phase 1).
Th : Sciences Biol Appl : Ouagadougou, Université Ouagadougou, 1999 ,84 p.

47- Lompo M, Guissou I.P, Kabore Z.I et al. Effet hypothermisant et toxicité générale aigue chez la souris d'écorces de tronc de *Khaya senegalensis*. Revue de Médecine et Pharmacopée Africaine. 1995; 9 : 97-106.

48- Lompo M. Etude phamaco-toxicologique chez la souris et le rat de *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss (Meliaceae) utilisé en tradithérapeutique au Burkina Faso.
Mémoire de D.E.A. Physiol. Anim. Appl : Ouagadougou Université de Ouagadougou.

49- Mabunda S, Casimiro S, Quinto L et al. A country-wide malaria survey in Mozambique. I. Plasmodium falciparum infection in children in different epidemiological settings. Malar. J.2008; 7: 216-228.

50- Muhammed K, Shafqat U.Chemical Composition and Minerals Analysis of *Hippophae rhamnoides*, *Azadirachta indica*, *Punica granatu* and *Ocimum sanctum* Leaves.
World Journal of Dairy & Food Sciences. 2013;8 (1): 67-73.

51- Mustofa M, Valentin A, Benoit-Vical F. Antiplasmodial activity of plants used in west African traditional medicine.
J. Ethnopharmacol. 2000; 73, 145-151.

52 - Mosihuzzaman M, Iqbal Choudhary M. Protocols on safety, efficacy, standardization, and documentation of herbal medicine (IUPAC Technical Report). Pure Appl. Chem. 2008; 80 (10): 2195–2230.

53- Moyses-Mignon H. Recherches sur quelques Méliacées et sur leurs principes amers. Th Doct. Univ. Pharm: Paris, 1942. 112p.

54- Njoku C.I, Okuwasaba F.K, Isiguzo G.O et al. Local Medicinal Plants in Health Care System in Parts of Plateau State, Nigeria: Plant Extracts Used in the Treatment of Gastrointestinal Disorders. In: the Biotechnology Society of Nigeria, Jos Nigeria. Annual Conference 4th 22-23 May 1988; 5-10.

55- Nsondé-Ntandou G. F, Ndounga M, Ouamba J. M.
Phytothérapie (Paris. 2000) A. 2005; 3(1): 13-18.

56- Okokon J.E, Udokpoh E.A, Antia S.B. Antimalaria activity of ethanolic extract of *Tetrapleura tetraptera* fruit.
Journal of Ethnopharmacology. 2007 ; 111 : 537-540.

57- Olschwang D, Bassene E, Colonna J-P. Tradition africaine et analyse scientifique : L'utilisation du kinkéliba (*Combretum micranthum* g. Don) en Afrique de l'ouest. Epistème. 1991; 2: 74-82.

58- OMS. Bureau régional pour l'Afrique. Hararé. Promouvoir le rôle de la médecine traditionnelle dans les systèmes de santé. Une stratégie pour la Région africaine. Hararé : OMS. Bureau régional pour l'Afrique, 2000.

59-Onyeibor O, Croft S.L, Dodson H.I. Synthesis of Some Cryptolepine Analogues, Assessment of Their Antimalarial And cytotoxic Activities, and consideration of their Antimalarial Mode of Action.
Journal of Medicinal chemistry. 2005; 48: 2701-2709.

60- Paris R., Sur une Combretacee africaine, le "Kinkeliba" (*Combretum micranthum* g. Don.).
Bulletin des Sciences Pharmacologiques. 1942 ; 181-186.

61- Pharmacopée Africaine.
Méthodes générales d'analyses. 1988 ; Vol 2, 264p.

62- Pharmacopée Européenne, 6eme édition, T 1 p123. 01/2008 : 20417.

- 63- Prognon P, Lebel AV, Taburet A. M et al.** Démarche méthodologique en analyse pharmaceutique. Ed. Med. Int, 2002 ; 66-114.
- 64-Rasoanaivo P, Wright C.W, Willcox M.L et al.** Whole plant extracts versus single compounds for the treatment of malaria: synergy and positive interactions. Malaria Journal. 2011; 10(suppl. 1): S4.
- 65- Sahoo N, Manchikanti P, Dey S.** Herbal drugs: standards and regulation. Fitoterapia. 2010; 81 (6):462-470.
- 66- Sanon S, Azas N, Gasquet M et al.** Antiplasmodial activity of alkaloid extracts from *Pavetta crassipes* (K. Schum) and *Acanthospermum hispidum* (DC), two plants used in traditional medicine in Burkina Faso. Parasitology Research. 2003 ; 90 : 314-317.
- 67- Seigneuric C, Camara B, Delmont J et al.** Du quinquina et des homes. Med Trop. 2008; 68: 459-462.
- 68- Thiourne O, Pousset J.L, Lo I.** Anti-inflammatory activity of the bark of *Khaya senegalensis* (A Juss). Preliminary research of structure/activity relationship. Dakar Médecine. 1999; 44: 12-15.
- 69- Tona L, Mesia K, Ngimbi NP et al.** *In vivo* antimalarial activity of *Cassia occidentalis*, *Morinda morindoides* and *Phyllanthus niruri*. Ann Trop Med Parasitol.2001; 95(1):47-57.
- 70- Tona, L, Ngimbi N.P, Tsakala et al.** Antimalarial activity of 20 crude extracts from nine African medicinal plants used in Kinshasa, Congo. Journal of Ethnopharmacology. 1999; 68: 193-203.
- 71- Verotta L, Dell'Agli M, Giolito A et al.** In vitro antiplasmodial activity of extracts of *Tristanopsis* species and identification of the active constituents: ellagic acid and 3,4,5-trimethoxyphenyl-(6'-O-galloyl)-O-beta-D-glucopyranoside. J. Nat. Prod. 2001; 64: 603-607.
- 72- Wagner H, Bladt S.** Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas, 2nd ed. Berlin: Springer, 1996, 384p.
- 73-Welch CR.** Chemistry and Pharmacology of Kinkéliba (*Combretum micranthum*), a West African Medicinal Plant. Ph.D Th: Medicinal Chemistry: NB. Rutgers University, 2010.

- 74- Weniger B, Lagnika L, Vonthron-Senecheau C et al.** Evaluation of ethnobotanically selected Benin medicinal plants for their in vitro antiplasmodial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004 ; 90 : 279–284.
- 75- Wichl M, Anton R.** Plantes thérapeutiques - Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Paris : Éd. Tec et Doc et EMI, 2003.
- 76- Winkler J.D, Axten J.M.** The first total synthesis of Ircinol A, Ircinal A, and manzamine A and D.
Journal of American Chemistry Society. 1998; 120: 6425-6426
- 77- Wright A.D, König G.M, Angerhofer C.K et al.** Antimalarial activity : The search for marine-derived natural products with selective antimalarial activity. *J. Nat. Prod.* 1996; 59: 710-716.
- 78- Wright A.D, Wang H, Gurrath M et al.** Inhibition of heme detoxification process underlies the antimalarial activity of terpene isonitrile compounds from marine sponges.
Journal of Medicinal Chemistry. 2001; 44: 873- 885
- 79- Wright C.W, Linley P.A, Brun R et al.** Ancient Chinese methods are remarkably effective for the preparation of artemisinin-rich extracts of Qing Hao with potent antimalarial activity. *Molecules*. 2010; 15(2): 804-12.
- 80- Wright C.W.** Traditional antimalarials and the development of novel antimalarial drugs. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005; 100: 67–71.
- 81- WHO. Geneva.** Guidelines for registration of traditional medicines in the WHO african region. AFR/TRM/04. Geneva: WHO, 2010, 40p.
- 82- WHO. Geneva.** General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine. Geneva: WHO, 2000.
- 83- Yapo B.M, Besson V, Beourou S et al.** Optimization of water-extract of phenolic and antioxidant compounds from Kinkéliba (*Combretum micranthum*) leaves.
African Journal of Food Science Research. 2014; 2 (1): 037-043.



ANNEXES



Présentation et gélules de Dié Kouadio



Azadiracta indica (Meliaceae)

- Neem (Anglais)
- Djé n'dé dzokoè (Attié)



Khaya senegalensis (Meliaceae)

caïlcédrat



Combretum micranthum (Combretaceae)

- Kinkéliba



Vernonia colorata (Asteraceae)

- Gbinto (Attié)

- Abovi (Baoulé)

-Kossanflan (Malinké)



Sida acuta (Malvaceae)

- Dzeu héki (Attié)



Cassia occidentalis (Cesalpiniaceae)

- Mbèchilè (Attié);

- Apouklou srèsrè (Baoulé);

- Gbégbé n'dé (Abbey).



- *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae)
- Nidjo (Abbey);
- N'dzè (Attié);
- Djéka (Baoulé).



- *Nauclea latifolia* (Rubiaceae)
- Monleuh (Attié);
- Edjik (Adioukrou).



Microscope électronique à balayage



Four à moufle



Spectrophotomètre d'absorption UV-visible

Résumé

La qualité des médicaments à base de plantes a un impact direct sur leur innocuité et leur efficacité.

L'évaluation de la qualité des médicaments à base de plantes est difficile car ce sont des mélanges complexes de plusieurs drogues végétales ou de préparations à base de drogues végétales auxquels peuvent être associés des drogues minérales et/ou animales.

Notre travail a consisté à élaborer les spécifications analytiques d'un phytomédicament antipaludique "Diè Kouadio" afin de maîtriser la constance de la composition chimique et de faciliter son contrôle de qualité.

Les résultats des analyses physico-chimiques du phytomédicament "Diè Kouadio" nous ont permis d'indiquer :

- Sur le plan organoleptique que le principe actif végétal est sous forme de poudre de couleur verte avec de très fins fragments, ayant une forte odeur végétale et de saveur très amère.
- Les essais physico-chimiques ont révélé un taux d'humidité compris entre 6 – 8 % et un taux de cendres totales oscillant entre 7-11 % avec comme minéraux majoritaires (calcium ; magnésium ; sodium ; phosphore).
- L'analyse des caractères phytochimiques a permis de montrer une quasi-absence de composés alcaloïdiques, peu de composés terpéniques caractérisés par les stérols et triterpènes et la présence de nombreux composés phénoliques avec une teneur en polyphénols totaux qui se situe entre 0,09 et 0,102 %.

Mots clés : phytomédicament antipaludique, spécifications analytiques