



N°1818/17

Année : 2015 – 2016

## THESE

Présentée en vue de l'obtention du  
**DIPLOME D'ETAT DE  
DOCTEUR EN PHARMACIE**

Par

**FATTO DJAKO NASSELIN MEL**

(Interne titulaire des hôpitaux)

**ACTIVITES ANALGESIQUE MORPHINIQUE, ANTIOXYDANTE,  
ANTIINFLAMMATOIRE ET QUALITE DE « SARENTA » : UN  
REMEDE TRADITIONNEL A BASE DE PLANTES**

*Soutenue publiquement le 16 Février 2017*

### COMPOSITION DU JURY :

Président : Madame AKE MICHELE, Professeur Titulaire  
Directeur de thèse : Madame KOUAKOU SIRANSY GISELE, Maître de Conférences Agrégé  
Assesseurs : Monsieur DALLY LABA ISMAEL, Maître de Conférences Agrégé  
: Madame SANGARE TIGORI BEATRICE, Maître de Conférences Agrégé

**ADMINISTRATION ET  
PERSONNEL ENSEIGNANT  
DE L'UFR DES SCIENCES  
PHARMACEUTIQUES ET  
BIOLOGIQUES**

## **I. HONORARIAT**

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

## **II. ADMINISTRATION**

Directeur	Professeur KONE-BAMBA Diénéba
Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie	Professeur INWOLEY Kokou André
Sous-Directeur Chargé de la Recherche	Professeur Ag OGA Agbaya Serge
Secrétaire Principal	Madame NADO-AKPRO Marie Josette
Documentaliste	Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert
Intendant	Monsieur GAHE Alphonse
Responsable de la Scolarité	Madame DJEDJE Yolande

## **III. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT**

### **1. PROFESSEURS TITULAIRES**

M. ABROGOUA Danho Pascal	Pharmacie Clinique
Mmes AKE Michèle	Chimie Analytique, Bromatologie
ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L.	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. DANO Djédjé Sébastien	Toxicologie.
INWOLEY Kokou André	Immunologie
Mme KONE BAMBA Diéneba	Pharmacognosie
M. KOUADIO Kouakou Luc	Hydrologie, Santé Publique
Mme KOUAKOU-SIRANSY Gisèle	Pharmacologie
M. MALAN Kla Anglade	Chimie Ana., contrôle de qualité
MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie

	MONNET Dagui	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme	SAWADOGO Duni	Hématologie
M.	YAVO William	Parasitologie - Mycologie

## 2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M.	AHIBOH Hugues	Biochimie et Biologie moléculaire
Mme	AKE-EDJEME N'guessan Angèle	Biochimie et Biologie moléculaire
M.	AMARI Antoine Serge G.	Législation
	AMIN N'Cho Christophe	Chimie analytique
	BONY François Nicaise	Chimie Analytique
	DALLY Laba Ismael	Pharmacie Galénique
	DEMBELE Bamory	Immunologie
	DJOHAN Vincent	Parasitologie -Mycologie
	GBASSI K. Gildas	Chimie Physique Générale
Mme	IRIE-N'GUESSAN Amenan	Pharmacologie
M.	KOFFI Angely Armand	Pharmacie Galénique
Mme	KOUAKOU-SACKOU Julie	Santé Publique
M.	KOUASSI Dinard	Hématologie
	LOUKOU Yao Guillaume	Bactériologie-Virologie
	OGA Agbaya Stéphane	Santé publique et Economie de la santé
	OUASSA Timothée	Bactériologie-Virologie
	OUATTARA Mahama	Chimie organique, Chimie thérapeutique
Mmes	POLNEAU-VALLEE Sandrine	Mathématiques-Statistiques
	SANGARE TIGORI Béatrice	Toxicologie
M.	YAPI Ange Désiré	Chimie organique, chimie thérapeutique
	ZINZENDORF Nanga Yessé	Bactériologie-Virologie

## 3. MAITRES ASSISTANTS

M.	ADJAMBRI Adia Eusebé	Hématologie
	ADJOUNGOUA Attoli Léopold	Pharmacognosie
Mmes	ABOLI-AFFI Mihessé Roseline	Immunologie
	AKA ANY-GRAH Armelle Adjoua S.	Pharmacie Galénique

	ALLA-HOUNSA Annita Emeline	Sante Publique
M	ANGORA Kpongbo Etienne	Parasitologie - Mycologie
Mmes	AYE-YAYO Mireille	Hématologie
	BAMBA-SANGARE Mahawa	Biologie Générale
	BARRO-KIKI Pulchérie	Parasitologie - Mycologie
M.	CABLAN Mian N'Ddey Asher	Bactériologie-Virologie
	CLAON Jean Stéphane	Santé Publique
Mmes	DIAKITE Aïssata	Toxicologie
	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Pharmacognosie
M.	KASSI Kondo Fulgence	Parasitologie-Mycologie
Mme	KONAN-ATTIA Akissi Régine	Santé publique
M.	KONAN Konan Jean Louis	Biochimie et Biologie moléculaire
Mmes	KONATE Abibatou	Parasitologie-Mycologie
	KOUASSI-AGBESSI Thérèse	Bactériologie-Virologie
M.	MANDA Pierre	Toxicologie
	N'GUESSAN Alain	Pharmacie Galénique
Mme	VANGA ABO Henriette	Parasitologie-Mycologie
M.	YAYO Sagou Eric	Biochimie et Biologie moléculaire

#### 4. ASSISTANTS

M.	ADIKO Aimé Cézaire	Immunologie
	AMICHIA Attoumou Magloire	Pharmacologie
Mmes	AKOUBET-OUAYOGODE Aminata	Pharmacognosie
	ALLOUKOU-BOKA Paule-Mireille	Législation
	APETE Sandrine	Bactériologie-Virologie
	BEDIAKON-GOKPEYA Mariette	Santé publique
	BLAO-N'GUESSAN Amoin Rebecca J.	Hématologie
M.	BROU Amani Germain	Chimie Analytique
	BROU N'Guessan Aimé	Pharmacie clinique
	COULIBALY Songuigama	Chimie organique, chimie thérapeutique
M.	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Pharmacologie
	DJATCHI Richmond Anderson	Bactériologie-Virologie
Mmes	DONOU-N'DRAMAN Aha Emma	Hématologie

	DOTIA Tiepordan Agathe	Bactériologie-Virologie
M.	EFFO Kouakou Etienne	Pharmacologie
Mme	KABLAN-KASSI Hermance	Hématologie
M.	KABRAN Tano Kouadio Mathieu	Immunologie
	KACOU Alain	Chimie organique, chimie thérapeutique
	KAMENAN Boua Alexis Thierry	Pharmacologie
	KOFFI Kouamé	Santé publique
	KONAN Jean Fréjus	Biophysique
Mme	KONE Fatoumata	Biochimie et Biologie moléculaire
M.	KOUAHO Avi Kadio Tanguy	Chimie organique, chimie thérapeutique
	KOUAKOU Sylvain Landry	Pharmacologie
	KOUAME Denis Rodrigue	Immunologie
	KOUAME Jérôme	Santé publique
	KPAIBE Sawa Andre Philippe	Chimie Analytique
Mme	KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde	Bactériologie-Virologie
M.	LATHRO Joseph Serge	Bactériologie-Virologie
	MIEZAN Jean Sébastien	Parasitologie-Mycologie
	N'GBE Jean Verdier	Toxicologie
	N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul	Chimie organique, chimie thérapeutique
Mmes	N'GUESSAN Kakwokpo Clémence	Pharmacie Galénique
	N'GUESSAN-AMONKOU Anne Cynthia	Législation
	ODOH Alida Edwige	Pharmacognosie
	SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle	Biochimie et Biologie moléculaire
	SICA-DIAKITE Amelanh	Chimie organique, chimie thérapeutique
	TANOAH-BEDIA Valérie	Parasitologie-Mycologie
M.	TRE Eric Serge	Chimie Analytique
Mme	TUO Awa	Pharmacie Galénique
M.	YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale
Mme	YAPO-YAO Carine Mireille	Biochimie

## 5. CHARGEES DE RECHERCHE

Mme	ADIKO N'dri Marcelline	Pharmacognosie
	OUATTARA N'gnôh Djénéba	Santé publique

## 6. ATTACHE DE RECHERCHE

M. LIA Gnahoré José Arthur Pharmacie Galénique

## 7. 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

## **IV. ENSEIGNANTS VACATAIRES**

### **1. PROFESSEURS**

M.	DIAINE Charles	Biophysique
	OYETOLA Samuel	Chimie Minérale

### **2. MAITRES DE CONFERENCES**

M.	KOUAKOU Tanoh Hilaire	Botanique et Cryptogamie
	YAO N'Dri Athanase	Pathologie Médicale

### **3. MAITRE-ASSISTANT**

M.	KONKON N'Dri Gilles	Botanique, Cryptogamie
----	---------------------	------------------------

### **4. NON UNIVERSITAIRES**

MM.	AHOUSSE Daniel Ferdinand	Secourisme
	COULIBALY Gon	Activité sportive
	DEMPAH Anoh Joseph	Zoologie
	GOUEPO Evariste	Techniques officinales
Mme	KEI-BOGUINARD Isabelle	Gestion
MM	KOFFI ALEXIS	Anglais
	KOUA Amian	Hygiène
	KOUASSI Ambroise	Management
	N'GOZAN Marc	Secourisme
	KONAN Kouacou	Diététique
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	CABLAN Mian N'Dédey Asher KOUASSI AGBESSI Thérèse APETE Sandrine DJATCHI Richmond Anderson DOTIA Tiepordan Agathe KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde LATHRO Joseph Serge	Maître-Assistant Maître-Assistant Assistante Assistant Assistante Assistante Assistant

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

Professeur	MONNET Dagui	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	HAUHOUOT ép. ATTOUNGBRE M.L. AHIBOH Hugues AKE-EDJEME N'Guessan Angèle	Professeur Titulaire Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	KONAN Konan Jean Louis YAYO Sagou Eric KONE Fatoumata SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle YAPO-YAO Carine Mireille	Maître-Assistant Maître-Assistant Assistante Assistante Assistante

## **III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE**

Professeur	SAWADOGO Duni	Professeur Titulaire Chef du Département
Professeurs	INWOLEY Kokou André DEMBELE Bamory	Professeur Titulaire Maître de Conférences Agrégé

	KOUASSI Dinard	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	ABOLI-AFFI Mihessé Roseline	Maitre-Assistant
	ADJAMBRI Adia Eusebé	Maitre-Assistant
	AYE-YAYO Mireille	Maitre-Assistant
	BAMBA-SANGARE Mahawa	Maitre-Assistant
	ADIKO Aimé Cézaire	Assistant
	DONOU-N'DRAMAN Aha Emma	Assistante
	KABLAN-KASSI Hermance	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	MALAN Kla Anglade	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	AKE Michèle	Professeur Titulaire
	AMIN N'Cho Christophe	Maître de Conférences Agrégé
	BONY Nicaise François	Maître de Conférences Agrégé
	GBASSI Komenan Gildas	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	BROU Amani Germain	Assistant
	KPAIBE Sawa Andre Philippe	Assistant
	TRE Eric Serge	Assistant

#### **V. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE**

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

KOUAHO Avi Kadio Tanguy	Assistant
N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul	Assistant
SICA-DIAKITE Amelanh	Assistante

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

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

**VII. PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE,**

**COSMETOLOGIE , GESTION ET LEGISLATION PHARMACEUTIQUE**

Professeur	KOFFI Armand A.	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeurs	AMARI Antoine Serge G. DALLY Laba Ismaël	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	AKA ANY-GRAH Armelle A.S. N'GUESSAN Alain ALLOUKOU-BOKA P.-Mireille LIA Gnahoré José Arthur NGUESSAN Kakwokpo Clémence N'GUESSAN-AMONKOU A. Cynthia TUO Awa	Maître-Assistant Maître-Assistant Assistante Attaché de recherche Assistante Assistante Assistante

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

Professeur	KONE BAMBA Diénéba	Professeur Titulaire Chef de Département
------------	--------------------	---

Docteurs	ADJOUGOUA Attoli Léopold	Maître-Assistant
	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Maître-Assistant
	ADIKO N'dri Marcelline	Chargée de recherche
	AKOUBET-OUAYOGODE Aminata	Assistante
	ODOH Alida Edwige	Assistante

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

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

**X. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHÉMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE**

Professeur	POLNEAU-VALLEE Sandrine	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Docteur	KONAN Jean-Fréjus	Maître-Assistant

**XI. SANTÉ PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE**

Professeur	KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire Chef de département
	DANO Djédjé Sébastien	Professeur Titulaire
	OGA Agbaya Stéphane	Maître de Conférences Agrégé
	KOUAKOU-SACKOU J.	Maître de Conférences Agrégé
	SANGARE-TIGORI B.	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CLAON Jean Stéphane	Maître-Assistant
	MANDA Pierre	Maître-Assistant
	DIAKITE Aissata	Maître-Assistante
	HOUNSA-ALLA Annita Emeline	Maître-Assistante
	KONAN-ATTIA Akissi Régine	Maître-Assistante
	OUATTARA N'gnôh Djénéba	Chargée de Recherche
	BEDIAKON-GOKPEYA Mariette	Assistante
	KOFFI Kouamé	Assistant
	NGBE Jean Verdier	Assistant

# DEDICACES

*Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, je dédie ce travail :*

*A mon Seigneur JESUS-CHRIST.*

*Roi de l'univers, DIEU TOUT PUISSANT, A TOI PUISSANCE ET GLOIRE, A TOI LA MAJESTE. Ce modeste travail que je présente à tes pieds ne saurait révélé les nombreuses graces et bénédictions que tu m'a accordé. Merci d'être aussi mon grand frère, mon ami et mon confident. Merci pour la vie qui nous donne d'être de vaillants héros pour toi. Merci pour tout.*

*A mes Parents PAPA ET MAMAN.*

*En signe de reconnaissance pour l'amour, les efforts et sacrifices consentis chaque jour, ainsi que le soutien et la compréhension en permanence. Sans vous, je ne serais surement pas ce que je suis aujourd'hui.*

*Je prie que les fruits de ce travail me permettent de vous faire honneur.*

*A mes chers frères et sœurs, Ebeyss, Yoshly, Éric, Manuella*

*Que ce travail vous donne la force, la motivation et le courage pour atteindre vos objectifs.*

*A Nasselín,*

*Nono, aies confiance et suis toujours ta destinée. The only condition of victory is to stand up for your beliefs, because the dawn will never rise for the fallen one. Rêves grand et mets ta foi en JESUS CHRIST dans tous les domaines de la vie.*



*.A Ma Directrice de thèse, Professeur KOULAKOU-SIRANSY*

*Je vous adresse mes plus chaleureux remerciements. Merci pour votre accessibilité et votre disponibilité, ainsi que votre patience et votre bienveillance envers moi. Merci également pour l'environnement de travail mis à ma disposition pour le déroulement de cette thèse. Merci pour tout cher maitre.*

*A mes collaborateurs*

*Je remercie Monsieur Adou Tano, tradipraticien, inventeur du remède « SARENTA » pour la mise à disponibilité de la préparation et sa sympathie.*

*Je remercie le personnel du Laboratoire National d'Appui au Développement Agricole en particulier les Docteurs Yao et Aké. Pour la réalisation de mes tests chimiques et toxicologiques. Je tiens aussi à remercier sincèrement Monsieur Konan pour son excellente collaboration.*

*L'opportunité m'est également donnée de remercier le laboratoire LONGCHAMP, un énorme merci particulièrement à Madame Alley pour son grand dévouement dans la prise en charges de nos dosages biologiques.*

*Je remercie le Centre Suisse de Recherche Scientifique de Cote d'Ivoire notamment Monsieur Touré Sadikou.*

*Ma reconnaissance va aussi à l'endroit du personnel de la faculté de pharmacie qui m'a permis de réaliser ce travail. Merci à Docteur Djadji, un énorme merci à monsieur Clément pour son aide inestimable, merci aussi à Manou, Vanessa, Alex, Franck et les autres pour la réalisation des tests statistiques et la mise en forme du document.*

## *A mes aînés au sein de la profession pharmaceutique*

*Je vous témoigne de ma gratitude pour l'inspiration et le soutien à mon égard. Merci particulièrement aux Docteurs Sanlé Jean Cresort, Sanlé Yvonne, Dagou Christophe, Affolaby Anne, Kouassi Vivianne, Zéré Guy Serges, Obodjé Laétitia, Assamoah Franck, Kanté Aichatou et tous les autres que je n'ai pu citer.*

## *A mes amis*

*Mon meilleur ami pour la vie, mon BFF, Kume Stéphane Kyle. Tu sais déjà tout. Que Dieu te bénisse et qu'il t'aide à réaliser tes rêves.*

*Mes deux amours et meilleurs amis pour la vie, Ackah Maryse et Yao Bi Aymar. Je vous souhaite une excellente carrière pharmaceutique et que nous puissions demeurer ensemble.*

*Mes supers amis du Tronc Commun (Les Supers Charlène, Gisèle, Carole, Arnold, John, Danielle, Ange Michel). Je n'oublierai jamais les moments passés avec vous.*

*Mes proches amis : Anne Sophie, Camille, Ange Wilfried, Manoo, Diddi-Pink, Denise, Junior, Super Cheicky, Super Abraham, Patrick, Isabelle, Marc Olivier, Brice Etienne, Emmanuel, Francklin,, Guy Rodrigue, Serge-Stéphane et tous les autres que je n'ai pu citer.*

*Mes amis de la faculté de pharmacie, particulièrement le Noyau, mes amis du Lycée Classique et du Lycée technique ainsi que tous les autres.*

*A tous*

*Mes infinis remerciements à toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à ma formation depuis la maternelle jusqu'à ce jour. Je pense aussi à tous les autres membres de ma famille. Je vous témoigne ma gratitude car ce travail est en partie le fruit de leur soutien.*

*Merci à tous ceux qui croient en moi et qui m'aiment.*

**A NOS CHERS  
MAITRES**

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENTE DE JURY

**Madame le Professeur AKE MICHELE**

- *Docteur en pharmacie ;*
- *DESS en Nutrition, Diététique et Contrôle des Aliments Université Paris XI ;*
- *DEA option Sciences des aliments de l'université de Montpellier I, option sciences des aliments ;*
- *Doctorat de l'Université de Montpellier I, option Sciences des Aliments ;*
- *Professeur Titulaire en chimie analytique à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan ;*
- *Pharmacien chef de la pharmacie et du laboratoire de nutrition de l'INSP d'Abidjan ;*
- *Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie ;*
- *Membre de l'Association of Official Analytical Chemists (AOAC) ;*
- *Membre de la Société des Experts Chimistes de France.*

***Cher maître***

*Vous nous faites l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse malgré vos multiples occupations. Recevez notre infinie reconnaissance.*

*Que ce travail soit le gage de notre profond respect et de notre grande admiration pour vos qualités humaines et pédagogiques exceptionnelles.*

*Que la paix du Seigneur DIEU soit avec vous !*

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

**Madame le Professeur KOUAKOU SIRANSY GISELE**

- *Professeur agrégé en pharmacologie ;*
- *Titulaire d'une thèse de doctorat unique en pharmacologie de l'université Félix Houphouët-Boigny ;*
- *Titulaire d'un DEA en physiologie animale ;*
- *Membre de la Société Française de la Pharmacologie et de la thérapeutique ;*
- *Pharmacien hospitalier au CHU de Cocody ;*
- *Ancien interne des hôpitaux ;*
- *Membre de la Société Française d'Ethnopharmacologie ;*
- *Membre de la Société de Pharmacologie et de Toxicologie du Burkina Faso ;*
- *Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie.*

***Cher maître***

*Vos qualités professionnelles, votre amour pour le travail bien fait et votre disponibilité font de vous un modèle.*

*Nous gardons en souvenir vos immenses qualités humaines et votre rigueur dans le travail.*

*En reconnaissance de tout ce que nous avons reçu de vous, nous vous prions de bien vouloir recevoir l'expression de notre gratitude et de notre grande admiration.*

*Que Dieu vous bénisse*

A NOTRE MAITRE ET JUGE

**Monsieur le Professeur DALLY LABA ISMAEL**

- *Docteur en Sciences Pharmaceutiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan*
- *Maitre de Conférences Agrégé de Pharmacie galénique et Industrielle*
- *Pharmacien des Hôpitaux*
- *Chercheur au laboratoire de Pharmacie galénique et Législation pharmaceutique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan*
- *DEA de Conception, Réalisation et Evaluation de médicaments d'origine traditionnelle, option Pharmacotechnie*
- *DESS de Contrôle qualité des médicaments, aliments et produits cosmétiques*
- *Responsable des expertises Pharmacotechniques du Laboratoire de Contrôle des Médicaments du Laboratoire National de la Santé Publique d'Abidjan*
- *Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM)*
- *Membre de la Société Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI)*

***Cher maître,***

*C'est avec joie que nous vous comptons parmi les membres de ce jury. Votre présence est pour nous un honneur, veuillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements et de notre profond respect.*

*Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre reconnaissance pour le grand honneur que vous nous faites de compter parmi nos juges*

A NOTRE MAITRE ET JUGE

**Madame le Professeur SANGARE TIGORI BEATRICE**

- *Pharmacien analyste au Laboratoire National de Santé Publique (LNSP) ;*
- *Professeur titulaire de toxicologie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët Boigny,*
- *Titulaire d'un DESS de Toxicologie ;*
- *Titulaire d'un DEA de valorisation de la Pharmacopée Traditionnelle Africaine ;*
- *Membre du Comité Interministériel de lutte contre la drogue en milieu sportif ;*
- *Titulaire d'une thèse unique en toxicologie ;*
- *Experte toxicologue près des tribunaux de Côte d'Ivoire.*
- *Membre de la SOPHACI*

*Cher maître,*

*Nous avons été sensibles à vos qualités d'enseignante doublée de vos qualités humaines.*

*Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre reconnaissance pour le grand honneur que vous nous faites de compter parmi nos juges*



## LISTE DES ABREVIATIONS

**AA:** Absorption Atomique

**ADN:** Acide Désoxyribonucléique

**AFB1:** Aflatoxine B1

**AFB2:** Aflatoxine B2

**AFG1:** Aflatoxine G1

**AFG2:** Aflatoxine G2

**AINS :** Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien

**AIS :** Anti-Inflammatoire Stéroïdien

**ALAT:** Alanine Amino Transferase

**AM :** Analgésiques Morphiniques

**AMM:** Autorisation de mise sur le marché

**ANM:** Analgésiques Non Morphiniques

**ASAT:** Aspartate Amino Transferase

**ASTDR:** Agency for Toxic Substances and Disease Registry

**C :** Concentration

**Cd:** Cadmium

**CHU:** Centre Hospitalier et Universitaire

**CO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>:** carbonate de sodium

**COX :** Cyclo-oxygénase

**CPG :** Chromatographie en phase gazeuse

**CSRS-CI:** Centre Suisse de Recherche Scientifique en Côte-d'Ivoire

**Cu :** Cuivre

**Cu<sup>+</sup>:** Ion cuivre

**DSENO** : Dose (maximale) Sans Effet Nocif Observé

**e-** : Electron

**EAG** : Equivalent d'acide gallique

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**FAO**: Fonds des nations unies pour l'alimentation

**Fe** : Fer

**Fe<sup>2+</sup>**: Ion ferreux

**Fe<sup>3+</sup>**: Ion ferrique

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

**FRAP**: Ferric Reducing Antioxydant Power

**g**: Grammes

**GABA** : Acide gamma amino butyrique

**h** : Heure

**H+**: Ion hydrogène

**HCl** : Acide chlorhydrique

**Hdl**: High density lipoproteins

**Hg**: Mercure

**HPLC**: Chromatographie Liquide Haute Performance

**IARC**: International Association for Research on Cancer

**IASP**: International Association for the Study of Pain

**IL** : Interleukine

**ISO** : International Standardisation Organisation

**J** : Jours

**JEFCA**: Comité mixte des experts en additifs alimentaires

**K+**: Ion Potassium

**Kg**: Kilogramme

**L** : Litre

**LANADA**: Laboratoire National d'Appui au Développement Agricole

**LCAE**: Laboratoire central d'agrochimie et d'Eco toxicologie

**LCHAI**: Laboratoire central pour l'hygiène alimentaire et l'agro-industrie

**LD** : Limite de détection

**Ldl**: Low density lipoproteins

**LQ** : Limite de quantification

**m/v** : masse sur volume

**M**: Moles

**M0** : Masse avant incinération

**M1** : Masse après incinération

**mg**: milligramme

**mg/kg** : milligramme par kilogramme

**mg/l**: milligramme par litre

**mg/ml** :milligramme par millilitre

**ml** : millilitre

**ml/mn** :millilitre par minute

**mn** : minutes

**MT**: Médecine traditionnelle

**n**: Taille de la population

**N** : normalité

**NaCl** : Chlorure de sodium

**NADP**: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

**NADPH** :Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Réduit

**ng**: nanogramme

**NH<sub>4</sub>OH**: Hydroxyde d'ammonium

**Ni** : Nickel

**nm**: nanomètre

**O<sub>2</sub>** : Dioxygène

**OAPI** : Organisation Africaine de la Propriété Intellectuelle

**OCDE** : Organisation de Coopération et de Développement Economique

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**OMS/AFRO** : Organisation Mondiale de la Santé pour l'Afrique

**ONG** : Organisation Non Gouvernementale

**OTA** : Ochratoxine A

**p**: p value

**PATL**: Pourcentage d'augmentation du temps de latence

**Pb** : Plomb

**PBS** : Phosphate Buffered Saline ou Tampon Phosphate Saline

**PC** : poids corporel

**PG** : Prostaglandines

**pH** : potentiel en hydrogène

**PNPMT** : Programme National de Promotion de la Médecine Traditionnelle

**PNUE**: Programme des Nations Unies pour l'Environnement

**R<sup>2</sup>**: coefficient de corrélation

**SNC** : Système Nerveux Central

**SPB:** Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

**T °:**Température

**TEAC:** Trolox equivalent antioxidant capacity

**TNF $\alpha$ :** Tumor Necrosis Factor  $\alpha$

**TP:** Tradipraticien de santé

**TRAP:** Total radical trapping antioxidant parameter

**UFR :** Unité de Formation et de Recherche

**UV :** ultraviolet

**V :** Volume

**VITC :** vitamine C

**Zn :** Zinc

**[K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>]** : Hexacyanoferrate de potassium

**°:** Degré

**°C :** Degré Celsius

**$\mu$ g :** microgramme

**$\mu$ g/kg :** microgramme par kilogramme

**$\mu$ g/kg :** microgramme par kilogramme

**$\mu$ g/l :** microgramme par litre

**$\mu$ L:** microlitre

## LISTE DES FIGURES

	Page
FIGURE 1 : Schématisation du mode d'action du système nociceptif-----	14
FIGURE 2 : Formation du transudat et de l'exsudat lors de l'inflammation-----	19
FIGURE 3 : Migration trans-endothéliale des leucocytes-----	20
FIGURE 4 : Processus général des différentes étapes de la réaction inflammatoire-----	21
FIGURE 5 : Mécanisme d'action des AINS-----	22
FIGURE 6 : Schématisation des sites de production des espèces réactives de l'oxygène-----	29
FIGURE 7 : Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires-----	34
FIGURE 8 : Classification des différents groupes de polyphénols-----	35
FIGURE 9 : Remède « SARENTA » en flacon de 500 ml-----	44
FIGURE 10 : Etiquette du remède « SARENTA »-----	45
FIGURE 11: Quelques équipements utilisés au cours de l'étude pharmacologique-----	47
FIGURE 12 : Souris en cage avec eau de boisson-----	48
FIGURE 13 : Rats en cage avec eau de boisson et granulés-----	49
FIGURE 14 : Diverses solutions aqueuses du remède « SARENTA » disposés dans une étuve de type ECOCELL-----	51
FIGURE 15 : Obtention de la poudre sèche du remède « SARENTA »-----	52
FIGURE 16 : Présence de flavonoïdes due à la coloration jaune-orangée -----	67
FIGURE 17 : Présence de tannins due à la formation d'un précipité brun -----	68
FIGURE 18 : Présence d'hétérosides cardiotoniques due à la formation d'une coloration rouge orangée -----	69

FIGURE 19 : Présence d'«alcaloïdes due à la formation d'«une coloration jaune-orangé -----	70
FIGURE 20 : Prélèvement par ponction cardiaque-----	75
FIGURE 21 : Temps moyens de latence de retrait de la queue des souris en fonction des doses administrées des substances -----	78
FIGURE 22 : Evolution du pouvoir réducteur du remède « SARENTA » en fonction de la concentration-----	80
FIGURE 23 : Evolution du pouvoir réducteur de la vitamine c en fonction de la concentration -----	80
FIGURE 24 : Evolution des masses moyennes des granulomes formés en fonction de la dose administrée des substances -----	81
FIGURE 25 : Courbe d'«étalonnage du dosage des polyphénols totaux-----	88
FIGURE 26 : Courbe d'«étalonnage du dosage des tannins -----	88
FIGURE 27 : Courbe d'«évolution du poids des rats traités par le remède « SARENTA » à différentes doses pendant 28 jours par rapport au témoin ---	91
FIGURE 28 : Effet du remède « SARENTA » sur les valeurs moyennes de l'«ALAT en fonction des doses administrées pendant 28 jours -----	93
FIGURE 29 : Effet du remède « SARENTA » sur les valeurs moyennes de l'«ASAT en fonction des doses administrées pendant 28 jours -----	95
FIGURE 30 : Administration d'«une substance par gavage -----	144
FIGURE 31 : Administration par injection intrapéritonéale-----	144
FIGURE 32 : Dispositif expérimental pour le test du TAIL FLICK -----	145
FIGURE 33 : Insertion de la queue de la souris dans la cage en plexiglas -----	145
FIGURE 34 : Mise en contact de la queue de la souris à la lumière calorifique	146
FIGURE 35 : Boulettes de coton stérilisées -----	147
FIGURE 36 : Délimitation de la région lombaire par rasage des poils-----	147
FIGURE 37 : Incision réalisée au niveau de la région lombaire droite par une lame de bistouri-----	148

FIGURE 38 : Suture de l'incision après implantation des boulettes de coton par du fil de soie 2.0-----	148
FIGURE 39 : Traitement des incisions suturées par de la povidone solution dermique-----	149



## LISTE DES TABLEAUX

	Page
TABLEAU I : Classification pharmacologique des analgésiques-----	16
TABLEAU II : Classification des antiinflammatoires non stéroïdiens-----	23
TABLEAU III : Classification des antiinflammatoires stéroïdiens -----	25
TABLEAU IV : Activités biologiques des composés polyphénoliques-----	36
TABLEAU V : Liste des plantes composant le remède « SARENTA »-----	45
TABLEAU VI : Comparaison statistique des temps de latence de retrait de la queue des souris en fonction des doses administrées des substances-----	79
TABLEAU VII : Comparaison statistique de l'évolution des masses moyennes des granulomes formés en fonction de la dose administrée des substances-----	82
TABLEAU VIII : Résultats d'analyse de l'Ochratoxine A(OTA)-----	83
TABLEAU IX : Résultats d'analyse des aflatoxines B1, B2, G1 ET G2-----	84
TABLEAU X : Résultats d'analyse des pesticides retrouvés-----	84
TABLEAU XI : Résultats de la recherche des métaux lourds-----	85
TABLEAU XII : Résultats de la détermination du taux de cendres totales-----	86
TABLEAU XIII : Résultats de la détermination du taux de cendres insolubles---	86
TABLEAU XIV : Screening phytochimique du remède « SARENTA »-----	87
TABLEAU XV : Dosage des polyphénols et tannins dans le remède « SARENTA »-----	87
TABLEAU XVI : Résultats de la recherche des oligoéléments-----	89
TABLEAU XVII : Variation des poids moyens des rats-----	92
TABLEAU XVIII : Comparaison statistique des valeurs de l'ALAT pour les différents lots-----	94
TABLEAU XIX : Comparaison statistique des valeurs de l'ASAT pour les différents lots-----	96

## TABLES DES MATIERES

LISTE DES FIGURES.....	XXIX
LISTE DES TABLEAUX .....	XXXII
TABLES DES MATIERES.....	XXXIII
INTRODUCTION .....	1
PREMIERE PARTIE : GENERALITES .....	5
A)DEVELOPPEMENT DE LA MEDECINE TRADITIONNELLE .....	6
I)Définitions .....	6
II) Pratique de la médecine traditionnelle.....	7
III)Etat des lieux de la pratique de la médecine traditionnelle en Côte d'Ivoire .....	9
B)REGLEMENTATIONS DES PREPARATIONS A BASE DE PLANTES.....	10
C)DOULEUR ET MEDICAMENTS ANALGESIQUES.....	12
I)Définition de la douleur.....	12
II) Physiopathologie de la douleur (Beaulieu, 2005) .....	13
III) Classification et propriétés pharmacologiques des médicaments analgésiques .....	15
D)INFLAMMATIONS ET MEDICAMENTS ANTI-INFLAMMATOIRES.....	17
I)Généralités sur l'inflammation .....	17
II) Physiopathologie de la réaction inflammatoire .....	18
III) Généralités sur les médicaments anti-inflammatoires .....	21
E)STRESS OXYDATIF ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE .....	25
I)Radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène .....	26
1) Définitions .....	26
2) Classifications .....	26
3) Productions.....	28
II)Stress oxydatif .....	30
III) Activité antioxydante.....	31
1) Définition .....	31
2) Critères d'un bon antioxydant (Valko et al, 2006) .....	31

IV) Classification des antioxydants .....	32
1) Systèmes antioxydants endogènes.....	32
2) Systèmes antioxydants exogènes .....	33
F)EVALUATION DES PREPARATIONS TRADITIONNELLES DE SANTE .....	37
I)Méthodes d'évaluation de l'efficacité.....	37
II) Méthodes d'évaluation de la qualité .....	40
III)Méthodes d'évaluation de l'innocuité .....	41
DEUXIEME PARTIE : MATERIELS ET METHODES .....	42
A) CADRE DE L'ETUDE .....	43
B) MATERIELS .....	44
I) Matériels pour l'étude pharmacologique .....	44
1) Présentation du remède « SARENTA » .....	44
2) Solvants, réactifs et substances de référence .....	46
3) Appareillage et équipement .....	46
II) Matériels pour les études analytiques et toxicologiques.....	49
C) METHODES .....	51
I) Préparation du remède à tester.....	51
II) Tests d'évaluation de l'efficacité .....	54
III)Test d'évaluation de la qualité.....	64
IV) Test d'évaluation de l'innocuité .....	76
V) ANALYSE STATISTIQUE .....	80
TROISIEME PARTIE : RESULTATS .....	81
A) ASPECT EFFICACITE .....	82
I) Evaluation de l'activité analgésique de type morphinique .....	82
II) Evaluation de l'activité antioxydante .....	84
III)Evaluation de l'activité antiinflammatoire en modèle d'inflammation subaiguë ..	85
B) ASPECT QUALITE.....	87
I) Recherche et Analyse des Mycotoxines.....	87
II) Recherche et analyse des pesticides .....	89
III) Recherche et analyse des métaux lourds .....	90
IV) Analyses de la qualité phytochimique .....	91
C) ASPECT INNOCUITE .....	96

<i>I) Variation des poids des rats et observation des signes cliniques</i> .....	96
<i>II) Détermination des valeurs des transaminases</i> .....	98
QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION .....	98
A) ASPECT EFFICACITE .....	98
B) ASPECT QUALITE.....	106
C) ASPECT INNOCUITE .....	117
LIMITES ET DIFFICULTES .....	119
PERSPECTIVES .....	121
CONCLUSION .....	123
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	126
ANNEXES .....	143

# INTRODUCTION

La phytothérapie est une méthode thérapeutique très ancienne. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées dans le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus important éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (**Le monde de la Cites, 2002**)

Les préparations à base de plantes sont ainsi très utilisées et ont une importance considérable en médecine traditionnelle.

D'après une estimation de l'OMS, environ 80% des populations rurales vivant dans les pays en voie de développement sont tributaires de la médecine traditionnelle en vue de satisfaire leurs besoins en santé. Assurément, l'accès aux prestations de santé et aux médicaments est devenu aléatoire pour les populations financièrement démunies (**OMS, 2002**).

C'est pourquoi, la médecine traditionnelle apparaît comme l'alternative la plus appropriée pour combler les carences en besoins sanitaires et connaît de nos jours un regain d'intérêt important au sein de nos peuplades africaines.

Il y a plus de 20 ans, déjà, que l'OMS reconnaissait l'importance de la médecine traditionnelle et proposait son intégration dans les systèmes officiels de santé, particulièrement dans les pays en développement (**OMS, 2002**).

C'est à ce juste titre qu'en Côte d'Ivoire, le Ministère de la Santé a intégré la médecine traditionnelle dans son plan national de développement sanitaire par la création en 2001 du Programme National de Promotion de la Médecine Traditionnelle (PNPMT).

La mission assignée à ce programme est l'amélioration de la couverture sanitaire nationale par une utilisation effective et efficiente de la médecine

et de la pharmacopée traditionnelle à travers la réglementation, la réhabilitation et l'organisation de ce secteur.

En dépit de cet engouement en faveur de la médecine traditionnelle, il faut reconnaître qu'elle souffre également d'un certain nombre d'insuffisances notamment l'existence de très peu de données scientifiques sur l'innocuité et l'efficacité des remèdes utilisés par la population (**Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique, 2007**).

Ceci est le cas du remède « SARENTA » traditionnellement utilisé dans quelques pathologies et jouissant d'une certaine renommée dans le folklore ivoirien grâce à la transmission de son intérêt thérapeutique par voie orale.

Aussi, afin d'apporter une justification scientifique et de donner des informations sûres au consommateur, d'aider les tradipraticiens à améliorer la qualité de leurs remèdes et de répondre à la politique d'intégration de la médecine traditionnelle dans le système national de santé en Côte d'Ivoire, nous avons mené une étude dont l'objectif général est d'étudier les activités analgésique morphinique, antioxydante, antiinflammatoire et la qualité de « SARENTA », un remède traditionnel à base de plantes.

Nos objectifs spécifiques s'articuleront sur plusieurs aspects.

- Au niveau de l'efficacité

Evaluer l'activité analgésique morphinique, antioxydante et antiinflammatoire dans un modèle d'inflammation subaiguë du remède.

- Au niveau de la qualité

Rechercher la présence de pesticides, de mycotoxines et des métaux lourds.

Déterminer la composition phytochimique du remède.

- Au niveau de l'innocuité

Déterminer la toxicité subaiguë à travers la mesure du poids corporel et l'exploration des transaminases.



# **PREMIERE PARTIE :** **GENERALITES**

## **A) DEVELOPPEMENT DE LA MEDECINE TRADITIONNELLE**

### ***1) Définitions***

- **La Médecine Traditionnelle**

La médecine traditionnelle est définie comme un ensemble de connaissances, de techniques, de préparations et d'utilisations des substances et pratiques traditionnelles qui s'appuient sur les expériences vécues et les observations transmises de génération en génération et qui servent à diagnostiquer, prévenir, guérir des maladies ou éliminer un déséquilibre du bien-être physique, mental ou social (**OMS, 2002**).

- **Préparations à base de plantes**

Les préparations à base de plantes comprennent les matières végétales en fragments ou en poudre, les extraits, teintures et huiles grasses, dont la production fait intervenir des opérations de fractionnement, de purification, de concentration ou d'autres procédés physiques ou biologiques. Elles comprennent également des préparations obtenues en faisant macérer ou chauffer des matières végétales dans des boissons alcoolisées et/ou du miel, ou dans d'autres matières (**OMS, 2002**).

- **Ethnopharmacologie**

L'ethnopharmacologie peut être définie par l'étude scientifique interdisciplinaire de l'ensemble des matières d'origine végétale, animale ou minérale, et des savoirs ou des pratiques s'y rattachant, que les cultures vernaculaires mettent en œuvre pour modifier les états des organismes vivants, à des fins thérapeutiques, curatives, préventives, ou diagnostiques (**Fleurentin et al, 1990**).

- **Ethnobotanique**

C'est la partie de l'ethnobiologie traitant des rapports entre un groupe humain et la flore (*Lieutaghi, 2003*).

## ***II) Pratique de la médecine traditionnelle***

### 1) Les tradipraticiens de santé (*Konan, 2012*).

Ce vocable regroupe les personnes connaissant et utilisant les vertus des substances végétales, animales et minérales et dont l'aptitude à diagnostiquer ou à dispenser des soins traditionnels est de notoriété publique. Ils peuvent avoir plusieurs compétences :

- *Les phytothérapeutes ou guérisseurs*

Ils utilisent les vertus préventives et curatives des plantes pour soigner les maladies. Ils diagnostiquent les affections, dispensent les soins aux malades et leur prescrivent des plantes médicinales.

- *Les herboristes*

Ils ne dispensent pas de soins, mais, ils connaissent les usages des plantes médicinales et les mettent à la disposition d'autres tradipraticiens.

- *Les naturothérapeutes*

Il s'agit d'une catégorie de spécialistes disposant de méthodes basées sur l'hygiène, la nutrition, le régime alimentaire et le choix approprié des aliments en fonction de l'état de santé.

- *Les accoucheuses traditionnelles*

Elles assistent les parturientes au cours du travail afin de leur permettre d'accoucher.

- *Les psychothérapeutes*

Ils utilisent la puissance du verbe et les incantations. Ils peuvent provoquer des chocs psychologiques libérateurs dans le mental du malade afin de rétablir l'harmonie et la santé du corps et de l'esprit.

- *Les spiritualistes*

Dans ce groupe, on identifie des ritualistes, des devins et des occultistes. Ils utilisent des sciences mystiques et des pouvoirs surnaturels pour guérir.

## 2) Les modes d'acquisition des savoirs traditionnels

L'art traditionnel de soins est un ensemble de connaissances empiriques, acquises par l'une des voies suivantes:

- *La famille* : acquisitions du savoir par l'apprentissage pendant plusieurs années auprès des ascendants.
- *L'achat* d'une recette jugée efficace après le traitement d'une affection donnée.
- *Le pouvoir inné* : dans ce cas la transmission du savoir se fait par Dieu, des esprits (initiation, choix mystique), en révélation ou rêve (**Kroa, 2000**).
- *La recherche personnelle* : certaines personnes ont acquis leur savoir en recherchant un remède contre une affection particulière par auto apprentissage dans des livres ou des enquêtes sur les populations (**Kroa, 2000**).

### ***III) Etat des lieux de la pratique de la médecine traditionnelle en Côte d'Ivoire***

La médecine traditionnelle assurait la majeure partie de la couverture des besoins sanitaires des populations pendant la période précoloniale (avant 1893). Elle a été proscrite pendant la colonisation (1893-1960) au profit de la médecine moderne importée. Cependant, la médecine traditionnelle deviendra une composante de la politique sanitaire en août 1995 (**Konan, 2012**).

En 1998, il a été créé une sous-direction de la médecine traditionnelle rattachée à la Direction des établissements et professions sanitaires. Cette sous-direction fut érigée en direction de coordination du Programme National de Promotion de la Médecine Traditionnelle (PNPMT) créé par l'arrêté ministériel n° **409/CAB/MSHP du 28 décembre 2001**.

Le PNPMT a pour but de promouvoir la médecine et la pharmacopée traditionnelle par des actions en faveur de la réglementation, de l'organisation et de la réhabilitation de ces secteurs. Il a été mis en place par l'Etat ivoirien en vue de satisfaire les recommandations de l'OMS (**OMS, 1998**).

Le Ministère en charge de la Santé a mené une enquête auprès des tradipraticiens et recensé plus de 2000 plantes traditionnellement utilisées dans diverses pathologies et traitant toutes sortes de maux dont l'hypertension artérielle, le paludisme, la douleur, l'inflammation et la fièvre (**OMS, 2002**). En 2007, un document fixant les objectifs, les stratégies et les grandes orientations de politique nationale en matière de médecine traditionnelle a été adopté. Une unité de médecine

traditionnelle a été créée en 2013 au sein du CHU de Treichville et une vitrine dans les locaux de l'OMS à Abidjan.

Toutefois, l'OMS a recommandé aux pays africains, d'apporter non seulement un appui technique, mais aussi, d'assurer la formation des tradipraticiens et mettre en place un cadre conventionnel et juridique adéquat pour une meilleure collaboration des deux formes de médecine. La stratégie de l'OMS vise notamment à aider les pays africains à développer des industries locales viables pour améliorer l'accès aux remèdes traditionnels (*OMS, 2013*).

## **B) REGLEMENTATIONS DES PREPARATIONS A BASE DE PLANTES**

La situation juridique des préparations à base de plantes varie d'un pays à l'autre. Les points communs sont les suivants :

- La description des plantes dans une monographie de pharmacopée,
- la revendication d'un effet thérapeutique,
- les ingrédients ou les substances prévues et les périodes d'utilisation.

L'organisation africaine de propriété intellectuelle (**OAPI**) a publié une classification inspirée de celle de l'**OMS/AFRO** adoptée au cours de l'atelier régional d'Harare de décembre 2001.

La Cote d'Ivoire s'inspire de cette classification pour l'homologation de ses médicaments traditionnels à base de plantes.

### **Catégorie 1 :**

Préparation réalisée de façon extemporanée par un tradipraticien pour un malade donné et qui présente les caractéristiques suivantes :

- les matières premières entrant dans l'élaboration du médicament sont bien connues du tradipraticien et utilisées à l'état frais ou sec.
- L'innocuité et l'efficacité du médicament sont garanties par plus d'une génération d'utilisation.
- La conservation est de courte durée.

### **Catégorie 2 :**

Préparations d'usage populaire et commercial qui présente les caractéristiques suivantes :

- La préparation est faite à l'avance selon des méthodes standardisées garantissant la stabilité et conditionnée par un numéro de lot.
- Les principes actifs sont des matières brutes ou les principaux groupes chimiques des matières premières connues de la population.
- L'évidence ethno médicale d'une longue expérience d'utilisation ou par des essais cliniques ouverts pourrait attester de l'innocuité et l'efficacité du médicament si la garantie est jugée nécessaire par l'autorité compétente.
- Ils ne font pas l'objet d'AMM mais d'une autorisation d'exercice de la médecine traditionnelle délivrée par le ministère de la santé.

### **Catégorie 3 :**

Médicaments issus d'institut de recherche comprenant les caractéristiques suivantes :

- La préparation est faite à l'avance par des méthodes de productions industrielles ou semi-industrialisées et conditionnée par un numéro de lots.
- La durée de conservation est fixée par des essais de stabilité.
- Les principes actifs sont des extraits standardisés.

Le dossier technique doit contenir les modules suivants : le module pharmaceutique, analytique, pharmacologique, clinique et toxicologique. Il doit contenir le rapport de recherches effectuées sur le médicament. Ils font l'objet d'une AMM.

#### **Catégorie 4 :**

Ce groupe de médicament est semblable à celui de la catégorie 3 à la différence que les principes actifs qu'il contient sont des molécules purifiées.

### **C) DOULEUR ET MEDICAMENTS ANALGESIQUES**

#### ***1) Définition de la douleur***

L'association internationale pour l'étude de la douleur définit la douleur comme « *une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable associée ou non à des lésions réelles ou potentielles, ou décrites en des termes évoquant de telles lésions* »(IASP, 1979).

La perception douloureuse est ainsi constituée d'une composante sensorielle, émotionnelle, cognitive et comportementale.

La composante sensorielle correspond à la capacité de l'individu à analyser la nature, la localisation, l'intensité et la durée du stimulus nociceptif.

L'expérience émotionnelle affecte toute perception douloureuse d'une tonalité désagréable, agressive, pénible ou difficilement supportable.

Le concept de cognition rentre aussi en jeu dans la notion de douleur, car il est susceptible d'influencer à la fois la sensation et la perception douloureuse ainsi que les réactions comportementales que la douleur induit. C'est le processus par lequel un organisme acquiert la connaissance des événements et des objets de son environnement.



Le comportement englobe les manifestations verbales et non-verbales observables lors du processus d'installation de la douleur.

Notons que l'expression de la douleur peut être subjective, d'où le développement d'échelle de cotation à l'instar de l'échelle visuelle analogique. Le décodage du message nociceptif n'est pas strictement proportionnel au stimulus et est soumis à une variabilité interindividuelle, voire même intra individuelle selon les contextes

## ***II) Physiopathologie de la douleur (Beaulieu, 2005)***

La physiopathologie de la douleur s'explique par un ensemble de mécanismes liés les uns aux autres.

- Voies d'activation de la douleur

L'activation à la périphérie de nocicepteurs par des stimuli algogènes (pression, chaleur, froids ou substances algogènes) va générer des messages nociceptifs transportés par des fibres Adelta peu myélinisées ou des fibres C non myélinisées.

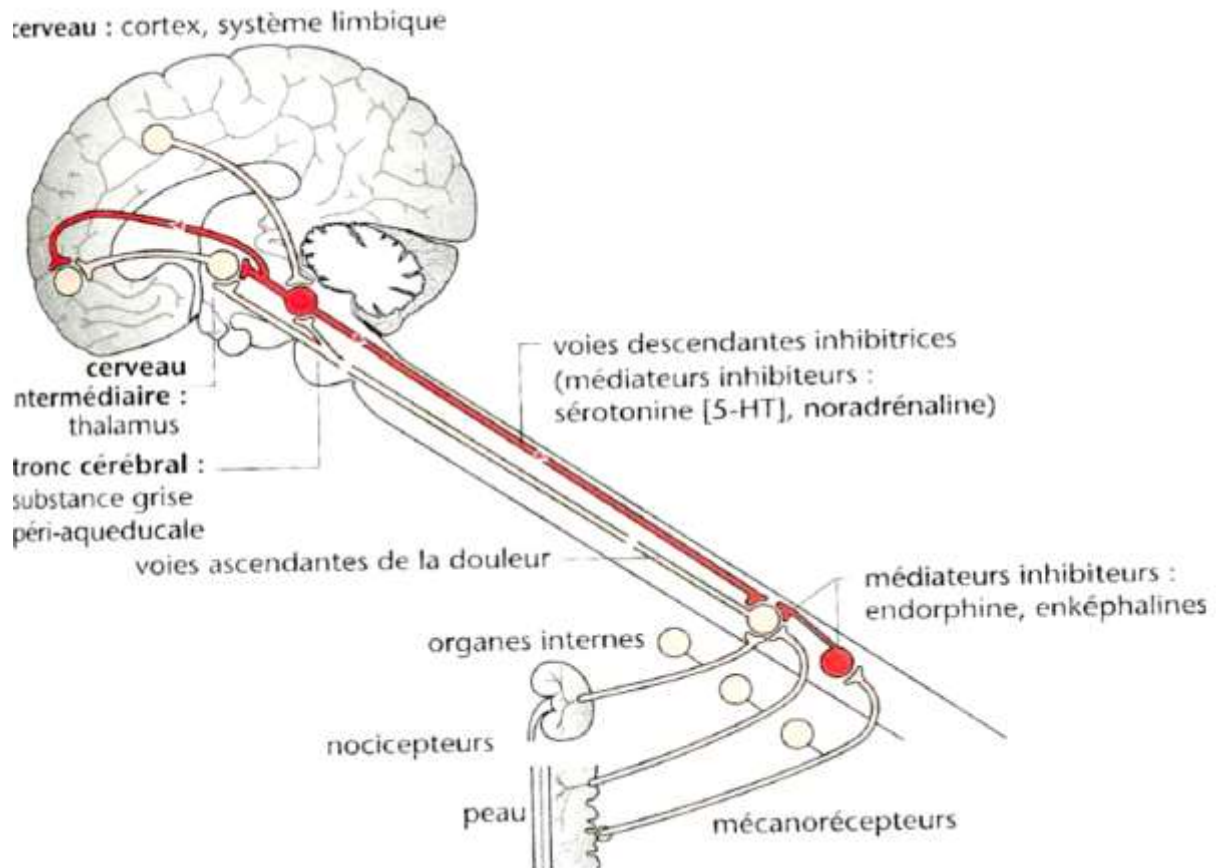
Des médiateurs (Glutamate, Histamine, Prostaglandines E2 et I2, leucotriènes et des ions H<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>) libérés, vont sensibiliser ou activer les chémorécepteurs et participent à la sensibilisation des tissus à la douleur. L'influx nociceptif est transmis à différents étages supérieurs du SNC : médullaire, supra-médullaire (thalamus, formation réticulée) ou cortical avec intégration de l'information.

- Voies de Modulation de la douleur

L'organisme a des systèmes de contrôle de la douleur.

- Au niveau médullaire, de grosses fibres A delta et Ac vont inhiber l'influx nociceptif.
- Des efférences inhibitrices (mésencéphaliques, bulbaires)

La sérotonine et la noradrénaline permettent la libération d'endorphines, et de l'acide gamma amino butyrique (GABA) qui se fixent sur leurs récepteurs présynaptiques et bloquent la libération de médiateurs de la douleur tels que la Substance P et le glutamate.



**FIGURE 1 : Schématisation du mode d'action du système nociceptif (Thiel & Roewer, 2006)**

### ***III) Classification et propriétés pharmacologiques des médicaments analgésiques***

- Analgésiques non morphiniques (ANM)

Les ANM sont des médicaments qui, administrés par voie générale diminuent les sensations douloureuses sans entraîner de perte de conscience.

Leur activité analgésique, doublée ou non d'une activité anti-inflammatoire et/ou antipyrétique, est généralement moins importante que celle des morphiniques.

- Analgésiques Morphiniques (AM)

Les AM ou analgésiques morphiniques sont des médicaments qui, administrés par voie générale abolissent sélectivement et selon un mécanisme central les sensations douloureuses.

Leur administration répétée entraîne une tolérance acquise chronique et une dépendance psychique et physique (**Tableau I**).

**TABLEAU I : Classification pharmacologique des analgésiques**  
(Cohen et al, 1981)

TYPE	SPECIFICITE		QUELQUES EXEMPLES
Analgésiques non morphiniques	Purs		Néfopam
	Antipyrétiques		Paracétamol
	Antipyrétiques et Anti-inflammatoires		Ibuprofène Salicylés
	Anti-inflammatoires(AINS)		<ul style="list-style-type: none"> <li>• arylcarboxyliques (diclofenac, ketoprofene),</li> <li>• oxicams (piroxicam),</li> <li>• coxibs (celecoxib),</li> <li>• fenamates (acide niflumique),</li> <li>• indolés (indométacine),</li> <li>• pyrazolés (butazolidine)</li> <li>• autres AINS (nimésulide)</li> </ul>
Analgésiques morphiniques	Faibles	Agonistes	Codéine Tramadol
	Forts	Agonistes	Morphine Péthidine
		Antagonistes	Naloxone Nalbuphine
		Agoniste mixtes	Buprénorphine Pentazocine

## D) INFLAMMATIONS ET MEDICAMENTS ANTI-INFLAMMATOIRES

### I) Généralités sur l'inflammation

L'inflammation est un processus biologique de défense de l'organisme face aux diverses agressions tissulaires qu'elles soient d'origine:

- Mécanique ou physique (radiations, électricité, froid, chaleur, piqure, coupure, contusion),
- Chimique (acide, base, substances minérales diverses)
- Immunologique ou biologique (virus, bactéries, parasite, champignon et les antigènes) et certains produits comme le venin, le pollen et les toxines (**Schorderet, 1992**).

La réaction inflammatoire est aussi une réaction du tissu conjonctif et des vaisseaux (**Touitou, 1997**). Le déclenchement et le déroulement de l'inflammation sont gouvernés par des réflexes nerveux et surtout par des médiateurs chimiques endogènes (**Grünfeed, 1994**).

Ainsi, en réponse à une perturbation physique ou chimique, il se produit une activation de la phospholipase A2 qui hydrolyse les liaisons esters des phospholipides membranaires et libère des dérivés de l'acide arachidonique, ce dernier à son tour est métabolisé selon deux voies possibles (**Figure 5**) : la voie de la lipoxigénase qui le transforme en leucotriène et la voie de la cyclo-oxygénase qui le transforme principalement en prostaglandine.

- Les leucotriènes augmentent la perméabilité capillaire et exercent une chimio-attractivité sur les polynucléaires.
- Les prostaglandines produisent une vasodilatation locale, favorisent l'œdème et l'afflux leucocytaire, en outre, ils dépriment certains mécanismes immunitaires et potentialisent les effets algogènes de la bradykinine.

- Les thromboxanes stimulent les mécanismes de l'agrégation plaquettaire.

## ***II) Physiopathologie de la réaction inflammatoire***

La réaction inflammatoire est un processus dynamique comportant une suite coordonnée d'événements :

- La phase aiguë
- La phase subaiguë
- La phase terminale ou de réparation.
- La phase chronique

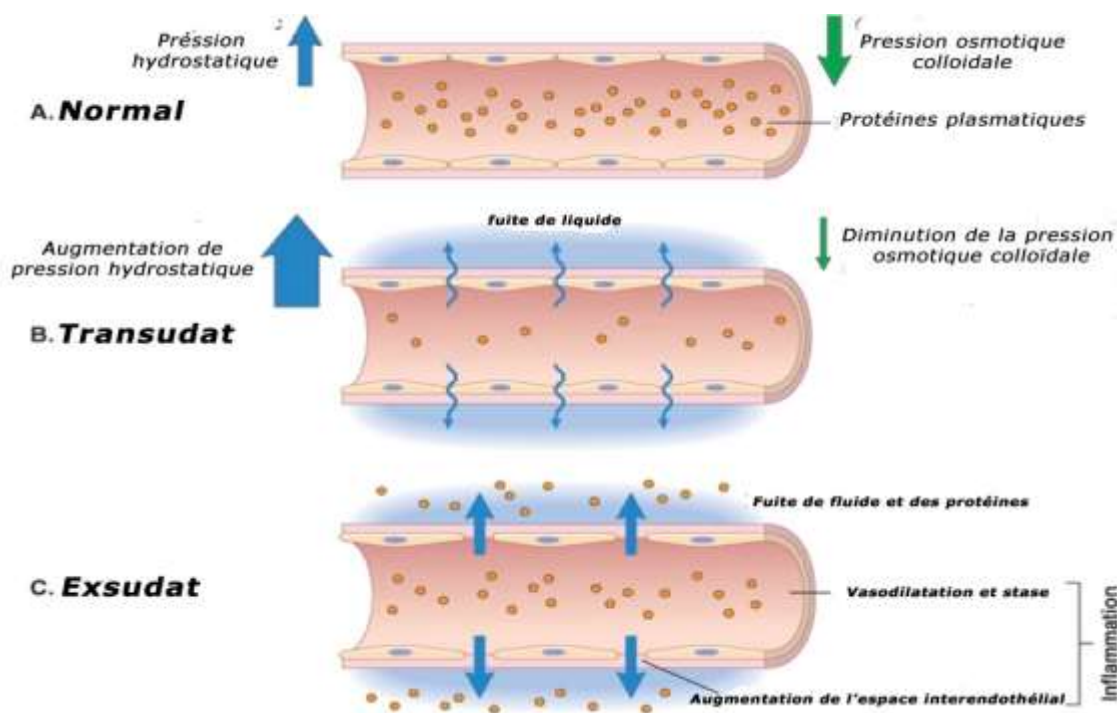
### 1) La phase aiguë

Elle est encore appelée phase précoce ou phase vasculaire et apparaît dans la microcirculation au niveau du site de la blessure.

Lorsqu'un tissu subit une agression, des cellules spécialisées, les mastocytes, libèrent de l'histamine et de la sérotonine qui stimulent une vasodilatation artériolaire dans la partie affectée ce qui provoque rougeur et chaleur.

Les capillaires (surchargés) laissent échapper du liquide qui s'infiltré dans les tissus (formation de transsudat ou d'exsudat), y entraînant un gonflement et causant une sensation douloureuse.

Elle se fait entre le premier et le troisième jour après la lésion.



**FIGURE 2:** Formation du transsudat et de l'exsudat lors de l'inflammation (Kumar et al, 2007).

## 2) La phase subaiguë

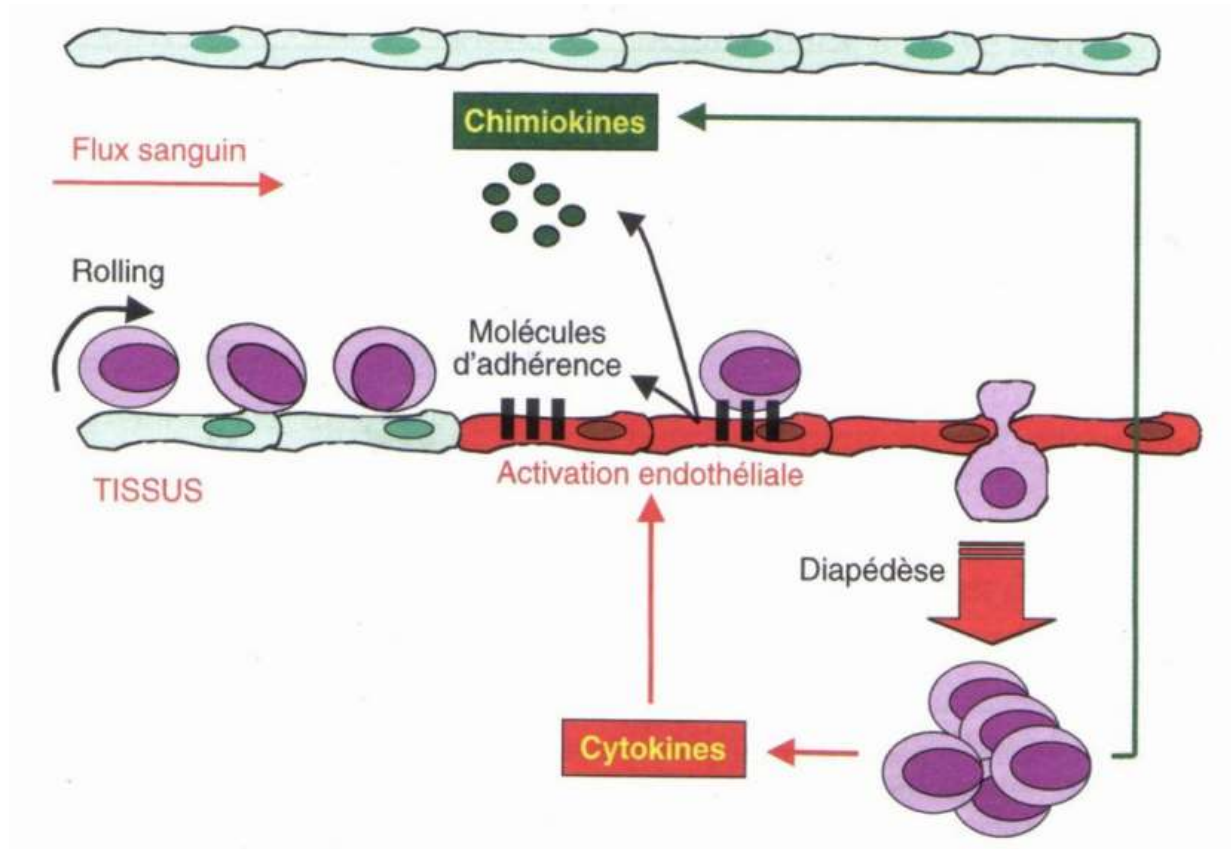
Elle est encore appelée phase secondaire ou phase cellulaire.

La migration extra vasculaire (diapédèse) des leucocytes et la libération de cytokines sont à l'origine de l'activation cellulaire et de la libération de médiateurs. Il se forme alors des tissus de granulation: granulome. Dès lors une succession d'évènements au sein de la lésion inflammatoire entraîne :

- La phagocytose d'agents extérieurs
- La captation et la présentation d'antigènes
- La production de radicaux libres

Les cytokines en outre agissent au niveau systémique pour augmenter la défense de l'hôte sous forme de fièvre.

Elle se fait à partir du 3<sup>e</sup> ou du 4<sup>e</sup> jour et peut aller jusqu'à 1 mois après la lésion.



**FIGURE 3:** Migration Trans-endothéliale des leucocytes (Weill et Bateau, 2003).

### 3) La phase terminale ou phase de régénérescence

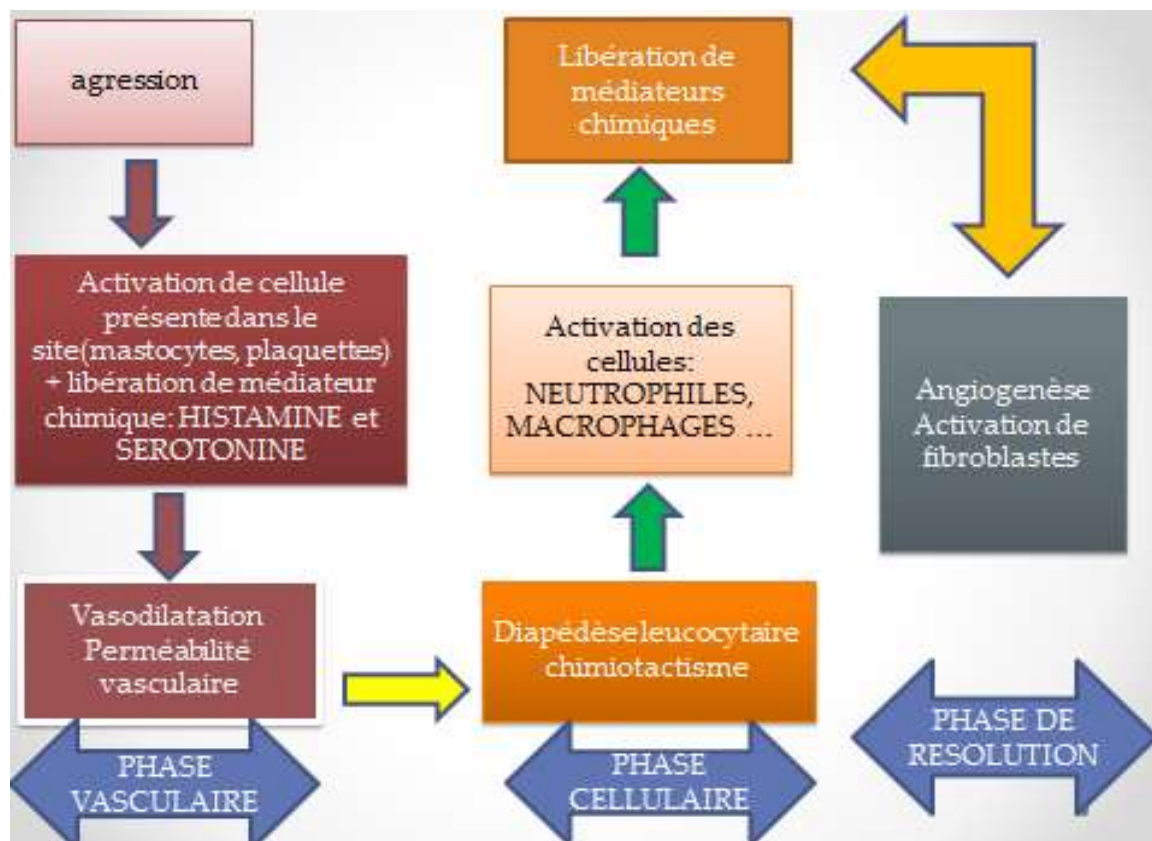
Cette phase correspond à la sclérose du tissu par élimination des débris cellulaires et tissulaires par un mécanisme de phagocytose et de pinocytose aboutissant à une régénérescence des tissus lésés. (Cohen, 1981; Bourin et al., 1993).

Lorsque la régénérescence des tissus ne peut se faire, l'on aboutit à la chronicité de l'inflammation.



#### 4) La Phase Chronique

Si la cause de la lésion n'a toujours pas pu être retirée au cours des phases précédentes, le tissu dégénère aboutissant à une déchirure et une rupture.



**FIGURE 4 : Processus général des différentes étapes de la réaction inflammatoire(Andonirina, 2013).**

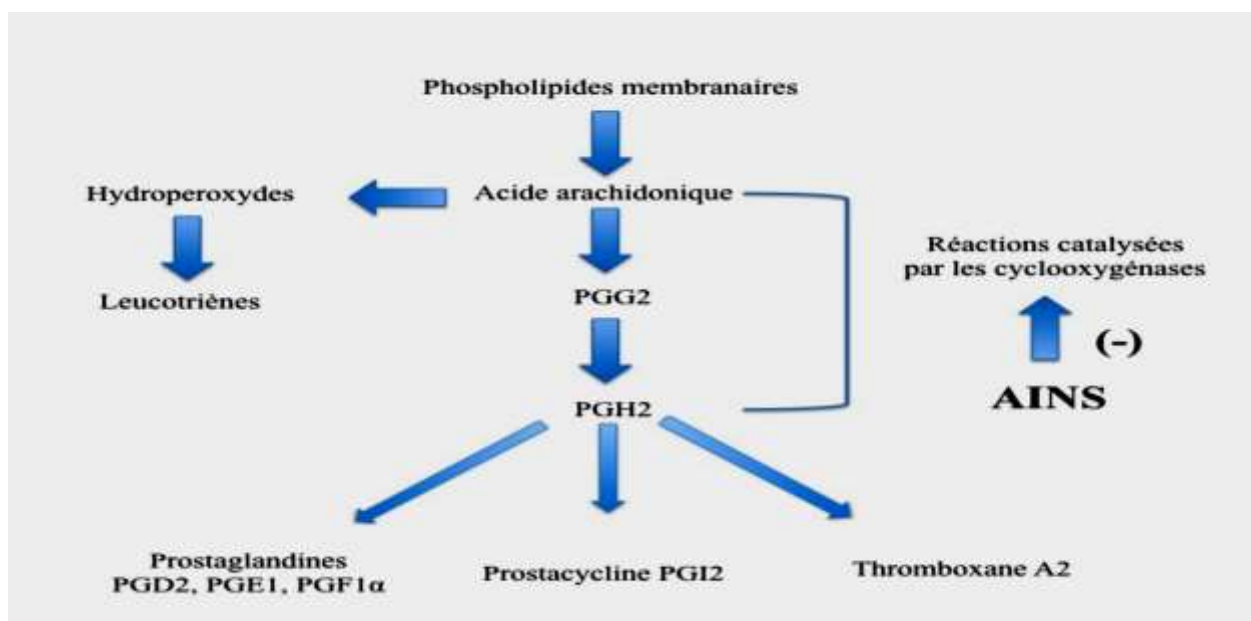
### ***III) Généralités sur les médicaments anti-inflammatoires***

Les anti-inflammatoires sont des médicaments capables d'atténuer ou de supprimer le processus inflammatoire. On distingue :

### 1) Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS sont des acides faibles, liposolubles, chimiquement différents les uns des autres et ont en commun certaines propriétés :

- Une action antiinflammatoire mais aussi antalgique et antipyrétique. Celle-ci inhibe la synthèse des prostaglandines en bloquant la synthèse de la cyclo-oxygénase(COX) qui catalyse la formation des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique (**Fattorusso et Ritter, 2001**).
- Des effets secondaires communs, au premier rang desquels une toxicité gastro duodénale plus ou moins importante.



**FIGURE 5 : Mécanisme d'action des AINS (Nicolas,2001)**

On retrouve sur le plan chimique plusieurs familles d'AINS dont la classification est indiquée dans le tableau ci-après(**Tableau II**).

**TABLEAU II: Classification des antiinflammatoires non stéroïdiens**

<b>Classe chimique</b>	<b>liste</b>	<b>DCI</b>	<b>Demi-vie courte (6-8h)</b>	<b>Demi-vie longue (10-12h)</b>
<b>Indoles et dérivés</b>	I	Indométacine	2,6 à 11,2	
		sulindac	7,8	
<b>Arylcarboxyliques</b>	II	Kétoprofène	1,5 à 2	
		Ibuprofène	2	
		Naproxène		13 à 14
		Flurbiprofène	3,5 à 4	
		Ac.Tiaprofénique	1,5 à 2,5	
		Diclofénac	1,8	
		Etodolac	7	
		nabumétone		20 à 24
<b>Oxicams</b>	I	Piroxicam		50
		Ténoxiam		70
		Méloxiam		20
<b>Fénamates anthraniliques</b>	ou II	Ac.Niflumique	4 à 5	
<b>Pyrazolés</b>	I	Phénylbutazone		75 à 100
<b>Coxibs</b>	I	Célécoxib		8 à 12
		Rofécoxib		17
<b>Autres</b>	I	Nimésulide	2 à 5	

Les AINS inscrits sur la liste I sont réservés aux affections rhumatologiques sévères, c'est-à-dire chroniques et/ou invalidantes.

Les AINS inscrits sur la liste II sont réservés aux indications rhumatologiques classiques et extra rhumatologiques.

## 2) Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes

Les Antiinflammatoires stéroïdiens ou corticoïdes sont des dérivés de synthèse du cortisol plasmatique qui miment l'action de l'hormone naturelle permettant ainsi :

- **L'accroissement de l'action antiinflammatoire par l'augmentation de la synthèse des lipocortines** avec pour conséquences :
  - Inhibition de la synthèse de l'acide arachidonique
  - Blocage de la production de phospholipase A2
  - Diminution de la production de prostaglandines et de leucotriènes
- **La réduction de l'immunité** grâce à :
  - La diminution de la production de cytokines pro-inflammatoires
  - L'activation de la production d'Interleukine-4 (cytokine anti-inflammatoire)
  - La diminution des fonctions de phagocytose des polynucléaires neutrophiles (**Bourin et al, 1993**).

**TABLEAU III : Classification des antiinflammatoires stéroïdiens**

DCI	Demi-vie biologique(en heure)	Effet anti-inflammatoire	Equivalence(en mg)
<b>Cortisone</b>	8 à 12	0,8	25
<b>Hydrocortisone</b>	8 à 12	1	20
<b>Prednisone</b>	18 à 36	4	5
<b>Prednisone</b>	18 à 36	4	5
<b>méthylprednisolone</b>	18 à 36	5	4
<b>Triamcinolone</b>	36 à 54	5	4
<b>Dexaméthasone</b>	36 à 54	30	0,75
<b>Bétaméthasone</b>	36 à 54	25	0,6

### **E) STRESS OXYDATIF ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE**

Nous ne pouvons survivre sans oxygène. Rares étaient ceux qui soupçonnaient récemment encore que ce souffle de vie pouvait également être mais en rapport avec nombre de maladies. Ce paradoxe de l'oxygène est une des phénomènes les plus curieux de la nature. Les effets nocifs de l'oxygène ne sont pas provoqués par l'oxygène en soi, mais par les espèces oxygénées réactives formées sur place.

L'organisme est cependant capable, dans une certaine mesure, de limiter les dommages dus aux radicaux libres, grâce à des mécanismes de défense enzymatiques et chimiques développés au cours de l'évolution (*Hennebelle, 2006*).

## ***l) Radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène***

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques: les radicaux libres organiques (*Descheemaeker, 2004*).

### **1) Définitions**

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou électron non apparié) sur leur couche externe (*Toussaint, 2008*). L'on parlera d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), lorsque les radicaux libres possèdent un électron célibataire sur un atome d'oxygène.

### **2) Classifications**

On distingue alors deux grands groupes de molécules réactives impliquées dans le stress oxydant: les espèces radicalaires et les espèces non-radicalaires.

#### **a) Les espèces oxygénées réactives radicalaires**

- **L'anion radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ )**

C'est le résultat de l'apport d'un électron supplémentaire à la structure initiale de l'oxygène. Malgré une réactivité moyenne, ce radical a quelques cibles privilégiées telles que le cytochrome c ( $Fe^{3+}$ ), l'ascorbate et surtout le superoxyde dismutase.

- **Le radical perhydroxyle ( $HO_2^{\bullet-}$ )**

Il est obtenu par protonation de l'anion radical superoxyde à pH acide et est beaucoup plus réactif.

- **Le radical hydroxyle (HO•)**

La réduction monoélectronique du peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> donne naissance au **radical hydroxyle HO•** et à l'anion basique non radicalaire OH<sup>-</sup> en présence d'un catalyseur (**réaction de Fenton** : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Fe<sup>2+</sup> → HO• + Fe<sup>3+</sup> OH<sup>-</sup>). Cette espèce chimique particulièrement réactive joue un rôle majeur dans la peroxydation lipidique et la destruction du matériel génétique (*Hennebelle, 2006*).

- **Le radical peroxyde RO<sub>2</sub>•**

C'est un radical secondaire issu de l'addition de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le radical R•.

**b) Les espèces oxygénées non radicalaires**

- **L'oxygène singulet <sup>1</sup>O<sub>2</sub>**

Il est produit en présence de rayonnement UV ou par les leucocytes. Bien qu'il ne soit pas un radical, il joue un rôle dans le vieillissement cutané et certaines maladies liées à l'âge (*Hennebelle, 2006*).

- **Le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Il est également toxique, en particulier à cause de sa transformation en radical hydroxyle en présence de cations métalliques Fe<sup>2+</sup> et Cu<sup>+</sup>, lors de réactions de type « Fenton » (*Wardman et Candeias, 1996*).

### **3)Productions**

#### **a) Au niveau intracellulaire**

La production des ERO dans les cellules mammifères découle de plusieurs sources possibles (**Figure 6**) mais est essentiellement d'origine enzymatique.

- **Les principales enzymes productrices des ERO**

Il s'agit de la NADPH oxydase membranaire et du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire.

- La NADPH oxydase est une enzyme qui catalyse la réduction de l'oxygène selon :  $NADPH + 2 O_2 \rightarrow NADP^+ + H^+ + 2 O_2^{\cdot -}$  .

Les cytochromes P450, situés dans la membrane mitochondriale, catalysent la réaction.

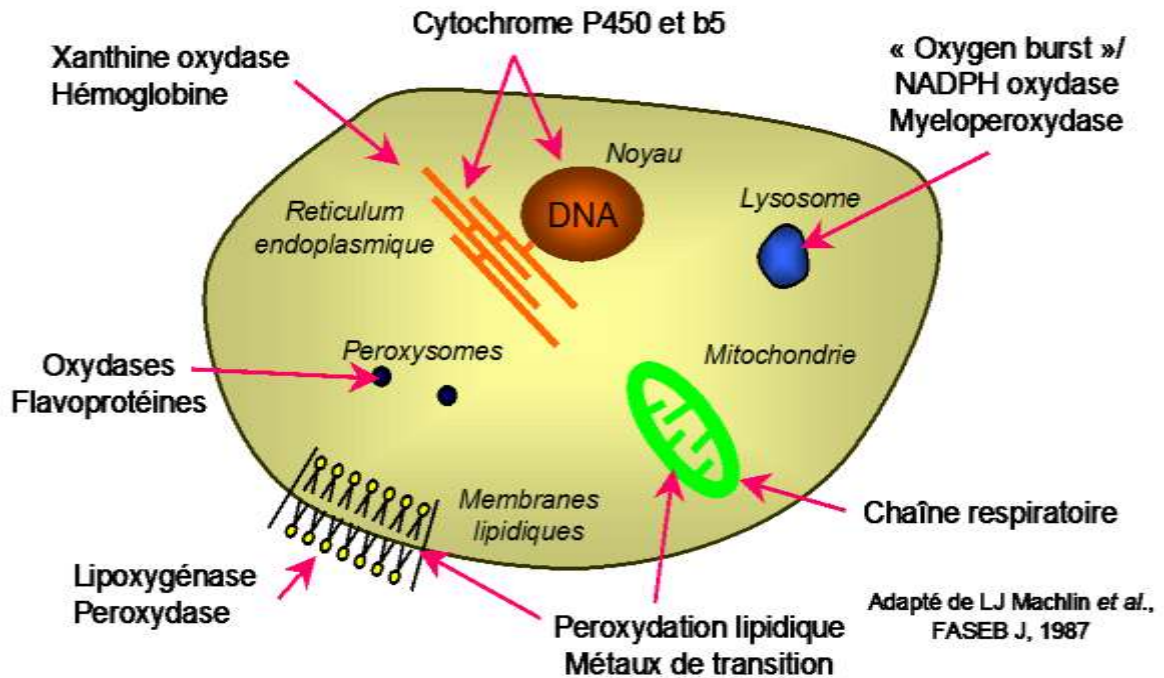
- dans les mitochondries, l'oxydation de coenzymes, telles que les flavoprotéines réduites, s'accompagne d'une perte d'électrons qui sont ensuite transférés à l'O<sub>2</sub>. La chaîne de transport des électrons est composée de nombreuses espèces moléculaires et ioniques (les flavoprotéines, plusieurs cytochromes) (**Delattre et al, 2005d**).

- **Les autres enzymes productrices des ERO**

D'autres sources peuvent également jouer un rôle dans la production de radicaux comme

- la xanthine oxydase qui réduit l'oxygène moléculaire en ion superoxyde,
- les peroxysomes qui possèdent plusieurs enzymes sources de peroxyde d'hydrogène.
- les lipo-oxygénases, enzymes de la voie de l'acide arachidonique qui permettent notamment la synthèse des prostaglandines, oxydent les acides gras pour donner des hydroperoxydes d'acide gras insaturés(**Delattre et al,2005d**).





**FIGURE 6 :** Schématisation des sites de production des espèces réactives de l'oxygène (*Machlin et al, 1987*)

### b)Au niveau extracellulaire

L'environnement et le mode de vie sont également responsables de la création et de l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme.

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme en cas d'exposition à diverses agressions de l'environnement (agents infectieux, pollution, UV, fumée de cigarettes, rayonnement) (*Tanguy et al, 2009*).

## **II) Stress oxydatif**

La formation d'espèces réactives n'est pas toujours synonyme de toxicité. En effet, certaines sont des intermédiaires de processus physiologiques normaux. C'est notamment le cas des cellules phagocytaires qui, activées par une réaction inflammatoire vont produire un grand nombre d'ERO. Ce n'est que lorsque les systèmes de défense sont dépassés et ne suffisent plus à neutraliser la surproduction de ces espèces que la toxicité apparaît.

Ainsi, Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pros oxydants et les antioxydants (**Pincemail et al, 1999**) en faveur des premiers et impliquant une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (**Pelletier et al, 2004**).

Cette surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) peut altérer les composants majeurs de la cellule tels que l'ADN ou la membrane cellulaire avec risque de multiplication anormale entraînant un dysfonctionnement ou la mort cellulaire. Cet excès d'ERO est aussi toxique pour les lipides, les protéines et les acides nucléiques et par conséquent donné lieu au stress oxydatif (**Valko et al. 2006**). Ce dernier est alors impliqué dans la survenue de diverses pathologies telles que les maladies cardiovasculaires et inflammatoires, les maladies neurodégénératives et le processus de vieillissement (**Evans et Halliwell, 1999**).

Le stress oxydatif pourra aussi être entretenu :

- *Directement* (cas des conditions de stress et alors l'oxydation augmente au point de ne pas pouvoir être régulée par les systèmes antioxydants).

- *Par défaut d'apport* (cas des conditions de mauvaise alimentation et alors les quantités d'antioxydants apportées ne sont pas suffisantes pour rétablir l'équilibre).

### **III) Activité antioxydante**

#### **1) Définition**

Les antioxydants sont définis comme «toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat» (**Pastre et Priymenko, 2007**).

L'activité antioxydante d'un composé correspond donc à sa capacité à résister à l'oxydation, à limiter les dommages dus aux radicaux libres.

#### **2) Critères d'un bon antioxydant(Valko et al, 2006)**

Un bon antioxydant se devra de respecter quelques critères :

- Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres.
- Chélater des ions de métaux de transition ( $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{+}$ ) d'importance biologique capables de promouvoir la production de radicaux libres par la réaction de Fenton.
- Interagir avec d'autres antioxydants, et, dans la mesure du possible, les régénérer.
- Avoir un effet positif sur l'expression génique et être rapidement absorbé.
- Avoir une concentration qualifiée de « physiologique » dans les tissus et les fluides biologiques.
- Être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire.

## ***IV) Classification des antioxydants***

### **1) Systèmes antioxydants endogènes**

Les principaux systèmes antioxydants endogènes (**Figure 7**) les plus efficaces chez les mammifères ainsi que chez les plantes sont les systèmes enzymatiques endogènes que sont : la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase (**Mates et al. 1999; Sharma et al. 2012**).

- **La super oxyde dismutase**

Son rôle est de catalyser la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire.

- **La catalase**

Essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, elle est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.

- **Le glutathion peroxydase**

Son activité est de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur (**Delattre et al, 2005d**).

- **Les autres enzymes**

D'autres enzymes jouent un rôle non négligeable dans la lutte antioxydante, l'ensemble formant un système complexe : glutathion réductase, thioredoxine réductase, glutathion transférase.

## 2) Systèmes antioxydants exogènes

Les antioxydants naturellement sont présents dans presque toutes les plantes, tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux. Ils comprennent entre autre, la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes et les polyphénols (*Pelli et Lyly, 2003*).

- **Acide ascorbique: vitamine C**

C'est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'Homme). Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire (*Retsky et al, 1999*).

La vitamine C agit principalement en piégeant directement les radicaux libres (*Belkheiri, 2010*).

Les études *in vivo* de la supplémentation en vitamine C montrent, pour la plupart, une réduction de l'oxydation de l'ADN, des protéines et de la lipopéroxydation (*Seon et al, 2001*).

- **Vitamine E**

La vitamine E prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en captant les radicaux peroxydes (*Kaiser et al, 1990; Yoshida et al, 1993*).

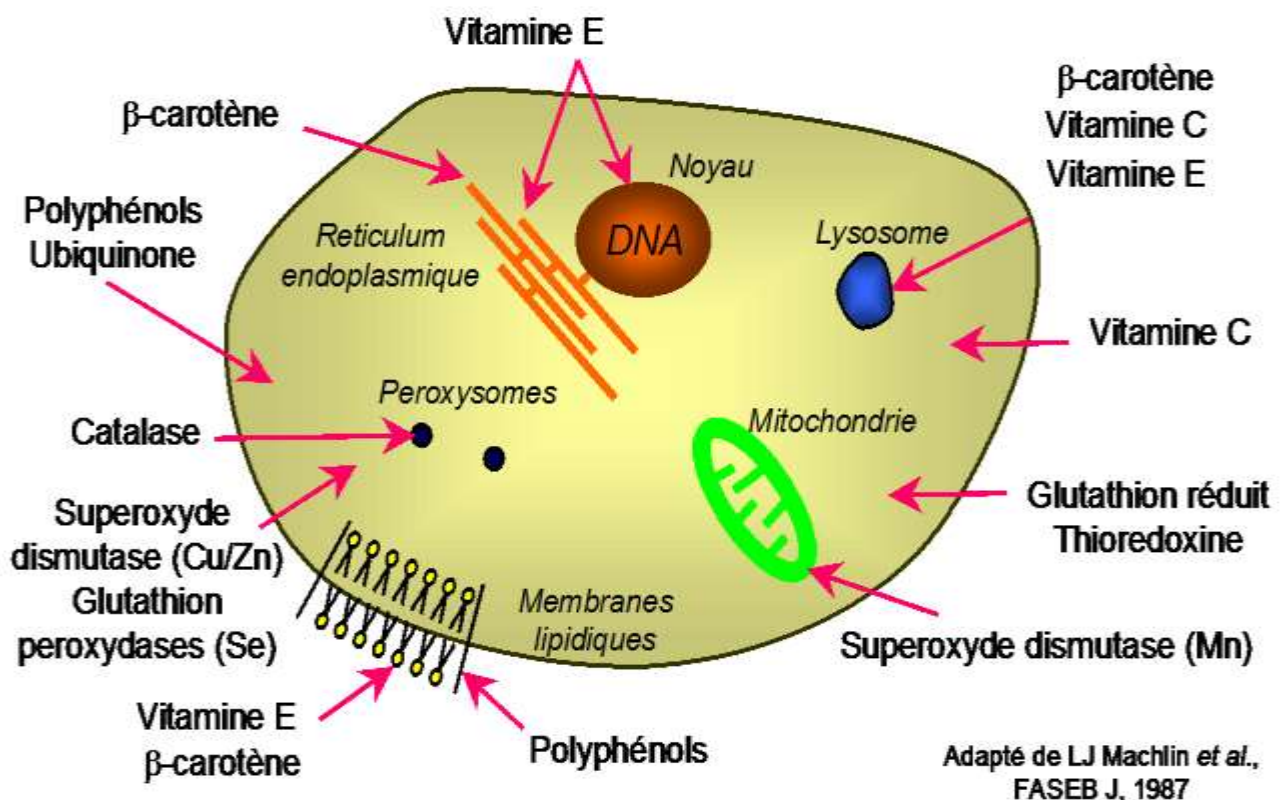
- **Les caroténoïdes**

Ce sont des pigments issus des plantes et microorganismes et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles. On en dénombre environ 600 présents dans la nature. Ils permettent, particulier, de neutraliser l'oxygène singulet (*Valko et al, 2006*).

- **Les polyphénols**

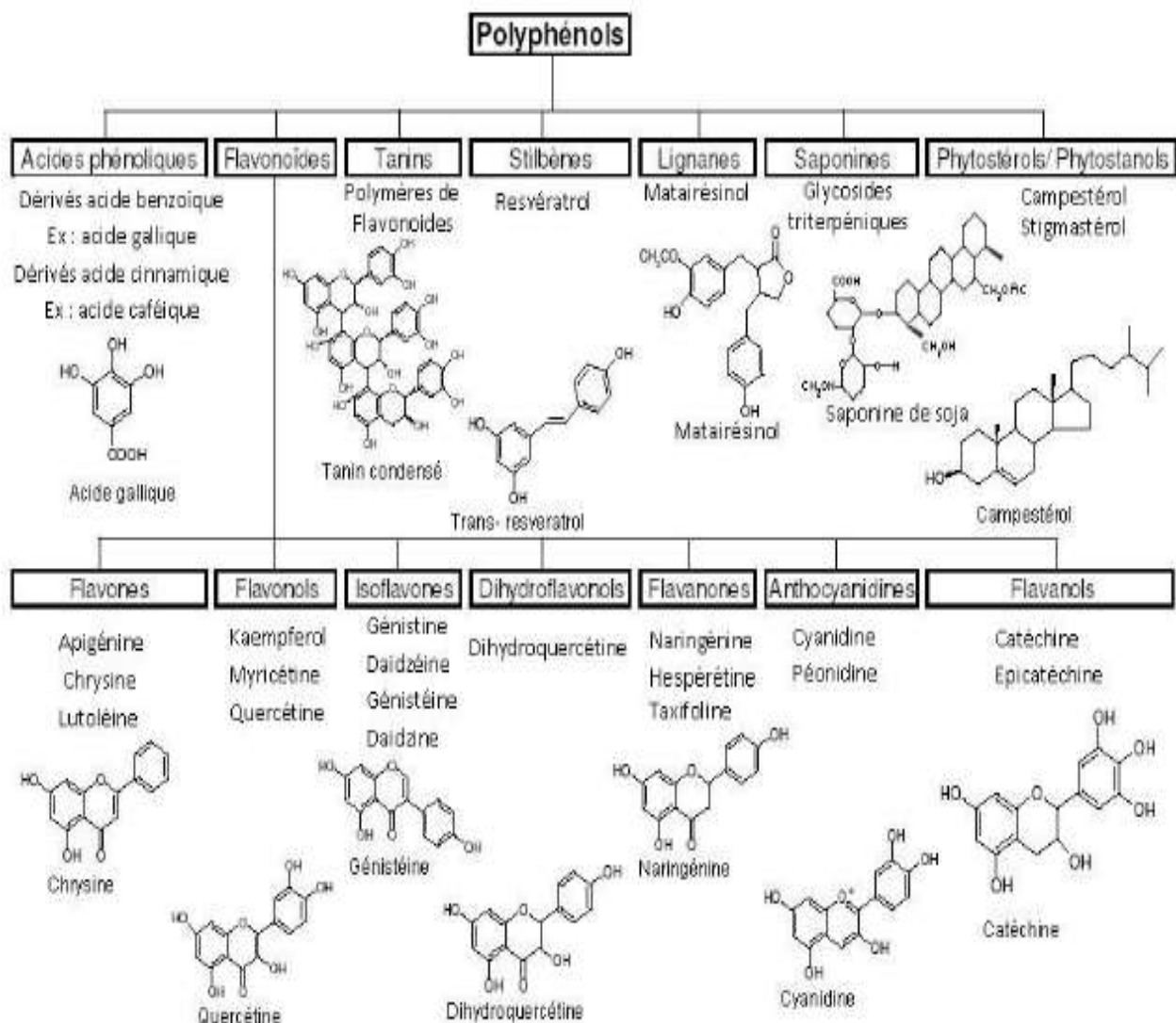
Les polyphénols sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature, ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois).

Les composés polyphénoliques sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes pendant leur développement (**Harbone, 1982**) et (**Pridham, 1960**) et sont principalement divisé en cinq groupes à savoir : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins, les lignanes et les stilbènes (**Myburgh, 2014**) (figure 8).



**FIGURE 7** : Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires (**Machlin et al, 1987**)





**FIGURE 8 : Classification des différents groupes de polyphénols(Macheix et al,2006)**

Les polyphénols jouent un grand rôle dans la quantité nutritive et hygiénique des aliments, certains d'entre eux ont des propriétés vitaminiques utilisées par l'industrie pharmaceutique.

Ils ont de nombreuses propriétés pharmacologiques comme l'atteste le **tableau IV**.

**TABLEAU IV : Activités biologiques des composés polyphénoliques**  
(Frankel et al, 1995)

<b>Polyphénols</b>	<b>Activités</b>	<b>Auteurs</b>
<b>Acides phénols (cinnamique et benzoïque)</b>	Antibactériens	[Didry et al, 1982]
	Antifongiques	[Ravn et al, 1984]
	Antioxydants	[Hayase et Kato, 1984]
<b>Coumarines</b>	Vasoprotectrices antioœdémateuses	et [Mabry et Ulubelen, 1980]
<b>Flavonoïdes</b>	Antitumorales	[Stavric et Matula, 1992]
	Anticarcinogènes	[Das et al, 1994]
	Anti-inflammatoires	[Bidet et al, 1987]
	Hypotenseurs et diurétiques	[Bruneton, 1993]
	Antioxydants	[Aruoma et al, 1995]
<b>Anthocyanes</b>	Protection des veines capillaires	et [Bruneton, 1993]
<b>Proanthocyanidines</b>	Effets stabilisants sur le collagène	[Masquelier et al, 1979]
	Antioxydants	[Bahorun et al, 1996]
	Antitumorales	[DE Oliveira et al, 1972]
	Antifongiques	[Brownlee et al, 1992]
	Anti-inflammatoires	[Kreofsky et al, 1992]
	<b>Tanins galliques et catéchiques</b>	Antioxydants
		[Okamura et al, 1993]



## **F) EVALUATION DES PREPARATIONS TRADITIONNELLES DE SANTE**

Une approche ethnopharmacologique est en mesure de proposer des médicaments traditionnels ayant satisfait aux exigences d'efficacité, d'innocuité et de qualité.

Ainsi, la recherche et l'évaluation à ces fins doivent se faire dans le respect des connaissances et de l'expérience acquises au travers de pratiques établies de longue date.

Pour y arriver, différents modèles animaux expérimentaux ont été utilisés pour évaluer l'efficacité ou la toxicité des médicaments à base de plantes, mettant ainsi en relief les paramètres biologiques qui sont des indicateurs importants de l'état physiologique et pathologique des animaux ou des êtres humains (*Etim et al, 2014*). Ceci en vue de sélectionner une dose sûre pour la consommation humaine sans risque (*Rhiouania et al, 2008*).

Dès lors, l'évaluation des plantes qui entrent en ligne de compte comme médicaments se penche sur **l'efficacité, l'innocuité et la qualité**.

### ***1) Méthodes d'évaluation de l'efficacité***

L'évaluation doit couvrir tous les aspects de l'efficacité.

Les effets pharmacologiques et cliniques des principes actifs doivent être spécifiés. Les indications thérapeutiques et d'éventuelles associations médicamenteuses bénéfiques ou néfastes doivent aussi être précisées.

#### **1) Cas des activités analgésiques et antiinflammatoires**

Plusieurs méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité analgésique et l'activité antiinflammatoire des préparations traditionnelles à base de plantes. Ces méthodes sont réparties en deux groupes selon qu'elles soient d'orientation ou d'identification (*Le Bars, 2001*).

### **a) Méthodes d'orientation**

Il s'agit du test de contorsions abdominales chez les souris. C'est un test peu prédictif et très sensible qui est réservé au criblage « screening » initial, pour ne pas rater une substance potentiellement analgésique ou antiinflammatoire dans une préparation nouvelle.

### **b) Méthodes d'identification**

#### **• Activité analgésique**

Il s'agit ici d'évaluer l'activité analgésique non morphinique ou morphinique. Ces tests sont plus prédictifs.

Les tests les plus utilisés pour la recherche d'une activité analgésique non morphinique sont :

- le test d'irritation de la patte du rat au formaldéhyde (***Dubuisson et al, 1977***).
- le test de Randall et Selitto basé sur l'utilisation de stimuli mécanique nociceptive appliqué à la patte du rat (***Randall et al, 1957***).

Dans le cadre de notre thèse, l'activité analgésique morphinique a été recherchée par : Le test du TAIL FLICK qui explore l'activité analgésique morphinique des substances en utilisant un stimulus thermique sur la queue de la souris (***Baldwin et al, 1996***).

#### **• Activité antiinflammatoire**

Pour la mise en évidence de l'effet anti-inflammatoire, divers tests existent dans la littérature. Nous avons énuméré quelques-uns de ces tests :

#### **➤ L'inflammation locale de l'oreille**

Ce test permet d'observer par l'application locale de substances anti-inflammatoires, une éventuelle réduction de l'inflammation de l'oreille de rat provoquée par l'application locale d'huile de croton.

➤ ***Œdème à la carraghénine***

Il observe la réduction, par des substances anti-inflammatoires, de l'œdème provoqué chez les rats (ou souris) par l'injection intra-plantaire de la carraghénine

➤ ***Granulome induit par les boulettes de coton***

Il permet d'apprécier la réduction par l'administration de substances antiinflammatoire, de la masse des pellets de coton imprégnés par une substance phlogogène et implantés au niveau des régions lombaires de chaque rat.

Nous avons utilisé ce test en vue d'évaluer l'activité antiinflammatoire subaiguë de notre remède.

## **2) Cas des activités antioxydantes**

Pour la mise en évidence de l'effet antioxydant, divers tests existent dans la littérature. Nous avons énuméré quelques-uns de ces tests :

➤ ***La méthode de TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity)***

Cette méthode détermine l'activité antioxydante des composés hydrophiles et lipophiles qui peuvent se dissoudre dans une solution aqueuse ou de l'éthanol acidifié (*Sánchez-Moreno, 2002*).

➤ ***La méthode de TRAP (Total radical trapping antioxidant parameter)***

La méthode TRAP est basée sur la capacité d'un antioxydant à inhiber l'action des radicaux peroxydes. Elle quantifie les antioxydants non enzymatiques et mesure la capacité antioxydante du plasma et du sérum (*Phipps et coll., 2007; Sharpe et coll., 1996*).

➤ ***La méthode de FRAP (Ferric reducing antioxidant power)***

Elle évalue la réduction du fer (le passage de son état ferrique à son état ferreux) en présence d'un antioxydant (***Pellegrini et coll., 2003***).

C'est cette méthode que nous avons utilisée dans le cadre de notre étude.

## ***II) Méthodes d'évaluation de la qualité***

Cette évaluation doit couvrir tous les aspects importants de l'évaluation de la qualité des préparations à base de plantes. Tous les procédés utilisés et les produits finis obtenus devront être conformes aux bonnes pratiques de fabrication.

Les matières végétales brutes doivent être décrites : la dénomination botanique (genre, espèce, le nom de l'auteur qui l'a décrite), la partie de la plante utilisée (feuille, fleur, racine,..) et préciser si elle est utilisée fraîche ou sèche. Les constituants actifs devront être spécifiés ainsi que leur teneur.

Des essais (pureté, teneur en eau, cendres totales, cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique, éléments étrangers et indice d'amertume) pourront être effectués (***Pharmacopée Européenne, VIème édition***).

Des normes générales pour les problèmes de contamination doivent être élucidées à savoir : (***Pharmacopée Européenne, VIème édition***)

- Les mycotoxines, les pesticides et les métaux lourds doivent être recherchés par des méthodes d'analyse aux limites de tolérance prévu par la pharmacopée européenne.
- La contamination microbiologique doit être recherchée.

### ***III) Méthodes d'évaluation de l'innocuité***

Cette évaluation devra couvrir tous les aspects relatifs à la sécurité du produit. Si le produit est utilisé de façon traditionnelle sans qu'aucun effet nocif n'ait été mis en évidence, aucune mesure réglementaire restrictive particulière ne doit être prise, à moins que des données nouvelles n'exigent une révision de l'évaluation risque/bénéfice. Les effets indésirables signalés devront être documentés selon les procédures habituelles en matière de pharmacovigilance. Si des études toxicologiques (toxicité aiguë et chronique) ont été faites, alors il faudra préciser la durée d'utilisation et la nature des affections traitées. Ces études devront être jointes à l'évaluation. La posologie devra être évaluée pour apprécier le risque. Les risques de mauvaise utilisation ou de dépendance doivent être également déterminés.

# **DEUXIEME PARTIE :** **MATERIELS ET METHODES**

## A) CADRE DE L'ETUDE

Notre étude s'est déroulée à Abidjan de Novembre 2014 à Mars 2016 à différents endroits :

- A l'unité de formation et de recherche des sciences pharmaceutiques et biologiques (UFR SPB) de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody précisément au laboratoire de pharmacologie pour la réalisation des tests pharmacologiques (effet analgésique, antiinflammatoire et toxicité subaigüe).
- Au Laboratoire national d'appui au développement agricole (LANADA)précisément :
  - Le LCHAI (Laboratoire central pour l'hygiène alimentaire et l'agro-industrie) pour la recherche de métaux lourds et des oligo éléments.
  - Le LCAE (Laboratoire central d'agrochimie et d'Eco toxicologie) pour la recherche des mycotoxines et des pesticides.
- Au centre suisse de recherche scientifique de Cote d'Ivoire(CSRS-CI) pour l'analyse phytochimique et la détermination des cendres.

## B) MATERIELS

### I) *Matériels pour l'étude pharmacologique*

#### 1) Présentation du remède « SARENTA »



**FIGURE 9: Remède « SARENTA » en flacon de 500 ml**

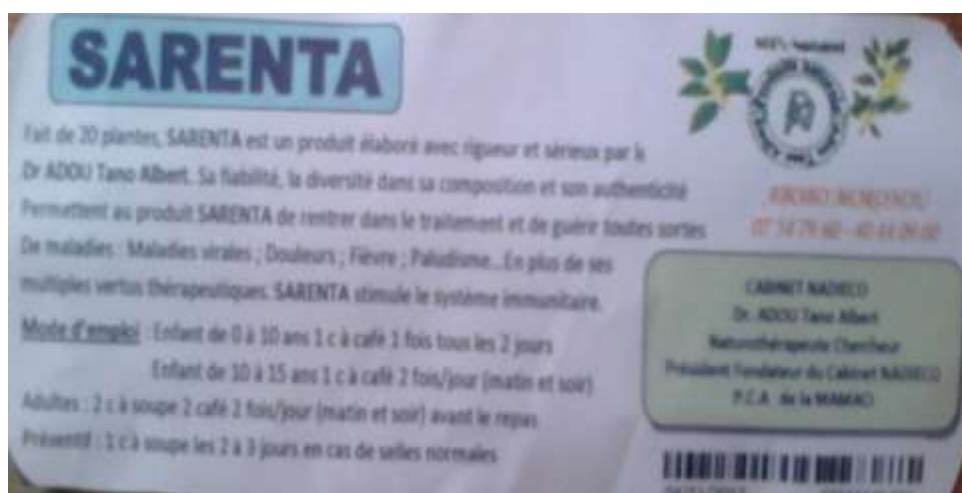
Le remède « SARENTA » est une suspension aqueuse de couleur brunâtre, à odeur caractéristique et au goût amer. Il est conditionné et vendu dans des flacons en plastique de 0,5 à 1 litre.

Il est composé d'un mélange de plantes issues du terroir ivoirien (**TABLEAU V**).



**TABLEAU V : Liste des plantes composant le remède « SARENTA »**

Nom Scientifique	Nom Usuel
<i>Tamarindus indica</i> (Caesalpiniaceae)	<b>Tomi</b>
<i>Cassia occidentalis</i> (Caesalpiniaceae)	<b>Gnaloa</b>
<i>Ocimum gratissimum</i> (Lamiaceae)	<b>Amangnené</b>
<i>Mikania cordata</i> (Asteraceae)	<b>N'zalié ou Pita Pita</b>
<i>Olax subscorpioidea</i> (Olacaceae)	<b>Akagni baka</b>
<i>Phyllanthus muellenarius</i> (Euphorbiaceae)	<b>Soumagowassi</b>
<i>Annickia polcarpa</i> (Annonaceae)	<b>Moambe jaune</b>
<i>Moringa oleifera</i> (Moringaceae)	<b>Moringa</b>
<i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> (Rutaceae)	<b>Wo-Tchedjé</b>
<i>Mitracarpus scaber</i> (Rubiaceae)	<b>Akododo</b>
<i>Turrea heterophylla</i> (Moraceae)	<b>Plélé</b>



**FIGURE 10: Etiquette du remède « SARENTA »**

Selon l'auteur et promoteur de ce remède, « SARENTA » est vendu depuis plus de vingt ans et est indiqué dans des affections et maux multiples et variés tels que : le paludisme, les maladies virales, les douleurs, la fièvre, l'immunodéficience.

Par ailleurs, la posologie prescrite par l'auteur du remède « SARENTA » est la suivante :

- Enfant de 0 à 10 ans : une cuillère à café tous les deux jours.
- Enfant de 10 à 15 ans : une cuillère à café deux fois par jour.
- Adultes : deux cuillères à soupe ou deux cuillères à café deux fois par jour selon la pathologie traitée.
- Adultes : à titre préventif, une cuillère à soupe tous les deux à trois jours.

## 2) Solvants, réactifs et substances de référence

- Eau physiologique,
- Des gélules de Tramadol dosé à 50mg l'unité,
- Une solution de 125 ml d'éther,
- Des ampoules injectables de Morphine dosé à 1mg l'unité,
- Des comprimés de Diclofénac dosé à 25 mg l'unité,
- Une solution de povidone iodée dermique à 10%,
- Une solution de Carraghénine diluée à 1%,
- Une solution injectable de thiopental à 1mg,
- une solution tampon d'acétate de sodium (300 mM, pH 3,6),
- une solution aqueuse d'hexacyanoferrate de potassium à 1%,
- une solution aqueuse de perchlorure de fer à 0,1 %.

## 3) Appareillage et équipement

- Une balance de marque Schimedzu AUX-320
- Assiettes en porcelaine et Spatules
- Béchers
- Pipette graduée 10ml
- Fils de soie 2.0
- Mortier et pilon
- Seringues à insuline 1 ml et seringues de 5ml

- Gants propres et Marqueurs
- Tubes gris : utilisé pour le dosage de la glycémie
- Tubes rouges : utilisé pour le dosage des transaminases
- Verre de montre
- Pellet de coton stérilisé
- Etuve de marque ECOCELL.



**FIGURE 11** : Quelques équipements utilisés au cours de l'étude pharmacologique

#### 4) Animaux utilisés

Il s'agit des souris et des rats.

- **Les Souris**

Des souris *Mus musculus* de la famille des Muridés, pesant 17 à 30 g ont été utilisées. Elles ont été acclimatées à l'animalerie de l'UFR SPB avant les expérimentations et utilisées pour l'étude des propriétés analgésiques du remède « SARENTA » par le test du TAIL FLICK.



**FIGURE 12 : Souris en cage avec eau de boisson.**

- **Les Rats**

Des rats *Rattus norvegicus* de la famille des Muridés, pesant 150 à 250 g ont été utilisés. Ils ont été acclimatés à l'animalerie de l'UFR SPB avant les expérimentations et utilisés pour les études suivantes : Recherche des activités anti inflammatoires et recherche de l'innocuité du remède « SARENTA » par la détermination de la toxicité subaiguë.



**FIGURE 13** : Rats en cage avec eau de boisson et granulés

## ***II) Matériels pour les études analytiques et toxicologiques***

- **Recherche des mycotoxines**
  - Micropipettes
  - Eprouvette et filtre
  - Agitateur magnétique
  - Solvant de récupération : le Méthanol
  - Entonnoir et vials
  - Ultra Turax
  - Centrifugeuse
  - HPLC
- **Recherche des pesticides**
  - HPLC
  - Colonne de purification
  - Laine de verre
  - Evaporateur rotatif
  - Eprouvette graduée

- Recherche des métaux lourds et d'oligoéléments
  - Bain marie
  - Erlenmeyer et éprouvette
  - Tubes à essai
  - Pipettes graduées 10ml
  - spectrophotomètre d'absorption atomique
  - Des substances telles que l'acide nitrique et l'eau oxygénée
  
- Recherche des cendres
  - creuset de silice
  - balance
  - four à moufle
  - dessiccateur sous vide
  - Erlenmeyer et filtre
  - Etuve
  
- Analyses Phytochimiques
  - Solvants d'extraction
  - Plaque de chromatographie
  - Filtre
  - Tube à essais et fiole jaugée
  - Bain marie
  - Ampoule à décanter
  - Centrifugeuse
  - Micropipette
  - Broyeur
  - Evaporateur rotatif



## C) METHODES

### *1) Préparation du remède à tester*

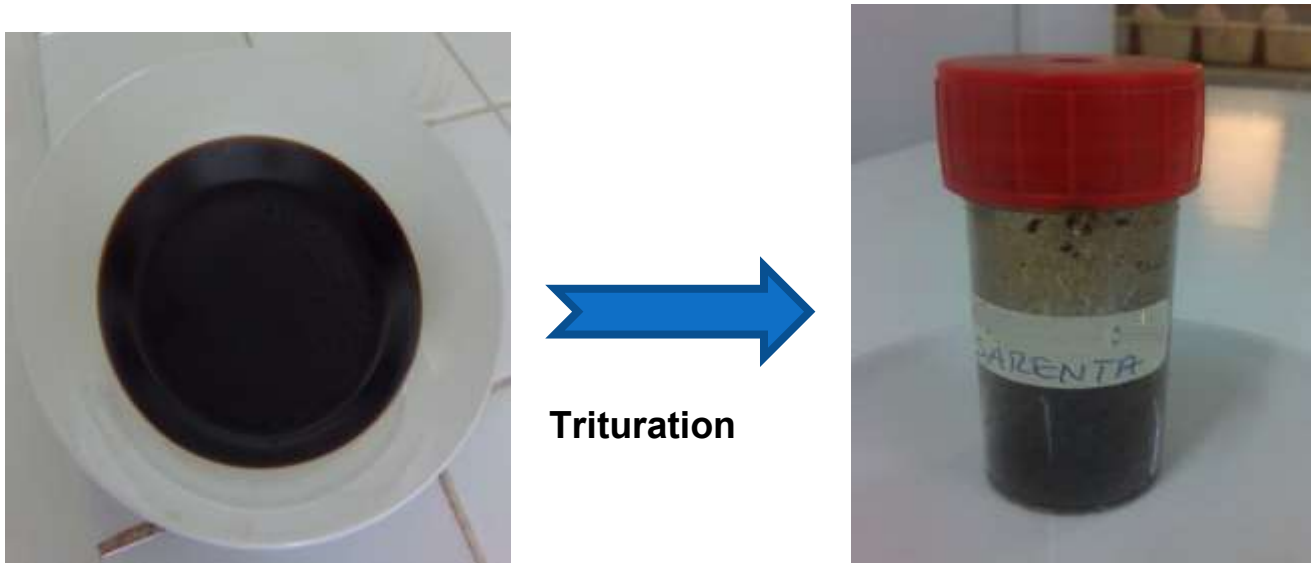
- Obtention du résidu sec du remède « SARENTA »

La solution aqueuse du remède « SARENTA » est disposée dans des assiettes en porcelaine préalablement stérilisées. En outre, les assiettes contenant la préparation ont été étuvées pendant 72 heures à 60°C dans une étuve de type ECOCELL.



**FIGURE 14 : Diverses solutions aqueuses du remède « SARENTA » disposés dans une étuve de type ECOCELL**

La phase aqueuse s'étant dissipée après que les 72 heures soient écoulées, il ne reste que la phase anhydre. Cette phase est recueillie après grattage du contenu des assiettes. Puis la matière obtenue est triturée afin d'avoir le résidu sec du remède « SARENTA » sous forme de poudre homogène. Enfin, cette poudre sèche est mise dans un flacon afin d'une meilleure conservation en l'état.



« SARENTA » séché

Flacon de poudre sèche de « SARENTA »

**FIGURE 15 : Obtention de la poudre sèche du remède « SARENTA »**

- Détermination de la concentration en matière sèche du remède « SARENTA »
  - L'on prélève 10ml du remède « SARENTA » qui est introduit dans un Becher préalablement pesé.
  - L'on dispose ensuite le bécher à l'étuve pour séchage.
  - Après séchage, nous pesons le bécher contenant l'extrait sec.
  - la masse du résidu sec contenu dans 10 ml du remède est obtenu en faisant la différence de masse du bécher après séchage au bécher vide.
  - La concentration est alors le rapport masse résidu sec sur le volume ;

**C=Masse résidu/Volume séché**

Masse bécher=138,350g

Masse bécher après séchage=138,417g

Masse résidu sec=138,417-138,350=0,067g



$$C=0.067/10=0,0067\text{g/ml soit } 6,7 \text{ mg/ml ou } 6,7\text{g/l}$$

- Détermination des doses d'administration

La substance d'essai à administrer par gavage est dose-poids dépendant. Subséquemment, nous avons déterminé le volume de substance à administrer aux différents lots d'animaux d'essai sachant toutefois que ce volume est de 1ml / 100g de poids corporel.

Nous avons toutefois déterminé la dose d'administration du remède « SARENTA » dans son état originel, c'est-à-dire tel qu'il est conditionné en vue de la vente au public.

En effet, la dose est le produit de la concentration multiplié par le volume d'administration. Sachant que la concentration du remède est de 6,7mg/ml et que le volume d'administration est de 1ml/100g PC, autrement dit équivaut à 10mg/kg de PC, la dose du remède « SARENTA » à administrer est de **67 mg/kg**.

Nous utiliserons ainsi cette dose d'administration pour nos études de toxicité et de l'activité antiinflammatoire.

- Détermination de la dose maximale fixée par le thérapeute

La posologie prescrite par l'auteur du remède « SARENTA » est :

- Enfant de 0 à 10 ans : une cuillère à café tous les deux jours
- Enfant de 10 à 15 ans : une cuillère à café deux fois par jour
- Adultes : deux cuillères à soupe ou deux cuillères à café deux fois par jour selon la pathologie traitée
- Adultes : à titre préventif, une cuillère à soupe tous les deux à trois jours.

Cette posologie correspond ainsi pour un adulte de 70kg à une dose maximale de quatre cuillères à soupe (quatre fois 15 ml) par jour soit 60 ml par jour sachant que le remède à une concentration de 6,7 mg/ml (voir le précédent calcul), ce qui nous donne après une règle de trois :

1 ml       $\longrightarrow$       6,7 mg

60 ml      $\longrightarrow$      P

D'où :  $P = 60 \times 6,7 / 1 = 402 \text{ mg}$

Soit **une dose maximale de 402 mg /70 kg autrement dit 5,7 mg/kg.**

On en déduit alors que la dose maximale par prise selon le thérapeute est de **5,7 mg/kg** de résidu sec du remède.

## ***II) Tests d'évaluation de l'efficacité***

### **1) Evaluation de l'activité analgésique par le test du TAIL FLICK**

#### **a) Principe**

Il consiste à disposer la queue d'une souris ayant reçue au préalable une substance au contact d'une lumière calorifique. L'observation du temps de latence de retrait de la queue permettra de déterminer l'activité analgésique morphinique de la substance étudiée.

#### **b) Mode opératoire**

Des souris de poids compris entre 17 et 30 g sont mis à jeun de nourriture 12 h avant le début de l'expérience ; elles ont droit à l'eau de boissons. Les souris sont réparties en 4 lots de 6 souris chacun. La morphine est administrée aux souris du lot de référence à raison de 10mg/kg de poids corporel, et chaque concentration du remède « SARENTA » est administrée aux souris à raison de 5mg/kg de poids corporel et de 50 mg/kg de poids corporel.

La poudre de « SARENTA » et la morphine sont diluées dans de l'eau physiologique (NaCl à 9%) et administrés 30 minutes avant l'irradiation de la queue.

Le remède « SARENTA » est administré par gavage à un lot de souris à raison de 0,2mg/ 20g de poids corporel (**ANNEXE I- FIGURE 30**), tandis que la morphine est administrée par voie intra péritonéale à raison de 10mg /kg de poids corporel (**ANNEXE I- FIGURE 31**).

Un lot de 6 souris reçoit parallèlement de l'eau physiologique (NaCl à 9%) par gavage à raison de 0,2 mg/kg de poids corporel et constituera notre lot témoin.

Le dispositif expérimental utilisé pour le test du TAIL FLICK, est le modèle DS20 (**ANNEXE I - FIGURE 32**) qui est un appareil composé d'une ampoule émettant une chaleur irradiante de 55 à 60 degrés, d'un chronomètre qui est déclenché en même temps que la source de chaleur irradiante, et d'une cellule photoélectrique qui arrête automatiquement le chronomètre dès que l'animal retire sa queue.

Au début de chaque épreuve, la souris est immobilisée dans une petite cage en plexiglas (**ANNEXE I - FIGURE 33**), la queue de l'animal est positionné à sa mi- longueur sur le trajet lumineux, et repose sur l'orifice photoélectrique situé sur ce même trajet (**ANNEXE I - FIGURE 34**).

Le décompte de la latence de retrait de la queue et l'émission de la chaleur irradiante sont simultanément déclenchés. Ils sont automatiquement arrêtés dès que la queue subit une brusque déflexion pour se mettre hors du trajet lumineux calorifique.

Le calcul du pourcentage d'augmentation du temps de la latence de retrait de la queue se fait selon la formule suivante :

$$\text{PATL} = ((M2-M1) / (Mr-M1)) \times 100 \text{ avec}$$

M1 : moyenne des temps de retrait du lot témoin

M2 : moyenne des temps de retrait du lot traité

Mr : moyenne des temps de retrait du lot de référence

PATL : pourcentage d'augmentation du temps de latence

Pour déterminer les seuils nociceptifs trois mesures sont successivement réalisées à une minute d'intervalle pour chaque lot. Après l'administration de l'extrait, le maximum d'irradiation est de 15 secondes, temps limite pour éviter d'endommager les tissus par la longue permanence sous le rayon lumineux calorifique.

## 2) Evaluation de l'activité antiinflammatoire par le test du granulome induit par les boulettes de coton

### **a) Principe**

Il permet d'apprécier la réduction par l'administration de substances antiinflammatoires, de la masse des boulettes de coton imprégnées d'une substance phlogogène (la carraghénine) et implantés au niveau des régions lombaires de chaque rat.

Une réduction significative du granulome formé indiqué par la diminution des masses des boulettes de coton signe une action antiinflammatoire dans un modèle subaiguë pour la substance étudiée.

### **b) Mode opératoire**

Des rats de poids compris entre 150 et 250 g sont mis à jeun 12 h avant le début de l'expérience ; ils ont droit à l'eau de boisson.

Les rats sont repartis en 5 lots de 6 rats vigiles. Les lots sont les suivants :

- **Lot 1** : un lot témoin reçoit de l'eau physiologique.
- **Lot 2** : un lot de six rats est traité par le remède « SARENTA » à l'état liquide tel qu'il est conditionné pour la vente au public (67mg/kg).
- **Lot 3** : un lot est traité par le remède « SARENTA » à la concentration de 100mg/kg.

- **Lot 4** : un lot est traité par le remède « SARENTA » à la concentration de 200mg/kg.
- **Lot 5** : un lot de référence reçoit la substance de référence : **le Diclofénac** à 25 mg/kg.

Les rats ont été anesthésiés au thiopental. Dans des conditions aseptiques, deux pastilles de coton stérilisé d'environ 14 à 24 mg (**ANNEXE II - FIGURE 35**) ont été implantées en sous cutané de chaque côté de la région lombaire préalablement délimitée de chaque rat (**ANNEXE II - FIGURE 36**). Les incisions réalisées (**ANNEXE II - FIGURE 37**) ont été suturées par des fils de soies 2.0 (**ANNEXE II - FIGURE 38**) et les blessures ont été traitées par une solution de Povidone dermique pour éviter des contaminations (**ANNEXE II - FIGURE 39**).

Les saignements étaient minimes et les animaux récupéraient dans les 5 à 10minutes de l'effet de l'anesthésie.

Tous les groupes à l'exception du lot témoin ont été traités par leur produit spécifique pendant 7 jours incluant le jour de l'implantation de pellets de cotons. Le huitième jour, les animaux sont anesthésiés au THIOPIENTAL et les pellets de coton sont enlevés et séchés à 60 degrés pendant 24h.

Le poids sec du granulome a été calculé en prenant note de la différence du poids à sec des boulettes de coton enregistrées avant et après l'implantation.

N.B: les pourcentages d'inhibition de la formation des granulomes se calculent de la manière suivante :

$$P = [(W_{grC} - W_{grT}) / W_{grC}] \times 100$$

**WgrC**=masse moyenne du tissu granulomateux formé du témoin.

**WgrT**=masse moyenne du tissu granulomateux formé de la substance à tester.

### **3) Détermination de l'activité antioxydante par la méthode de FRAP**

#### **a) Principe**

Il repose sur la détermination du pouvoir réducteur, gage d'une bonne activité antioxydante.

Le pouvoir réducteur est apprécié par la capacité des extraits à réduire l'ion ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en ion ferreux ( $Fe^{2+}$ ).

Par conséquent, la concentration en  $Fe^{2+}$  peut être évaluée en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu vert dans le milieu réactionnel à 700 nm.

#### **b) Mode Opérateur**

En premier lieu, l'on ajoute à 1 ml d'une solution aqueuse du remède, les éléments suivants :

- 2.5 ml de tampon phosphate (0.2M ; pH 6,6)
- 2.5 ml de ferricyanure de potassium à 1%.

Après une incubation de 30 mn au bain marie à 50°C, on ajoute 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% au milieu réactionnel.

Ensuite, On Centrifuge le milieu réactionnel à 3000 tours par minute pendant 10 mn et on récupère le surnageant.

Par ailleurs, on ajoute à 2.5 ml du surnageant, 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml d'une solution de chlorure de fer à 0.1%.

On procède à l'incubation des tubes pendant 10 minutes à température ambiante.

Enfin, Les absorbances sont lues à 700nm contre une courbe d'étalonnage d'acide ascorbique (antioxydant de référence).

### **III) Test d'évaluation de la qualité**

#### **1) Recherche des mycotoxines**

##### **a) Principe**

Il est basé sur la chromatographie liquide haute performance(HPLC).

Une étape d'extraction puis de purification est faite avant la lecture chromatographique. L'HPLC permet la séparation d'un ou plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification. Le mélange à séparer est mis dans un solvant qui est la phase mobile (liquide) ; suivant leur nature les molécules interagissent avec la phase stationnaire (colonne) et sont retenues par ces celles-ci. Si la phase stationnaire a été bien choisie, les constituants du mélange, appelés généralement les solutés, sont intégralement retenus lors de la traversée de la colonne. De ce phénomène appelé rétention, il résulte que les constituants du mélange injecté se déplacent tous moins vite que la phase mobile et que leurs vitesses de déplacement sont différentes.

Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés. Un détecteur placé à la sortie de la colonne couplé à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme. En effet, il dirige sur un enregistreur un signal constant appelé ligne de base en présence du fluide porteur seul ; au passage de chaque soluté séparé il conduit dans le temps à l'enregistrement d'un pic. Dans des conditions chromatographiques données, le "temps de rétention" (temps au bout duquel un composé est élué de la colonne et détecté), caractérise qualitativement une substance. L'amplitude de ces pics, ou encore l'aire limitée par ces pics et la prolongation de la ligne de base permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté.

## **b) Extraction des mycotoxines**

### **• Cas des Aflatoxines**

Après avoir prélevé 10 ml de l'échantillon, on fait passer 10 ml de méthanol qui est le solvant de récupération, puis 10 ml d'eau bidistillée dans la cartouche. Il ne faut pas laisser assécher la cartouche pendant plus de 30 secondes. Puis l'on fait passer la totalité de l'échantillon préalablement prélevé sur la cartouche. La cartouche est laissée sécher pendant 30 mn. Les mycotoxines sont récupérées avec 5ml de méthanol en laissant tremper pendant 30minutes. L'éluât est récupéré dans un vial pour qualification à l'HPLC.

### **• Cas de l'Ochratoxine A**

15 ml de l'extrait sont prélevés et transvasés dans un pot. 75 ml de méthanol et 75 ml d'hydrogencarbonate de sodium à 1% sont ajoutés à l'aide d'une éprouvette graduée. Une extraction à l'aide d'un Ultra Turax pendant 5mn, puis une centrifugation à 4000Tours par minute pendant 5 mn sont réalisées par la suite.

L'échantillon est filtré sur le papier WHATMAN dans une éprouvette de 25ml. 11ml du filtrat sont dilués avec 11 ml de PBS (c'est-à-dire 10 pastilles dans 1l d'eau).

## **c) Purification des mycotoxines**

Les colonnes d'immuno-affinité sont sorties de la chambre froide au moins 30 mn avant de commencer le test et sont laissées à température ambiante. Les colonnes sont vidées de leur liquide de conservation dans des flacons de récupération. Elles sont conditionnées avec 10 ml de PBS à un débit de 3 ml/mn. 20 ml d'échantillon sont prélevés avec une pipette, puis déposés sur la colonne à un débit de 2 ml/mn. La colonne est ensuite lavée avec 10 ml de PBS à un débit de 3ml/mn. Une élution est réalisée par 1,5ml du mélange méthanol/acide acétique en trois étapes de 0,5ml avec une pause de 1mn entre chaque étape à un débit de 0,5ml/mn ; puis



une autre par 1,5ml de PBS sur la colonne à un débit de 5ml/mn. L'éluât est enfin injecté à l'HPLC pour l'identification et le dosage.

#### **d) Méthode de dosage des mycotoxines**

#### **Lecture à la chromatographie liquide haute performance(HPLC)**

#### **Condition analytique au HPLC :**

- Volume d'injection : 40 µl
- Débit : 0,5 ml/min
- Phase stationnaire : colonne de type Sim pack VP-ODS (250 L x 4,6 mm)
- Longueur d'onde : 333 nm (OTA)  
365 nm (AF)
- Temps final d'analyse : 65mn
- Phase mobile :
  - 50 % eau bidistillée
  - 50 % acétonitrile
- Solvant de migration : le mélange chloroforme-acétonitrille-isopropanol
- Détection :
  - spot bleu : AFB1 ET AFB2
  - spot vert : AFG1-AFG2

#### **2) Recherche des pesticides**

##### **a) Principe**

Le principe est basé sur la chromatographie phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse.

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode de séparation des composés volatils basée sur l'interaction entre ceux-ci et la phase stationnaire. L'agitation brownienne apportée par la montée en

température du four libère les composés de cette interaction. Le balayage de la colonne par le gaz vecteur entraîne les composés vers le détecteur.

Une étape d'extraction puis de purification est faite avant la lecture chromatographique.

### **b) Extraction des pesticides**

Prendre 250 ml du remède « SARENTA » dans une ampoule à décanter, puis ajouter 50 ml de dichlorométhane plus 05 ml de Na Cl. Agiter vigoureusement jusqu'à émulsion et séparer les deux phases. La phase méthylène chlorite est récupérée dans une ampoule à décanter (l'opération est à renouveler trois fois). Réduire le volume à 05 ml à l'évaporateur rotatif et passer à la purification.

### **c) Purification des pesticides**

Dans une colonne de purification, introduire 10 g de florisil, une cuillère à café d'anhydre sulfate de sodium et 50 ml de dichlorométhane avec notre échantillon. La laine de verre sert à maintenir le florisil. Evaporer à sec à l'aide de l'évaporateur rotatif puis reprendre avec 10 ml d'hexane pour l'analyse instrumentale. La lecture se fera au chromatographe phase gazeuse couplé au spectromètre de masse.

### **d) Lecture à la chromatographie phase gazeuse (CPG)**

#### **Condition analytique :**

- Volume d'injection : 10 µl
- Débit gaz vecteur (Dihydrogène) : 1 ml/min
- Température de l'injecteur : 220 °C
- Température du four : isotherme à 100°C
- Phase stationnaire : colonne de type Shim pack VP-ODS (250 L x 4,6 mm)
- Longueur d'onde : 205 nm
- Temps final d'analyse : 89 mn

### 3) Recherche de métaux lourds et d'oligo éléments

#### a) Principe

La recherche des métaux lourds est basée sur leur identification au spectrophotomètre d'absorption atomique. Le principe repose sur la loi de BEER LAMBERT.

En effet, lorsqu'un faisceau lumineux monochromatique  $E$  d'intensité  $I_0$  traverse à angle droit une solution limpide de concentration  $C$  contenue dans une cuve de longueur  $L$ , il est partiellement absorbé et ressort sous forme d'un faisceau émergent d'intensité plus faible  $I$  tel que :

$$I = I_0 e^{-(E C L)}$$

Un atome possède un certain nombre de niveaux d'énergie. Lorsque les atomes d'un élément ont été excités, leur retour à l'état fondamental s'accompagne de l'émission de lumière d'une fréquence  $F$  bien définie et propre à cet élément. Le même élément dispersé dans une flamme possède la propriété d'absorber tout rayonnement de même fréquence. Il en résulte une absorption du rayonnement incident lié à la concentration de l'élément considéré.

**Métaux lourds recherchés** : Cd, Pb, Hg.

**Oligoéléments recherchés** : Fe, Cu, Ni, Zn.

#### b) Mode opératoire

Le mode opératoire est fonction des deux étapes principales de l'analyse à savoir la minéralisation par voie humide et le dosage par spectrophotométrie

- *la Minéralisation par voie humide*

C'est l'étape qui consiste à calciner dans des creusets en téflon, la préparation en présence d'acides et d'eau oxygénée, dans le but de

détruire les composants organiques et ne laisser subsister que les éléments minéraux pour notre analyse.

En effet, l'ajout d'acide nitrique permet de digérer les graisses et de libérer dans la solution, les éléments minéraux de la préparation en rompant les liaisons covalentes préexistantes. L'eau oxygénée est par contre un catalyseur de la réaction de digestion des graisses.

En premier lieu, nous avons prélevé 400 µl de l'extrait homogénéisé dans un creuset en téflon et ajouté successivement 7 ml d'acide nitrique concentré et 1ml d'eau oxygénée.

Ensuite, nous avons placé le creuset au bain marie pour calcination à 100 degrés pendant 2h, puis, on a laissé reposer pendant 6h pour assurer une digestion complète.

Enfin on a récupéré le résidu calciné, suivi de l'ajout de l'eau bi distillée jusqu'à 25ml avant de passer à la lecture au spectrophotomètre.

- *le dosage au spectrophotomètre*

En pratique, la spectrophotométrie d'absorption Atomique consiste à vaporiser l'échantillon liquide et à le chauffer à l'aide d'une flamme ou d'un four.

En mode flamme, l'équipement peut être utilisé en spectrométrie d'absorption et d'émission. La flamme est dirigée vers une lumière émise par une lampe appropriée émettant les longueurs d'onde caractéristiques de l'élément recherché.

En traversant la flamme, les ondes lumineuses dont les longueurs d'onde correspondent à l'élément dosé sont absorbées par les ions excités présents dans la flamme.

L'absorption est mesurée à l'aide d'un prisme dispersif et d'une cellule photoélectrique : elle est directement proportionnelle à la concentration de l'élément.

#### 4) Recherche des cendres

##### a) **Cendres totales**

- **Principe**

Il repose sur la détermination des substances résiduelles non volatiles contenues dans une drogue lorsque cette dernière est calcinée.

- **Mode Opérateur**

En premier lieu, on introduit dans un creuset en silice préalablement taré une prise d'essai de la drogue exactement pesée.

Ensuite, on sèche la prise d'essai pendant une heure à l'étuve entre 100-105 ° C.

Par ailleurs, on l'incinère au four à moufle, d'abord avec précaution pour éviter que l'échantillon ne s'enflamme d'emblée, puis jusqu'au rouge à une température de 600° C environ pendant 6h.

En outre, on maintient la calcination pendant 30 mn et on laisse refroidir dans le dessiccateur à vide.

Enfin, on procède à la pesée afin de déterminer la masse du creuset contenant la prise d'essai.

##### b) **Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique**

- **Principe**

Il repose sur le résultat obtenu de la calcination de la drogue après attaque par l'acide chlorhydrique.

- **Mode opératoire**

La détermination de ces cendres peut se faire à partir des cendres totales.

En premier lieu, on transvase les cendres totales obtenues dans un erlenmeyer suivi de l'ajout de 20ml d'acide chlorhydrique à 10%.

Ensuite, on porte prudemment l'ensemble à ébullition au bain-marie pendant 15 mn.

Après refroidissement, on filtre la solution chaude sur un papier filtre sans cendre et on lave le résidu avec 50ml d'eau chaude.

Par ailleurs, on sèche le filtre contenant le résidu environ 30mn à 103° C. On procède à l'incinération dans un creuset taré à une température de 550° C pendant 2h. Enfin, on laisse refroidir suivi de la pesée.

## 5) Screening phytochimique

### a) Principe

Il repose sur la détection des composés chimiques d'origine naturelle par des réactions de caractérisations qui sont en générale des réactions colorimétriques ou de précipitation. Cette détection est toujours précédée d'une extraction par divers solvants en fonction des propriétés chimiques du composé recherché.

### b) Mode opératoire

#### b-1) Cas des FLAVONOÏDES et des COUMARINES

##### - Extraction

On introduit 1g de poudre de l'extrait sec et 4ml de chlorure de méthylène, l'on agite quelque temps suivi d'une filtration dans un tube à essai.

##### - Réactions de caractérisations

##### • FLAVONOÏDES

Dans un tube contenant 3ml de filtrat, on ajoute quelques gouttes d'une solution de soude au dixième. Une coloration jaune-orange signe la présence de flavonoïdes.



**FIGURE 16** : Présence de flavonoïdes due à la coloration jaune-orangée (tube gauche)

- **COUMARINES** :

3ml du filtrat sont évaporés à sec dans une capsule en porcelaine. Le résidu est dissous dans de l'eau chaude. Après refroidissement, la solution est divisée en deux tubes : tube 1 (témoin), tube 2 (0,5ml NH<sub>4</sub>OH 10%). L'apparition d'une fluorescence intense (bleu-verdâtre ou violet) sous lumière UV montre la présence de coumarines et dérivés.

## **b-2) Cas des TANNINS**

### **- Extraction**

On introduit dans un tube à essai : 1g de poudre et 10 ml d'éthanol à 60%. Ensuite, on porte au bain marie bouillant pendant 10 mn. On filtre puis recueille le filtrat dans un tube à essais.

## - Réactions de caractérisations

### **TANNINS : réaction à l'acétate de plomb 10%**

1 ml d'une solution aqueuse d'acétate de plomb à 10 % est ajouté à 3 ml d'extrait. La formation d'un précipité bleu-noir ou brunâtre indique la présence de tannins.



**FIGURE 17 : Présence de tannins due à la formation d'un précipité brun (tube droit)**

### **b-3) Cas des HETEROSIDES CARDIOTONIQUES**

#### **- Extraction**

On introduit dans un tube à essai : 1g de poudre ,10 ml d'éthanol à 60% et 5 ml d'une solution d'acétate de plomb à 10%. Ensuite, on porte au bain marie bouillant pendant 10 mn. On filtre puis recueille le filtrat dans un tube à essais.



### - Réaction de caractérisations

Ce filtrat est agité avec 10ml de chloroforme de sorte à éviter la formation d'une émulsion. On laisse décanter puis on retire à l'aide d'une pipette la phase chloroformique et on la partage entre trois tubes.

Ensuite, on évapore au bain marie bouillant jusqu'à sec le contenu de deux tubes. Le résidu est repris avec 0.4 ml d'isopropanol. On ajoute dans chaque tube 1 ml de réactif de Baljet (acide picrique à 1% dans de l'alcool à 50% m/v).

L'ajout dans chaque tube de 4 gouttes de potasse à 5% dans l'éthanol entraîne en présence d'hétérosides cardiotoniques, **une coloration rouge orangée.**



**FIGURE 18 : Présence d'hétérosides cardiotoniques due à la formation d'une coloration rouge orangée (tube du milieu)**

#### **b-4) Cas des ALCALOIDES (SELS)**

20 ml de filtrat sont évaporés à sec dans une capsule en porcelaine. 10ml de HCL 10% sont ajoutés. Mettre dans trois tubes à hémolyse environ 1ml de solution extractive ; vérifier que le pH est entre 1 et 2. Ajouter 2 à 3 gouttes de réactif de Dragendorff (iodo-bismuth) ou de Valser Mayer (iodo-mercurique). Observer les colorations jaune-orange pour Dragendorff et blanc-jaunâtre pour Mayer.



**FIGURE 19 : Présence d'alkaloïdes due à la formation d'une coloration jaune-orangé (tube gauche)**

#### **6) Dosage des polyphénols et des Tannins**

##### **a) Principe**

Les polyphénols et les tannins sont dosés selon la méthode colorimétrique de **Folin-Ciocalteu, décrite par Singleton et Rossi, 1965**. Il est basé sur la réduction de la mixture d'acide phosphomolybdique et phosphotungstique en milieu alcalin, en présence de polyphénols pour donner une coloration bleue dont l'intensité est mesurée à 760 nm. Cette

intensité étant proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon.

On détermine la teneur en polyphénols totaux avant, puis la teneur en polyphénols résiduels après fixation des tannins sur la caséine de bœuf. La différence entre les deux valeurs donnera la teneur en tanins de l'extrait.

### **b) Mode opératoire**

- *Cas des Polyphénols totaux*

A 125µl de chaque extrait ou dilution, sont ajoutés 500µl d'eau distillée puis 125 µl du réactif de Folin-Ciocalteu.

5 mn plus tard, 1,25 ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium (*43,75g de carbonate de sodium dissous dans 100 ml d'eau chaude*) sont additionnés au milieu réactionnel, puis, le mélange est ajusté à 3 ml avec de l'eau distillée.

Après 60 minutes d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm au spectrophotomètre.

Une gamme étalon d'acide gallique est préparée dans les mêmes conditions dont les concentrations allant de 0 à 60µg/l.

La quantité des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage d'acide gallique et est exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique(EAG).

Un témoin avec de l'eau distillée à la place de l'échantillon est réalisé dans les mêmes conditions.

- *Cas des Tannins*

On prélève 6ml de chaque échantillon, auquel sont ajoutés 12ml d'eau distillée et 1g de caséine en poudre. Cette étape fixera les tannins sur la caséine.

On agite durant 3h à l'aide d'un agitateur magnétique, puis, on filtre et on rince soigneusement le filtrat avec 10ml d'eau distillée.

Ensuite, on ajuste le filtrat à 25ml et on prélève 2ml du filtrat pour doser les polyphénols comme indiqués plus haut contre un témoin dans les mêmes conditions.

La quantité des tannins est donnée par la différence entre la quantité des phénols totaux et celle obtenue après fixation des tannins sur la caséine (*LI et al, 2011*).

La quantité des tannins est calculée de manière plus précise (à cause des interférences résiduelles de la différence) à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage d'acide tannique et est exprimée en milligrammes équivalent d'acide tannique.

#### ***IV) Test d'évaluation de l'innocuité***

Nous avons évalué l'effet du remède « SARENTA » par le dosage des transaminases ALAT et ASAT et la détermination de l'évolution du poids des rats durant la durée de l'essai.

En effet, Cette méthode permet d'avoir une indication sur la relation dose-réponse et détermine la dose maximale sans effet nocif observé (DSENO) en vue de corrélérer l'impact de la substance à une éventuelle perturbation des paramètres métaboliques du foie à long terme.

##### **1) Principe**

La substance à tester est administrée quotidiennement par voie orale à différents niveaux de dose à plusieurs groupes d'animaux, à raison d'un niveau de dose par groupe, pendant une période de 28 jours.

Au cours de cette période, les animaux sont examinés soigneusement afin de déceler tout signe de toxicité. Les animaux qui meurent ou qui sont euthanasiés au cours de l'essai sont autopsiés et, au terme de l'essai, les animaux survivants sont également euthanasiés et autopsiés.

## 2) Mode opératoire

Cette ligne directrice utilise quatre lots de dix rats (cinq males et cinq femelles). En effet, de jeunes animaux adultes sains sont répartis au hasard de manière homogène en différents groupes (un groupe male et un groupe femelle).

Après constitution de lots homogènes et après avoir fait jeuner les animaux pendant 24 heures, on procède à l'administration par gavage des différents lots :

- Lot 1 : recevait de l'eau distillée **1ml/100g** de poids corporel.
- Lot 2 : recevait une dose de **67mg/kg** de poids corporel du remède « SARENTA» (**soit 11 fois la dose du thérapeute**).
- Lot 3 : recevait une dose de **1000 mg/kg** de poids corporel du remède « SARENTA» (**soit 175 fois la dose du thérapeute**).
- Lot 4 : recevait une dose de **2000 mg/kg** de poids corporel du remède « SARENTA» (**soit 350 fois la dose du thérapeute**).

Vu que la substance est administrée par gavage, la dose doit être administrée à la même heure chaque jour et ajustée si nécessaire pour rester constante par rapport au poids corporel de l'animal. L'observation se fera après administration puis tous les jours jusqu'au 28ème jour. Pendant la durée d'observation il faut noter le poids journalier de chaque rongeur afin d'apprécier la variation de poids. On notera pour chaque rat l'apparition ou l'absence de signes de toxicité subaiguë pendant les 28 jours à savoir : Apathie, excitation, troubles de la respiration, toilettage excessif, refus de nourriture, refus de boisson, saignement buccal,

saignement nasal, douleur abdominale (contorsions), coma, diarrhée, tremblement, convulsion, mortalité.

Le sang prélevé a été collecté sur des tubes secs pour l'analyse des paramètres biochimiques (ASAT, ALAT).

### 3) Prélèvement

#### • **Choix de la technique de prélèvement**

De très nombreuses techniques de prélèvement sanguin sont décrites chez le rat. Le choix d'une technique par rapport à une autre dépend des différents critères à prendre en compte:

- Le volume de sang requis.
- La fréquence des prélèvements à effectuer sur un même animal et donc également la nécessité ou pas de le garder en vie.
- La possibilité ou non d'anesthésier l'animal.
- La nature du sang désiré : artériel, veineux ou mélangé.
- La stérilité éventuelle du prélèvement et de l'échantillon.
- Les effets potentiels de la méthode utilisée sur les paramètres sanguins.

Nous avons opté pour la technique de la ponction cardiaque car la plus couramment pratiquée et répondant à nos besoins étudiés.

#### • **Déroulement de la technique de prélèvement**

C'est une méthode qui nécessite une anesthésie et qui est en général suivie d'une euthanasie car même avec des techniciens expérimentés, la mortalité et la morbidité dues aux complications telles que la tamponnade cardiaque sont très importantes.

L'animal anesthésié est placé en décubitus dorsal. La peau est désinfectée, puis on introduit une aiguille montée dans la paroi thoracique selon un angle de 45° avec l'axe horizontal et l'axe vertical de l'animal.

L'extrémité de l'aiguille transmet les battements cardiaques et il faut alors exercer une légère pression supplémentaire afin de pénétrer dans le ventricule gauche.

Si la ponction est bonne, le sang doit affluer en jets dans la seringue. Si le flux sanguin n'est pas très puissant ou s'il n'y a que très peu de sang, c'est que l'on a perforé soit le ventricule droit soit le myocarde soit l'atrium gauche, ou que l'on a complètement traversé le cœur. Il faut alors retirer doucement l'aiguille et la repositionner pour ponctionner le ventricule gauche. Par cette technique, il est possible de recueillir 2 à 5 ml de sang sur de jeunes adultes, de 20 secondes à 1 mn.



**FIGURE 20 : Prélèvement par ponction cardiaque**

- **Modalités de prélèvement**

Après le 28<sup>ème</sup> jour, on fait jeuner les animaux durant la nuit en vue de pratiquer le prélèvement le lendemain pour réaliser les analyses biologiques.

Cette recommandation est motivée par l'accroissement de variabilité qui découlerait d'une non-observation du jeune ou de l'influence nyctémérale et qui pourrait masquer des effets plus subtils, rendant de ce fait l'interprétation des résultats plus difficiles.

#### 4) Analyses Biologiques

Les analyses sanguines effectuées auront pour but d'apprécier l'innocuité de la substance en recherchant la toxicité subaiguë sur différents paramètres métaboliques choisis.

Une atteinte des hépatocytes va de pair avec une ascension des aminotransférases.

- L'alanine-aminotransférase (ALAT) se trouve essentiellement dans les hépatocytes, elle est donc un marqueur très spécifique d'une atteinte hépatocellulaire.
- L'aspartate-aminotransférase (ASAT) se trouve non seulement dans le foie, mais dans de très nombreux autres organes tels que myocarde, musculature squelettique, reins, cerveau, pancréas.

Les analyses biologiques ont été réalisées par le Laboratoire LONGCHAMP, certifié par les normes de qualité ISO 9001 :2008.

## **V) ANALYSE STATISTIQUE**

L'analyse statistique a été effectuée à partir du test non paramétrique de Wilcoxon au risque 5% sur le logiciel SPSS 18.0.

Lorsque la p-value est inférieure à 0,05, la différence est significative.

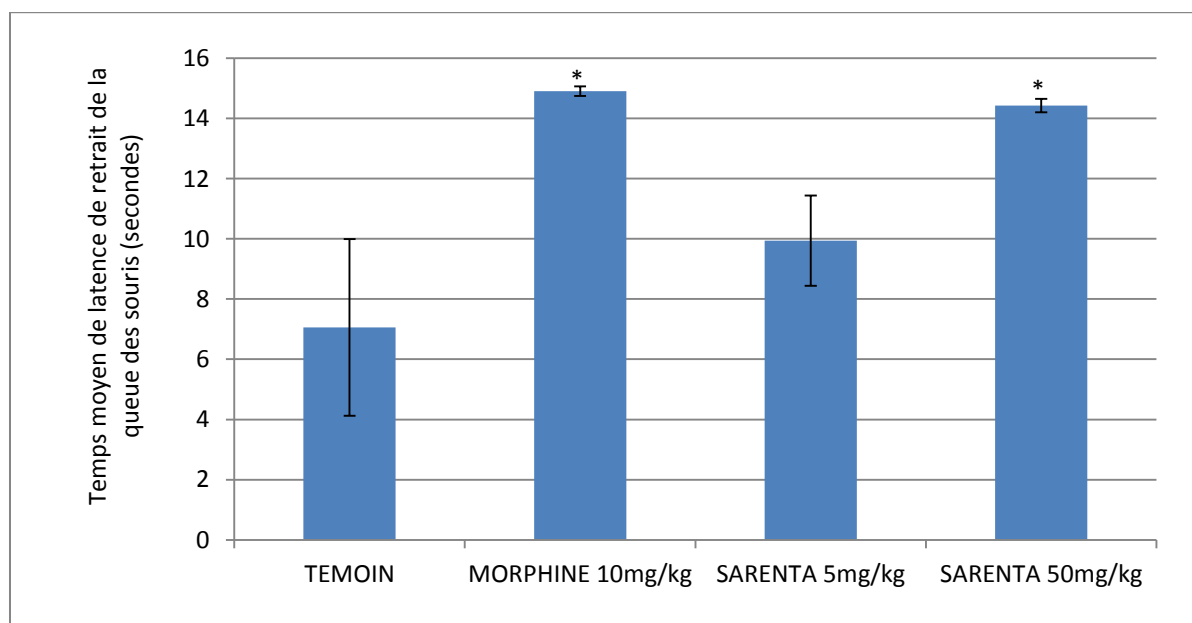


# **TROISIEME PARTIE :** **RESULTATS**

## A)ASPECT EFFICACITE

### I) Evaluation de l'activité analgésique de type morphinique

Les effets de l'administration de la morphine et du remède« SARENTA » à 5mg et à 50 mg sur le temps de latences de retrait de la queue de la souris du faisceau lumineux calorifique sont représentés par les Tableaux et figures ci-dessous (**FIGURE 31**) et (**tableau VI**).



**FIGURE 21** : Temps moyens de latence de retrait de la queue des souris en fonction des doses administrées des substances

Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type;  $n= 5$  pour chaque groupe ; les groupes sont comparés au groupe témoin (eau distillée) par le test de wilcoxon.

\*  $p < 0.05$ = différence statistique significative par rapport au groupe témoin.

La valeur du pourcentage d'augmentation du temps de la latence de retrait de la queue est :

- MORPHINE 10mg/kg : 98,86 %
- « SARENTA » 5mg/kg : 36,27 %
- « SARENTA » 50mg/kg : 92,82%

**TABLEAU VI : Comparaison statistique des temps de latence de retrait de la queue des souris en fonction des doses administrées des substances**

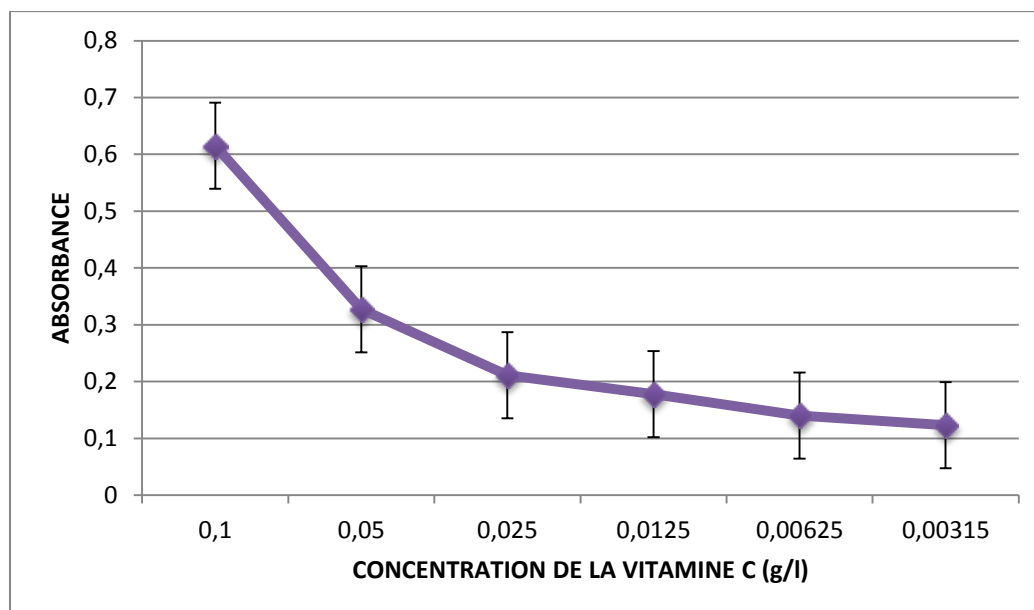
Temps comparés	<i>p value</i>
MORPHINE 10mg – TEMOIN	0,028 (S)
« SARENTA » 5mg – TEMOIN	0,116 (NS)
« SARENTA » 50mg – TEMOIN	0,028 (S)

**NS : Différence non significative**

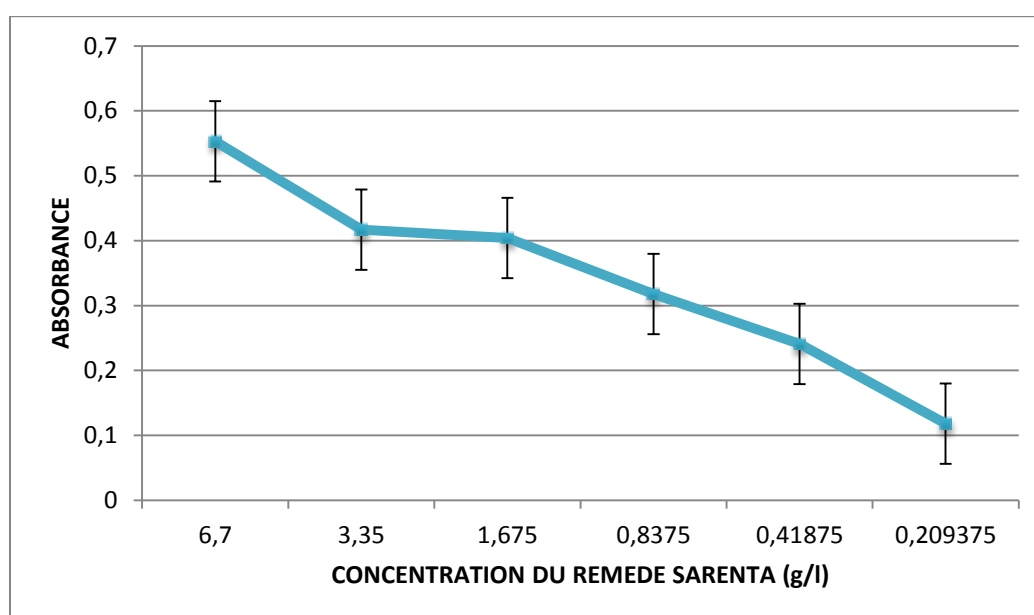
**S : Différence significative**

Lorsqu'on compare les différents lots traités au lot témoin, l'on observe que 30 minutes après administration des produits, les temps de latence des animaux des lots recevant le remède « SARENTA » à 50 mg/kg pc ainsi que celui des animaux du lot recevant de la morphine **sont significativement supérieurs ( $p < 0,05$ ) au temps de latence dans le lot témoin**. Par contre, il n'y a **pas de différence significative** entre le lot ayant reçu le remède « SARENTA » à 5mg/kg PC et le lot témoin ( $p > 0,05$ ).

## II) Evaluation de l'activité antioxydante



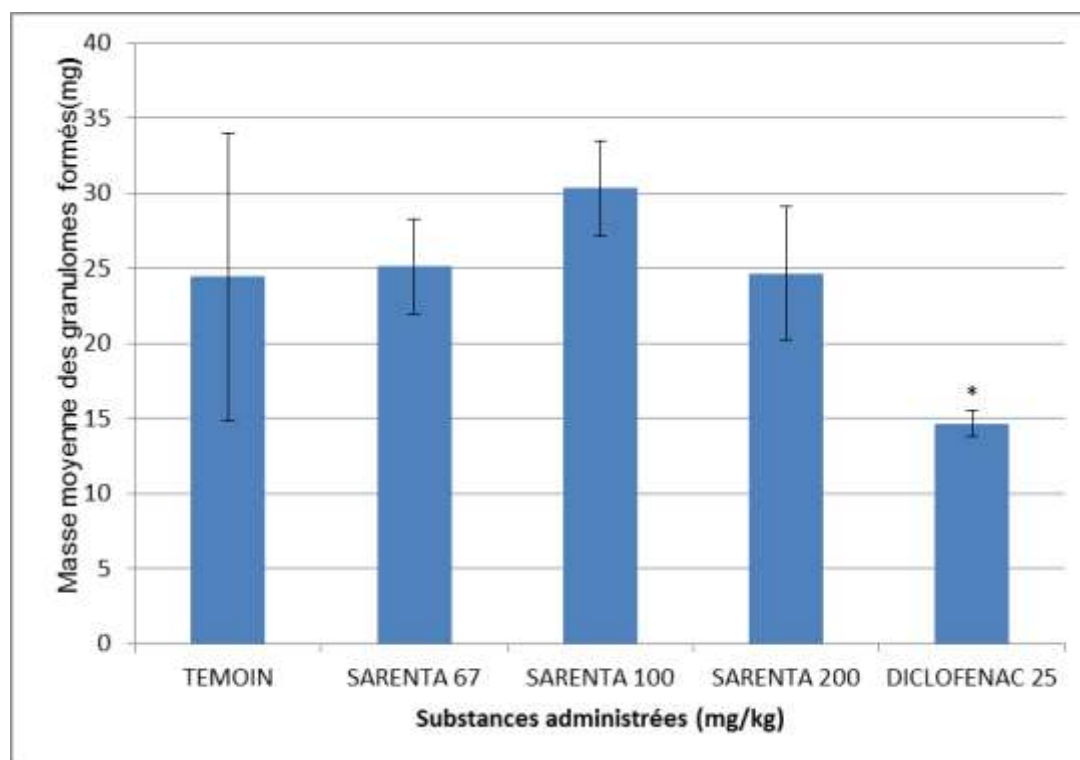
**FIGURE 22** : Evolution du pouvoir réducteur de la vitamine C en fonction de la concentration



**FIGURE 23** : Evolution du pouvoir réducteur du remède « SARENTA » en fonction de la concentration

Ainsi, à l'instar de la vitamine C, le remède « SARENTA » possède des propriétés réductrices doses-dépendantes.

### III) Evaluation de l'activité antiinflammatoire en modèle d'inflammation subaiguë



**FIGURE 24:** Evolution des masses moyennes des granulomes formés en fonction de la dose administrée des substances

Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type;  $n= 6$  pour chaque groupe ; les groupes sont comparés au groupe témoin (eau distillée) par le test de wilcoxon.

\*  $p < 0.05$ = différence statistique significative par rapport au groupe témoin.

**TABLEAU VII : Comparaison statistique de l'évolution des masses moyennes des granulomes formés en fonction de la dose administrée des substances**

<b>Lots</b>	<b>p-value</b>
<b>TEMOIN - SARENTA 67mg/kg</b>	0,067 (NS)
<b>TEMOIN - SARENTA 1000mg/kg</b>	0,17 (NS)
<b>TEMOIN - SARENTA 2000mg/kg</b>	0,784 (NS)
<b>TEMOIN– DICLOFENAC 25 mg/kg</b>	0,03 (S)

**NS : Différence non significative**

**S : Différence significative**

Il n'existe pas de différence significative entre le remède « SARENTA » et le témoin. Ainsi, le remède « SARENTA » administré aux doses 67mg/kg, 100mg/kg et 200mg/kg na pas réduit la formation des granulomes comparativement au témoin.

Il existe une différence significative entre le Diclofénac et le témoin. Ainsi, le Diclofénac réduit la formation des granulomes comparativement au témoin.

## B) ASPECT QUALITE

### I) Recherche et Analyse des Mycotoxines

**TABLEAU VIII : Résultats d'analyse de l'Ochratoxine A (OTA)**

Temps de rétention (min)	Nom du composé	Concentration (µg/l)
6,893	Ochratoxine A	0,38

Sachant que 1l du remède « SARENTA » correspond à 6,7g de matières sèches, la conversion de la teneur obtenue est la suivante :

Concentration en résidu du remède « SARENTA » : 6,7g/l

Concentration en Ochratoxine A : 0,38µg/l

Soit 0,38µg pour 6,7g

Soit 380µg → 6,7kg

Soit X µg → 6,7kg, on obtient 56,72µg/Kg.

**La teneur en Ochratoxine A :56,72µg/kg** de matières sèches.

La teneur en Ochratoxine A est supérieure à la valeur limite de **5ug/kg** définie par la commission du codex alimentarius en 2011.

**TABLEAU IX : Résultats d'analyse des aflatoxines B1, B2, G1 ET G2**

Temps de rétention	Nom du composé	Concentration (µg/l)
7,888	Aflatoxine G-2	< LQ
9,778	Aflatoxine G-1	< LQ
11,052	Aflatoxine B-2	< LQ
13,909	Aflatoxine B-1	< LQ.

La concentration des aflatoxines est inférieure à la limite de quantification. Elle n'a donc pas pu être détectée au sein du remède.

Sachant que 1l du remède « SARENTA » correspond à 6,7g de matières sèches, l'on peut affirmer que les aflatoxines sont absentes au sein du remède et les teneurs en AFB1 et Aflatoxines totales sont inférieures à celles recommandée par la pharmacopée européenne VIème édition (2µg/kg ; 4µg/kg respectivement).

### ***II) Recherche et analyse des pesticides***

**TABLEAU X : Résultats d'analyse des pesticides retrouvés**

Pesticides retrouvés			Concentration (mg/l)
Groupe	Famille	Pesticide	
Herbicide	Hétérocycles azotés	Déséthylatrazine	1,22
Rodenticide	Anticoagulant	Crimidine	0,66



Les teneurs en Déséthylatrazine et en Crimidine du remède « SARENTA » sont respectivement supérieures (1,22mg/l et 0,66mg/l) à la teneur limite de 0,1 ug/l fixée par l'OMS 2011 (guidelines pour l'eau destinée à la boisson).

### *III) Recherche et analyse des métaux lourds*

**TABLEAU XI: Résultats de la recherche des métaux lourds**

ELEMENTS RECHERCHES	RESULTATS (µg/L)
Plomb(Pb)	75,96
Mercure(Hg)	0
Cadmium(Cd)	0

Sachant que 1l du remède « SARENTA » correspond à 6,7g de matières sèches, la conversion de la teneur en plomb obtenue sera la suivante :

Concentration en plomb : 75,96µg/l

Soit 75,96 µg pour 6,7g

Soit 7560µg → 6,7kg

Soit X µg → 6,7kg, on obtient 11,34µg/Kg

**La teneur en Plomb :11,34 µg/g** de matières sèches

Les valeurs limites de métaux lourds dans les matières servant à la confection des remèdes traditionnels selon l'OMS 1998 est de:

- Plomb : 10 µg/g ;
- Mercure : 0,2µg/g ;

- Cadmium 0,3ug/g

Ainsi, la teneur en plomb dans le remède est supérieure à la valeur limite.

#### ***IV) Analyses de la qualité phytochimique***

##### 1) Détermination du taux de cendres totales et du taux de cendres insolubles

#### **TABLEAU XII : Résultats de la détermination du taux de cendres totales**

MATIERE SECHE	CENDRE	TAUX DE CENDRES TOTALES(%)
14820 mg/l	6620 mg/l	<b>44,66</b>

**Taux de cendres totales(%) = (cendres × 100) / matière sèche**

#### **TABLEAU XIII : Résultats de la détermination du taux de cendres insolubles**

Masse avant incinération (g)	Masse après incinération(g)	Masse échantillon (en g)	Taux de cendres insolubles(%)	de Norme (Pharmacopée Européenne VIème Edition)
98.387	98.4044	0.051	<b>34.11 %</b>	<b>&lt;3%</b>

**Taux de cendres insolubles(%) = (M1–M0) × 100 / M ECH**

Le taux de cendres insolubles est supérieur à la norme (<3%).

## 2) Screening phytochimique

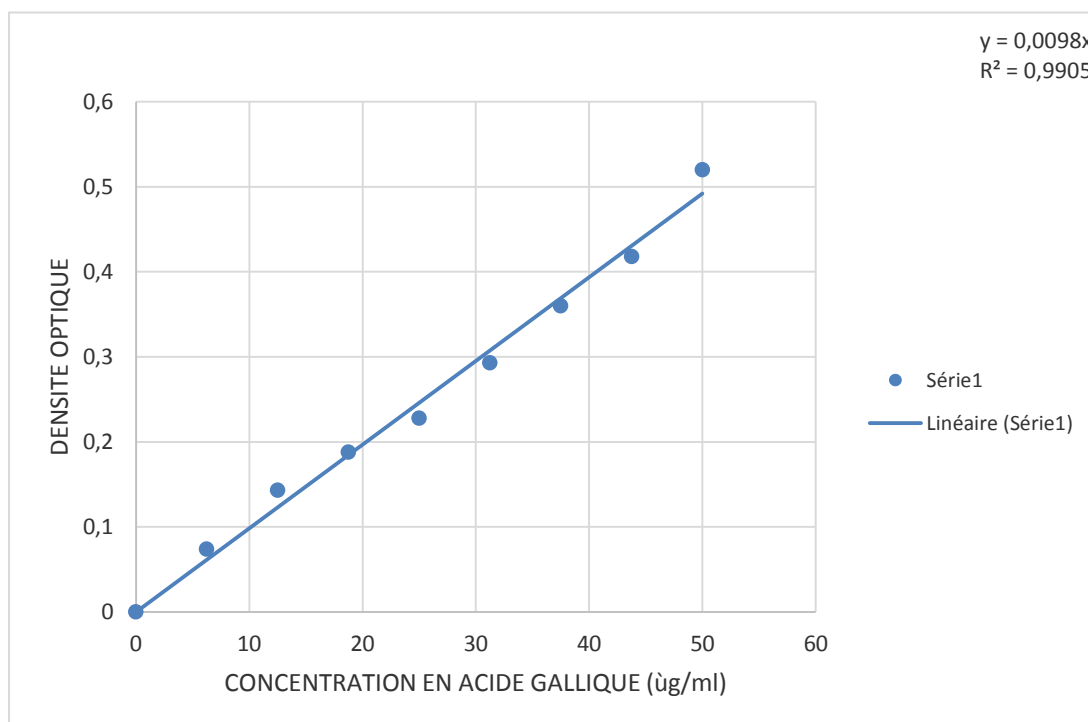
**TABLEAU XIV : Screening phytochimique du remède « SARENTA »**

<b>GROUPES PHYTOCHIMIQUES</b>	<b>RESULTATS</b>
<b>FLAVONOIDES(FLAVONES)</b>	<b>Présence</b>
<b>ALCALOIDES</b>	<b>Présence</b>
<b>HETEROSIDES CARDIOTONIQUES</b>	<b>Présence</b>
<b>DERIVES COUMARINIQUES</b>	<b>Absence</b>
<b>TANINS</b>	<b>Présence</b>

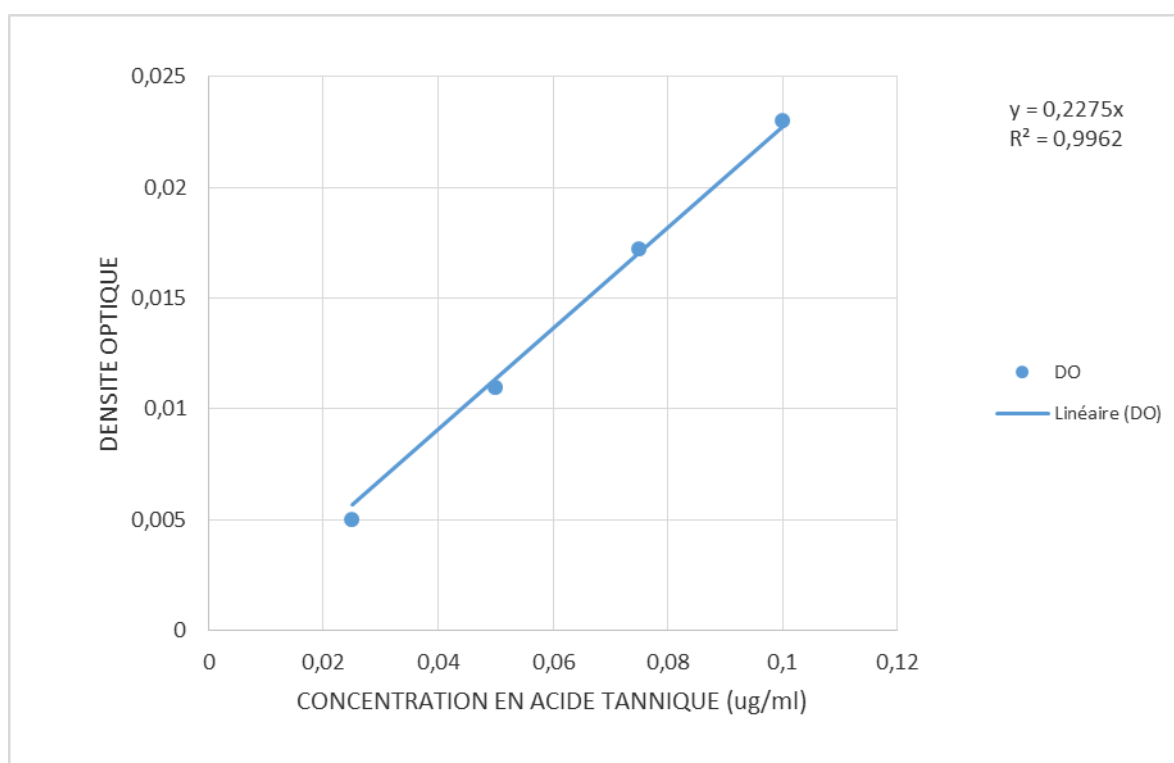
## 3) Dosage des polyphénols et des tannins dans le remède« SARENTA »

**TABLEAU XV : Dosage des polyphénols et tannins dans le remède« SARENTA »**

<b>GROUPES PHYTOCHIMIQUES</b>	<b>DENSITE OPTIQUE</b>	<b>CONCENTRATIONS (µg/ml)</b>
<b>POLYPHENOLS</b>	<b>0,820</b>	<b>3190,47</b>
<b>TANINS</b>	<b>0,082</b>	<b>23,44</b>



**FIGURE 25** : Courbe d'étalonnage du dosage des polyphénols totaux



**FIGURE 26** : Courbe d'étalonnage du dosage des tannins

#### 4) Dosage des oligoéléments

**TABLEAU XVI : Résultats de la recherche des oligoéléments**

<b>ELEMENTS RECHERCHES</b>	<b>RESULTATS (µg/L)</b>	<b>LIMITE DE DETECTION (µg/L)</b>
<b>Cuivre (Cu)</b>	563,69	0,349
<b>Fer (Fe)</b>	742,14	0,349
<b>Nickel (Ni)</b>	81,25	0,349
<b>Zinc (Zn)</b>	0	0,349

#### Détermination de la consommation journalière maximale en oligoéléments du remède « SARENTA »

Sachant que la posologie correspond pour un adulte de 70kg à une dose maximale de quatre cuillères à soupe (quatre fois 15 ml) par jour soit 60 ml par jour, on déduit les consommations journalières suivantes :

- Concentration en Cuivre :  $563,69\mu\text{g/l} = 0,56369\text{ mg/l}$

Soit 0,56369 mg pour 1l de remède

Soit X µg → 0,06l/jour de remède, on obtient 0,03 mg.

- **La consommation journalière maximale en Cuivre du remède « SARENTA » est de 0,03 mg par jour.**

Elle est inférieure à la consommation journalière recommandée qui est de **1mg par jour** pour un adulte (*Martin et al, 2001*).

- Concentration en Fer : 742,14 µg/l = 0,74213 mg/l

Soit 0,74213mg pour 1l de remède

Soit X µg → 0,06l de remède, on obtient 0,04 mg.

- **La consommation journalière maximale en Fer du remède « SARENTA » est de 0,04 mg par jour.**

Elle est inférieure à la consommation journalière recommandée qui est de **9mg par jour** pour un adulte (*Martin et al, 2001*).

- Concentration en Nickel : 81,25 µg/l= 0,08125 mg/l

Soit 0,08125 mg pour 1l de remède

Soit X µg → 0,06l/jour de remède, on obtient 0,005 mg soit 5ug.

- **La consommation journalière maximale en Nickel du remède « SARENTA » est de 0,005 mg par jour soit 5ug par jour.**

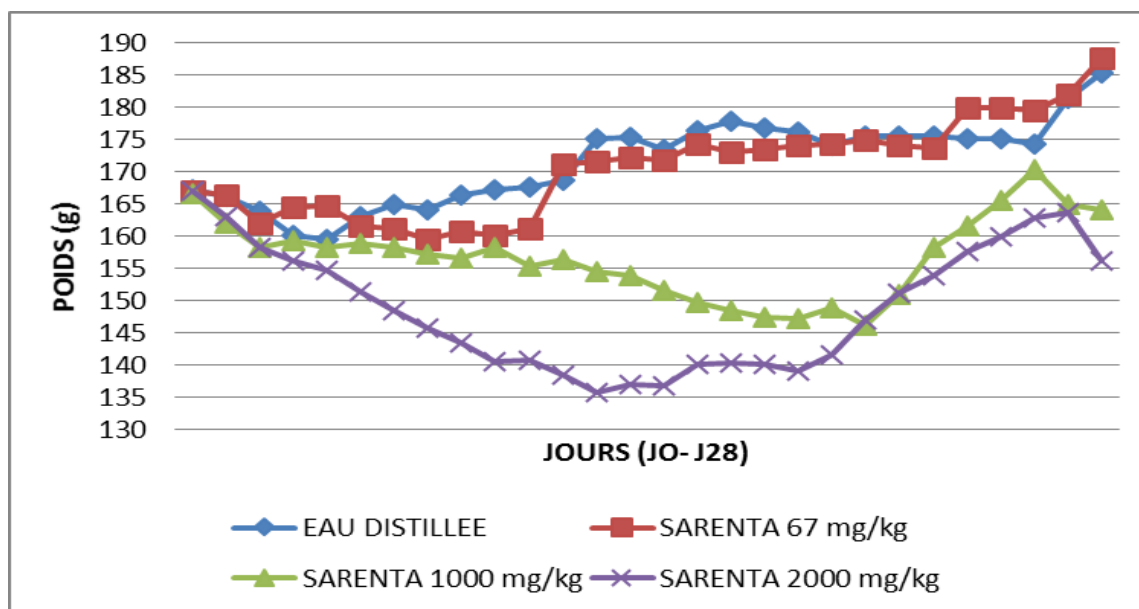
Il n'existe pas d'apport journalier recommandé selon *l'agence française de sécurité sanitaire des aliments* car les besoins en nickel sont largement couverts par l'alimentation (**75 µg par jour**)

- **La consommation journalière maximale en Zinc du remède « SARENTA » est de 0mg par jour.**

Elle est inférieure à la consommation journalière recommandée qui est de **14mg par jour** pour un adulte (*Martin et al,2001*).

## C) ASPECT INNOCUITE

### l) Variation des poids des rats et observation des signes cliniques



**FIGURE 27:** Courbe d'évolution du poids moyen des rats traités par le remède « SARENTA » à différentes doses pendant 28 jours par rapport au témoin

- Aucun cas de trouble comportemental n'a été enregistré après l'administration du remède « SARENTA » aux différentes doses (67 mg/kg, 1000 mg/kg et 2000 mg/kg P.C pendant la période de l'expérience, excepté quelques cas de diarrhée et ramollissement de selles dès les premières semaines se régulant par la suite.
- Il existe une perte de poids relativement significative chez les rats ayant reçu les doses du remède à 1000 et 2000mg/kg comparativement au témoin.

- Il n'existe aucune différence significative sur le poids des rats ayant reçu le remède à la dose de 67 mg/kg et ceux du lot témoin.
- Des cas d'inflammation à la mâchoire et à l'œil pour quatre rats dont trois ont reçu le remède à la dose de 1000mg/kg et un a reçu le remède à la dose de 67mg/kg.
- Quelques rats ont été retrouvés morts.

**TABLEAU XVII : Variation des poids moyens des rats**

Produits administrés	Poids moyen à J1 (g)	Poids moyen J28 (g)	Test à wilcoxon	de
<b>TEMOIN</b>	167,2	185,4		
<b>SARENTA 67 mg/kg</b>	167,1	187,6	p=0,160	
<b>1000 mg/kg</b>	166,6	164,2	p=0,0001	
<b>2000 mg/kg</b>	167,1	156,1	p=0,0001	

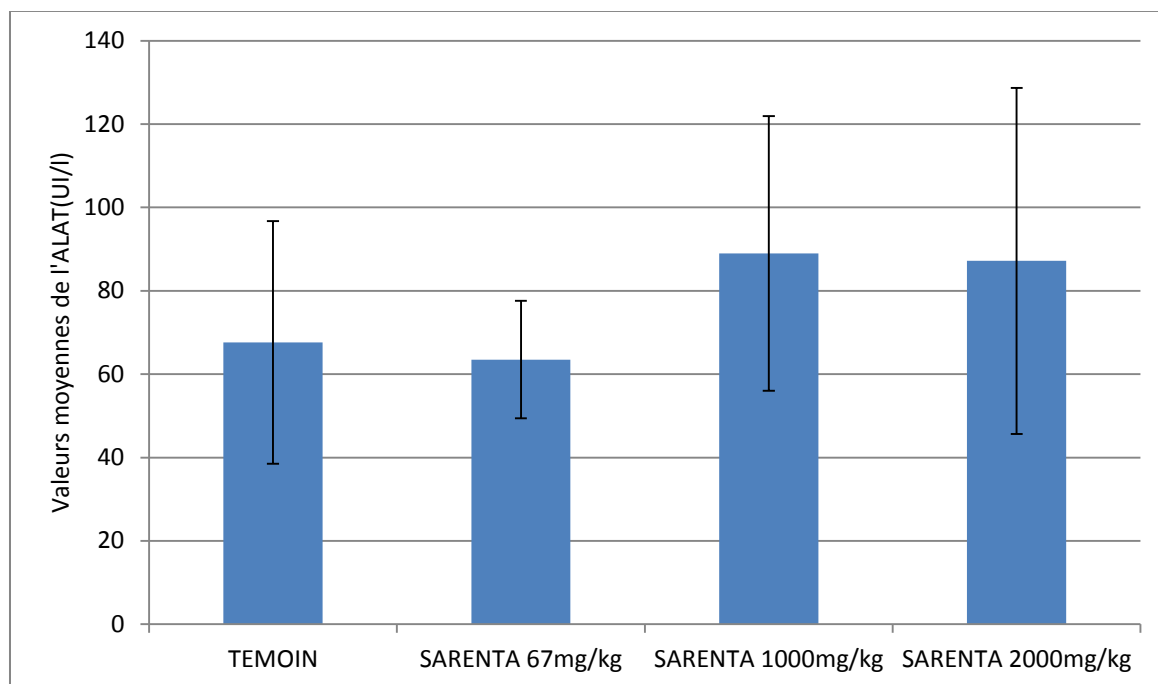
*Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type; n= 10 pour chaque groupe ; les groupes sont comparés au groupe témoin (eau distillée) par le test de wilcoxon.*

*\* p < 0.05= différence statistique significative par rapport au groupe témoin*



## II) Détermination des valeurs des transaminases

### 1) Cas de L'ALAT



**FIGURE 28** : Effet du remède « SARENTA » sur les valeurs moyennes de l'ALAT en fonction des doses administrées pendant 28 jours.

Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type;  $n= 10$  pour chaque groupe ; les groupes sont comparés au groupe témoin (eau distillée) par le test de wilcoxon.

\*  $p < 0.05$ = différence statistique significative par rapport au groupe témoin

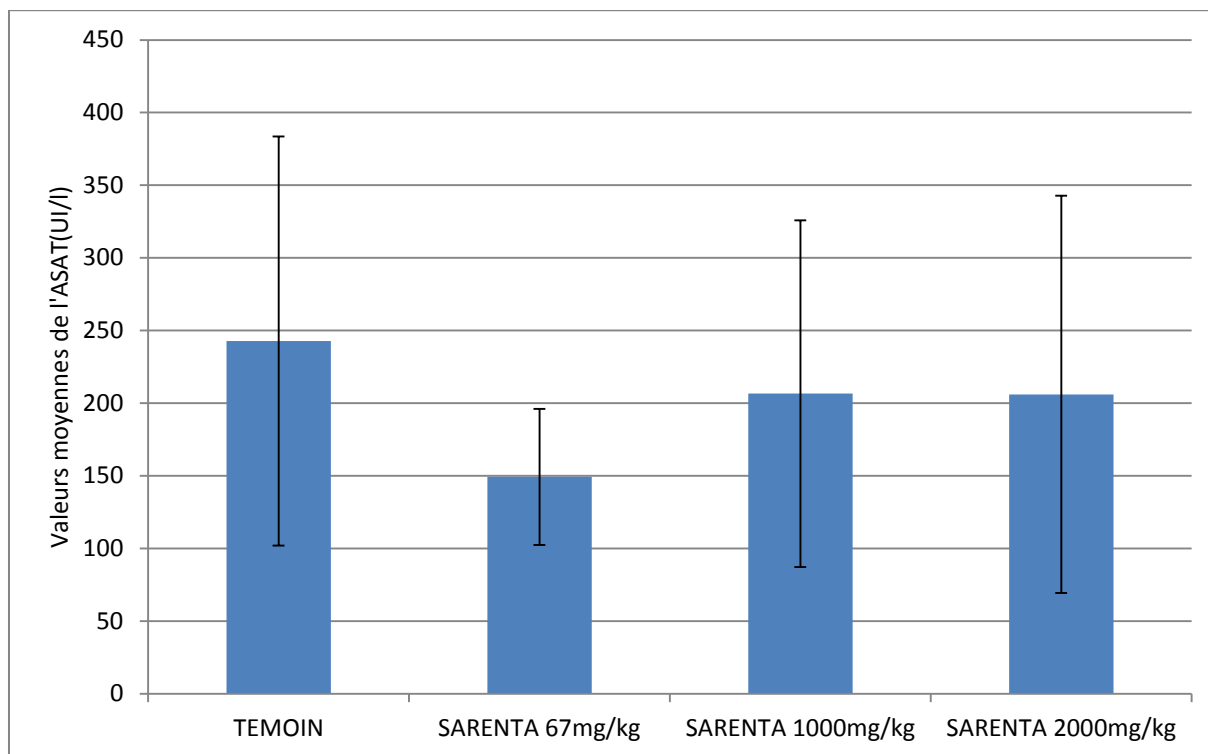
**TABLEAU XVIII : Comparaison statistique des valeurs de l'ALAT pour les différents lots**

<b>Lots</b>	<b>p-value</b>
<b>TEMOIN-SARENTA 67mg/kg</b>	0,735
<b>TEMOIN -SARENTA 1000mg/kg</b>	0,207
<b>TEMOIN- SARENTA 2000mg/kg</b>	0,600
<b>SARENTA 67mg/kg- SARENTA 1000mg/kg</b>	0,093
<b>SARENTA 67mg/kg-SARENTA2000mg/kg</b>	0,293
<b>SARENTA1000mg/kg-SARENTA 2000mg/kg</b>	0,917

**La pvalue est supérieure à 0,05 donc il n'existe pas de différence significative entre les lots selon le test de wilcoxon.**

Selon les résultats des valeurs moyennes de l'ALAT, tous les groupes testés et le groupe témoin ne présentent aucune différence significative. L'activité enzymatique de l'ALAT n'est pas significativement perturbée aux différentes doses du remède « SARENTA » administrées.

## 2) Cas de L'ASAT



**FIGURE 29** : Effet du remède « SARENTA » sur les valeurs moyennes de l'ASAT en fonction des doses administrées pendant 28 jours.

*Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type;  $n= 10$  pour chaque groupe ; les groupes sont comparés au groupe témoin (eau distillée) par le test de wilcoxon.*

*\*  $p < 0.05$ = différence statistique significative par rapport au groupe témoin.*

**TABLEAU XIX : Comparaison statistique des valeurs de l'ASAT pour les différents lots**

<b>Lots</b>	<b>p-value</b>
<b>TEMOIN - SARENTA 67mg/kg</b>	<b>0,050</b>
<b>TEMOIN - SARENTA 1000mg/kg</b>	<b>0,779</b>
<b>TEMOIN - SARENTA 2000mg/kg</b>	<b>0,463</b>
<b>SARENTA67mg/kg - SARENTA1000mg/kg</b>	<b>0,161</b>
<b>SARENTA67mg/kg-SARENTA 2000mg/kg</b>	<b>0,753</b>
<b>SARENTA1000mg/kg - SARENTA2000mg/kg</b>	<b>0,917</b>

**La pvalue est supérieure à 0,05 donc il n'existe pas de différence significative entre les lots selon le test de wilcoxon.**

Selon les résultats des valeurs moyennes de l'ASAT, tous les groupes testés et le groupe témoin ne présentent aucune différence significative.

L'activité enzymatique de l'ASAT n'est pas significativement perturbée au aux différentes doses du remède « SARENTA » administrées.

**QUATRIEME PARTIE :**  
**DISCUSSION**

## A) ASPECT EFFICACITE

### *1) Recherche de l'activité analgésique morphinique*

L'activité analgésique morphinique du remède « SARENTA » a été évaluée par la mise en contact d'une lumière calorifique sur la queue de souris ayant préalablement absorbé le remède (**test du TAIL FLICK**).

En effet, selon **Le Bars (2001)**, des modèles animaux sont couramment utilisés pour évaluer l'activité analgésique des extraits de plante.

De plus, La méthode du TAIL FLICK utilisant le stimulus thermique met en jeu un réflexe spinal, mais pourrait aussi impliquer les structures neuronales (**Le Bars, 2001**). Assurément, Selon **Jensen et al (1986)**, la douleur induite par la chaleur est d'origine centrale via la stimulation des fibres afférentes nociceptives. **Chang et Lewis (1989)** ainsi que **Sayyah (2004)** ont démontré que les stimuli thermiques sont sélectivement inhibés par les analgésiques morphiniques. Ainsi, nous avons utilisé comme substance de référence la Morphine en vue de vérifier cette hypothèse.

La morphine a montré une action analgésique à la dose de 10mg/kg de pc qui s'illustre par un pourcentage d'inhibition des douleurs de 98,86%. Le remède « SARENTA » n'a pas montré d'effet analgésique à la dose de 5mg/kg de pc comparativement au témoin, en revanche, le remède « SARENTA » administré à la dose de 50 mg/kg de pc a une activité analgésique quasi comparable à celle de la morphine à 10mg/kg qui se traduit par un pourcentage d'inhibition des douleurs induites par le rayon lumineux calorifique de 92,82%.

Des auteurs avaient mis en évidence des résultats similaires à notre étude. **Koua(2014)** avait mis en évidence un effet morphinique-like à la dose de 50mg/kg du remède « SARENTA » par le test d'irritation de la

patte de rat au formaldéhyde. Ses résultats ont en effet montré une inhibition de la phase neurogène et de la phase inflammatoire de la douleur à la dose de 50mg/kg, tandis qu'une dose de 5mg/kg inhibait seulement la phase inflammatoire de la douleur. Il ne présenterait donc pas d'effet analgésique morphinique à la dose de 5mg/kg. Cela corrobore davantage notre résultat dans la mesure où l'effet protecteur du remède « SARENTA » contre la douleur induite par le stimulus thermique n'apparaît pas à la dose de 5mg/kg.

On pourrait justifier l'activité analgésique morphinique du remède « SARENTA » par la présence de certaines plantes entrant dans sa composition

- ✚ *Ocimum gratissimum L.* est l'une des plantes constituant le remède. **Rabelo et al, (2003)** ont signifié un effet inhibiteur des contorsions abdominales chez la souris à l'aide de l'huile essentielle d'*Ocimum gratissimum L.* En effet, à la dose de 10mg/kg, ils ont observé une inhibition de la phase neurogène de la douleur de l'ordre de 14,1%. De plus, les travaux de **Tanko et al, (2008)** ont montré par un modèle d'étude semblable au notre, un pourcentage d'inhibition de la douleur de l'ordre de 66% pour une administration de 200 mg/kg d'huile essentielle de *Ocimum gratissimum L* justifiant son activité anti nociceptive.
- ✚ *Cassia occidentalis* entre également dans la composition du remède « SARENTA ». Outre l'effet inhibiteur des contorsions abdominales de la souris de 66,15%, obtenu par administration d'un extrait aqueux de cette plante à la dose de 150mg/kg de pc (**Sini et al, 2010**), il a été aussi démontré que pour le modèle d'étude par le test du TAIL FLICK, des extraits administrés à 200mg/kg et 400mg/kg produisent respectivement une augmentation du temps de latence

de retrait de la queue des souris de l'ordre de 40,74% et 61,48% (**Vijayabhaskar et al ; 2013**).

✚ *Annickia polycarpa* est aussi utilisée au sein de notre remède « SARENTA ». L'extrait d'écorce de cette plante a un puissant effet analgésique morphinique supérieur à celui du tramadol qui est un médicament morphinique-like. Assurément, l'on note une inhibition du seuil de la douleur de 77 % dépassant celui du tramadol à 43,3 % pour des doses d'administration de 100mg/kg lors du test du TAIL FLICK (**Kumatia et al, 2016**).

Ainsi, l'effet synergique des plantes contenues dans le remède « SARENTA » potentialiserait son action analgésique.

Des synergies d'effet d'extraits de plantes sont de plus en plus décrites dans la littérature (**Nguefack et al, 2012**).

## **II) Evaluation de l'activité antioxydante**

L'activité anti oxydante du remède « SARENTA » a été évaluée en utilisant la méthode FRAP. Les résultats obtenus montre que l'extrait du remède « SARENTA » a une activité dose dépendante au niveau de sa capacité à réduire le fer à l'instar de la vitamine C utilisée comme l'antioxydant de référence.

La détermination du pouvoir réducteur est largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de plantes. Des auteurs ont notamment observé une corrélation directe entre activité antioxydante et pouvoir réducteurs de certains extraits de plantes (**Tung et al, 2007**).

De plus, ce pouvoir réducteur pourrait se justifier par la présence de composé poly-phénoliques au sein de notre extrait vu la forte corrélation révélée sur le tracé de la courbe ( $R^2=0,99$ ). **Karou et al, (2005)** ont montré qu'il y a une bonne corrélation entre le profil en phénols totaux et l'activité



antioxydante des extraits de plantes suggérant ainsi que les composés phénoliques sont bien responsables de l'activité antioxydante de ces extraits.

Ainsi, fort de sa grande teneur en polyphénol révélée par le screening phytochimique et de sa capacité réductrice, le remède « SARENTA » posséderait une activité antioxydante.

Il reste cependant difficile d'évaluer correctement cette activité antioxydante, bien vrai que la méthode de FRAP permet un essai simple, rapide et reproductible.

**Primo**, une concentration élevée en polyphénols ne suffit pas forcément à jauger l'activité antioxydante, nous en voulons pour preuve les travaux de **Falleh et al (2006)** qui montrent que l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la concentration des polyphénols, mais également de la nature et la structure des antioxydants dans l'extrait. Généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent une activité antioxydante très importante (**De Pinedo, 2007**)

**Secundo**, le choix du système et du solvant d'extraction est très important dans la détermination des teneurs en polyphénols totaux de certains matériels végétaux dans la mesure où il modifie leurs rendements totaux. C'est le cas des extraits phénoliques des feuilles d'oignons (**Ouedraogo, 2015**) qui ont une teneur maximale lorsqu'ils sont extraits par macération avec l'acétate d'éthyle.

**Tertio**, la teneur phénolique d'une plante dépend aussi d'un certain nombre de facteurs tels que, les conditions climatiques, le moment de la récolte, le solvant d'extraction, les conditions de stockage (**Podsédek, 2007**).

**Quatro**, la méthode de FRAP est limitée, elle ne teste que des substances essentiellement hydrophiles et n'est pas capable de détecter

les composés contenant les groupements thiols, qui peuvent transférer l'hydrogène. (**Benzie et Strain, 1999 ; Phipps, et coll., 2007**).

**Enfin**, on ne peut que difficilement extrapolé les résultats obtenus d'un effet antioxydant *in vitro* sur le domaine du vivant à cause des multiples réactions de l'organisme dégradant l'actif anti radicalaire.

Bien qu'il ait été signalé des activités antioxydantes *in vitro* pour de nombreuses plantes, seules quelques-unes de ces activités ont été recherchées ou confirmé *in vivo* (**Chand et al, 2009**). Vraisemblablement, les essais *in vitro* sont généralement utilisés pour estimer l'activité antioxydante au sein de systèmes réactionnels particuliers et standardisés. Par conséquent, la pertinence de ces découvertes *in vivo* reste très incertaine (**Badarinath et al, 2010**). Ainsi, certains composés phytochimiques ont montré de bons potentiels antioxydants *in vitro*. Cependant, la réalité est bien différente *in vivo*, compte tenu des nombreuses interférences pharmaco physiologiques comme l'absorption, la distribution et l'excrétion. Cela a été révélé par les études de **Manach (2004) et Disilvestro (2001)** qui ont souligné que les flavonoïdes par exemple sont vite métabolisés dans l'organisme et leur concentration dans le plasma est trop faible (moins de 1 $\mu$ mol/l) pour pouvoir agir efficacement.

Une stratégie suggérée est de pouvoir réaliser simultanément des études *in vitro* et *in vivo* en vue d'attester des propriétés anti oxydantes des plantes (**Holst et Williamson, 2008**).

Toutefois, il serait judicieux de croire en un réel potentiel antioxydant *individu* remède « SARENTA », car, dans ce modèle, certaines plantes constituant le remède ont bel et bien eu leur efficacité démontrée.

- ✚ C'est notamment le cas de *Moringa oleifera* qui a démontré une activité réductrice des phénomènes oxydatifs accroissant la physiopathologie du diabète de type 2 chez l'homme.

Vraisemblablement, une prise en charge excessive du sucre au niveau des cellules béta du pancréas aboutit à un stress oxydatif. Ce dernier dégrade la sécrétion insulinaire et initie une cascade d'évènements aboutissant à l'apoptose des cellules béta. Cela entraîne de facto, une élévation de la glycémie plasmatique (**Kaneto et al, 2007**). **Kumari (2010)** a montré qu'une administration de 8g de poudre de feuilles de Moringa à des sujets diabétiques de type 2 entraînait une réduction significative du niveau de glucose plasmatique et post prandial grâce à son action antioxydante et sa richesse en polyphénols.

De plus, **Kumar et Pari(2003) ont** montré qu'une supplémentation alimentaire en Moringa augmentait les concentrations de vitamine C et d'enzymes réductrices (glutathion réductase, superoxyde dismutase) chez des rats traités par des drogues antituberculeuses (Isoniazide, Rifampicine).

✚ C'est aussi le cas d'*Olax subscorpioidea* qui inhibe la peroxydation lipidique sérique, indicateur majeur du stress oxydatif, induite par l'administration du tétrachlorure de carbone chez des rats.

Assurément, le tétrachlorure de carbone est une hépatotoxine et forme avec l'oxygène des radicaux peroxydes responsables de la peroxydation lipidique. L'administration de 25 mg/kg et de 100mg/kg d'extraits d'*Olax subscorpioidea* entraîne la diminution du niveau de peroxydation lipidique et augmente en plus le pouvoir antioxydant total du sérum par rapport à celui contenant le toxigène (**Konan et al, 2015**).

✚ *Tamarindus indica* et *Phyllanthus muellerianus* sont aussi justifiés leurs effets antioxydants *in vivo*.

- Les travaux de **Sandesh et al (2014)** ont révélé qu'une administration d'extraits méthanoliques de *Tamarindus indica*

à 100 et 200 mg/kg à des rats augmentait leur capital en enzymes antioxydantes. En effet, ces enzymes à l'instar de la superoxydismutase ainsi que la catalase seraient synthétisées *de novo* par les composants de l'extrait (**Aruoma, 1994**).

- **Boakye et al (2014)** ont montré que des extraits de *Phyllanthus muellerianus* utilisés en cataplasmes, accélèrent la guérison des blessures en augmentant la concentration et l'activité des enzymes antioxydantes (superoxydismutase, catalase et peroxydase) au niveau du siège des lésions. Vraisemblablement, le stress oxydatif survenant lors des blessures serait responsable de l'allongement du temps de guérison par sa dégradation des cellules et tissus (**Rodriguez et al, 2008**)

### **III) Evaluation de l'activité antiinflammatoire dans un modèle d'inflammation subaiguë**

L'activité antiinflammatoire subaiguë du remède « SARENTA » a été évaluée par la méthode du granulome induit par les boulettes de coton qui a été décrite par **Winter et Porter en 1957**. Cette méthode est largement utilisée pour évaluer l'activité des divers composants transsudats, exsudatifs et prolifératifs de l'inflammation subaiguë voir chronique (**Winter et Porter, 1957**).

De plus, l'œdème induit par la carraghénine (**Garcia Leme et al, 1973**) dans cette méthode est principalement due à la phase proliférative de l'inflammation (**Swingle et al ; 1972**).

En effet, il a été reporté par **Arrigoni-Martelli en 1977** trois phases de la réponse inflammatoire au cours de cette méthode. La première phase dite

transsudative par inhibition du fluide contenant des protéines de bas poids moléculaires se déroule dans les trois premières heures et la seconde phase entraînant l'exsudation dudit fluide a lieu dans les trois jours suivant l'implantation des cotons.

Par contre, la troisième phase dite phase proliférative formant l'œdème se caractérise par la conséquence de la diapédèse des leucocytes et cellules endothéliales au niveau de la lésion à partir du troisième jour d'implémentation des boulettes de coton.

Ainsi, cette prolifération de cellules est un gage de l'éventuelle chronicité de l'inflammation (*Paschapur et al, 2009*) et va entraîner une augmentation de la synthèse du collagène et une élévation du nombre de fibroblastes aux alentours des pellets de coton participant ainsi à la formation de granulomes (*Bhattacharya et al, 1992; Swingle, 1972*).

L'importance de cette phase proliférative pourrait ainsi se mesurer par l'augmentation de la masse des granulomes séchés car cette masse est en étroite corrélation avec la quantité de tissus granulomateux formés(*Lowry et al, 1958; Castro et al. 1968*)

Notre présente étude a révélé que l'administration du remède « SARENTA » à la dose de 100 et 200mg/kg n'a pas réduit la masse des granulomes séchés comparativement à celle du témoin. Quant à l'administration de notre substance de référence, le Diclofénac, il a été remarqué une baisse significative du poids des granulomes séchés et un pourcentage d'inhibition de la formation des granulomes de l'ordre de **39,95%** à la dose de 25mg/kg.

Il est bien connu que la diminution de la formation du tissu granulomateux, l'inhibition de l'infiltration granulocytaire, la prévention de l'apparition des fibres de collagènes et la suppression des mucopolysaccharides sont des

indicateurs de l'effet antiprolifératif des AINS et partant du Diclofénac (*Della et al, 1968; Alcaraz et Jimenez, 1988*). Cela ne semble pas le cas du remède « SARENTA » au vu des observations sur la masse des granulomes séchés aux doses testées.

L'on est tenté ainsi de dire que le remède « SARENTA » serait dépourvu de toute activité antiinflammatoire en modèle d'inflammation subaiguë. Il existe toutefois des réserves compte tenu du fait que certaines plantes composant le remède comme *Tamarindus indica* ont bel et bien montré une activité antiinflammatoire dans un modèle d'inflammation subaiguë à la dose de 300 et 600 mg/kg (*Bandawane et al, 2013*).

## **B)ASPECT QUALITE**

### **1)Recherche et Analyse des Mycotoxines**

Les analyses ont indiqué une absence des aflatoxines mais ont révélé la présence d'Ochratoxine A au sein du remède. Cela sous entendrait une possible contamination des plantes entrant dans la composition du remède car, l'Ochratoxine A est une mycotoxine pouvant être produite au cours des périodes de stockage et de conservation des matières végétales sèches (*Scudamore et al, 1999 ; Moss, 1986*). C'est une hypothèse plausible vu qu'après récolte, les drogues sont souvent séchées à l'air libre et soumises ainsi à l'action de l'humidité ambiante de l'air à la tombée de la nuit ou à la rosée du petit matin. Les graines et les feuilles fissurées constitueraient ainsi des foyers favorables pour le développement des moisissures qui après leur envahissement libèrent les toxines (*Varga et al ; 1996*).

La concentration en Ochratoxine A retrouvée au sein de notre extrait présenterait un danger pour la santé humaine car supérieur aux standards internationaux. En effet, la commission du codex alimentarius en 2011 a fixé un taux limite à **5ug/kg** dans les produits destinés à la

consommation humaine (**Codex Alimentis Commission. 2011**) alors que le remède en contient environ dix fois plus (**56,72ug/kg**).

La prudence reste ainsi de mise vu les effets délétères de cette mycotoxine sur la santé.

En effet, **L'IARC(1993b)** a classé l'Ochratoxine A comme un carcinogène humain probable. La génotoxicité de l'Ochratoxine A a été démontrée par **Creppy et al. (1985)**. Elle serait tératogène et à l'origine de nombreux avortements spontanés (**Lubulwa, Davis 1994.**) De plus, étant facilement absorbée par le tractus gastro intestinal, sa distribution sera importante dans toute la circulation sanguine et ciblera en premier lieu les vaisseaux sanguins et l'appareil digestif mais ensuite les reins si ingérée en grande quantité. C'est ainsi que selon **Creppy et al, (1985)**, l'Ochratoxine A engendrait des lésions rénales importantes lors des intoxications chroniques chez les animaux tandis que les intoxications aiguës se caractérisaient par divers troubles métaboliques à savoir entre autre : diarrhées, anémies, asthénies, hémorragies.

Cependant la dose maximale recommandée par le Comité mixte FAO/OMS des experts en additifs alimentaires (**JECFA**) est de 14 ng/kg par jour afin de limiter les effets néfastes au long cours. Ainsi, sur la base de la posologie maximale (60 ml/jour) et de la teneur en Ochratoxine A (0,38 µg/l), le sujet de 70 kg ingère 22,8 ng, d'où la dose administrée par jour est de 0,325 ng/kg soit 43 fois inférieure à la dose recommandée.

Vu que la présence des moisissures dans les récoltes est un phénomène naturel, il serait impossible d'éliminer toute trace de mycotoxines des produits alimentaires. Cependant, il est possible de minimiser la contamination par l'application de bonnes pratiques culturales et en inspectant rigoureusement les produits avant la mise sur le marché.



En ce qui concerne ces pratiques, la FAO a mis en place un ensemble de bonnes pratiques pour la prévention et la décontamination des mycotoxines dans les produits alimentaires (**FAO-PNUE, 1979**). L'on pourrait citer entre autre :

✚ La prévention de l'infestation fongique des cultures sur pied.

En vue d'éviter la prolifération des moisissures toxigènes, il est recommandé :

- L'élimination des adventices au voisinage des cultures, afin d'éliminer des réservoirs d'inoculum fongique.
- La destruction des matières organiques mortes, les résidus des cultures et autres plantes potentiellement hôtes, ainsi que les végétaux infestés par des champignons, avant de préparer la terre pour une nouvelle culture.
- la préservation des plantes contre les dégâts mécaniques produits pendant la culture.

✚ Les pratiques de récolte, de séchage et d'entreposage

La FAO recommande entre autre :

- La récolte à pleine maturité.
- Un séchage immédiat au soleil tout en respectant un taux d'hygrométrie bas pour éviter l'infestation des cultures par les toxines.
- Le maintien des produits au sec et à l'abri des dégâts provoqués par les insectes, les champignons et les rongeurs. Les matières sèches étant aptes à facilement absorber l'humidité du milieu ambiant et sont vite contaminées.



### La séparation physique des matières contaminées par les mycotoxines

L'infestation fongique d'une céréale ou d'une semence produit en général une coloration caractéristique ou d'autres particularités physiques. En conséquence, le triage de ces semences ou céréales par un moyen quelconque constitue un moyen efficace de réduire sensiblement la contamination par les mycotoxines.

Avec le blé ou le mil par exemple, la contamination par l'ergot est un phénomène fréquent et les semences affectées sont éliminées par flottation par la mise en suspension dans une solution de chlorure de sodium, ou par triage à l'air libre. Comme les sclérotés atteints sont plus légères que les graines saines, elles peuvent être éliminées par l'une ou l'autre de ces méthodes(**Singh, 1968**).

### L'inactivation des toxines

Les études de **Waliking (1971)** ont montré que la lumière du soleil est l'un des meilleurs agents de destruction totale des aflatoxines. Des essais réalisés à l'Institut central de recherches technologiques alimentaires de Mysore (Inde) montrent que de l'huile contenue dans de petites bouteilles transparentes et exposée à la lumière directe du soleil pendant une heure, est décontaminée(**Rehannia et al, 1971**).

Ainsi, il est important de sensibiliser et d'inculquer les Bonnes pratiques de fabrications et de stockage aux tradipraticiens pour l'obtention de produits de bonne qualité.

## **II) Recherche des Pesticides**

La recherche a mis en évidence la présence de certains pesticides au sein du remède « SARENTA ». Cela montre que les plantes entrant dans la composition du remède ont pu ainsi subir un traitement en pesticides lors de leur culture dans les plantations. Ces substances chimiques sont

chargées de lutter contre les organismes nuisibles pour la croissance des plantes et sont très largement utilisés en milieu agricole. Il est bien connu que le traitement des plantations par les pesticides est une source de contamination des plantes (**Att galle et al, 1989**).

En effet, leurs concentrations sont supérieures à la valeur de référence de 0,1µg/l de l'OMS concernant l'eau de boisson (**OMS 2011 guidelines for printing water quality**). Etant donné que le remède « SARENTA » est une préparation liquide à boire, le remède serait impropre à la consommation.

- ✚ La déséthylatrazine a été retrouvée à une concentration de 1,22mg/l soit environ 12000 fois la valeur recommandée.

C'est un dérivé métabolique de l'atrazine utilisé comme herbicide. L'atrazine a été reportée par l'ASTDR (**Agency for Toxic Substances and Disease Registry**) comme perturbateur endocrinien, mais aussi comme hépatotoxique et néphrotoxique chez le rat.

Une dose limite d'exposition de 0,01 mg/kg/jour a été proposée pour l'exposition orale aiguë (14 jours ou moins) à l'atrazine et ses dérivés. Cela a été fait sur la base d'une DSENO de 1 mg/kg/jour chez des lapines gestantes exposées à l'atrazine pendant 14 jours (**Infurna et al, 1988**) et d'un facteur d'incertitude de 100 (10 pour l'extrapolation d'animaux à l'homme et 10 pour la variabilité humaine (**Agency for Toxic Substances and Disease Registry**)). Ainsi, sur la base de la posologie maximale (60 ml/jour) et de la concentration en déséthylatrazine (1,22 mg/l), le sujet de 70 kg ingère 0,073mg, d'où la dose administrée par jour est de 0,001 ng/kg soit 10 fois inférieure à la dose limite d'exposition recommandée.

- ✚ La crimidine a été retrouvée à la concentration de 0,66 mg/l soit environ 6600 fois la valeur recommandée.

Elle est utilisée comme rodenticide et est susceptible d'engendrer des crises convulsives et un coma hypertonique lors de l'ingestion par voie

orale chez l'homme. Cependant, ces effets majeurs révélés par **Besnard et al, (2009)** n'ont été observés qu'à partir d'une ingestion de 5mg/kg de poids corporel chez un sujet par tentative d'autolyse.

Il est cependant difficile d'avoir des infos viables sur la létalité, les conséquences de leurs accumulations et les interactions toxicologiques de ces pesticides au sein de l'organisme humain car la littérature manque encore de données (**Agency for Toxic Substances and Disease Registry**).

Or, la majorité des pesticides seraient pourtant toxiques pour des espèces non-cibles incluant les hommes et leur utilisation abusive, anarchique et non réglementée pourrait entraîner des empoisonnements et des affections chroniques aussi bien pour le cultivateur que le consommateur (**Karlsson, 2009**).

Ainsi, il faudrait sensibiliser et former les utilisateurs sur les dangers des pesticides et favoriser leur réglementation et leur fréquence d'utilisation avec l'appui des ministères de tutelle. Cela permettrait de rendre les préparations à base de plantes moins toxiques pour les populations (**Sam et al ; 2008**).

### **III) Recherche des métaux lourds**

Les analyses n'ont pas retrouvé de **cadmium** et de **mercure** au sein du remède « SARENTA ».

En revanche, il a été décelé la présence de **plomb**, dont la teneur est de **11,34µg /gde** matières sèches et supérieure à la valeur limite de **10µg/g(OMS,1998)**. De plus, la concentration en plomb du remède (**75,96µg/l**) est largement plus élevée que celle recommandée par l'OMS (**0,1µg /l**) pour l'eau de boisson (**OMS 2011 guidelines for printing water quality**).

Cela nous suggère que les plantes utilisées dans le remède ont pu être récoltées en forêt sur des sols riches en plomb. En effet, le sol est le premier réservoir des métaux lourds présents dans une atmosphère et hydrosphère polluées entre autre par les processus industriels et les activités minières (**Cao et al, 2003 ; Juillerat et al,2012**). Les plantes capteraient les métaux lourds et les metalloïdes en les absorbant dans les sols contaminés mais en les recueillant aussi sur les parties aériennes exposées à l'air pollué par les diverses activités humaines (**Wang et al, 2005**).

De plus, certaines pratiques agricoles notamment l'utilisation d'engrais, de composts et de boues de station d'épuration sont à l'origine de l'introduction de métaux lourds dans le sol. Ces produits, destinés à améliorer les propriétés physico-chimiques du sol, sont souvent plus riches en métaux lourds que le sol lui-même (**Adriano, 2001**). Cela pourrait expliquer le fort taux de plomb au sein de notre remède.

Assurément, l'ingestion chronique de métaux lourds au-dessus de leur seuil de sécurité est une source de danger pour la santé humaine et un problème de santé publique. En effet, une alimentation journalière en riz et autres plantes polluées en cadmium environnemental était associée à un risque de cancer post ménopause (**Itoh et al ; 2014**)

Une exposition au plomb a des effets délétères sur le développement humain.

- ✚ En premier lieu, le plomb passe bien la barrière foeto placentaire et est foetotoxique. Différentes études montrent des risques élevés d'avortement, de retard de croissance intra-utérin, d'accouchement prématuré, et un retentissement sur le développement psychomoteur (**Wassermann et coll, 1997 ; Hu et coll, 1991 ; Lyn, 2006**).

✚ Ensuite, le plomb est à l'origine de désordres gastriques importants et est hépatotoxique par l'inhibition des enzymes du métabolisme hépatique (**Mudipalli, 2007**).

Quant au Mercure, il est essentiellement neurotoxique et cancérogène (**Clarkson, 2010**).

Ainsi, les cultures et récoltes des plantes constituant le remède « SARENTA » doivent être contrôlées et doivent se faire à l'état sauvage loin des zones industrielles, minières et rocheuses, sans l'usage d'engrais ou même de pesticides.

#### **IV) Qualité phytochimique.**

##### **1) Screening phytochimique et dosage des polyphénols et tannins**

L'analyse phytochimique du remède « SARENTA » a révélé la présence de composés polyphénoliques, d'alcaloïdes et des hétérosides cardiotoniques.

Les composés polyphénoliques sont d'une grande importance pour la santé. En effet, les polyphénols ont des propriétés antioxydantes (**Packer et al, 1999**) qui leur confèrent d'être employés dans la prévention et le traitement des maladies liées au stress oxydatif (**Urquiaga et al, 2000**).

En effet, Le stress oxydatif est impliqué dans un large spectre de maladies qui ont un impact énorme sur la santé des populations. Dans des conditions normales, le métabolisme aérobie chez les mammifères génère des espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui sont impliquées à faibles quantités dans des processus physiologiques (**Favier, 2003**). Cependant, une production excessive des ERO peut devenir toxique pour les cellules et entrainer un état de stress oxydatif. (**Valko et al. 2006**). Ce dernier est alors impliqué dans la survenue de diverses pathologies telles que les maladies cardiovasculaires et inflammatoires, les maladies

neurodégénératives et le processus de vieillissement (**Aruoma, 2003**). Les polyphénols préviendraient donc l'apparition du stress oxydatif par la diminution des ERO (**Michaela, 2006**).

Le dosage des polyphénols totaux indique que le remède « SARENTA » pourrait jouer un grand rôle dans ce domaine. Ils ont été retrouvés dans le remède à une concentration de **3.19mg/ml**. Cette concentration en polyphénols totaux est bien supérieure à celles de certains produits alimentaires telles que le vin rouge (**1,08mg/ml**) et le chocolat noir (**2,62mg/ml**) (**Neveu, 2010**). Ces produits étant réputés pour leur forte proportion en polyphénols ayant un impact positif sur la santé (**Del Rio, 2013**).

Toutefois, Il est primordial de souligner que la détermination quantitative des composés polyphénoliques est habituellement réalisée selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Cependant, certaines substances, telles que la vitamine C, les caroténoïdes, les sucres réducteurs et les acides aminés aromatiques, peuvent en réduisant le complexe phosphotungstique et phosphomolybdique interférer et conduire à une surestimation de la teneur en composés polyphénoliques (**Obied et al, 2005**).

Les flavonoïdes ont été révélés lors du screening phytochimique au sein du remède. Outre leur action antioxydante à l'instar des tannins également retrouvés dans le remède, ils possèdent particulièrement des activités analgésiques, antiinflammatoires, antispasmodiques (**Tringali, 2001**). Ceci pourrait confirmer en partie les allégations du tradipraticien sur son produit à savoir l'exaltation des capacités analgésiques et antiinflammatoires de son produit.

Les alcaloïdes ont été également retrouvés lors du screening phytochimique. C'est une grande famille de molécules naturelles dont certains sous-groupes seraient précurseurs de substances analgésiques

à l'instar des alcaloïdes de l'opium qui permettent d'obtenir la morphine ou la codéine (**Poisson, 2016**).

Cela pourrait davantage justifier les propriétés analgésiques du remède, mais, il faudrait réaliser des analyses phytochimiques plus poussées en vue d'isoler spécifiquement les sous-groupes des familles chimiques retrouvées afin de pouvoir confirmer leurs actions véritables.

Il ne faudrait pas oublier de faire preuve de prudence dans l'utilisation du remède « SARENTA » compte tenu de la présence d'hétérosides cardiotoniques qui ont des propriétés marquées sur le cœur et constitueraient une source d'intoxication (**Joly, 2010**).

## 2) Evaluation de la recherche des cendres

Les analyses phytochimiques réalisées sur le remède « SARENTA » ont révélé un taux de cendres totales de 44,66% et un taux de cendres insolubles de 34,11%. Ces valeurs permettent de jauger le degré de pureté d'une plante ou d'un extrait de plante au niveau de sa composition chimique.

En effet, le taux élevé de cendres insolubles pourrait être interprété comme le signe d'une contamination ou souillure du remède « SARENTA » par des dérivés minéraux tels que la silice ou les silicates (sable). Car, Il pourrait avoir une introduction volontaire (cas de fraude) ou non d'éléments terreux ou de sable au moment de la récolte ou de la dessiccation des plantes. L'on pourrait également spéculer de l'origine de ces impuretés minérales par un éventuel lavage insuffisant des matières premières lors de la confection du remède. Cette valeur des cendres insolubles pourrait aussi nous informer du mode de fertilisation des cultures à l'instar des silicates de potassium qui ont un effet positif pour la physiologie des plantes et qui sont utilisés comme engrais chimiques (**Bouzoubaa, 2008**).



Cependant, le taux élevé de cendres totales pourrait bien représenter une composition importante en minéraux et oligo éléments du produit. La recherche de métaux a ainsi révélé la présence de fer (742,13µg /l), de cuivre (563,69 µg/l) et de nickel (81,25 µg/l). Les oligo éléments comme le cuivre et le nickel par exemple sont présents dans le sol et peuvent être utilisés par les plantes comme micro nutriments (**Adriano, 2001 ; Alloway,2013**), ce qui pourraient expliquer la présence de ces métaux au sein de notre préparation à base de plantes. De plus, la présence de ces oligoéléments confèrerait au remède « SARENTA » un effet bénéfique pour la santé. Nous pouvons citer à titre d'exemple le fer dont les propriétés anti anémiques sont universellement reconnues ou encore le cuivre qui agirait en enrayant le processus inflammatoire et en augmentant la quantité d'antioxydants(**Richard-Miceli, 2000**).

Toutefois, le remède « SARENTA » ne serait pas doté d'une grande valeur nutritionnelle pour l'homme.

En effet, même si des apports nutritionnels pour le nickel n'ont pas été définis par le monde scientifique, car largement couverts par **l'alimentation (Agence Française de Sécurité Alimentaire)**, les besoins journaliers du fer, du cuivre et du zinc par contre s'élèvent respectivement à 9mg/jour, 1mg/jour et à 14mg/jour pour un homme adulte (**Martin et al, 2001**).

Sachant que le volume maximal de prise est de 60 ml/jour et que le dosage nous donne respectivement pour le fer et le cuivre des concentrations de 742,13 µg /l et 563,69 µg/l, l'on observera des consommations journalières de **0,04 mg de fer** et **0,03mg de cuivre** qui sont très inférieures aux valeurs recommandées.



Ainsi, le remède « SARENTA » serait peut être riche en d'autres éléments qui seront susceptibles d'être recherchés et dosés dans des études ultérieures.

### C) ASPECT INNOCUITE

#### *Recherche de la toxicité subaiguë*

Les résultats ont révélé certains signes cliniques présentés par les rongeurs.

- ✚ En premier lieu, des cas de diarrhée ont été observés chez certains rongeurs dès la première semaine d'expérimentation. Les doses administrées (67 mg/kg, 1000 mg/kg et 2000mg/kg) sont respectivement **11fois, 175fois et 350 fois** supérieures à celles recommandées par le tradipraticien (5,7mg/kg).

Cette observation pourrait aussi se justifier par la présence de certaines plantes composant le remède « SARENTA ».

En effet, *Tamarindus indica* est présente au sein du remède.

Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle comme laxatif grâce à sa haute richesse en acide malique, acide tartrique et en bitartrate de potassium (*Havinga et al, 2010*) (*Bhadoriya et al, 2011*).

Il est à noter aussi la présence de *Cassia occidentalis* et *Cassia alata*. Ces plantes de la famille des caesalpiniaceae sont aussi utilisées comme laxatifs en Côte d'Ivoire (*Aké Assi, 1983*) en raison de sa forte teneur en anthraquinone (*Khan et al, 2001*).

Les études d'*Elujoba et al, (1999)* ont montré l'action laxative des gousses de cassia par effet anthraquinonique.

*Ocimum gratissimum* est aussi riche flavonoïdes et en anthraquinones (*Bahoun et al, 2005*).

L'anthraquinone et ses dérivés actifs comme les glucosides d'anthraquinones sont utilisés comme laxatifs car ils stimulent le

péristaltisme de l'intestin grêle et augmentent les mouvements péristaltiques du colon (**Bruneton, 1995**).

L'association de ces différentes plantes dans le remède « SARENTA » conduit ainsi à une synergie d'action laxative qui explique les cas de diarrhée.

✚ Ensuite, l'évolution de la masse des rats sur 28 jours a montré une diminution significative des masses comparativement au témoin pour des doses d'administration de 1000 et 2000 mg/kg de poids corporel.

Il faudrait ajouter que les extraits de fruits de *Tamarindus indica* seraient responsables de propriétés hypolipidémiques et de pertes de poids en régulant le métabolisme lipidique par diminution du taux de LDL-cholestérol sérique et augmentation du taux de HDL-cholestérol sérique (**Jindal et al, 2011 ; Azman et al, 2012**).

✚ Par ailleurs, l'observation des valeurs des transaminases ne nous révèle pas de changement majeur.

Aucune différence significative n'a été observée entre les valeurs de l'ALAT et l'ASAT des lots testés et celle du témoin.

# LIMITES ET DIFFICULTES

Nous notons quelques limites et difficultés à notre étude à savoir :

- ✚ L'insuffisance de matériels et de réactifs à l'UFR des Sciences pharmaceutiques et biologiques. Cela nous a poussés à commander certains réactifs à l'étranger qui ont mis des mois avant d'être disponible en Côte d'Ivoire.  
De plus, nous avons été obligés de réaliser certaines expériences dans des laboratoires privés.
- ✚ Le cout exorbitant des analyses phytochimiques.
- ✚ Le dosage des flavonoïdes n'a pu être effectué.
- ✚ Les essais in vivo de l'activité antioxydante du remède n'ont pu être réalisés.
- ✚ deux rats sont morts par fausse route du à un mauvais gavage pendant l'étude de la toxicité subaiguë.
- ✚ La détermination de la toxicité chronique n'a pu être réalisée.
- ✚ L'analyse histopathologie n'a pu être réalisée.

# PERSPECTIVES

Les résultats obtenus lors de nos investigations nous ont certes permis d'apporter une contribution à la connaissance des effets pharmacologiques du remède, mais cette étude mérite d'être complétée par d'autres travaux:

- Sur d'autres espèces animales et modèles expérimentaux d'inflammation.
- En réalisant l'examen histopathologique chez tous les animaux morts et vivants
- En étendant l'étude de la tolérance biologique par l'analyse d'autres paramètres biologiques et à d'autres doses du remède.
- En réalisant les essais de l'activité antioxydante in vivo tout en utilisant également d'autres méthodes de détermination de cette activité in vitro.
- En étendant l'étude de l'activité antiinflammatoire en modèle subaiguë à d'autres doses du remède.
- En évaluant les autres activités mentionnées par l'auteur du remède (activité antiulcéreuse par exemple).

Aux autorités chargées de la planification des systèmes de santé et aux professionnels de santé : il serait nécessaire d'encourager et multiplier ce genre d'étude afin d'avoir une base de données scientifiques sur les remèdes traditionnels. De plus, l'Etat doit fournir aux organismes de recherches en particulier l'UFR du matériel et des financement en vue de perpétuer ce genre d'études.

# CONCLUSION

Le remède traditionnel à base de plante « SARENTA » est commercialisé depuis près de 20 ans en Côte d'Ivoire et fait l'objet d'un usage diversifié en médecine traditionnelle et dans le folklore ivoirien.

Etant donné qu'il existe peu de données scientifiques garantissant sa fiabilité au consommateur, nous nous sommes proposé tout au long de notre étude d'évaluer certaines actions pharmacologiques présumées, la qualité et l'innocuité du remède.

- ✚ Ainsi, du point de vue pharmacologique, le remède « SARENTA » a justifié son action en tant qu'analgésique morphinique vu que les résultats de nos expériences ont montré qu'une dose d'administration de 50mg/kg possède une action protectrice contre la douleur comparable à celle de la morphine à 10mg/kg. Le remède « SARENTA » est aussi doté d'une activité anti oxydante dose dépendante évaluée par la méthode de FRAP et justifiée par la présence de composés polyphénoliques et des tannins. En revanche, il n'a pas montré d'effet antiinflammatoire dans un modèle d'inflammation subaiguë à la dose de 100 mg/kg et 200 mg/kg.
- ✚ Du point de vue de la qualité, les analyses ont révélé la présence d'Ochratoxine A et de plomb ainsi que des traces de pesticides dans le remède portant notre vigilance sur l'amélioration des conditions de culture des plantes entrant dans la composition du remède. Elles ont aussi noté la présence d'oligoéléments tels que le fer et le cuivre. Cependant, leur concentration retrouvée ne garantirait pas une certaine valeur nutritionnelle du remède.
- ✚ Du point de vue de l'innocuité, le remède « SARENTA » n'a pas entraîné de changement significatif au niveau des valeurs des transaminases, mais serait susceptible d'entraîner une réduction de poids. Il est à noter cependant, qu'au regard de nos travaux, cette



perte de poids apparait essentiellement à des doses élevées d'administration (au moins 175 fois supérieures à la dose recommandée). Subséquemment, la dose maximale sans effet nocif observé se situerait en dessous de 1000mg/kg (soit moins de 175 fois la dose recommandée par le concepteur du remède).

D'une manière générale, il conviendrait de pouvoir inculquer des notions de bonnes pratiques à toutes les étapes de fabrication industrielles de remède traditionnels de santé à base de plantes et d'étendre les investigations scientifiques en vue d'assurer une qualité et une fiabilité indiscutable pour le consommateur.

# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. **Adriano DC (2001)** .Trace elements in terrestrial environments, biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. 2nd. Springer; 2001.
2. **Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments**, Apports nutritionnels conseillés pour la population Française, 3<sup>e</sup> édition, Ed. Tec & Doc.
3. **Agency for Toxic Substances Studies and Registry**<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/TP.asp?id=338&tid=59#to>
4. **Aké Assi, L (1983)**. Quelques vertus médicinales de *Cassia occidentalis* L (Césalpiniacées) en basse Côte d'Ivoire. *Bothalia*, 14(3/4), 617-620.
5. **Alcaraz MJ, Jimenez MJ (1988)**. Flavonoid, an anti-inflammatory agent. *Fitoterapia* 59: 25-38.
6. **Alloway BJ (2013)**. Environmental Pollution. 3rd. Vol. 22. Springer; 2013. Heavy metals in soils, trace metals and metalloids in soils and their bioavailability.
7. **Andonirina Ratsilefitra (2013)**. Etude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait NNI 0413 F1. *Medicinal plant pharmacology*. P.6.
8. **Arrigoni-Martelli, E (1977)** : Inflammation and Antiinflammatories, Spectrum Publication Inc, New York, 119-120.
9. **Aruoma OI (1994)** Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food Chem* 32:671–683.
10. **Aruoma OI, Spencer JPE, Butler J and Hlliwel B, (1995)**. commùentary reaction of plant derived and syntitic antioxidants whith trichloromethylperopxyl radicals. *Free rad. Res.* 22, 187-190 p.
11. **Aruoma, O. I. (2003)**. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Research Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 523, 9-20.
12. **Ashok Kumar, N., & Pari, L. (2003)**.Antioxidant action of *Moringa oleifera* Lam.(drumstick) against antitubercular drugs induced lipid peroxidation in rats. *Journal of Medicinal Food*, 6(3), 255-259.

13. **Attygalle et al. (1989)**. Journal of Chemical Ecology, 1989; (15) 1: 317-28.
14. **Azman KF, Amom Z, Azlan A, Esa NM, Ali RM, Shah ZM, et al (2012)** Antiobesity effect of Tamarindus indica L. pulp aqueous extract in high-fat diet-induced obese rats. J Nat Med 2012; 66(2): 333-342.
15. **Badarinath AV, Rao KM, Chetty CMS, Ramkanth V, Rajan TVS, GnanaprakashK. A (2010)** review on in-vitro antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. Int J PharmTech Res. 2010; 2: 1276–85.
16. **Bahorun T, (1997)**. Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. AMAS. Food and agricultural rsearch council. Reduit. Mauritius.
17. **Bahoun T, Neergheen VS, Aruoma OI, (2005)**. phytochemical constituents of *Ocimum gratissimum*, *Africann J Biotechno 2005 ;4 :1530-1540*.
18. **Baldwin A. E, Cannon J. T (1996)**. Sensitization of the tail-flick reflex following exposure to either a single prolonged test or behavioral testing under the analgesic influence of morphine. Pain, 1996; 67: 163-172.
19. **Bandawane, D. E. E. P. T. I., Mayuri, H., Ashish, M., & Nilam, M. (2013)**. Evaluation Of Anti-Inflammatory And Analgesic Activity Of Tamarind (*Tamarindus Indica L.*) Seeds. *Int J Pharm Pharm Sci*, 5, 623-9.
20. **Beaulieu P, (2005)**. Pharmacologie de la douleur, p 5-77 et 539-557.
21. **Belkheir N., (2010)**. Derives phenoliques à activite antiatherogenes. Thèse de doctorat en Chimie-Biologie-Santé. Université Toulouse III : 34p.
22. **Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1999)**. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in enzymology*, 299, 15-27
23. **Besnard, T., Sadeg, N., Ricart, N., Richecœur, J., Nisse, P., Vinner, E., & Lhermitte, M.(2002)**.Determination of serum crimidine in a patient who ingested a" lightning rodenticide". *Acta clinica Belgica*, 57(Suppl 1), 8-11.

24. **Bhadoriya SS, Ganeshpurkar A, Narwaria J, Rai G, Jain AP (2011)**. Tamarindus indica: extent of explored potential. *Pharmacogn Rev* 2011; 5(9): 73-81.
25. **Bhattacharya S, Pal S, Nag Chaudhuri AK(1992)**. Pharmacological studies of the anti-inflammatory profile of *Mikania cordata* (Burm) B. L. Robonson root extract in rodents. *Phytotherapy Res.* 6: 255-301.
26. **Bidet D, Gagnault J, Girard P et Troitin F, (1987)**. Inflammation, allergie douleurs et acide arachidonique: du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique: les flavonoides. *L'actualité chimique.* 89-97 p.
27. **Boakye, Y. D., Agyare, C., & Dapaah, S. O.(2016)**. In vitro and in vivo antioxidant properties of *Phyllanthus muellerianus* and its major constituent, geraniin. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science*, 5(2), 70-78.
28. **Bourin M., Lèvre M., Herv A. (1993)**. Cours de pharmacologie. Ellipses, 3<sup>ème</sup> édition, Paris, p.351.
29. **Bouzoubaa Z et Taoufiq,(2008)**. Effet de la fertilisation silicatée sous trois régime de fertigation 60, 80 et 100% sur la croissance et le rendement de l'haricot plat en hors sol sous terre. Rapport annuel INRA/CCRA/Agadirpp39-41.2008.
30. **Brownlee H, Hedjer J et Scott I, (1992)**. Effects of a rangs of procianidins on the cocoa pathogen *Crinipallis perniciososa*. *Phys. Mol. Plant pathol.* 40, 227-232 p
31. **Bruneton J, (1993)**. Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales. Paris, France: Lavoisier.
32. **C A Winter, CC Porter(1957)**. *Journal of American Pharmaceutical Association*, 1957; 46, 515-20.
33. **Cao, H., Chen, J., Zhang, J., Zhang, H., Qiao, L., & Men, Y. (2010)**. Heavy metals in rice and garden vegetables and their potential health risks to inhabitants in the vicinity of an industrial zone in Jiangsu, China. *Journal of environmental sciences*, 22(11), 1792-1799.

34. **Castro J, Saseme H, Sussman H, Bullette P (1968)**. Diverse effect of SKF 52 and antioxidants on CCL4 induced changes in liver microsomal P-450 content and ethylmorphine metabolism. *Life Sci.*7: 129-136.
35. **Chand, S, Dave R (2009)**. In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: an overview. *Afr J Microbiol Res.* 2009; 3: 981–96.
36. **Chang JY, Lewis AJ.(1989)**. Pharmacological methods in the control of inflammation. *Moderns in pharmacology*, 5: 195-212.
37. **Clarkson, T. W. (1993)**. Mercury: major issues in environmental health. *Environmental Health Perspectives*, 100, 31.
38. **Codex Alimentarius Commission. (2011)**. Joint FAO/WHO food standards programme. *Rome: FAO/WHO*, 122.
39. **Cohen Y (1981)**. Abrégé de pharmacologie. Ed Masson. Paris, France : 245-251.
40. **Creppy EE, Kane A, Dirheimer G, Lafarge-Frayssinet C, Mousset S et Frayssinet C (1985)** Genotoxicity of ochratoxin A in mice: DNA single-strand breaks evaluation in spleen, liver and kidney. *Toxicol Lett*, 28: 29-35.
41. **Das H, Wong J et Lien E, (1994)**. Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoides: A structure-system-activity-relationship (SSAR) analysis.
42. **De Oliveira M, Sampaio M, Simon F, Gibert B et Mors W, (1972)**. Antitumor activity of condensed flavonols. *An.Acad. Brazil.* 41-44 p.
43. **De Pinedo, A. T., Peñalver, P., & Morales, J. C. (2007)**. Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: Structure–activity relationship. *Food Chemistry*, 103(1), 55-61.
44. **Delattre, J., J.-L. Beaudoux et D. Bonnefont- Rousselot(2005d)**. "Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologiques." 87-108.

45. **Della Loggia A, Tubaro A, Dri P, Zilli C, Del Negro P (1968)**. The role of flavonoids in the anti-inflammatory activity of *Chamomilla recutita*. Clin. Biol. Res. 213: 481-486.
46. **Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A.(2013)**. Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & redox signaling*, 18(14), 1818-1892.
47. **Desceemaeker K., (2004)**. Nutri- & Phytothérapie: développements récents. Ed. Garant: 41-51.
48. **Didry N, Pinkas M et Torck M, (1982)**. La composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de diverses espèces de *gairdelia*. Pl med. Phytother. XVI. 7-15 p.
49. **Disilvestro, R.A (2001)**. Flavonoids as Antioxidants. In *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*; Wildman, R.E.C., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2001; Chapter 8, pp. 127-142.
50. **Dubuisson D, Dennis SG (1977)**. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of Morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats" cats. Pain. 1977; 4(2):161-174.
51. **Elujoba, A. A., Abere, A. T., & Adelusi, S. A.(1999)**. Laxative activities of Cassia pods sourced from Nigeria. *Nigerian Journal of Natural Products and Medicine*, 3(1), 51-53.
52. **Etim, Nse Abasi N., Williams, Mary E., Akpabio U., Offiong, Edem E.A. (2014)**. Haematological parameters and factors affecting their values. J. Agric. Sci. 2, p.37-47.
53. **Etude FAO-PNUE**, alimentation et nutrition, prévention des mycotoxines, 1979 M - 8 4 IS BU 92-5-200703-2.
54. **Evans, P. et B. Halliwell(1999)**. "Free radicals and hearing: Cause, consequence, and criteria." *Annals of the New York Academy of Sciences* 884: 19-40.
55. **Falleh H., Ksouri R., Abdelly C (2006)**. Activité antioxydante et contenu en polyphénols dans les différents organes de l'artichaut sauvage *Cynara cardunculus*. *Revue des Régions Arides*, 341-344.



56. **Fattorusso W., Ritter O. (2001)**. Vademecum cliniques, Du diagnostique au traitement. 16<sup>ème</sup> édition Masson, Italie, 1915.
57. **Favier A.(2003)**, Le stress antioxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, L'actualité chimique, 108-115.
58. **Fleurentin J, P Caballion, G Mazars (1990)**. Ethnopharmacologie, sources, méthodes et objectifs. Metz, Colloques et Séminaires, Actes du 1<sup>er</sup> colloque européen d'ethnopharmacologie. CRSTOM Ed. Metz, France : p 432.
59. **Frankel E N. Water house A L, Teissedre P L, (1995)**. Agric. Food. Chem., 43,221-235 p.
60. **Garcia Leme J., Hamamura L., Leite M.P., Rocha et Silva M. (1973)**.Pharmacological analysis of the acute inflammatory process induced in the rat's paw by local injection of carrageenin and by heating. British Journal of Pharmacology 48, p.88–96.
61. **Grünfeed J.(1994)**. Dictionnaire de Médecine. Flammarion. 5<sup>ème</sup> édition, Paris, p.1010.
62. **Harborne J.B (1982)**.*Introduction to Ecological Biochemistry*, 2nd edition, Academic Press, New York.
63. **Havinga RM, Hartl A, Putscher J, Prehsler S, Buchmann C, Vogl CR (2010)**.Tamarindus indica L. (Fabaceae): patterns of use in traditional African medicine. J Ethnopharmacol; 127(3): 573-588.
64. **Hayase F et Kato M, (1984)**. Antioxydant compounds of sweet potatoes. J. Nutri. Sci. vetaminol. 30, 37-46 p.
65. **Hennebelle, T.(2006)**. "Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants." *Chimie Organique et Macromoléculaire Doctorat*: 303.
66. **Holst B, Williamson G (2008)**. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. Curr Opin Biotechnol.;19: 73-82.
67. **Hu H. (1991)**. Knowledge of diagnosis and reproductive history among survivors of childhood plumbism. Am J Public Health 81:1070-1072.



68. **IASP**, définition de la douleur, **1979**.

69. **IARC (1993 b)** Ochratoxin A *In*: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemical to humans. Some naturally-occurring substances: Food Items and Constituents. Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. Lyon, France. Vol 56. pp. 489-521

70. **Infurna R, Levy B, Meng C, et al. (1988)**. Teratological evaluations of atrazine technical, atrazine herbicide, in rats and rabbits. *J Toxicol Environ Health* 24:307-319.

71. **Itoh, H., Iwasaki, M., Sawada, N., Takachi, R., Kasuga, Y., Yokoyama, S., ... & Tsugane, S. (2014)**. Dietary cadmium intake and breast cancer risk in Japanese women: a case-control study. *International journal of hygiene and environmental health*, 217(1), 70-77.

72. **JEFCA (2001)**. FAO/WHO. Safety evaluation of certain mycotoxins in food, Prepared by the 56th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Food Additives Series 47. World Health Organisation; Geneva, Switzerland: 2001. Ochratoxin A; pp. 281-387.

73. **Jensen TS, Yaksh TL (1986)**. Comparaison of antinociceptive action of morphine in the periaqueductal gray, medical and paramedical in rat. *Brain Research.*, **363**: 99-113

74. **Jindal V, Dhingra D, Sharma S, Parle M, Harna RK(2011)** Hypolipidemic and weight reducing activity of the ethanolic extract of Tamarindus indica fruit pulp in cafeteria diet- and sulpiride-induced obese rats. *J Pharmacol Pharmacother*; 2(2): 80-84.

75. **Joly, Arnaud (2010)** INTOXICATION DIGITALE NON MEDICAMENTEUSE: UN RISQUE NON NÉGLIGEABLE. A propos de deux cas. [docnum.univ-lorraine.fr](http://docnum.univ-lorraine.fr).

76. **Juillerat JI, Ross DS, Bank MS (2012)** .Mercury in litterfall and upper soil horizons in forested ecosystems in Vermont, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2012;31:1720-1729.

77. **Kaiser, S., P. Di Mascio, M. E. Murphy et H. Sies(1990).** "Physical and chemical scavenging of singlet molecular oxygen by tocopherols." *Archives of Biochemistry and Biophysics* **277**(1): 101-108.
78. **Kaneto, H., Nakatani, Y., Kawamori, D., Miyatsuka, T., Matsuoka, T. A., Matsuhisa, M., & Yamasaki, Y. (2006).** Role of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and c-Jun N-terminal kinase in pancreatic  $\beta$ -cell dysfunction and insulin resistance. *The international journal of biochemistry & cell biology*, **38**(5), 782-793.
79. **Karou, D., Dicko, M. H., Simpore, J., & Traore, A. S. (2005).** Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, **4**(8), 823-828.
80. **Khan, M. R., Kihara, M., & Omoloso, A. D. (2001).** Antimicrobial activity of *Cassia alata*. *Fitoterapia*, **72**(5), 561-564.
81. **Konan A, (2012).** Place de la médecine traditionnelle dans les soins de santé primaires à Abidjan (Côte d'Ivoire).Thèse Med, Faculté de Médecine de Toulouse-Rangueil, France : 104p.
82. **Konan, K., N'dah Kouamé Justin, B. L., Souleymane, M., & Francis, Y. A. (2015).** Hepatoprotective and in vivo antioxidant activity of *Olax subscorpioidea* Oliv.(Olacaceae) and *Distemonathus benthamianus* Baill.(Caesalpinaceae). *Pharmacognosy magazine*, **11**(41), 111.
83. **Koua Ebi E. J. (2014).** Efficacité, Qualité et Tolérance d'un remède traditionnel indiqué comme Analgésique. Thèse de pharmacie N°1761, Abidjan. 117p.
84. **Kreofsky T, Scalager G, Vuk-Pavlovic Z, Abraham R et Rohrabach M, (1992).** Condensed tannins promotes the release of arachidonic acid from rabbit residents alveolar macrophages. *Am J. Resir. Cell. Mol. Boil.* **7**. 172-181 p.
85. **Kroa E(2000)** Evaluation de l'efficacité du traitement traditionnel de l'accès simple du paludisme à *Plasmodium falciparum* à Agnanfoutou, département d'Agnibilékrou. Thèse Méd : UFR des sciences médicales, Abidjan : 105p
86. **Kumar V, Abul K. A., Nelson F. and Richard M.(2007).**Robbins Basic Pathology, 8th Edition, p.20-60.

87. **Kumari DJ (2010)**. Hypoglycemic effect of *Moringa oleifera* and *Azadirachta indica* in type-2 diabetes. *Bioscan* 5: 211–214.

88. **Kumatia Emmanuel, Kofi Annan, Rita A. Dickson, Abraham Yeboah Mensah, Isaac K. Aponsah, Nguyen Huu Tung, Augustine Ocloo and Solomon Habertamariam(2016)** Anti-inflammatory and analgesic activities of *Annickia Polycarpa* stem bark and its constituents, *Scholars Research Library, Der Pharmacia Lettre*, 2016, 8 (13):42-52 (<http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>).

89. **Le Bars D, Gozariu M, Cadden S.(2001)**Animal"s models of nociception. *Pharmacological Reviews*. 2001; 53: 628-51.

90. **Le Monde de La CITES (2002)**. Bulletin officiel des Parties Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d"extinction (CITES) Numéro 9 – juillet 2002.

91. **Lieutaghi (2003)** .Plantes, sociétés, savoirs, symboles. Matériaux pour une ethnobotanique européenne, Actes du séminaire d'ethnobotanique de Salagon, Alpes. France p. 42.

92. **Lowry OH, Rosebrough NJ, Far AL, Randall RJ(1958)**. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol . Chem*. 193: 265-275.

93. **Lubulwa ASG and JS Davis (1994)** Estimating the social costs of the impacts at fungi and aflatoxins in maize and peanuts. In "Stored-product Protection". E. Highley, E.J. Wright, H.J. Banks and B.R. Champ (Eds) CAB international. UK: 1017-1042.

94. **Lyn, Patrick (2006)**. "Lead toxicity, a review of the literature. Part I: exposure, evaluation, and treatment." *Alternative Medicine Review*, Mar. 2006, p. 2+. *Academic OneFile*, Accessed 2 Dec. 2016.

95. **Mabry T et Ulubelen A, (1980)**. Chemistry and utilization of phenylpropanoïdes including flavonoids, coumarins and lignans. *J. Agric. Food Chem*. 28, 188-196 p.

96. **Macheix J.J., Fleuriet A. et P. Sarni-Manchado (2006)**. Composés phénoliques dans la plante- Structure, biosynthèse, repartition et rôles. Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier, Paris.

97. **Machlin, L. J., & Bendich, A. (1987)**. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *The FASEB Journal*, 1(6), 441-445.

98. **Manach, C.; Donovan, J.L (2004).** Pharmacokinetics and metabolism of dietary flavonoids in humans. *Free Radic. Res.*, 38, 771-785.
99. **Martin A et al (2001).** Apports nutritionnels conseillés pour la population française. Ed Lavoisier, Tec & Doc.
100. **Masquelier J, Dumon M et Dumas J, (1979).** Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. Acte thérapeutique. 1, 101-104 p.
101. **Mates, J. M., C. Pérez-Gomez et I. N. De Castro(1999).**"Antioxidant enzymes and human diseases." *Clinical Biochemistry* 32(8): 595-603.
102. **Michalak, A. (2006).** Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(4), 523.
103. **Ministère de la santé et de l'hygiène publique(2007).** Recensement des tradithérapeutes, des pratiques et des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Région du Moyen Comoé et du Sud Bandama, Tome 1. En collaboration avec la médecine traditionnelle et intégration des tradithérapeutes dans le système de santé ivoirien, Abidjan, p.71.
104. **Moss MO (1986)** Mode of formation of Ochratoxin A. *Food Add Contam*, 13: 5-9.
105. **Mudipalli, A.(2007).** Lead hepatotoxicity & potential health effects. *Indian Journal of Medical Research*, 126(6), 518.
106. **Myburgh, K. H. (2014).** Polyphenol supplementation: benefits for exercise performance or oxidative stress?. *Sports Medicine*, 44(1), 57-70.
107. **Neveu V, Perez-Jiménez J, Vos F, Crespy V, du Chaffaut L, Mennen L, Knox C, Eisner R, Cruz J, Wishart D, Scalbert A. (2010)** Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. Database, doi: 10.1093/database/bap024.
108. **Nguefack, J., Tamgue, O., Dongmo, J. L., Dakole, C. D., Leth, V., Vismer, H. F., ... & Nkengfack, A. E.(2012).** Synergistic action between fractions of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against *Penicillium expansum*. *Food Control*, 23(2), 377-383

109. **Nicolas J-F, Florence C. et Jean T.(2001)**. Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. John Libbey Eurotext, p.55-58.
110. **Obied H., Allen M., Bedgood D., Prenzler P., Robards K. and Stockmann R.(2005)**. Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. *J. of agricul. Food Chem.*, 53 :823-837.
111. **Okamura H, Mimura A, Yakou Y, Niwano M et Takahara Y, (1993)**. Antioxydant activity of tannins and flavonoids in eucaliptus rostarata. *Phytochimie*. 33, 557-561 p.
112. **Okuda T, Kimura Y, Yoshida T, Hatano T, Okuda H et Arichi S, (1983)**. Studies on the activitis of tannins and related compounds from medicinal and drugs. Inihibitory effects of lipid peroxydation in mitochandria and microsome of lever. *Chem. Pharm. Bull.* 31, 1625-1631 p.
113. **OMS (1998)**. Programme de médecine traditionnelle. Règlementation des médicaments à base de plantes dans le monde. Genève : OMS, 1998. 80p.
114. **OMS (1998)**. Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials, WHO Geneva Switzerland <http://whqlibdoc.who.int/publications/1998/9241545100.pdf>.
115. **OMS (2002)**. Stratégies de l'OMS pour la médecine traditionnelle. Genève : OMS, 2002.
116. **OMS (2011)** Guidelines for drinking-water quality. Fourth edition. ISBN 978-92-4-154845-1
117. **OMS (2013)**. Stratégies de l'OMS pour la médecine traditionnelle. Nagoya: OMS, 2013.76p.
118. **Ouedraogo, R. A., Koala, M., Dabire, C., Hema, A., Bazie, V. B. E. J. T., Outtara, L. P., ... & Nebie, R. H. (2015)**. Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d'oignons (*Allium cepa* L.) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(1), 281-291.

119. **Packer, L., Hiramatsu, M., & Yoshikawa, T. (Eds.) (1999).** *Antioxidant food supplements in human health*. Academic Press.
120. **Paschapur, M. S., Patil, M. B., Kumar, R., & Patil, S. R. (2009).** Evaluation of anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *Borassus flabellifer* L. male flowers (inflorescences) in experimental animals. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(2), 049-054.
121. **Pastre J., Priymenko N., 2007.** Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue Méd. Vét.* (4) :187p.
122. **Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, et coll (2003).** Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr.* 2003;133(9):2812-2819.
123. **Pelletier E., Campbel P., Denizeau F (2004).** Ecotoxicologie moléculaire. Ed. Presses de l'universite du Quebec.canada : 182p
124. **Pelli K., Lyly M., (2003).** Les antioxydants dans l'alimentation. VTT Biotechnology Finlande. (3) :9p.
125. **PHARMACOPEE EUROPEENNE VI ème édition, DEQM, Editor.** 2010, Conseil de l'Europe (Strasbourg).
126. **Phipps S, Sharaf M, Butterweck V (2007).** Assessing antioxidant activity in botanicals and other dietary supplements. *Pharmacopeial Forum.* 2007; 33:810-814.
127. **Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne JO., (1999).** L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons.* Vol 4(5) : 133–138.
128. **Podsedek A (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT Food Sci Technol.*40:1-11.
129. **Poisson, Jacques « ALCALOÏDES »,** *Encyclopædia Universalis* [en ligne], consulté le 19 novembre 2016. URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/alcaloides/>.
130. **Pridham J.B (1960).** *Phenolics in Plants in Health and Disease*. Pergamon Press, New York.
131. **Rabelo. M, E.P. Souza, P.M.G. Soares, A.V. Miranda, F.J.A. Matos and D.N. Criddle (2003).** Antinociceptive properties of the essential



oil of *Ocimum gratissimum* L.(Labiatae) in mice Braz J Med Biol Res, April 2003, Volume 36(4) 521-524 (Short Communication)

132. **Randall L. O and Sellito J. J (1957)**. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.; 111: 409-419.

133. **Ravrn H, Andary C, Kovacs G et Molgaard P, (1984)**. Cafféic acid esters as in vitro inhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi. Biochimie. Syst. Ecol. 17, 175-184 p.

134. **Rehania Fasika et Sreenivasa Murthy, V. 1967** (données inédites – Institut central de recherches technologiques alimentaires, Mysore, (Inde)).

135. **Retsky, K. L., K. Chen, J. Zeind et B. Frei(1999)**. "Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation." *Free Radical Biology and Medicine* 26(1-2): 90-98.

136. **Rhiouania H., El-Hilaly J., Israili Z.H., Lyoussi B. (2008)**. Acute and sub-chronic toxicity of an aqueous extract of the leaves of *Herniaria glabra* in rodents. Journal of Ethnopharmacology 118, p.378-386.

137. **Richard-Miceli C, Mazières B, Dougados M (2000)**. Evaluation du cuivre dans le traitement symptomatique de la gonarthrose. *Réflexions Rhumatologiques*,;28:3-6.

138. **Sánchez-Moreno C (2002)**. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Technol Int.*;8(3):121-137.

139. **Sandesh, P., Velu, V., & Singh, R. P. (2014)**. Antioxidant activities of tamarind (*Tamarindus Indica*) seed coat extracts using in vitro and in vivo models. *Journal of food science and technology*, 51(9), 1965-1973.

140. **Sayyah MA, Hadidi NB, Kamalinejad MB (2004)**. Analgesic and anti-inflammatory activity of lacuca sativa seed extract in rats. *J. Ethnopharmacol.*, 92: 325-329.

141. **Schorderet M. (1992)**. Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Editions FRISON-ROCHE. (PARIS) et SLATKINE (GENEVE). 2<sup>ème</sup> édition, p.932.

142. **Scudamore KA, Patel S et Breeze V (1999)** Surveillance of stored grain from the 1997 harvest in the United Kingdom for ochratoxin A. *Food Add Contam*, 16: 281-290.

143. **Seon Hwa, L., T. Oe et I. A. Blair (2001)**. "Vitamin C-induced decomposition of lipid hydroperoxides to endogenous genotoxins." *Science* **292**(5524): 2083-2086.

144. **Sharma, P., A. B. Jha, R. S. Dubey et M. Pessaraki(2012)**. "Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions." *Journal of Botany* **2012**: 1-26.

145. **Sharpe PC, Duly EB, MacAuley D, et coll (1996)**. Total radical trapping antioxidant potential (TRAP) and exercise. *QJM*. 1996;89(3):223-228.

146. **Singh, R.S. (1968)** cited in "Plant diseases" Oxford and IBH Publishing Co. New Delhi.

147. **Singleton V.L., Rossi J.A (1965)**. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.* **16**, 144-158.

148. **Sini, K. R., Karpakavalli, M., & Sangeetha, P. T.(2010)**. Analgesic and antipyretic activity of *Cassia occidentalis* Linn. *World Applied Sciences Journal*, **11**(10), 1216-1219.

149. **Stavric B et Matula T, (1992)**. Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health. 274-294 p.

150. **Swingle KF, Shideman FE (1972)**. Phases of the inflammatory response to subcutaneous implantation of a cotton pellet and their modification by certain anti-inflammatory agents. *J Pharmacol Exp Ther* **1972**;185:226-34.

151. **Tanguy M., (2009)**. Antioxydants Première partie : Les antioxydants dans l'alimentation Médecine. Vol 5 (6):256-260.

152. **Tanko Y, GM Magaji, M Yerima, RA Magaji, A Mohammed(2008)**. Anti-Nociceptive And Anti-Inflammatory Activities Of Aqueous Leaves



Extract Of *Ocimum gratissimum* ( Labiate ) In Rodents *Afr. Jnl of Trad Comp Alt medicine Vol. 5 (2) 2008: pp. 141-146.*

153. **Thiel H, Roewer N (2006).** Pharmacologie et thérapeutique en anesthésie. Médecine-sciences, Flammarion.

154. **Touitou Y.(1997).** Pharmacologie Diplôme d'état d'infirmier, Professionnel. 8<sup>ème</sup> édition, Masson, Paris, 388.

155. **Toussaint B., (2008).** Oxygène et stress oxydants, Faculté de Médecine de Grenoble (UJF), Université Jose Ph.Furier :19p.

156. **Tung, Y. T., Wu, J. H., Kuo, Y. H., & Chang, S. T.(2007).** Antioxidant activities of natural phenolic compounds from *Acacia confusa* bark. *Bioresource technology*, 98(5), 1120-1123.

157. **Tringali C (2001)**, Bioactive compounds from natural sources (isolation, characterization and biological properties) Taylor & Francis group, London (2001).

158. **Urquiaga, I. N. E. S., & LEIGHTON, F. (2000).** Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological research*, 33(2), 55-64.

159. **Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M,(2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.*, 160: 1-40.

160. **Varga J, Kriswtina R. et Téren J (2000)** Degradation of Ochratoxin A by *Aspergillus* species. *Int J Food Microbiol*, 59: 1-7.

161. **Vijayabhaskar, K., Chaitanyaprasad, K., Srisailam, K., Arunadevi, N. M., Swathi, S., & Subhashini, P.(2013).** Analgesic and anti-inflammatory activities of the extract of *Cassia occidentalis* (Linn.) animal model. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 3(4), 759-762

162. **Waltking, A.E. (1971)** J. AOAC 54, 533.

163. **Wang, X., Sato, T., Xing, B., & Tao, S. (2005).** Health risks of heavy metals to the general public in Tianjin, China via consumption of vegetables and fish. *Science of the Total Environment*, 350(1), 28-37.

164. **Wardman, P. et L. P. Candeias (1996).** "Fenton chemistry: An introduction." *Radiation Research* **145**(5): 523-531.

165. **Wasserman GA, Liu X, Lolacono NJ, Factor-Litvak P, Kline JK, Popovac D, Morina N, Musabegovic A, Vrenezi N, Capuni-Paracka S, Lekic V, Preteni-Redjepi E, Hadzialjevic S, Slavkovich V, Graziano JH.(1997).** Lead exposure and intelligence in 7-year-old children: the Yugoslavia prospective study. *Environ Health Perspect* **105**:956-962.

166. **Weill B., Batteux F.(2003).** Immunopathologie et réactions inflammatoires. Bruxelles : De Boeck

167. **Yoshida, H., G. Kajimoto et S. Emura(1993).**"Antioxidant effects of d-tocopherols at different concentrations in oils during microwave heating." *Journal of the American Oil Chemists' Society* **70**(10): 989-995.

# ANNEXES

**ANNEXE I**: Etudes expérimentales de l'activité analgésique du remède



**FIGURE 30** : Administration d'une substance par gavage



**FIGURE 31**: Administration par injection intrapéritonéale



**FIGURE 32** : Dispositif expérimental pour le test du TAIL FLICK



**FIGURE 33** : Insertion de la souris dans la cage en plexiglas



**FIGURE 34** : Mise en contact de la queue de la souris à la lumière calorifique

## **ANNEXE II:** Etudes expérimentales de l'activité antiinflammatoire du remède



**FIGURE 35:** Boulettes de coton stérilisées



**FIGURE 36:** Délimitation de la région lombaire par rasage des poils





**FIGURE 37** : Incision réalisée au niveau de la région lombaire droite par une lame de bistouri



**FIGURE 38** : Suture de l'incision après implantation des boulettes de coton par du fil de soie 2.0





**FIGURE 39** : Traitement des incisions suturées par de la Povidone solution dermique

## **ANNEXE III** : Organigramme d'administration et suivi du lot témoin

### **ADMINISTRATION DE L'EAU DISTILLEE AU LOT TEMOIN MALE**

Identifiant Jour	Dose	TB		QO		DV		QR		DQB		Observations
		P	V	P	V	P	V	P	V	P	V	
1	17 NOV	156	1,6	162	1,6	163	1,6	178	1,8	178	1,8	
2	18 NOV	155	1,6	163	1,6	163	1,6	179	1,8	178	1,8	
3	19 NOV	158	1,6	158	1,6	164	1,6	183	1,8	180	1,8	
4	20 NOV	151	1,5	154	1,5	161	1,6	173	1,7	172	1,7	
5	21 NOV	149	1,5	149	1,5	158	1,6	168	1,7	169	1,7	
6	22 NOV	154	1,5	147	1,5	160	1,6	170	1,7	180	1,8	
7	23 NOV	160	1,6	150	1,5	163	1,6	176	1,8	184	1,8	
8	24 NOV	158	1,6	152	1,5	164	1,6	172	1,7	179	1,8	
9	25 NOV	161	1,6	151	1,5	165	1,7	172	1,7	180	1,8	
10	26 NOV	168	1,7	150	1,5	167	1,7	170	1,7	184	1,8	
11	27 NOV	167	1,7	147	1,5	166	1,7	173	1,7	182	1,8	
12	28 NOV	174	1,7	137	1,4	170	1,7	170	1,7	186	1,9	
13	29 NOV	178	1,8	140	1,4	174	1,7	183	1,8	193	1,9	
14	30 NOV	179	1,8	141	1,4	176	1,8	170	1,7	196	2	
15	01 DEC	171	1,7	141	1,4	175	1,8	170	1,7	193	1,9	
16	02 DEC	181	1,8	142	1,4	181	1,8	176	1,8	197	2	
17	03 DEC	183	1,8	142	1,4	179	1,8	175	1,8	196	2	
18	04 DEC	181	1,8	140	1,4	181	1,8	179	1,8	197	2	
19	05 DEC	184	1,8	141	1,4	181	1,8	177	1,8	198	2	
20	06 DEC	187	1,9	137	1,4	186	1,9	180	1,8	198	2	
21	07 DEC	186	1,9	138	1,4	185	1,9	182	1,8	199	2	
22	08 DEC	189	1,9	138	1,4	187	1,9	183	1,8	202	2	
23	09 DEC	188	1,9	136	1,4	189	1,9	184	1,8	202	2	
24	10 DEC	189	1,9	137	1,4	184	1,8	184	1,8	203	2	
25	11 DEC	186	1,9	140	1,4	189	1,9	187	1,9	204	2	
26	12 DEC	182	1,8	141	1,4	187	1,9	188	1,9	204	2	
27	13 DEC	189	1,9	140	1,4	189	1,9	188	1,9	202	2	
28	14 DEC	189	1,9	141	1,4	185	1,9	185	1,9	201	2	
29	15 DEC	<b>PRELEVEMENT SANGUIN</b>										<b>Transport LONGCHAMP</b>

P : Poids en grammes

V : Volume en millilitres

**ADMINISTRATION DE L'EAU DISTILLEE AU LOT TEMOIN FEMELLE**

Identifiant Jour	Dose	PAVDV		PAVG		TDQB		PAVGR		PAVGB		Observations
		P	V	P	V	P	V	P	V	P	V	
1	18 NOV	154	1,5	159	1,61	165	1,7	173	1,7	184	1,8	
2	19 NOV	151	1,5	164	1,6	153	1,5	170	1,7	185	1,9	
3	20 NOV	146	1,5	154	1,5	149	1,5	166	1,7	180	1,8	
4	21 NOV	145	1,5	155	1,6	147	1,5	164	1,6	179	1,8	
5	22 NOV	150	1,5	154	1,5	150	1,5	166	1,7	182	1,8	
6	23 NOV	150	1,5	159	1,6	150	1,5	174	1,7	186	1,9	
7	24 NOV	151	1,5	156	1,6	152	1,5	170	1,7	188	1,9	
8	25 NOV	153	1,5	155	1,6	150	1,5	170	1,7	187	1,9	
9	26 NOV	156	1,6	159	1,6	153	1,5	174	1,7	193	1,9	
10	27 NOV	157	1,6	157	1,6	155	1,6	175	1,8	189	1,9	
11	28 NOV	156	1,6	156	1,6	157	1,6	178	1,8	194	1,9	
12	29 NOV	161	1,6	157	1,6	159	1,6	179	1,8	193	1,9	
13	30 NOV	162	1,6	154	1,5	159	1,6	177	1,8	196	2	
14	01 DEC	163	1,6	161	1,6	159	1,6	179	1,8	195	2	
15	02 DEC	163	1,6	160	1,6	161	1,6	177	1,8	192	1,9	
16	03 DEC	164	1,6	160	1,6	157	1,6	176	1,8	196	2	
17	04 DEC	164	1,6	160	1,6	163	1,6	183	1,8	197	2	
18	05 DEC	161	1,6	150	1,5	163	1,6	180	1,8	199	2	
19	06 DEC	157	1,6	147	1,5	164	1,6	179	1,8	198	2	
20	07 DEC	140	1,4	135	1,4	166	1,7	176	1,8	198	2	
21	08 DEC	142	1,4	137	1,4	168	1,7	181	1,8	200	2	
22	09 DEC	140	1,4	137	1,4	166	1,7	179	1,8	198	2	
23	10 DEC	145	1,5	132	1,3	164	1,6	179	1,8	198	2	
24	11 DEC	145	1,5	128	1,3	165	1,7	180	1,8	199	2	
25	12 DEC	146	1,5	120	1,2	164	1,6	181	1,8	200	2	
26	13 DEC	146	1,5	113	1,1	166	1,7	182	1,8	201	2	
27	14 DEC	148	1,5	113	1,1	164	1,6	178	1,8	193	1,9	
28	15 DEC	155	1,6	117	1,2	170	1,7	189	1,9	209	2,1	
29	16 DEC	<b>PRELEVEMENT SANGUIN</b>										<b>Transport LONGCHAMP</b>

P : Poids en grammes

V : Volume en millilitres

## **ANNEXE IV** : Organigramme d'administration et suivi du lot gavé à 67mg/kg P.C de « SARENTA »

### **ADMINISTRATION DE « SARENTA » 67mg/kg AU LOT 2 TEMOIN MALE**

Identifiant		DO		TR		DQV		DR		TO		Observations
Jour	Dose	P	V	P	V	P	V	P	V	P	V	
1	19 NOV	156	1,6	160	1,6	163	1,6	175	1,8	180	1,8	
2	20 NOV	154	1,5	167	1,7	161	1,6	171	1,7	171	1,7	
3	21 NOV	142	1,4	162	1,6	159	1,6	166	1,7	165	1,7	Selles ramollies (DO)
4	22 NOV	138	1,4	169	1,7	171	1,7	157	1,6	172	1,7	Tumeur Mâchoire (DR)
5	23 NOV	140	1,4	174	1,7	168	1,7	155	1,6	172	1,7	
6	24 NOV	134	1,3	170	1,7	166	1,7	155	1,6	172	1,7	Selles ramollies (DQV)
7	25 NOV	124	1,2	167	1,7	165	1,7	155	1,6	171	1,7	
8	26 NOV	115	1,2	162	1,6	163	1,6	153	1,5	173	1,7	
9	27 NOV	107	1,1	172	1,7	167	1,7	152	1,5	174	1,7	Selles ramollies (TR)
10	28 NOV	99	1	175	1,8	164	1,6	152	1,5	177	1,8	
11	29 NOV	92	1	178	1,8	167	1,7			175	1,8	Trouvé mort(DQV)
12	30 NOV			190	1,9	170	1,7			176	1,8	Trouvé mort(DO)
13	01 DEC			188	1,9	170	1,7			179	1,8	
14	02 DEC			191	1,9	173	1,7			179	1,8	
15	03 DEC			189	1,9	173	1,7			176	1,8	
16	04 DEC			191	1,9	175	1,8			179	1,8	
17	05 DEC			190	1,9	176	1,8			180	1,8	
18	06 DEC			190	1,9	177	1,8			179	1,8	
19	07 DEC			189	1,9	178	1,8			179	1,8	
20	08 DEC			189	1,9	178	1,8			177	1,8	
21	09 DEC			187	1,9	180	1,8			177	1,8	
22	10 DEC			187	1,8	177	1,8			176	1,8	
23	11 DEC			188	1,9	179	1,8			177	1,8	
24	12 DEC			190	1,9	181	1,8			179	1,8	
25	13 DEC			187	1,9	181	1,8			179	1,8	
26	14 DEC			183	1,8	177	1,8			177	1,8	
27	15 DEC			197	2	190	1,9			180	1,8	
28	16 DEC			206	2,1	193	1,9			190	1,9	
29	17 DEC	PRELEVEMENT SANGUIN										Transport LONGCHAMP

P : Poids en grammes

V : Volume en millilitres

**ADMINISTRATION DE « SARENTA » 67mg/kg AU LOT 2 FEMELLE**

Identifiant		PARDV		TDQR		PARGR		PARGO		PARDR		Observations
Jour	Dose	P	V	P	V	P	V	P	V	P	V	
1	20 NOV	152	1,5	159	1,6	165	1,7	179	1,8	182	1,8	
2	21 NOV	151	1,5	160	1,6	170	1,7	168	1,7	191	1,9	Selles ramollies (PARGO)
3	22 NOV	149	1,5	157	1,6	161	1,6	170	1,7	190	1,9	
4	23 NOV	153	1,5	159	1,6	160	1,6	171	1,7	196	2	
5	24 NOV	151	1,5	160	1,6	160	1,6	171	1,7	197	2	
6	25 NOV	118	1,2	161	1,6	178	1,8	170	1,7	192	1,9	
7	26 NOV	120	1,2	163	1,6	177	1,8	173	1,7	197	2	
8	27 NOV	119	1,2	164	1,6	176	1,8	170	1,7	200	2	
9	28 NOV	122	1,2	166	1,7	177	1,8	171	1,7	200	2	
10	29 NOV	120	1,2	166	1,7	177	1,8	170	1,7	202	2	
11	30 NOV	123	1,2	166	1,7	177	1,8	169	1,7	204	2	
12	01 DEC	127	1,3	163	1,6	175	1,8	167	1,7	201	2	
13	02 DEC	129	1,3	164	1,6	173	1,7	168	1,7	202	2	
14	03 DEC	132	1,3	164	1,6	173	1,7	164	1,6	202	2	
15	04 DEC	133	1,3	164	1,6	174	1,7	165	1,7	201	2	
16	05 DEC	137	1,4	166	1,7	176	1,8	163	1,6	208	2,1	
17	06 DEC	138	1,4	162	1,6	176	1,8	161	1,6	201	2	
18	07 DEC	142	1,4	161	1,6	174	1,8	161	1,6	203	2	
19	08 DEC	145	1,5	163	1,6	172	1,7	163	1,6	203	2	
20	09 DEC	146	1,5	164	1,7	172	1,7	164	1,6	205	2,1	
21	10 DEC	146	1,5	166	1,7	171	1,7	166	1,7	206	2,1	
22	11 DEC	147	1,5	164	1,6	173	1,7	164	1,6	204	2	
23	12 DEC	147	1,5	161	1,6	173	1,7	161	1,6	203	2	
24	13 DEC	159	1,6	173	1,7	183	1,8	166	1,7	209	2,1	
25	14 DEC	159	1,6	178	1,8	182	1,8	163	1,6	210	2,1	
26	15 DEC	155	1,6	180	1,8	186	1,9	165	1,7	213	2,1	
27	16 DEC	158	1,6	181	1,8	184	1,8	165	1,7	202	2	
28	17 DEC	162	1,6	185	1,9	188	1,9	166	1,7	211	2,1	
29	18 DEC	PRELEVEMENT SANGUIN										Transport LONGCHAMP

P : Poids en grammes

V : Volume en millilitres

**ANNEXE V** : Organigramme d'administration et suivi du lot gavé à 1000 mg/kg P.C de « SARENTA »

**ADMINISTRATION DE « SARENTA » 1000 mg/kg AU LOT 3 MALE**

Jour	Identifiant Dose	QV		TDO		TV		TDR		TDV		Observations
		P	V	P	V	P	V	P	V	P	V	
1	26 NOV	156	1,6	159	1,6	164	1,6	174	1,7	181	1,8	
2	27 NOV	154	1,5	150	1,5	161	1,6	174	1,7	177	1,8	
3	28 NOV	152	1,5	141	1,4	153	1,5	173	1,7	172	1,7	Diarrhée(TDO)
4	29 NOV	152	1,5	142	1,4	154	1,5	177	1,8	169	1,7	
5	30 NOV	152	1,5	141	1,4	152	1,5	176	1,8	168	1,7	
6	01 DEC	152	1,5	141	1,4	152	1,5	178	1,8	173	1,7	Selles ramollies (QV)
7	02 DEC	153	1,5	141	1,4	147	1,5	179	1,8	172	1,7	
8	03 DEC	154	1,5	143	1,4	150	1,5	179	1,8	173	1,7	
9	04 DEC	153	1,5	141	1,4	146	1,5	176	1,8	172	1,7	
10	05 DEC	158	1,6	144	1,4	154	1,5	180	1,8	174	1,7	
11	06 DEC	149	1,5	144	1,4	152	1,5	178	1,8	169	1,7	
12	07 DEC	150	1,5	144	1,4	153	1,5	180	1,8	170	1,7	
13	08 DEC	151	1,5	139	1,4	153	1,5	178	1,8	168	1,7	
14	09 DEC	147	1,5	138	1,4	152	1,5	177	1,8	164	1,6	
15	10 DEC	150	1,5	137	1,4	155	1,6	173	1,7	169	1,7	
16	11 DEC	150	1,5	137	1,4	152	1,5	167	1,7	164	1,6	
17	12 DEC	149	1,5	139	1,4	152	1,5	162	1,6	165	1,6	
18	13 DEC	146	1,5	137	1,4	153	1,5	159	1,6	165	1,6	
19	14 DEC	149	1,5	140	1,4	153	1,5	155	1,6	166	1,7	
20	15 DEC	152	1,5	142	1,4	154	1,5	150	1,5	169	1,7	
21	16 DEC	152	1,5	138	1,4	155	1,6	145	1,5	170	1,7	
22	17 DEC	150	1,5	137	1,4	154	1,5	142	1,4	167	1,7	
23	18 DEC	156	1,6	148	1,5	160	1,6	152	1,5	176	1,8	
24	19 DEC	156	1,6	152	1,5	168	1,7	152	1,5	180	1,8	
25	20 DEC	150	1,5	154	1,5	170	1,7	157	1,6	185	1,9	
26	21 DEC	154	1,5	166	1,7	176	1,8	166	1,7	185	1,9	
27	22 DEC	155	1,6	168	1,7	177	1,8	165	1,7	185	1,9	
28	23 DEC	152	1,5	160	1,6	172	1,7	164	1,6	185	1,9	
29	24 DEC	<b>PRELEVEMENT SANGUIN</b>										<b>Transport LONGCHAMP</b>

P : Poids en grammes

V : Volume en millilitres

**ADMINISTRATION DE « SARENTEA » 1000 mg/kg AU LOT 3 FEMELLE**

Identifiant		PARDB		TDQO		TDQV		PARDO		PARGV		Observations
Jour	Dose	P	V	P	V	P	V	P	V	P	V	
1	28 NOV	154	1,5	157	1,6	165	1,6	172	1,7	184	1,8	
2	29 NOV	134	1,3	153	1,5	156	1,6	179	1,8	183	1,8	
3	30 NOV	134	1,3	152	1,5	155	1,6	170	1,7	181	1,8	
4	01 DEC	133	1,3	152	1,5	154	1,5	172	1,7	188	1,9	
5	02 DEC	133	1,3	150	1,5	156	1,6	171	1,7	184	1,8	
6	03 DEC	134	1,3	150	1,5	157	1,6	169	1,7	182	1,8	
7	04 DEC	134	1,3	149	1,5	155	1,6	169	1,7	184	1,8	
8	05 DEC	133	1,3	145	1,5	152	1,5	163	1,6	181	1,8	
9	06 DEC	138	1,4	150	1,5	142	1,4	165	1,7	183	1,8	
10	07 DEC	134	1,3	150	1,5	140	1,4	165	1,7	184	1,8	
11	08 DEC	131	1,3	147	1,5	133	1,3	165	1,7	185	1,9	Mort après manip (PARDB)
12	09 DEC			137	1,4	129	1,3	164	1,6	184	1,8	
13	10 DEC			135	1,4	125	1,3	161	1,6	183	1,8	
14	11 DEC			138	1,4	120	1,2	163	1,6	188	1,9	Tumeur mâchoire (PARDO)
15	12 DEC			130	1,3	113	1,1	156	1,6	186	1,9	
16	13 DEC			128	1,3	106	1,1	158	1,6	189	1,9	
17	14 DEC			129	1,3	106	1,1	156	1,6	183	1,8	
18	15 DEC			128	1,3	100	1	158	1,6	186	1,9	
19	16 DEC			126	1,3	97	1	156	1,6	188	1,9	
20	17 DEC			132	1,3	96	1	159	1,6	190	1,9	
21	18 DEC			132	1,3	92	0,9	152	1,5	185	1,9	
22	19 DEC			144	1,4	103	1	165	1,7	196	2	
23	20 DEC			149	1,5	112	1,1	168	1,7	204	2	
24	21 DEC			156	1,6	114	1,1	170	1,7	206	2,1	
25	22 DEC			161	1,6	128	1,3	172	1,7	210	2,1	
26	23 DEC			169	1,7	133	1,3	174	1,7	209	2,1	
27	24 DEC			163	1,6	114	1,1	158	1,6	205	2,1	
28	25 DEC			172	1,7	104	1	165	1,7	206	2,1	
29	26 DEC	PRELEVEMENT SANGUIN										Transport LONGCHAMP

P : Poids en grammes

V : Volume en millilitres

**ANNEXE VI** : Organigramme d'administration et suivi du lot gavé à 2000 mg/kg P.C de « SARENTA »

**ADMINISTRATION DE « SARENTA » 2000mg/kg AU LOT 4 MALE**

Identifiant Jour	Dose	TDB		DQO		DQR		DB		QB		Observations
		P	V	P	V	P	V	P	V	P	V	
1	01 DEC	158	1,6	158	1,6	164	1,6	172	1,7	184	1,8	
2	02 DEC	164	1,6	166	1,7	152	1,5	161	1,6	172	1,7	
3	03 DEC	158	1,6	163	1,6	153	1,5	160	1,6	169	1,7	
4	04 DEC	150	1,5	158	1,6	153	1,5	159	1,6	166	1,7	Diarrhée(TDB)
5	05 DEC	151	1,5	162	1,6	152	1,5	160	1,6	162	1,6	
6	06 DEC	142	1,4	155	1,6	147	1,5	159	1,6	162	1,6	
7	07 DEC	138	1,4	150	1,5	147	1,5	158	1,6	159	1,6	
8	08 DEC	133	1,3	145	1,5	142	1,4	159	1,6	155	1,6	Diarrhée (DQR)
9	09 DEC	129	1,3	143	1,4	140	1,4	160	1,6	154	1,5	
10	10 DEC	123	1,2	139	1,4	137	1,4	161	1,6	151	1,5	
11	11 DEC	117	1,2	137	1,4	134	1,3	160	1,6	146	1,5	
12	12 DEC	113	1,1	136	1,4	133	1,3	162	1,6	146	1,5	
13	13 DEC	107	1,1	132	1,3	130	1,3	161	1,6	144	1,4	Trouvé mort (TDB)
14	14 DEC			125	1,3	135	1,4	161	1,6	137	1,4	Mort après manip (DQR)
15	15 DEC			131	1,3			165	1,7	125	1,3	Trouvé mort (QB)
16	16 DEC			131	1,3			170	1,7			
17	17 DEC			133	1,3			174	1,7			
18	18 DEC			133	1,3			174	1,7			
19	19 DEC			129	1,3			168	1,7			
20	20 DEC			135	1,4			179	1,8			
21	21 DEC			135	1,4			181	1,8			
22	22 DEC			142	1,4			185	1,9			
23	23 DEC			148	1,5			185	1,9			
24	24 DEC			153	1,5			188	1,9			
25	25 DEC			156	1,6			187	1,9			
26	26 DEC			164	1,6			189	1,9			
27	27 DEC			160	1,6			193	1,9			
28	28 DEC			155	1,6			179	1,8			
29	29 DEC	PRELEVEMENT SANGUIN										Transport LONGCHAMP

P : Poids en grammes

V : Volume en millilitres



ADMINISTRATION DE « SARENTA » 2000 mg/kg AU LOT 4 FEMELLE

Identifiant		PAVDB		PAVDR		PAVGO		PARGB		PAVDO		Observations
Jour	Dose	P	V	P	V	P	V	P	V	P	V	
1	02 DEC	156	1,6	157	1,6	168	1,7	168	1,7	186	1,9	
2	03 DEC	155	1,6	163	1,6	170	1,7	164	1,6	164	1,6	Diarrhée(PAVDO)
3	04 DEC	123	1,2	159	1,6	165	1,7	163	1,6	169	1,7	
4	05 DEC	122	1,2	158	1,6	167	1,7	167	1,7	161	1,6	
5	06 DEC	120	1,2	160	1,6	162	1,6	166	1,7	152	1,5	
6	07 DEC	125	1,3	148	1,5	163	1,6	166	1,7	146	1,5	
7	08 DEC	125	1,3	142	1,4	160	1,6	162	1,6	143	1,4	
8	09 DEC	128	1,3	136	1,4	160	1,6	161	1,6	139	1,4	Diarrhée (PAVDR)
9	10 DEC	129	1,3	130	1,3	161	1,6	154	1,6	134	1,3	
10	11 DEC	127	1,3	127	1,3	162	1,6	150	1,5	128	1,3	
11	12 DEC	134	1,3			155	1,6	149	1,5	132	1,3	
12	13 DEC	134	1,3			149	1,5	146	1,5	126	1,3	
13	14 DEC	135	1,4			146	1,5	141	1,4	124	1,2	
14	15 DEC	137	1,4			145	1,5	138	1,4	118	1,2	
15	16 DEC	138	1,4			145	1,5	132	1,3	117	1,2	
16	17 DEC	135	1,4			138	1,4	130	1,3	115	1,2	
17	18 DEC	135	1,4			130	1,3	127	1,3	117	1,2	
18	19 DEC	136	1,4			129	1,3	125	1,3	117	1,2	
19	20 DEC	142	1,4			127	1,3	126	1,3	123	1,2	
20	21 DEC	137	1,4			124	1,2	126	1,3	118	1,2	
21	22 DEC	146	1,5			129	1,3	138	1,4	131	1,3	
22	23 DEC	138	1,4			136	1,4	148	1,5	134	1,3	
23	24 DEC	141	1,4			139	1,4	148	1,5	137	1,4	
24	25 DEC	133	1,3			150	1,5	153	1,5	143	1,4	
25	26 DEC	135	1,4			150	1,5	160	1,6	148	1,5	
26	27 DEC	139	1,4			152	1,5	163	1,6	143	1,4	
27	28 DEC	140	1,4			159	1,6	160	1,6	144	1,4	
28	29 DEC	144	1,4			147	1,5	156	1,6	134	1,3	
29	30 DEC	PRELEVEMENT SANGUIN										Transport LONGCHAMP

P : Poids en grammes

V : Volume en millilitres

## **ANNEXE VII** : Rapport d'analyse phytochimique



Destinataire :

Abidjan le 12/09/2015

N° Echantillon : SARENTA

### **RAPPORT D'ANALYSE PHYTOCHIMIQUE**

#### **DOSAGE DES POLYPHENOL TOTAUX**

Nature du prélèvement:

EXTRAIT DE PLANTE (SARENTA)

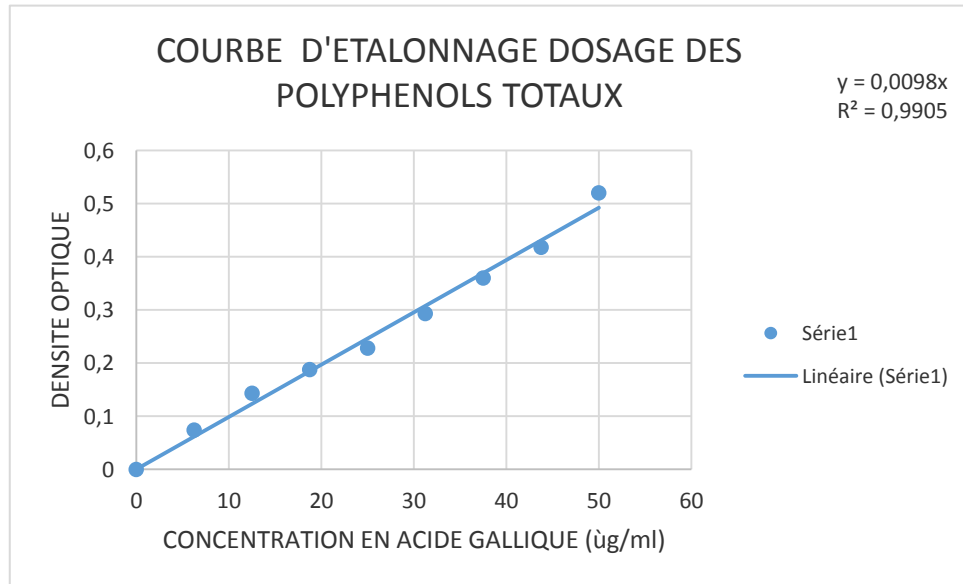
Date et heure d'analyse:

07 septembre 2015

Nombre d'échantillons

1 (SARENTA)

<b>CONCENTRATION EN <math>\mu\text{g/ml}</math> D'ACIDE GALLIQUE</b>	<b>DENSITES OPTIQUES</b>
0	0
6.25	0.074
12.5	0.143
18.75	0.188
25	0.228
31.25	0.293
37.5	0.360
43.75	0.418
50	0.522

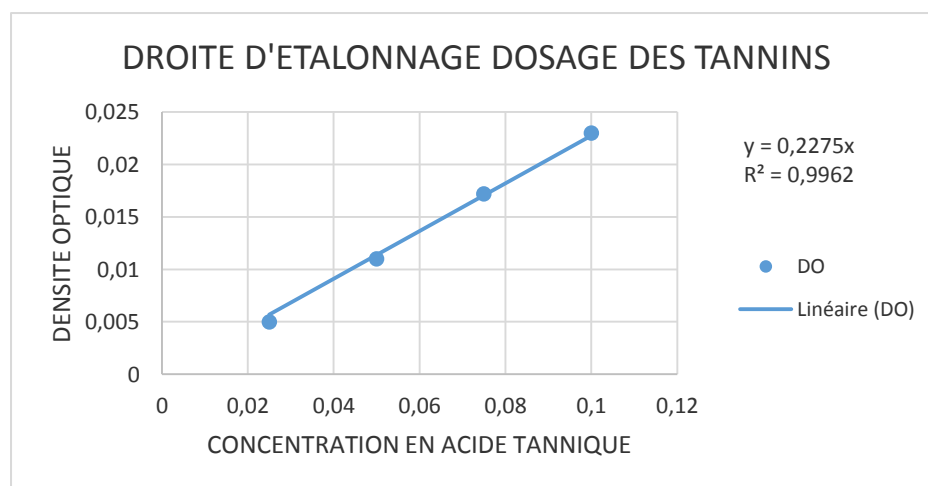


	<b>SARENTA</b>		
ESSAIS	1	2	3
DENSITE OPTIQUE	<b>0.313</b>	<b>0.312</b>	<b>0.313</b>
DILUTIONS	1/100	1/100	1/100
<b>CONCENTRATION en polyphénol totaux (µg/ml)</b>	<b>3193.87</b>	<b>3183.67</b>	<b>3193.87</b>



**DOSAGE DES TANNINS (SARENTA)**

<b>CONC acide tannique</b>	<b>0.025</b>	<b>0.05</b>	<b>0.075</b>	<b>0.1</b>
<b>DENSITE OPTIQUE</b>	<b>0.005</b>	<b>0.011</b>	<b>0.0172</b>	<b>0.023</b>



	<b>SARENTA</b>		
ESSAIS	1	2	3
DENSITE OPTIQUE	<b>0.053</b>	<b>0.054</b>	<b>0.053</b>
DILUTIONS	1/10	1/10	1/10
CONCENTRATION en tannin (µg/ml)	<b>23.29</b>	<b>23.73</b>	<b>23.29</b>



### DETERMINATION DU TAUX DE CENDRE TOTALES (SARENTA)

ECHANTILLONS	MO (creuser vide)	M1 (après séchage à 105°C)	M2 (après séchage à 550°C)	Matière sèche	Cendre
SARENTA	100.617	100.948	101.358	6620 mg/l	44,66%

### DETERMINATION DU TAUX DE CENDRES INSOLUBLES (SARENTA)

ECHANTILLON	PMO (avant) en g	PM1 (après) en g	Masse Ech (en g)	Pourcentage
SARENTA	98.387	98.4044	0.051	34.11 %

SCREENING PHYTOCHIMIQUE

ECHANTILLON		SARENTA
FLAVONOIDE		+
	ISOFLAVONE	-
	FLAVONE	+
ALCALOIDES		+
HETEROSIDES CARDIOTONIQUE		+
DERIVE COUMARINIQUES		-
TANNIN		+

## **ANNEXE VIII** : Rapport de mesure du pouvoir réducteur

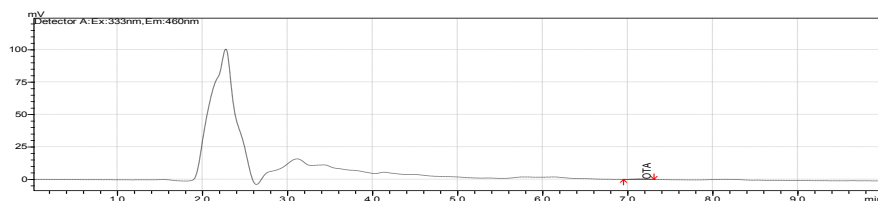


### MESURE DU POUVOIR REDUCTEURS (SARENTA)

<b>abs</b>	<b>blanc</b>	vit c C1	vit c C2	vit c C3	vit c C4	vit c C5	vit C6
<b>désignation</b>	0	0.615	0.327	0.211	0.178	0.140	0.123
<b>[conc] mg/ml</b>	<b>0</b>	<b>0.1</b>	<b>0.05</b>	<b>0.025</b>	<b>0.0125</b>	<b>0.00625</b>	<b>0.00315</b>
	<b>blanc</b>	<b>SARENTA</b>	<b>SARENTA</b>	<b>SARENTA</b>	<b>SARENTA</b>	<b>SARENTA</b>	<b>SARENTA</b>
<b>abs</b>	<b>0</b>	0.553	0.417	0.404	0.318	0.241	0.118
<b>[conc]</b>	<b>0</b>	<b>1/1</b>	<b>1/2</b>	<b>1/4</b>	<b>1/8</b>	<b>1/16</b>	<b>1/32</b>

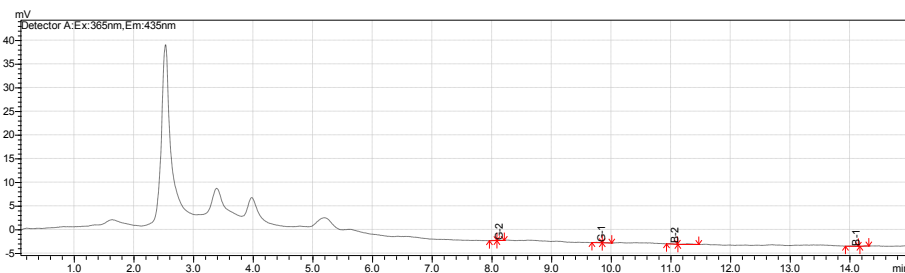
## ANNEXE IX : Rapport d'analyse des mycotoxines

### RESULTATS D'ANALYSE DE L'OCHRATOXINE A (OTA)



Temps de rétention (min)	Nom du composé	Concentration (µg/l)	Limite de détection (µg/l)	Limite de quantification (µg/l)	Limite Maximale Codex alimentarius (µg/l)
6,893	<b>Ochratoxine A</b>	<b>0,38</b>	<b>0,05</b>	<b>0,2</b>	

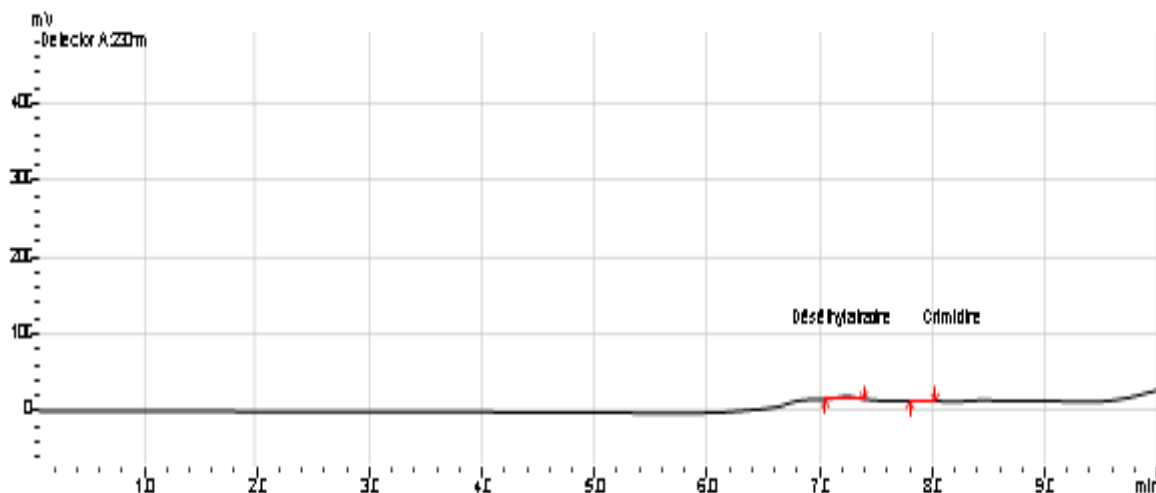
### RESULTATS D'ANALYSE DES AFLATOXINES B1, B2, G1 ET G2



Ret. Time	Compound Name	Concentration (µg/l)	Limite de détection (µg/l)	Limite de quantification (µg/l)	Limite Maximale [Somme des aflatoxines] Codex alimentarius (µg/l)
7,888	Aflatoxine G-2	< LQ	0,00564	0,01878	
9,778	Aflatoxine G-1	< LQ	0,00151	0,0050	
11,052	Aflatoxine B-2	< LQ	0,00136	0,0045	
13,909	Aflatoxine B-1	< LQ.	0,00143	0,0047	



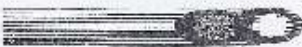
## **ANNEXE X** :Rapport d'analyse des pesticides



**Tableau** : Classes de pesticides recherchées non retrouvées au sein du remède

Classes de pesticides	Concentration	Limite de détection	Limite de quantification
<b>ORGANOCHLORES</b>	ND	<b>0,004</b>	<b>0,01</b>
<b>ORGANOPHOSPHORES</b>	ND	<b>0,004</b>	<b>0,01</b>
<b>PYRETHRINOIDES</b>	ND	<b>0,002</b>	<b>0,006</b>

**ANNEXE XI** : Rapports d'analyse des métaux lourds


  
**MINISTRE DE L'AGRICULTURE**
**REPUBLIQUE MALGACHE**  
Union - Équité - Travail
  
**LABORATOIRE NATIONAL D'ANALYSE DES PRODUITS PHARMACEUTIQUES**

RESULTATS D'ANALYSE						
Fer						
n° ech	lecture	masse	blanc	Dilution	resultat µg/L	resultat mg/L
1	82,6775	0,4228	71,4086		704,306	0,704
2	76,9383	0,4086	71,4086		345,609	0,348
3	83,2828	0,4207	71,4086		742,137	0,742
Cd						
n° ech	lecture	masse	blanc	Dilution	resultat µg/L	resultat mg/L
1	0	0,4228	0			ND
2	0	0,4086	0			ND
3	0	0,4207	0			ND
LIMITE DE DETECTION (µg/L) = 0,030						
LIMITE DE QUANTIFICATION (µg/L) = 0,370						
Pb						
n° ech	lecture	masse	blanc	Dilution	resultat µg/L	resultat mg/L
1	5,978	0,4228	1,6644		289,600	0,270
2	6,9801	0,4086	1,6644		332,856	0,353
3	2,8798	0,4207	1,6644		75,803	0,076
LIMITE DE DETECTION (µg/L) = 0,163						
LIMITE DE QUANTIFICATION (µg/L) = 0,232						
Cu						
n° ech	lecture	masse	blanc	Dilution	resultat µg/L	resultat mg/L
1	46,2588	0,4228	34,18		7548	7,548
2	14,861	0,4086	34,18		-12011,875	ND
3	35,0819	0,4207	34,18		583,687	0,584
Ni						
n° ech	lecture	masse	blanc	Dilution	resultat mg/kg	resultat mg/L
1	1,266	0,4228	0,553		44,583	0,045
2	1,048	0,4086	0,553		30,938	0,031
3	1,853	0,4207	0,553		81,250	0,081
Zn						
n° ech	lecture	masse	blanc	Dilution	resultat µg/L	resultat mg/L
1	1,1056	0,4228	1,0324		4,575	0,005
2	0,9588	0,4086	1,0324		-4,800	ND
3	0,9457	0,4207	1,0324		-5,419	ND
Hg						
n° ech	lecture	masse	blanc	Dilution	resultat µg/L	resultat mg/L
1	7,779	0,4228	11,859		-255	ND
2	8,007	0,4086	11,859		-240,75	ND
3	7,788	0,4207	11,859		-254,4375	ND
LIMITE DE DETECTION (µg/L) = 0,349						
LIMITE DE QUANTIFICATION (µg/L) = 0,927						

Date de signature: 12 FEV. 2018  
 Le Chef du Laboratoire:  
  
 F. KE ASSI Yolande  
 Pharmacien - Chercheur  
 LABORDA

Laboratoire National d'Analyse des Produits Pharmaceutiques  
 10, Avenue de l'Indépendance, Antananarivo 101  
 Téléphone: 020 22 33 33 - 020 22 33 34 - 020 22 33 35 - 020 22 33 36 - 020 22 33 37 - 020 22 33 38 - 020 22 33 39 - 020 22 33 40  
 Fax: 020 22 33 41 - 020 22 33 42 - 020 22 33 43 - 020 22 33 44 - 020 22 33 45 - 020 22 33 46 - 020 22 33 47 - 020 22 33 48 - 020 22 33 49 - 020 22 33 50  
 E-mail: labnpp@madagascar.gov.mg

## RESUME

### **INTRODUCTION**

« SARENTA » est un remède traditionnel à base de plantes commercialisé depuis 20 ans et très utilisé par la population. Cependant, il n'existe que peu de données scientifiques pouvant garantir sa fiabilité au consommateur.

### **OBJECTIFS**

L'objectif général de notre étude a été d'étudier l'activité analgésique morphinique, antioxydante, antiinflammatoire et la qualité du remède « SARENTA ».

Spécifiquement, nos travaux ont d'abord évalué son efficacité en tant qu'analgésique morphinique, antioxydant et antiinflammatoire dans un modèle d'inflammation subaiguë.

Ensuite, la qualité a été appréciée par la recherche de mycotoxines, de pesticides, de métaux lourds et l'analyse chimique.

Enfin, l'innocuité a aussi été appréciée par la détermination de sa toxicité subaiguë.

### **METHODES**

L'évaluation de l'effet analgésique morphinique et de l'action antiinflammatoire en modèle subaiguë s'est faite respectivement par le test du TAIL FLICK et la méthode du granulome induit par les boulettes de coton. La mesure du pouvoir réducteur a permis de caractériser l'activité antioxydante. La chromatographie et la spectrophotométrie d'absorption atomique ont permis de rechercher les mycotoxines, pesticides et métaux lourds. L'analyse chimique a consisté à réaliser un screening phytochimique, un dosage des polyphénols et tannins et une détermination du taux de cendres. La toxicité subaiguë a été déterminée par le dosage des transaminases et la mesure du poids corporel des rats.

### **RESULTATS**

Au niveau de l'efficacité, à la dose de 50mg/kg de pc, « SARENTA » a montré un effet protecteur comparable à celui de la morphine à 10mg/kg de pc contre la douleur induite par le test du TAIL FLICK chez la souris. On note la présence de polyphénols à 3190,47 µg /ml et de tannins à 23,44 µg /ml, entrant en faveur d'une action antioxydante dose dépendante. En revanche, Il n'existe pas d'action antiinflammatoire dans un modèle subaiguë à 100 et 200 mg/kg de pc. Au niveau de la qualité, les analyses ont retrouvé de l'Ochratoxine A, du Plomb et quelques pesticides dans le remède. De plus, un taux élevé de cendres insolubles a été constaté attestant une souillure possible de la préparation. Des oligoéléments à l'instar du fer et du cuivre sont présents à de faibles valeurs nutritionnelles. Au niveau de l'innocuité, aucun changement n'a été observé au niveau de l'activité des transaminases. Cependant, une perte de poids a été observée à de fortes doses (1000 et 2000 mg/kg de pc).

### **CONCLUSION**

Le remède « SARENTA » a montré des vertus analgésiques morphiniques et antioxydantes. Il n'aurait pas d'action antiinflammatoire en modèle subaiguë à la dose de 100 et 200mg/kg de pc. Il possède également une richesse en polyphénols et des oligoéléments dans sa composition. Vu la perte de poids à partir de 1000 mg/kg de pc, la dose maximale sans effet nocif observé du remède se situerait ainsi en dessous de cette valeur.

Toutefois, il conviendrait de s'assurer du respect des bonnes pratiques de fabrication étant donné que le remède a présenté des défauts de qualité.

**MOTS CLES** : Remède traditionnel de santé, efficacité, innocuité, qualité, analyses phytochimiques, analgésique morphinique, antiinflammatoire subaiguë, activité antioxydante.