

MINISTÈRE DES ENSEIGNEMENTS
SECONDAIRE SUPÉRIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOI

UNIVERSITÉ DU MALI

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

ANNÉE 2001

EXTRACTION DE LA QUERCÉTINE
A PARTIR DES FEUILLES DE
SCLEROCARYA BIRREA (A.RICH.) HOCHST
(ANACARDIACEAE)

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 21 Mars 2001
devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomalogie

par M^{lle} **IGNEGONGBA Layébé Caroline**

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie
(Diplôme d'Etat)

JURY

Président : Professeur Ousmane DOUMBIA

Membres : Docteur Drissa DIALLO
Docteur Ene Augustin ARAMA
Docteur Sergio GIANI

Directeur : Feu Professeur Arouna KEITA

**FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO
STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2000-2001**

ADMINISTRATION

DOYEN : MOUSSA TRAORE - PROFESSEUR

1^{er} ASSESSEUR : AROUNA KEITA - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

**2^{ème} ASSESSEUR : ALHOUSSEYNI AG MOHAMED - MAITRE DE
CONFERENCES AGREGE**

**SECRETAIRE PRINCIPAL : YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - MAITRE
DE CONFERENCES**

**AGENT COMPTABLE : YEHIYA HIMINE MAIGA - CONTROLEUR DE
TRESOR**

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologic. Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phthisiologie
Mr YAYA FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	Pédiatrie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R & PAR GRADE

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Me Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie-traumatologie, Chef de D.E.R
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Amadou DOLO	Gynéco-obstétrique
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE DIT DIOP	Chirurgie Générale
Mr Alhousséini Ag MOHAMED	O.R.L. Chef de D.E.R
Mr. Abdou Laye K. DIALLO	Anesthésie Réanimation
Mr. Gangaly DIALLO	Chirurgie viscérale

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aissata SOW	Gynéco Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco Obstétrique

4. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Abdou Laye DIALLO	Ophtalmologie
Mme DIALLO Fatimata.S.DIABATE	Gynéco Obstétrique
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie. Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Réanimation
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco Obstétrique
Mr filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophtalmologie
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Zimopo Zie SANOGO	Chirurgie Générale
Mr Adama SANGARE	Orthopédie Traumatologie
Mr Yousouf COULIBALY	Anesthésie Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO	O R L
Mme KONIPO Fanta TOGOLA	O R L
Mr Sanoussi BAMANI	Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophtalmologie
Mr Issa DIARRA	Gynéco Obstétrique
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie-Traumatologie
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale

D.E.R DES SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Bréhima KOUMARE	Bactériologie-Virologie
Mr Siné BAYO	Anatomic-Pathologie Histoembryologie
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique
Mr Yéya T. TOURE	Biologie
Mr Amadou DIALLO	Biologie, Chef de D.E.R.
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Mamadou KONE	Physiologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie
Mr Amadou TOURE	Histoembryologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Yénimégué A. DEMBELE	Chimie Organique
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mamadou CISSE	Biologie
Mr Sekou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr N'yenigue Simon KOITA	Chimie organique
Mr Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie
Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Amagana DOLO	Parasitologie
Mr Kaourou DOUCOURE	Physiologie

5. ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Mahamadou A. THERA	Parasitologie

D. E. R DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie, Chef de D.E.R
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mr Bah KEITA	Pneumo-Physiologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Leprologie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-Entérologie

3. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-Entérologie
Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Diankinè KAYENTAO	Pneumologie
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Mamadou B. CISSE	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie

4. ASSISTANT

Mr Cheick Oumar GUINDO	Neurologie
------------------------	------------

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Bakary I SACKO	Biochimie
Mr Sidiki DIABATE	Bibliographie
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souléymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Nyamanto DIARRA	Mathématiques
Mr Mamadou Bocary DIARRA	Cardiologie
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr A.E. YAPO	BIOCHIMIE
Pr M.L. SOW	MED. LEGALE
Pr D. BA	BROMATOLOGIE
Pr M. BADIANE	PHARMACIE CHIMIQUE
Pr B. FAYE	PHARMACODYNAMIE
Pr Eric PICHARD	PATHOLOGIE INFECTIEUSE
Dr G. FARNARIER	PHYSIOLOGIE

A NOTRE DIRECTEUR DE THESE
LE PROFESSEUR AROUNA KEITA

« REPOSEZ EN PAIX »

AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE *MAITRE ET PRESIDENT DU JURY*

PROFESSEUR OUSMANE DOUMBIA

*Maître de Conférence Agrégé de Chimie Thérapeutique
Directeur Général du Laboratoire National de la Santé
Chargé de cours de Chimie Thérapeutique à la FMPOS*

Votre présence en tant que Président de ce jury, malgré vos multiples préoccupations nous honore.

Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude.

A NOTRE *MAITRE ET JUGE*

DOCTEUR SERGIO GIANNI

Responsable des Programmes Sanitaires et de Valorisation des Ressources de la Médecine Traditionnelle du bureau de coordination de Terra Nuova pour l'Afrique de l'Ouest.

Pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail, veuillez trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour l'honneur que vous nous faites en siégeant dans ce jury.

A NOTRE *MAITRE ET JUGE*

DOCTEUR ENE AUGUSTIN ARAMA

*Docteur en technologie Pharmaceutique et biopharmaceutique
Inspecteur de la sante et de l'action sociale*

Merci pour votre soutien.

Veuillez trouver ici l'expression de notre profond respect et de nos sincères remerciements.

A NOTRE *MAITRE ET CO-DIRECTEUR DE THESE*

DOCTEUR DRISSA DIALLO

*Maître assistant de Matière Médicale
Chef du Département de Médecine traditionnelle à l'I.N.R.S.P.
Chef du service de Botanique du Département de médecine Traditionnelle (DMT)
Chargé d cours de Pharmacognosie à la FMPOS*

Veuillez accepter ici, l'expression de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect en acceptant de siéger dans ce jury.

DEDICACES

A mes parents

Keumaye et Madeleine

« Toute ma profonde reconnaissance pour m'avoir toujours guidée toutes ces années. Vous êtes mes deux vieux amours !. »

A mes frères et sœurs

Voury, Faustine ,Frédéric et Laetitia

Salama, Bala, Lassina et Daffa

« Merci à tous pour vos milles encouragements, mais maintenant vous me devez encore plus de respect!

Je vous adore et vous adorerai toujours! »

A mes tuteurs

Mamadou KONATE et sa famille

« Vous avez été aussi mes parents ; du fond du cœur, je n'ai que deux mots à vous dire : sincères remerciements.

Mais Dieu vous dira beaucoup plus de ma part. »

A toute ma famille entière

A tous mes amis et amies.

MENTION SPECIALE

A Dr Rokia SANOGO,

A Kathy Irène KANYANA,

A Samy KHALIL,

A Mama FOMBA,

A Mama BAKAYOKO,

« sans vous ce travail n'aurait pas pris cette forme, merci d'avoir été là durant tous ces moments. »

REMERCIEMENTS

A ma promotion :

Merci pour les moments de folies et les éclairs d'intelligence qui nous ont animés durant ces quelques années.

A tout le personnel de la DMT, en particulier Fagnan SANOGO :

Merci pour ton soutien.

A la famille ZEFACK : Germain, Irène et leur fils Axel

Bisous...

A la famille MABWURE

Je vous adore !

A Rokia KONE

Bisous...

A tous mes amies et amis de quels horizons ils soient :

Merci et bonne chance dans la vie.

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail ou s'en sont souciés :

Mes sincères remerciements.

Au CNF pour les informations récoltées dans la Banque de données.

Aux autres thésards de la DMT

Assétou COULIBALY

Bakary TRAORE

Diabé BATHILY

Mama FOMBA

Mama BAKAYOKO

Mariam Bocoum LANDOURE

et à ceux du LNS,

Merci du fond du cœur pour ces moments passés ensemble.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	16
MOTIVATIONS DE LA RECHERCHE	18
OBJECTIFS.....	20
I. OBJECTIF GÉNÉRAL.....	21
II.OBJECTIFS SPÉCIFIQUES	21
MÉTHODOLOGIE	22
GÉNÉRALITÉS.....	24
LA QUERCETINE	25
I. SYNONYMES	26
II. CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES.....	26
III. ACTION PHYSIOLOGIQUE	27
IV. TOXICITÉ	30
V. EMPLOIS	31
VI. ABSORPTION, DISTRIBUTION, MÉTABOLISME, EXCRÉTION.....	32
VII. CERTAINES ESPÈCES VÉGÉTALES COMME SOURCE DE QUERCÉTINE.....	34
<i>SCLEROCARYA BIRREA</i> (A. RICH.). HOCHST (ANACARDIACEAE) ...	35
I. SYNONYMES	35
II. NOMS.....	35
III. HABITAT	35
IV. DESCRIPTION DE LA PLANTE.....	36
V. CARACTÉRISTIQUES DE LA DROGUE	39
A. <i>Caractères organoleptiques</i>	39
B. <i>Caractères macroscopiques</i>	39
C. <i>Caractères microscopiques</i>	39
VI. DONNÉES PHYTOCHIMIQUES :	40
VII. DONNÉES PHARMACOLOGIQUES :.....	41
VIII.UTILISATIONS EN MÉDECINE TRADITIONNELLE.....	42
ETUDES EXPERIMENTALES.....	44
MATÉRIEL ET MÉTHODES	45
I. MATÉRIEL VÉGÉTAL	45
II. MÉTHODES	46
A. <i>Essais chimiques préliminaires</i>	46
B. <i>Dosages des substances polypénoliques</i>	48
C. <i>Etude des flavonoides de Sclerocarya birrea</i>	52

RESULTATS	63
I. ESSAIS CHIMIQUES PRÉLIMINAIRES	64
A. <i>Flavonoïdes</i>	64
B. <i>Tanins</i>	64
II. DOSAGES DES SUBSTANCES POLYPÉNOLIQUES.....	64
A. <i>Flavonoïdes</i>	64
B. <i>Tanins</i>	64
III. FRACTIONNEMENT PAR EXTRACTION LIQUIDE - LIQUIDE.....	64
IV. CHROMATOGRAPHIES	65
A. <i>Chromatographie sur colonne</i>	65
B. <i>Chromatographie sur couche mince</i>	66
V. SPECTROPHOTOMÉTRIE UV	75
VI. SPECTROPHOTOMÉTRIE IR	84
COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS.....	87
CONCLUSION.....	90
BIBLIOGRAPHIE.....	92
ANNEXE	101

Liste des abréviations

DMT	Département Médecine Traditionnelle
MT	Médecine Traditionnelle
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
UV	Ultraviolet
IR	Infrarouge
Rf	Facteur de rétention
nm	nanomètre
ml	millilitre
μl	microlitre
%	Pourcentage
°C	degré Celsius
v	volume
BAW	Butanol - Acide Acétique - Water
KBr	Bromure de potassium
AlCl ₃	Chlorure d'aluminium
CHCl ₃	Chloroforme
EtOH	Ethanol
H ₂ O	Eau
HCl	Acide chlorhydrique
H ₃ BO ₃	Acide borique
MeOH	Méthanol
NaOAc	Acétate de sodium
NaOH	Soude

PEG/NTS

Poly Ethylène Glycol/ Naturstoffe Reagent

INTRODUCTION

Depuis bientôt trois décennies, les états africains ont décidé d'accorder une attention particulière à la Médecine Traditionnelle (MT) et aux plantes médicinales. Ce regain d'intérêt pour la MT trouve son explication dans le fait qu'au lendemain des indépendances, la couverture sanitaire en Afrique s'est avérée après quelques années, d'une insuffisance notoire, malgré les efforts déployés par les gouvernements pour assurer un état de santé décent aux populations. Devant ce constat alarmant, certains chercheurs africains, ont pensé que l'utilisation de la pharmacopée traditionnelle pourrait résoudre en partie, le problème du coût élevé des spécialités.

La flore africaine réputée pour sa richesse comprend des milliers d'espèces végétales, et certaines bien étudiées scientifiquement, peuvent donner naissance à des médicaments utilisables dans les soins de santé primaires selon les recommandations de l'O.M.S. [63]

Il n'est d'ailleurs pas superflu de rappeler que les plantes médicinales africaines ont fourni des molécules intéressantes à la médecine moderne [21]. Par exemple, dans le secteur bio-pharmaceutique, l'isolement des agents bio-actifs des plantes demeure un domaine de recherche intéressant encore loin d'être épuisé avec de fortes chances de déboucher sur la découverte de nouveaux composés actifs [21].

En effet, il existe beaucoup de préparations pharmaceutiques qui font appel à des plantes africaines ou à des composés qui en sont issus.

La connaissance des constituants chimiques des plantes facilite l'étude de leur activité biologique et aussi un meilleur contrôle de qualité en vue d'une meilleure formulation de la préparation pharmaceutique.

C'est dans ce cadre que notre étude porte sur les feuilles de *Sclerocarya birrea* utilisées pour la production d'un Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) antidiabétique du Département Médecine Traditionnel (DMT).

Ce travail concerne l'extraction de la quercétine à partir des feuilles de *Sclerocarya birrea* d'une part par un contrôle de qualité de la drogue et, d'autre part, pour utiliser ces feuilles comme source de quercétine.

La première partie concerne les généralités sur la quercétine et sur *Sclerocarya birrea*.

Dans la seconde partie, nous reportons les résultats de nos travaux personnels sur l'extraction de la quercétine à partir des feuilles de *Sclerocarya birrea*.

MOTIVATIONS DE LA RECHERCHE

La prévalence du diabète sucré reste très élevée en Afrique (>4%). La forme non insulino-dépendante représente plus de 70% de l'ensemble. Les complications sont nombreuses, précoces, invalidantes et la mortalité élevée [75].

La prise en charge d'un diabétique est très onéreuse et n'est donc pas toujours à la portée de la majeure partie de la population africaine.

Les antidiabétiques oraux entraînent la normalisation de la glycémie seulement dans moins de 50% des cas. Ils n'ont pas d'effets régressifs sur les lésions installées et sont contre-indiqués dans les insuffisances rénales et hépatocellulaires de même que pendant la grossesse. Leurs effets secondaires ne sont pas négligeables [75].

Leur coût, par ailleurs, n'est pas toujours accessible à la majeure partie de la population. Il est donc indispensable de trouver de nouveaux antidiabétiques d'origine végétale moins coûteux, qui pourraient avoir des effets bénéfiques sur le rétablissement de certaines lésions installées et aussi de minimiser certains effets secondaires des médicaments modernes.

C'est dans une telle optique que se situe cette recherche sur les feuilles de *Sclerocarya birrea* utilisées comme antidiabétique, et sur certains de ses principes actifs comme la quercétine, qui possède ainsi que d'autres substances polyphénoliques présentes dans les feuilles, des activités biologiques intéressantes dans le traitement du diabète.

Pour une meilleure formulation du médicament, il est indispensable de procéder à un meilleur contrôle de qualité (chimique et biologique) du Diabétisane à travers la détermination de son titre en quercétine.

En outre, les feuilles de *Sclerocarya birrea*, aussi bien que d'autres plantes maliennes peuvent être utilisées comme source de quercétine pure utile pour l'industrie pharmaceutique mais aussi comme substance témoin dans le domaine de la recherche scientifique sur les plantes à flavonoïdes.

OBJECTIFS

I. OBJECTIF GENERAL

Procéder au contrôle de qualité des feuilles de *Sclerocarya birrea* utilisées comme MTA au Département de Médecine Traditionnelle.

II. OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Identifier une procédure d'extraction des substances polyphénoliques à partir des feuilles de *Sclerocarya birrea*.
- Doser les flavonoïdes et les tanins dans les feuilles de *Sclerocarya birrea*.
- Isoler et doser la quercétine pure à partir des extraits de feuilles de *Sclerocarya birrea*.

METHODOLOGIE

Nous avons travaillé selon la méthodologie suivante :

Dans un premier temps, la revue de la littérature scientifique nous a d'abord permis de recenser les généralités sur la quercétine et sur les données botaniques, chimiques, pharmacologiques et les utilisations en MT de *Sclerocarya birrea*.

Nos études expérimentales nous ont permis, après extraction des constituants de la poudre de drogue des feuilles par des solvants appropriés :

- de contrôler la qualité par chromatographie sur couche mince (CCM) des différentes fractions ;
- de procéder à un fractionnement par chromatographie sur colonne ;
- d'isoler la quercétine à partir de certaines fractions obtenues des extraits de départ ;
- de confirmer l'identité de la quercétine par la CCM et par les spectrophotométries UV et IR.

GENERALITES

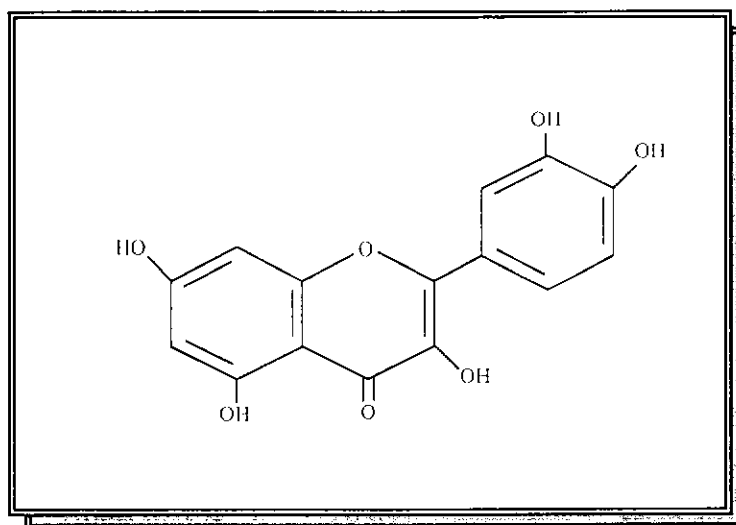
LA QUERCÉTINE

Pigment naturel au même titre que la chlorophylle et les caroténoïdes, la quercétine est un flavonoïde (de la sous-classe des flavonols) très abondamment rencontré dans la nature.

Ce polyphénol présent dans notre régime alimentaire sous forme d'aglycone et de sucres conjugués, pourrait, comme les autres flavonoïdes, jouer un rôle important dans la prévention de diverses pathologies.

Dans le domaine de la recherche, la quercétine est utilisée comme produit de référence pour les dosages de flavonoïdes.

- **Formule générale brute :** $C_{15} H_{10} O_7$
- **Poids moléculaire :** 302,24
- **Formule développée :**



3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone
ou
3',4',5,7 tétrahydroxyflavonol

I. SYNONYMES

Méletine,
Sophoretine,
Cyanidenolon 1522 [45].

II. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

La forme dihydratée présente sous forme de cristaux jaunes est obtenue à partir de l'alcool dilué. Elle devient anhydre à 95-97°C et se décompose à une température d'environ 314 °C.

Point de fusion : 313 –314 °C.

Solubilité : elle est soluble dans l'acide acétique glacial et dans une solution aqueuse alcaline (éthanol) de couleur jaune, mais est pratiquement insoluble dans l'eau. Les solutions alcooliques ont un goût très amer.

La dissolution est obtenue avec 1g pour 290 ml d'alcool absolu ou pour 23 ml d'alcool bouillant.

Les longueurs d'ondes (UV max.) dans le méthanol sont de 258 nm et 375 nm [45].

III. ACTION PHYSIOLOGIQUE

De nombreux mécanismes ont été suggérés pour expliquer l'activité antioxydante [1,9,18,51,79] et anticancérogène de la quercétine [5].

RICE-EVANS et PACKER [69] publient une revue approfondie sur les activités physiologiques de la quercétine, à savoir les effets sur les maladies cardiovasculaires, le cancer et le système immunitaire.

Mais la quercétine possède d'autres activités qui sont :

◆ L'activité anti-inflammatoire [15,20,24]

La quercétine inhibe la sécrétion cellulaire de l'histamine, mais également la fonction neutrophile telle que la libération des enzymes lysosomiales, la consommation d'oxygène, la génération des radicaux libres. La quercétine et les flavonoïdes offrent comme avantage une plus grande marge de sécurité que les anti-inflammatoires classiques, du fait de leur manque d'effets ulcéreux. Les activités anti-spasmodique et anti-inflammatoire de *Achyrocline satureioides* sont attribuées à la quercétine.

◆ L'activité anti-hépatotoxique [65]

La quercétine ainsi que d'autres flavonoïdes obtenus de *Baccharis trimera* ont une action anti-hépatotoxique.

◆ Les effets sur le système vasculaire central

Les flavonoïdes obtenus à partir des feuilles de *Diospyros kaki* inhibent l'activité de l'enzyme de conversion : l'angiotensine et peuvent être utilisés comme anti-hypertenseurs.

La quercétine et d'autres flavonoïdes entraînent une réduction marquée du cholestérol, des triglycérides et des béta-lipoprotéines ; et produisent ainsi un effet anti-athéromateux net [39,68].

Selon certains auteurs, la quercétine inhiberait l'agrégation plaquettaire [59,78].

De plus, on peut noter les effets inhibiteurs sur les systèmes cyclooxygénase et lipoxygénase (quercétine et rutine), l'action cardiotonique sur le système cardiaque du crapaud (quercétine et apigénine) cela par inhibition de la phosphodiésterase AMPc cardiaque [65].

◆ **L'activité anti-tumorale [65]**

La quercétine possède également une action inhibitrice sur la génération et la fonction alloantigène spécifique cytotoxique des lymphocytes T.

◆ **L'activité anti-microbienne et anti-virale [65]**

On note une inhibition de la fixation nitrogène, de la respiration et de la croissance de *Azotobacter vinelandii*.

Les flavonols quercétine et kaempférol et leurs glycosides (rutine et isoquercitrine) ont une forte activité anti-fongique.

La quercétine et la morine préviennent les encéphalites létales induites par les cardiavirus chez la souris.

La quercétine, la dihydroquercétine et la procyanidine sont virustatiques pour virus *Herpes simplex* type 1, virus *Polio*, virus *Mengo*.

La quercétine et la quercitrine ont un effet anti-viral important contre le virus *Pseudorabis*.

L'administration en dose unique (100mg/kg) chez les souris de quercétine, quercitrine et amentoflavone provoque l'induction des interférons dans le sérum (ce qui expliquerait peut être le mécanisme de leur activité anti-virale).

Les effets de la quercétine et d'autres flavonoïdes ont été démontrés dans différents systèmes cellulaires incluant les cellules immunes, le muscle lisse, les cellules pancréatiques, les cellules nerveuses et autres. La quercétine est la seule à posséder une activité anti-virale.

◆ **Les activités diverses**

L'activité anti-allergique [65] :

Ce sont surtout les dérivés de la quercétine (quercétine-3, 3'-diméthyl éther ; quercétine-3-méthyl éther) qui ont une action anti-allergique significative.

Le désordre gastro-intestinal [65] :

La quercétine possède une légère action inhibitrice de libération d'histamine basophile et de béta-glucuronidase neutrophile.

L'activité anti-ulcéreuse [58]:

La quercétine, la myricétine et l'hypéroside sont anti-ulcéreuses par inhibition du catéchol-O-méthyl transférase (COMT), activité due essentiellement à la présence de 2 hydroxyles ortho dans le groupe.

L'activité analgésique est beaucoup plus attribuée à la chrysine, la morine et la rutine.

L'activité anti-malariale [48]:

La quercétine obtenue à partir de *Diosma pilosa*, possède une activité anti-malariale in vitro contre le *Plasmodium falciparum*.

L'activité hypoglycémiant [38]:

Parmi les nombreux flavonoïdes testés sur les rats diabétiques, la quercétine présente un effet hypoglycémique 50% meilleur que celui de la quercitrine.

L'action de la quercétine et de ses glucosides (hyperoxide, querciméritrine, rutine) sur la glycémie et la teneur en glycogène du foie, du cœur, et des muscles striés et la teneur en acide ascorbique des surrénales, dépend de leur structure chimique. La fraction aglycone exerce l'activité la plus élevée [30].

L'activité inhibitrice enzymatique [10,42,65]: Les flavonoïdes sont connus pour inhiber un certain nombre d'enzymes telles que l'aldose réductase, xanthine oxydase, phosphodiesterase, Ca^{2+} - ATPase, lipooxygénase, cyclooxygénase etc.

IV. TOXICITE

La LD₅₀ est de 159-160 mg/kg par voie orale [41,43] chez les souris.

◆ Chez l'Homme :

La quercétine ne présente pas de signes de toxicité à faible dose, même par voie intraveineuse [22].

◆ Chez les rongeurs :

Chez les rats, on note l'absence de signes cliniques de toxicité à faible dose. Mais à fortes doses, apparaissent des lésions au niveau rénal chez les mâles, essentiellement des tumeurs bénignes de l'épithélium du tubulaire rénal [17,61,73]. A fortes doses, on constate un retard de croissance à la fois chez le mâle et la femelle. Il n'y a pas d'effet cancérigène certain de la quercétine à des niveaux diététiques supérieurs à 5% [44].

La quercétine, administrée par voie orale, n'a pas d'effets tératogènes sur le fœtus [77].

Par voie intrapéritonéale, chez les mâles (rats et souris) aux doses de 300 et 400 mg / kg, la quercétine a entraîné une baisse de la fertilité surtout à la dose de 400 mg /kg chez les souris. En revanche chez les rats, le phénomène n'est pas observé [3].

Une injection intrapéritonéale de quercétine, à des doses allant de 16 à 160 mg/kg de poids corporel pendant 5 jours chez les souris, donne 5 semaines après l'injection, à la dose de 80 mg/kg, un taux anormal de sperme de 14%, une réduction du poids testiculaire de 32%, une réduction de la qualité de sperme de 28% [67].

La quercétine s'est révélée avoir des propriétés mutagènes [13,29,40,74] chez les bactéries et les insectes [41]. Chez *Salmonella typhimurium*, c'est la souche TA98 qui est la plus sensible ; cette activité a été détectée seulement dans les urines et les fécès [13,25].

V. EMPLOIS

Dans le domaine médical :

La quercétine et son glucoside, la rutine sont utilisées dans le traitement d'un grand nombre de pathologies cardio-vasculaires dans les pays européens. La quercétine peut être comparée à la vitamine P [73].

Comme colorant :

La quercétine et ses glucosides sont des composants de trois teintures naturelles qui sont utilisées dans l'industrie du textile [41].

Dans l'industrie alimentaire :

Le colorant flavonoïde qui contient de la cyanidine, de la quercétine et de la pelargonidine, est utilisé dans les crèmes, les caramels etc. [62].

Dans le domaine alimentaire :

La quercétine se retrouve dans de nombreux aliments tels que : oignon, poireau, asperge, chou, moutarde, poivron ornemental, endive, pamplemousse, salade laitue, pomme, mangue, prune, radis, groseille, raisin de Corinthe ou cassis, pomme de terre, épinard etc [36].

La quercétine a été isolée :

- des grappes de raisins (1,4 mg/kg de fruits),
- des feuilles de myrtilles (11g/kg de poids sec),
- dans le thé vert (10 mg/kg de quercétine glucosides et de keampférol).

La consommation moyenne de flavonoïdes, d'après une étude menée en 1976 chez les adultes est estimée à $25,9 \pm 14,5$ mg/j. La quercétine constitue 63% de la consommation de flavonoïdes soit $16,3 \pm 10,1$ mg/j ; soit 1/10 de la dose létale [37].

Cinq ans plus tard, le même type d'étude menée chez les adultes, a donné une consommation moyenne de $26,6 \pm 13,2$ mg/j [16,49].

La quercétine se trouve cependant en quantités importantes dans divers produits végétaux (fruits, légumes, boissons...).

VI. ABSORPTION, DISTRIBUTION, METABOLISME, EXCRETION

◆ Absorption [39]

Chez l'homme, l'absorption de quercétine est importante.

Les taux d'absorption dans l'iléon, chez les patients, sont :

- 52% pour les glucosides de la quercétine,
- 17% pour la rutinoside,
- 24% pour les aglycones.

◆ Distribution [76]

La quercétine marquée, administrée oralement à une dose de 2,3 mg/kg de poids corporel chez le rat, a été retrouvée dans le système digestif.

La radioactivité a également été détectée dans le sang, le foie, les reins, les poumons et les cotes.

◆ Métabolisme [33]

La quercétine a une demi-vie courte de 2,4 heures.

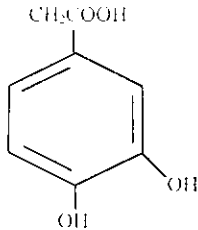
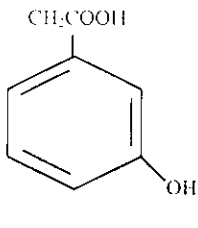
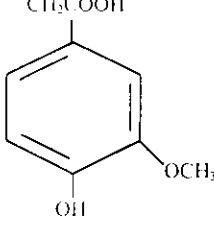
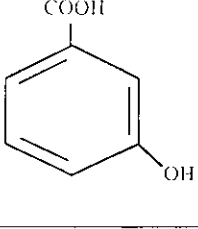
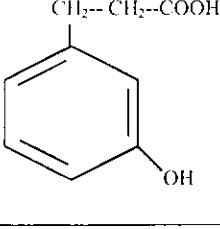
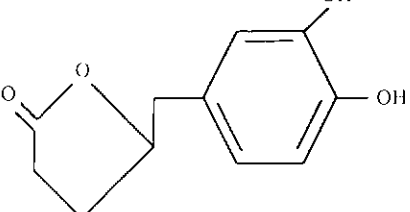
La conjugaison conduit essentiellement aux glucuronides.

La quercétine est métabolisée au niveau de la paroi intestinale conduisant à la formation de métabolites indétectables à ce niveau.

Quelques métabolites de la quercétine ont été identifiés dans l'urine humaine ; quelle que soit la voie d'administration [31,60]:

- l'acide 3,4-dihydroxyphenylacétique = acide homoprotocatéchiq ;
- l'acide métahydroxy-phenyl-acétique ;
- l'acide 4 hydroxy-3 méthoxyphenylacétique = acide homovanillique,
- l'acide métahydroxybenzoïque ;
- l'acide métahydroxyphenylpropionique ;
- la dihydroxy-3, 4-phenyl- γ -valérolactone.

Tableau N°1 : Formules de quelques métabolites de la quercétine.

Noms chimiques	Structures
acide 3,4-dihydroxyphenylacétique = acide homoprotocatéchique ;	
acide métagydroxy-phenyl - acétique	
acide 4 hydroxy-3 méthoxyphenylacétique = acide homovanillique,	
acide métagydroxybenzoïque	
acide métagydroxyphenylpropionique	
dihydroxy-3, 4-phenyl-γ-valérolactone	

Trois voies métaboliques principales peuvent être définies : déhydroxylations du noyau flavonique, ruptures oxydatives des noyaux benzéniques A et hétérocyclique.

Les déhydroxylations successives affectent en premier lieu l'OH en 3 puis indifféremment les OH en 5 et/ou en 3' pour finalement conduire à la dihydroxy 4,7 flavones.

Les produits ainsi formés dans les tissus hépatiques peuvent être considérés comme des précurseurs des métabolites alkylphénoliques seuls retrouvés dans les urines.

◆ Excrétion [6]

Approximativement, la moitié de la quercétine ingérée est excrétée dans les selles (fèces) et 60% sont retrouvés sous la forme libre [6] mais également dans la bile et les urines.

Cette excrétion biliaire est importante tandis que l'excrétion urinaire est biphasique et tardive.

Cette excrétion tardive des dérivés phénoliques pourrait s'expliquer :

- soit par une réabsorption des métabolites biliaires par le cycle entérohépatique,
- soit par une excrétion accrue des métabolites des catécholamines,
- soit par une libération progressive des molécules phénoliques après un temps de fixation tissulaire [60].

En 1982, une étude a été menée chez les rats après ingestion de 630 mg /kg de poids corporel de quercétine marquée. Dans les 24 heures, la radioactivité a été excrétée sous forme de dioxyde de carbone (34%), dans la bile (12%) et dans les urines (9%) et dans les 48 heures, dans les fèces (45%).

60% des fèces radioactifs sont de la quercétine non métabolisée [76].

VII. CERTAINES ESPECES VEGETALES COMME SOURCE DE QUERCETINE

La quercétine est un flavonoïde très répandu dans le règne végétal. Elle a été isolée à partir de nombreuses espèces (voir **Annexe**).

Cependant, certaines espèces de la flore malienne comme *Guiera senegalensis* [23], *Sclerocarya birrea* [14] qui ont fait l'objet d'études phytochimiques précédentes, peuvent également être source de quercétine.

SCLEROCARYA BIRREA (A. RICH.). HOCHST (ANACARDIACEAE)

I. SYNONYMES

Spondias birrea (A. Rich). Hochst
Poupartia birrea (A. Rich). Aubrév

II. NOMS

Bambara	N'Gounan
Wolof	ber
Malinké	Kutam
Sarakolé	nonè
Peulh	éri
Français	Sclerocarya à bière

III. HABITAT

Originnaire d'Afrique tropicale, *Sclerocarya birrea* se retrouve du Sénégal au Soudan.

Espèce Soudano-sahélienne, on la rencontre également à la lisière du Sahara.

Les sols sur l'ensemble de l'aire de *Sclerocarya birrea* vont des sols sableux aux sols limonosableux.

IV. DESCRIPTION DE LA PLANTE

Petit arbre de 8 à 10 m au maximum, à fût droit cylindrique ; à écorce gris clair, écailleuse et finement fissurée ; à frondaison arrondie, claire et équilibrée.

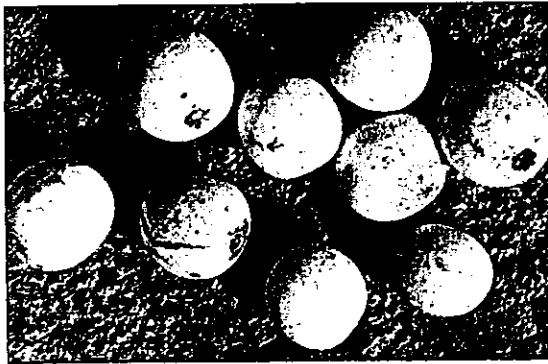
Groupées à l'extrémité des rameaux, les feuilles sont composées imparipennées avec 7 à 10 paires de folioles ovales. Ces dernières sont acuminées, entières ou dentées surtout sur les rejets et les jeunes pieds.

Les fleurs sont dioïques sur des racèmes. Les épis apparaissant généralement avant les feuilles sont groupés à l'extrémité des rameaux.

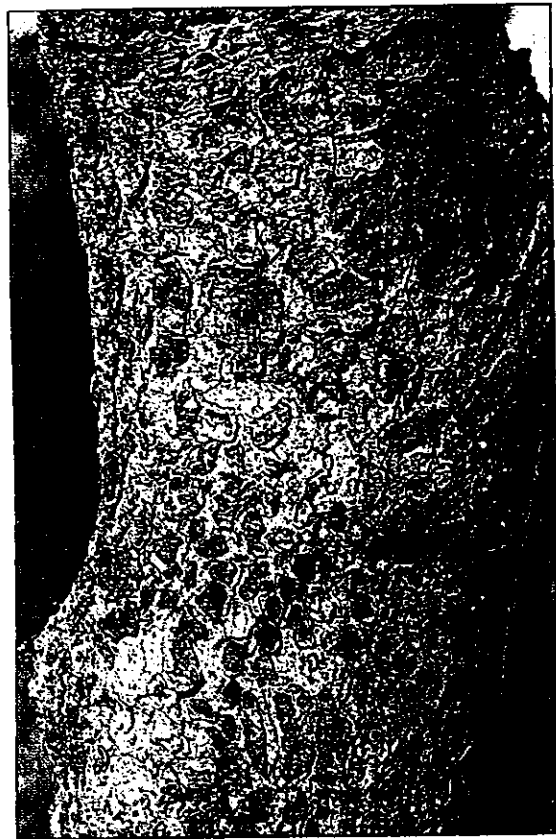
Les fruits sont des drupes subsphériques de couleur jaune- pâle, et pouvant mesurer 3 cm de long.



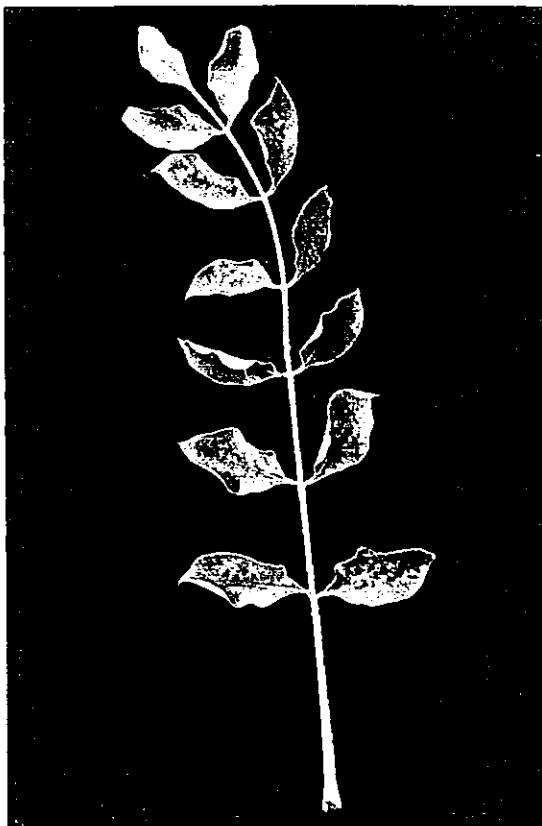
Photo N°1: L'arbre de *Sclerocarya birrea*.



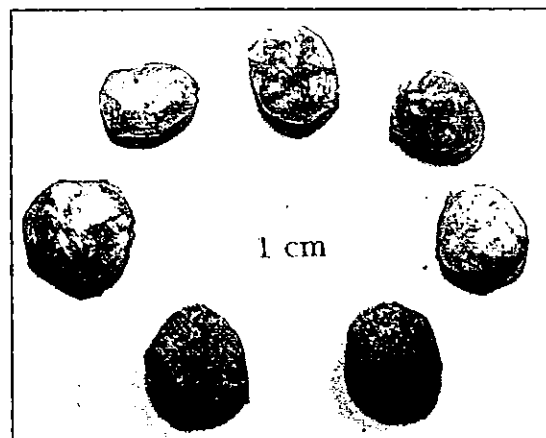
fruits



écorce



feuille



graines

Photo N°2: Fruits, feuilles, écorces et graines de *Sclerocarya birrea*.

V. CARACTERISTIQUES DE LA DROGUE

A. CARACTERES ORGANOLEPTIQUES

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

B. CARACTERES MACROSCOPIQUES

Du point de vue macroscopique, les feuilles sont composées, opposées, elliptiques et légèrement acuminées. Le limbe est asymétrique et sa grande partie est arquée par rapport à l'autre. La nervation est alternée de part et d'autre du pétiole et incurvée au bord du limbe. La partie du limbe la plus grande à une nervation beaucoup plus visible que celle de la plus petite partie.

A la face externe la nervation centrale est saillante. Le pétiole très court est de l'ordre de 2 à 3 mm de long. La feuille est dentelée chez les jeunes pieds.

C. CARACTERES MICROSCOPIQUES

Du point de vue microscopique, la coupe transversale de la feuille de *S. birrea* présente :

- Au niveau de l'épiderme supérieur, un parenchyme palissadique asymétrique, bien développé au niveau du limbe et réduit au niveau de l'arc libéro-ligneux.
- Au niveau de l'épiderme inférieur, des assises de collenchymes lacuneux avec des macles d'oxalate de calcium et des petits vaisseaux correspondants aux nervures tertiaires.
- Au niveau de l'arc libéro-ligneux, des poches à mucilages entourées de 2 à 3 assises de petites cellules celluloseuses ; un peu à l'extérieur de l'arc vers le limbe, le bois correspondant au départ d'une tige secondaire; le bois secondaire lignifié entre les poches à mucilage.

L'examen microscopique de la poudre de feuilles examinée présente les éléments caractéristiques suivants :

- des fragments de bois,
- des fragments de fibres sclerenchymateuses,
- des inclusions d'oxalate de calcium,
- des fragments de vaisseaux,
- des stomates de type anomocytique,
- des grains d'amidon.

VI. DONNEES PHYTOCHIMIQUES :

Sclerocarya birrea a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques et les résultats des essais préliminaires, effectués au niveau du DMT par HAIDARA[34] et DAO [14] sur la poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea*, ont montré qu'elles sont riches en tanins, saponosides, flavonoïdes, stérols et terpènes.

Le pourcentage de flavonoïdes dans la poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea* varie de 2,3 à 2,51[14].

LAURENS[52] et PARIS[64], ont isolé et identifié 6 hétérosides dérivant du quercétol et du kaempférol, majoritaires dans l'extrait d'acétate d'éthyle, et qui sont responsables en grande partie du pouvoir hypoglycémiant attribué à la plante.

BUSSON en analysant les amandes des graines provenant de la Côte d'Ivoire, a trouvé les résultats suivants en gramme % du produit sec :

Cellulose : 1,3 ;
Extrait étheré : 61,5
Glucides : 0,5 ;
Insoluble formique : 3,8 ;
Protides : 30,6 ;
Cendres : 6,1 ;
Calcium : 0,17 ;
Phosphore : 1,04.

Les acides gras sont surtout représentés par :

acide oléique : 63,9 %,
acide myristique : 17,4%,
acide stéarique : 8,7%.

Parmi les aminoacides, (en gramme % des aminoacides totaux) l'acide glutamique est majoritaire : 25,8% et l'arginine : 15,8% [47].

VII. DONNEES PHARMACOLOGIQUES :

Le décocté ou le macéré de la poudre de feuilles provoque une diminution de la glycémie chez les rats par voie orale ou intrapéritoniale [11,12].

Selon GUEYE [32], l'extrait aqueux des feuilles de *Sclerocarya birrea* aurait une action sur le système régulateur de la glycémie et une activité périphérique propre sur l'assimilation du glucose par l'organisme, en particulier par le tissu musculaire. L'action pourrait être due aux flavonoïdes et tannins. L'extrait aqueux présente également une très faible toxicité.

Sur le rat en hyperglycémie provoquée par surcharge de glucose, l'extrait aqueux lyophilisé est actif à la dose de 250 mg/ kg et cette activité est dose dépendante [53].

Une autre étude a démontré que les extraits n'abaissent pas la glycémie chez l'animal normal.

Au Mali, des recherches précédentes effectuées par différents auteurs ont permis de confirmer l'activité antidiabétique non seulement par des études expérimentales mais aussi par les essais cliniques [34,55].

Galvez et coll.[26,27,28] ont étudié l'activité antidiarrhéique des tanins isolés du décocté lyophilisé de l'écorce de tronc de *Sclerocarya birrea*. La procyanidine isolée de cette écorce en serait responsable.

Ils ont aussi démontré l'activité sécrétagogue de l'ester(-)-épicatchine-3-galloyl isolé de l'écorce de tronc de la plante.

VIII. UTILISATIONS EN MEDECINE TRADITIONNELLE

Dans la Médecine traditionnelle africaine, on utilise aussi bien en usage externe qu'interne, les feuilles, les écorces de tronc et les écorces de racines de *Sclerocarya birrea* [2].

Feuilles :

Elles sont utilisées comme antidiabétiques [19,32]
Réduites en poudre et mises dans l'eau, elles traitent les conjonctivites.
Les rameaux feuillés sont mâchés dans les enrrouements de la voix et utilisés comme cure-dents dans les caries et douleurs dentaires [56].

Ecorces de tronc :

La poudre d'écorces est utilisée dans les aménorrhées[56]. L'écorce est antidontalgique dans les névralgies et les caries dentaires.
La pâte est utilisée en tant qu'anti-inflammatoire dans les céphalées en application frontale additionnée au beurre de karité [14,47].

Le macéré aqueux à partir des écorces, associés à d'autres plantes, est utilisé dans le traitement des morsures de serpents, selon la formule d'un guérisseur du Toro [47].

Le macéré d'écorces associé aux feuilles de *Cymbopogon giganteus* entre dans le traitement de l'ascite, c'est aussi un excellent purgatif. Il est aussi utilisé dans le traitement de la rougeole [56].

Le décocté s'utilise contre le paludisme infantile, l'inflammation de la rate, la toux et comme purgatif.

Fruits :

Le jus serait efficace dans le traitement des otites, la constipation, le scorbut, l'anorexie et l'hypertension artérielle. Certains guérisseurs recommandent les graines pour l'asthénie.

Ecorce de racine :

Au Sénégal, entrent dans la préparation d'un décocté aqueux pour le traitement de la syphilis, les morsures de serpents et des envenimations.

Diabétisane :

DIABETISANE

Composition : *Sclérocarya birrea*.

Présentation : Sachet de 150 grammes.

Indication : Diabète non insulino-dépendant.

Mode d'emploi et Posologie :

- Taux de glycémie inférieure à 2g/l : Prendre une cuillerée à café de poudre trois (3) fois par jour, en la mélangeant à un aliment.

- Taux de glycémie supérieure ou égale à 2g/l : Deux cuillerées à café de poudre trois (3) fois par jour toujours en le mélangeant à un aliment.

Le traitement dure sept (7) jours et la dose d'entretien est d'une cuillerée à café de poudre deux fois par jour à mélanger à un aliment.

Lot n° A ut. av.....

Centre de Médecine Traditionnelle Tél. : 22.46.20 / B.P. 1746 Bamako

Figure N°1 : Etiquette du MTA « DIABETISANE »

ETUDES EXPERIMENTALES

MATERIEL ET METHODES

I. MATERIEL

Le matériel végétal est constitué par les feuilles de *Sclerocarya birrea*. L'échantillon, récolté à Sotuba en Octobre 1999, a été identifié au DMT de l'INRSP ; où est déposé un exemplaire de l'herbier de la plante pour référence.

Le produit de référence (quercétine commerciale) utilisé pour l'isolation de la quercétine dans les feuilles de *Sclerocarya birrea* et dans le dosage spectrométrique des flavonoïdes est un échantillon provenant du commerce.

II. METHODES

A. ESSAIS CHIMIQUES PRELIMINAIRES

Les réactions de caractérisation préliminaires permettent de vérifier très rapidement la présence des différents groupes chimiques dans la drogue objet de l'étude.

Dans le cas des feuilles de *Sclerocarya birrea*, nous nous sommes limités à la caractérisation des substances polyphénoliques: flavonoïdes et tanins, qui y sont abondants.

Substances polyphénoliques

1. SOLUTION A ANALYSER

Infusé à 5 % : 5g de poudre de feuilles séchées sont mis dans 100 ml d'eau bouillante, dans un Erlenmeyer de 250 ml. Arrêter l'ébullition, puis refermer à l'aide d'un verre à montre ou surmonter d'un entonnoir. Laisser infuser pendant 15 mn. Filtrer sur papier puis rincer avec un peu d'eau chaude, de manière à obtenir 100 ml de filtrat.

2. CARACTERISATION

a. Flavonoïdes

Réaction de la cyanidine :

Introduire dans un tube à essai 5 ml d'infusé à 5% + 5 ml d'alcool chlorhydrique (5 ml d'alcool à 95° + 5 ml d'eau distillée + 5 ml de HCl concentré).

On ajoute quelques copeaux de magnésium + 1 ml d'alcool isoamylique.

L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones), rose violacée (flavanones) ou rouge (flavonols ou flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine).

Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques. On obtient une coloration jaune, d'où la présence de génines flavoniques.

b. Tanins

Introduire dans un tube à essai 5 ml d'infusé à 5 % et ajouter 1 ml de solution aqueuse diluée de chlorure ferrique (FeCl_3) à 1 %. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

Tanins catéchiques

Ajouter à 5 ml d'infusé à 5 %, 1 ml d'acide chlorhydrique (HCl) concentré et porter à ébullition au bain-marie pendant 15 mn. En présence de tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge, soluble dans l'alcool isoamylique.

Tanins galliques

A 30 ml d'infusé à 5 %, ajouter 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol 40% + 5 ml d'acide chlorhydrique concentré). Chauffer au bain-marie à 90°C pendant 15 mn.

L'obtention d'un précipité prouve la présence de tanins catéchiques. Filtrer et saturer le filtrat d'acétate de sodium pulvérisé, puis ajouter quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 1 % (au maximum 1 ml)

Le développement d'une teinte bleu-noir indique la présence de tanins galliques, non précipités par le réactif de Stiasny.

B. DOSAGES DES SUBSTANCES POLYPHENOLIQUES

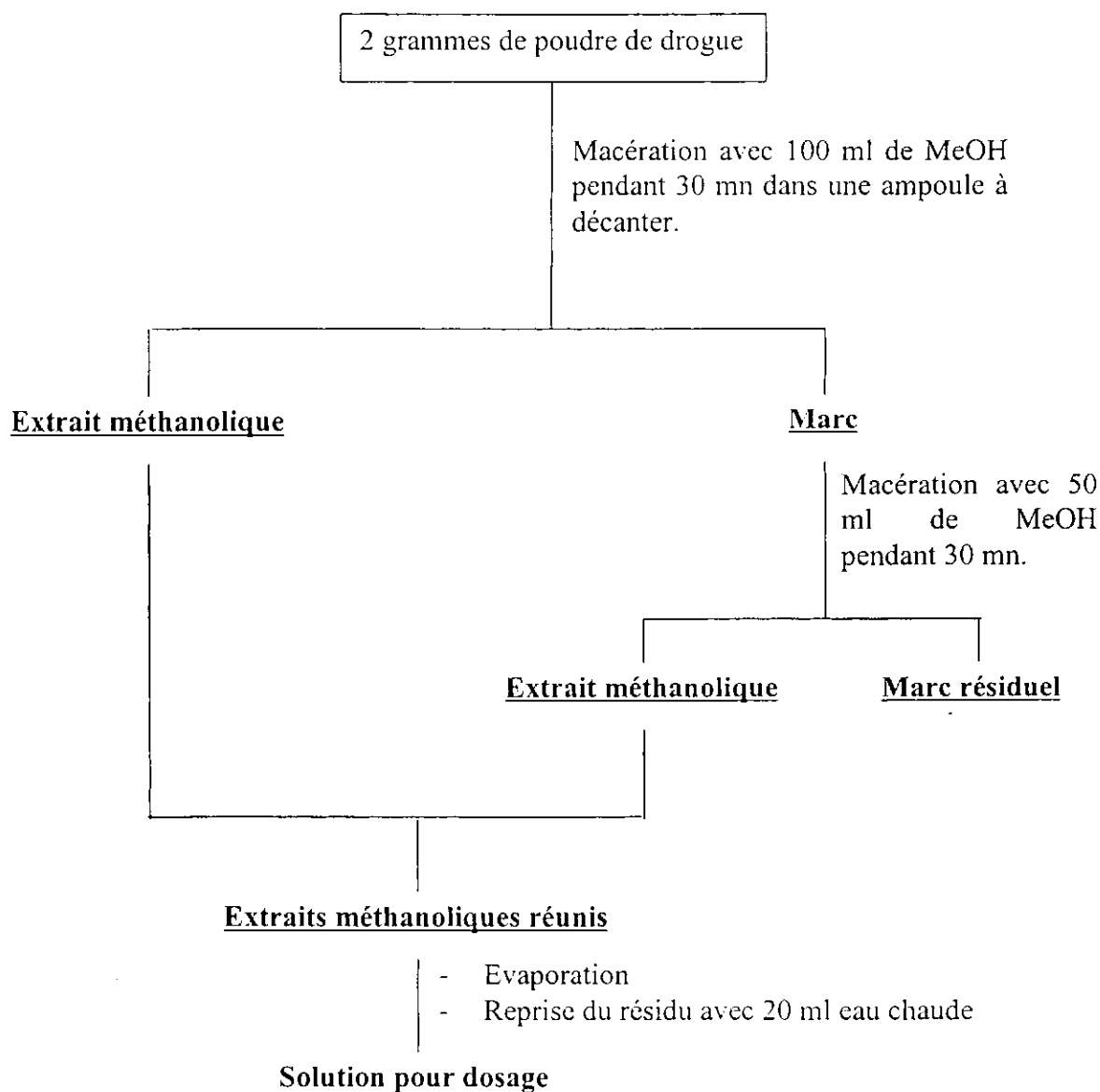
1. FLAVONOÏDES

Selon la méthode de ROMISCH [70], nous avons d'abord procédé à l'extraction puis au dosage spectrophotométrique.

a. Extraction

Le méthanol a été utilisé pour l'extraction des flavonoïdes selon le schéma suivant:

Schéma N°1 : Extraction des flavonoïdes



b. Dosage

Principe

Le principe consiste à déterminer la quantité de flavonoïdes contenus dans 100 g de poudre de drogue.

Cette détermination est effectuée par spectrophotométrie, à partir d'une solution extractive, en comparaison avec une solution témoin de quercétine dans le méthanol (500 µg/ml).

Mode opératoire de l'évaluation de la densité optique (DO)

Nous avons réalisé une droite d'étalonnage avec comme témoin la quercétine.

La gamme de référence se prépare de la façon suivante: à partir d'une solution de quercétine de 500 µg/ml dans le méthanol, on réalise une gamme d'étalonnage qui apporte dans 6 ml du mélange de réactifs (Tableau N°2) respectivement 25, 50, 75 et 100 µg/ml de produit par ml.

Dans des tubes à essais (16 X 16) sont mesurés respectivement en ml, la solution de quercétine et les réactifs, comme l'indique le tableau ci-dessous. Les volumes sont de 2 ml pour chaque concentration

L'extrait de chaque échantillon est également dosé dans les mêmes conditions, après addition des réactifs dans l'ordre indiqué par le tableau. Le volume de la solution aqueuse extractive est de 2 ml.

La lecture de la densité optique(DO) se fait à la longueur d'onde de 350 nm au spectrophotomètre.

L'appareillage utilisé est un spectrophotomètre de type NOVASPEC II.

Tableau N°2 : Réactifs pour le dosage des flavonoïdes (volumes en ml)

	Quercétine [C]	Essai	Blanc
Extraits	2	2	2
Solution aqueuse d'acide acétique à 1%	1	1	1
Solution aqueuse pyridine 2%	2	2	2
Solution alcoolique AlCl ₃ 0,5M	1	1	0
Alcool éthylique à 95°	0	0	1

Teneur en flavonoïdes

L'échantillon a été dilué au 1/20. La mesure de la densité optique a donné 0.314 pour l'échantillon dosé.

La teneur en flavonoïdes calculée à partir de la gamme d'étalonnage est exprimée en quercétine.

2. TANINS

Principe

Le principe consiste à déterminer la quantité de tanins présente dans 100 g de poudre de drogue à l'aide d'un spectrophotomètre par rapport à une solution de référence.

Mode opératoire

a. Extraction

A 2g de poudre de feuilles, ajouter 150 ml d'eau distillée et chauffer au bain-marie à 80°C pendant 30 mn. Après refroidissement, transférer le mélange dans une fiole jaugée puis compléter à 250 ml par l'eau distillée. Filtrer sur papier filtre en rejetant les 50 premiers ml et conserver le reste du filtrat pour la suite des opérations.

b. Dosage des tanins totaux

5 ml d'extrait sont dilués par 25 ml d'eau distillée.
Prendre 2 ml de cette solution et ajouter 1 ml d'acide phosphotungstique et 17 ml de solution de carbonate de sodium (380g/l).
Après 2mn, déterminer l'indice d'absorption E_1 à 750 nm.

c. Dosage des tanins liés

A 10 ml d'extrait, additionner 1g de poudre de peau. Agiter pendant 60 mn, puis filtrer. 5 ml du filtrat sont dilués avec 25 ml d'eau distillée, à 2 ml de cette solution on ajoute les mêmes quantités de réactifs que ci-dessus.
On détermine l'indice d'absorption E_2 dans les mêmes conditions que E_1 .

d. Préparation et détermination de la solution témoin

10 mg de pyrogallol sont dilués dans 100 ml d'eau distillée. A 5 ml de ce mélange, ajouter 100 ml d'eau distillée dont 2ml de cette solution sont additionnés avec les mêmes quantités de réactifs que précédemment puis déterminer l'indice d'absorption E_3 .
Cette opération est effectuée pendant 30 mn, en évitant la lumière.

Le calcul du pourcentage en tanins se fait selon la formule suivante :

$$T = \frac{4,2 \times 3,125 \cdot (E_1 - E_2)}{P \times E_3}$$

E_1 : Absorbance des tanins totaux soit (0,743)

E_2 : absorbance des tanins non liés soit (0,180)

E_3 : Absorbance de la solution témoin soit (0,201)

P : Poids en grammes de la prise de drogue

C. ETUDE DES FLAVONOIDES DE SCLEROCARYA BIRREA

Préparation de l'extrait

Nous avons préparé une infusion en mettant dans 2 litres d'eau bouillante, 500 g de poudre de feuilles de *Sclerocarya birrea*. Au bout de 3 heures l'extrait aqueux a été récupéré, lyophilisé et nous avons obtenu 117,5 g. Cet extrait lyophilisé nous a servi pour la suite de nos travaux.

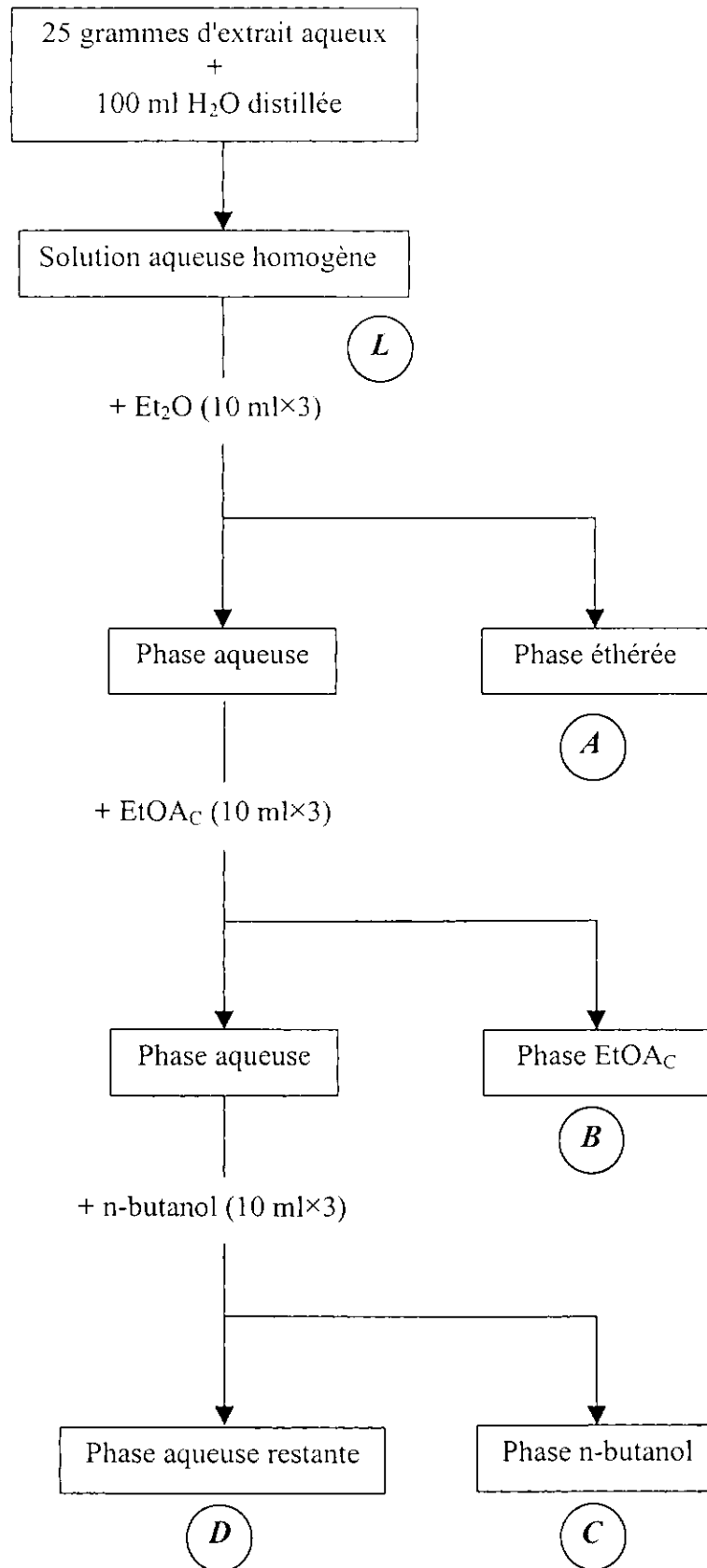
I. FRACTIONNEMENT PAR EXTRACTION LIQUIDE - LIQUIDE

Prendre 25 g de l'extrait aqueux lyophilisé avec 100 ml d'eau distillée, la solution aqueuse obtenue est soumise à des épuisements successifs par l'éther éthylique, l'acétate d'éthyle et le *n*-Butanol(schéma N°2).

Les différentes fractions ainsi obtenues ainsi que l'extrait lyophilisé de départ ont été chromatographiés sur une plaque de gel de Silice GF 254 avec des éluants suivants :

- BAW (40 – 10 – 50/ v – v) ;
- Chloroforme –éthanol (80- 20/v-v),
- Chloroforme : Méthanol : Eau 80 : 18 : 2 v/v

Schéma N°2 : Fractionnement par séparation liquide-liquide de l'extrait aqueux.



2. ETUDES CHROMATOGRAPHIQUES

a. Chromatographie sur colonne

La chromatographie sur colonne permet la séparation des constituants selon leur polarité. L'extrait aqueux des feuilles de *Sclerocarya birrea* et sa fraction étherée ont été soumis à une séparation chromatographique sur colonne. Comme éluants, nous avons utilisé des solvants à différents gradients de polarité. Nous avons utilisé comme adsorbant le Gel de Silice 60 pour la chromatographie sur colonne (granulométrie : 0,063 – 0,200 mm). La quantité de silice utilisée a été environ de 30 fois le poids du mélange à chromatographier.

Montage de la colonne

La colonne de verre munie d'un robinet est préalablement lavée et séchée. Du coton hydrophile est introduit au fond de la colonne à l'aide d'une baguette de verre, pour fixer et éviter le bouchage par les grains de silice. Le coton est ensuite mouillé avec le solvant d'éluion.

Le mélange support-solvant d'éluion est introduit dans la colonne dont le robinet est bien fermé, on ouvre ensuite le robinet pour permettre que le support se tasse bien, on laisse descendre le solvant jusqu'au niveau voulu.

Dépôt du produit à chromatographier

Les 3 g d'extrait aqueux ont été repris avec une petite quantité d'acétate d'éthyle (EtOAc) dans un mortier en porcelaine et mélangés avec un peu de silice, le tout est trituré jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène.

La poudre ainsi obtenue, est introduite dans la colonne par petites fractions à l'aide d'une feuille de papier propre. Il est ensuite recouvert d'une couche de silice d'épaisseur égale et d'un tampon de coton placé au-dessus de la couche de silice pour amortir la chute des solvants sur le dépôt.

La colonne est alors remplie du solvant d'éluion qui constitue la phase mobile.

Au cours de la séparation nous avons veillé à ce que l'adsorbant soit toujours baigné de solvants.

Elution de la colonne

Pour la 1^{ère} colonne, nous avons utilisé comme éluants des solvants de gradients de polarité croissante qui sont respectivement :

- le mélange acétate d'éthyle- éthanol (8-2 / v-v),
- l'éthanol distillé,
- le mélange éthanol – eau (8 – 2/v – v).

Nous avons réalisé une chromatographie analytique de contrôle pour chaque fraction recueillie.

Les fractions ainsi obtenues ont été regroupées en fonction de leur similitude en CCM. Chaque chromatogramme a été révélé à la lumière ultraviolette (UV) et par le réactif citroborique.

Réunies puis concentrées, on obtient une fraction unique qui est rechromatographiée en CCM pour apprécier le degré de pureté de la substance ainsi obtenue.

Cette fraction flavonoïque qui n'est pas encore pure, a été reprise par le solvant et triturée avec de la silice, puis soumise à une deuxième séparation sur colonne. Afin d'obtenir une fraction moins impure

Pour la 2^{ème} colonne, les solvants d'élution sont :

- l'éther;
- le mélange éther – éthanol absolu (5 - 5 /v – v),
- l'isopropanol, éthanol distillé, éthanol-eau (8-2/ v-v);(7-3/ v-v).

Le produit obtenu avec la 2^{ème} colonne n'étant toujours pas pur, il a été de nouveau chromatographié sur une 3^{ème} colonne dont le solvant est l'éther.

La séparation sur cette dernière colonne nous permet d'obtenir une quercétine pure.

b. La chromatographie sur couche mince

La CCM constitue un moyen simple pour déterminer la pureté d'un composé. Si celui-ci n'a subi aucune dégradation, il ne doit y avoir qu'une seule tache à la révélation.

L'identification d'une substance inconnue peut-être orientée en comparant son Rf avec celui d'un authentique témoin en co-chromatographie.

C'est une méthode physico-chimique de contrôle dont l'adsorbant ou phase stationnaire est constitué d'une couche mince et uniforme de 0,25 mm d'épaisseur d'une substance séchée et finement pulvérisée, appliquée sur un support approprié. La phase mobile ou éluant se propage à la surface de la plaque par capillarité [50,66].

La CCM nous a permis de :

- contrôler la séparation sur colonne;
- faire le meilleur choix des solvants d'éluant des colonnes;
- suivre la composition des différentes fractions obtenues au cours des séparations;
- vérifier la pureté des produits isolés.

Même si la CCM n'est pas suffisante pour identifier un produit, elle permet d'obtenir des renseignements utiles pour l'identité d'un produit (fluorescence, coloration, Rf...).

La fluorescence d'un flavonoïde examiné en lumière UV (254, 366 nm) avant ou après révélation par des réactifs appropriés, fournit des renseignements surtout par rapport aux substituants en position 3 et 5.

Le tableau ci-dessous fournit des indications sur les relations fluorescence - coloration - structure des flavonols.

Tableau N°2 : Relation coloration/structure des flavonols.

Fluorescences	Position		
	3	5	4'
Jaune	OH	OH	
Bleu Clair	OMe	H / OMe	
Violet-foncé	OMe	OH	OH ou OMe

Support

Pour la CCM, nous avons utilisé des plaques de Silicagel 60 FG 254 de 0,25 mm d'épaisseur.

Dépôt des solutions à étudier

La solution est déposée sur la plaque à l'aide de micropipettes de 10 microlitres. Les dépôts se font à 1,5 cm du bord inférieur de la plaque et sont espacés les uns des autres de 1 cm sur la ligne horizontale de départ, le solvant est évaporé après chaque dépôt.

Migration

La plaque est placée dans une cuve à chromatographier (contenant l'éluant) en verre pour permettre d'observer le déplacement de la phase mobile le long de la plaque.

L'éluant peut être un solvant ou un mélange de solvants en fonction de leur pouvoir d'élution.

La vitesse d'élution est fonction de la viscosité du solvant et de la nature de la phase stationnaire.

La phase stationnaire est parcourue par la phase mobile, dont la capillarité provoque une succession de partage des constituants entre les 2 phases, ce qui entraîne la migration et la séparation des constituants.

Le développement est arrêté quand le front du solvant atteint les $\frac{3}{4}$ de la plaque.

Nos solvants de migration sont :

- BAW (40 – 10 – 50/ v – v)
- Hexane-éther (5-95 /v – v)
- Ether – Ethanol (90- 10/v-v)
- Chloroforme –éthanol (80- 20/v-v).
- Chloroforme-Méthanol-Eau (80 : 18 : 2 v/v).

Composition du BAW (Butanol-Acide acétique-Water) :

Ce mélange introduit dans une ampoule à décanter donne 2 phases : une phase butanolique saturée d'eau (phase supérieure) et une phase acétique également saturée d'eau. C'est la phase supérieure qui est utilisée comme solvant de migration.

Révélation

Les plaques ainsi développées, ont été séchées à la température ambiante. La détection a été faite à l'aide de révélateurs. C'est ainsi que nous avons utilisé :

- La lampe UV à 366 nm.
- Les réactifs spécifiques des flavonoïdes : le réactif citroborique et le PEG/NTS.

Composition du réactif citroborique spécifique aux flavonoïdes :

Acide borique : 5 g

Acide citrique : 5 g

Ethanol q.s.p.: 100 ml

Le chromatogramme est ensuite chauffé après pulvérisation de ce réactif à 100°C pendant 5 à 10 mn avant l'observation à l'UV.

Composition du réactif de PEG/NTS : Solution A + Solution B

Solution A : 200 mg de NTS dans 20 ml de méthanol

Solution B : 1 g de PEG dans 20 ml de méthanol

Le facteur de rétention (Rf)

C'est le rapport de la distance parcourue par la substance (dx) à la distance parcourue par le front du solvant (ds). Dans les mêmes conditions chromatographiques, le RF est caractéristique d'un composé, sa valeur est toujours inférieure à 1.

$$R_f = \frac{\text{distance du point milieu du composé au point de départ}}{\text{distance du front du solvant au point de départ}} = \frac{dx}{ds} < 1.$$

3. LA SPECTROPHOTOMETRIE ULTRAVIOLETTE

Le spectrophotomètre utilisé pour l'identification UV est un PERKIN-ELMER UV/Visible Lambda 12/nm (1.3) avec un balayage compris entre 200 et 450 nm.

La spectrophotométrie d'absorption est la mesure de l'absorption, par des substances, d'une radiation électromagnétique ayant un intervalle de longueur d'onde étroit et bien défini, essentiellement monochromatique.

La gamme de spectre utilisée s'étend des longueurs d'onde courtes de l'ultraviolet jusqu'à la région visible du spectre.

Par commodité de référence, cette gamme peut être divisée en deux régions : l'ultraviolet (190-380 nm) et le visible (380-780 nm).

Les spectres en ultraviolet d'une substance ne sont pas hautement spécifiques. Cependant, ils sont très appropriés pour les mesures quantitatives et, pour beaucoup de substances, ils sont utiles en tant que méthodes additionnelles d'identification. [66,71]

Les spectres UV des flavones et des flavonols présentent 2 bandes d'absorption principales :

Bande I située entre 300 et 380 nm

Bande II située entre 240 et 280 nm.

La position et l'allure des Bandes I et II du spectre dans le méthanol renseignent sur:

- les flavones et flavonols oxygénés sur le noyau A mais pas sur le noyau B, qui tendent à donner une bande II prononcée et une bande I faible.
- ceux oxygénés sur le noyau B ont une bande I plus prononcée. Plus le noyau B comporte de groupements hydroxylés, plus la bande I est déplacée vers de fortes longueurs d'onde (déplacement bathochromique).

Les nombreuses études de MARBRY [57] sur la spectrométrie UV des flavonoïdes donne les indications suivantes :

Bande I entre 304 et 327 nm-----Flavones

Bande I entre 327 et 350 nm-----Flavones ou Flavonols substitués en 3

Bande I entre 352 et 385 nm-----Flavonols non substitués en 3

Les spectres dans l'UV ont été réalisés après dissolution du produit dans le méthanol, puis dans le méthanol additionné de réactifs de chélation (chlorure d'aluminium $AlCl_3$) et d'ionisation (acétate de sodium $NaOAc$; acide borique H_3BO_3 ; soude $NaOH$) [45,46].

a. Détermination de la substitution de l'hydroxyle en 4'

La soude (NaOH, 0,1 N) est une base forte qui ionise tous les groupements hydroxylés (OH) sur les noyaux flavoniques.

Un déplacement bathochrome de la bande I de l'ordre de 40 à 65 nm sans baisse d'intensité, est le signe de la présence d'un groupement hydroxyle en 4'.

b. Détermination de la substitution de l'hydroxyle en 7

L'acétate de sodium (NaOAc) est une base faible n'ionisant que les groupements hydroxylés (OH) les plus acides, particulièrement les (OH) en 3, 7 et 4'.

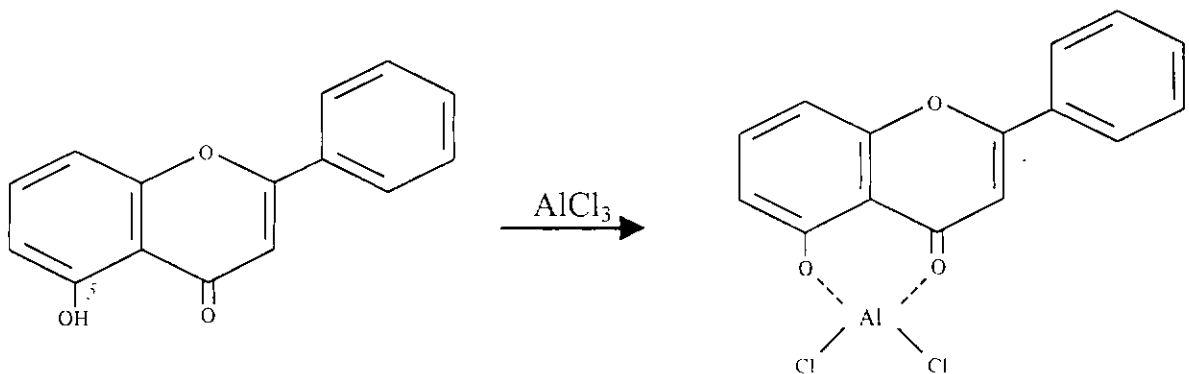
L'ionisation du (OH) en 7 affecte surtout la bande II, celle des (OH) en 3 et 4' affecte la bande I.

Ainsi, un déplacement bathochrome de 5 à 20 nm de la bande II traduit la présence d'un hydroxyle libre en 7. Ce déplacement reste imperceptible ou faible chez les flavones (mais pas les flavonols) ayant les carbones oxygénés en 6 et 8.

c. Détermination de la substitution de l'hydroxyle en 5

L'addition de chlorure d'aluminium (AlCl_3) donne un déplacement vers de fortes longueurs d'onde de l'ordre de 45 nm de la bande I, qui se dédouble en 2 pics ou inflexions et également un déplacement bathochrome de la bande II, lorsque l'hydroxyle en 5 est libre.

Ce réactif complexe irréversiblement le groupe formé par le carbonyle et l'hydroxyle en 5, auxquels cas l'addition d'acide chlorhydrique ne provoque aucun effet hypsochrome par rapport au spectre en présence de AlCl_3 seul.



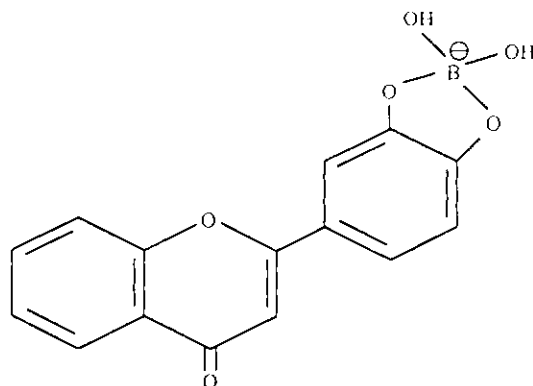
d. Détermination de la présence du système orthodihydroxylé

La présence d'un groupement orthodihydroxylé sur le noyau B peut-être détectée en comparant les spectres en présence de AlCl_3 et de $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$:

- Un dédoublement des bandes I (Ia et Ib) et II (IIa et IIb) et un déplacement hypsochrome de 30-40 nm de la bande I (ou Ia) du spectre en présence de AlCl_3 traduisent la présence d'un groupement orthodihydroxylé.
- L'addition de HCl à la solution contenant déjà du AlCl_3 décompose le complexe formé par AlCl_3 et le groupement orthodihydroxylé (excepté en position 4,5 ou 4,3)

En présence de NaOAc, l'acide borique (H_3BO_3) forme un chélate avec les groupements orthodihydroxylés quelle que soit leur position excepté en C5, 6.

Les flavones et flavonols ayant un groupement orthodihydroxylé sur le noyau B ont un déplacement bathochrome de la bande I de 12 à 30 nm en présence de NaOAc / H_3BO_3 par rapport à la bande I en présence de NaOAc; ceux ayant un groupement orthodihydroxylé sur le noyau A (en C6, 7 ou C7, 8) ont un déplacement moins important de 5-10nm.



4. LA SPECTROPHOTOMETRIE INFRAROUGE

Pour l'IR, l'appareil utilisé est un SHIMADZU CORPORATION de type Chart 200-91527 de l'UMPP (Usine Malienne pour les Produits Pharmaceutiques).

Le domaine infrarouge du spectre électromagnétique utilisé en analyse pharmaceutique s'étend de 4000 à 250 cm^{-1} ($2,5$ à $40\text{ }\mu\text{m}$).

Les mesures spectrophotométriques dans l'infrarouge sont principalement utilisées pour l'identification. Tout composé chimique est caractérisé par un spectre infrarouge unique, sauf les isomères optiques dont les spectres sont identiques en solution. Toutefois, le polymorphisme et d'autres facteurs tels que des variations dans la taille et l'orientation des cristaux, le procédé de broyage utilisé et la formation éventuelle d'hydrates, peuvent entraîner la modification du spectre infrarouge d'un composé. La présence de petites quantités d'impuretés dans la substance examinée n'affecte généralement qu'assez peu le spectre infrarouge.

L'identification d'une substance consiste à comparer son spectre avec celui d'une substance de référence préparée simultanément ou avec un spectre étalon de référence.

Les spectres d'absorption dans l'IR ont été obtenus à l'aide d'un appareil SHIMADZU CORPORATION Chart 200-91527, après pastillage dans le Kbr (1%). Les spectres ont une échelle linéaire en cm^{-1} .

Les intensités des bandes peuvent s'exprimer soit en transmittance (T), soit en absorbance (A).

La transmittance est le rapport de la puissance radiative transmise par l'échantillon sur la puissance radiative incidente.

L'absorbance est le logarithme, en base 10, de l'inverse de la transmittance:

$$A = \log_{10} (1/T) [8,66,71].$$

RESULTATS

I. ESSAIS CHIMIQUES PRELIMINAIRES

Les réactions de caractérisations préliminaires ont permis de confirmer la présence dans les feuilles de *Sclerocarya birrea*, des substances polyphénoliques: flavonoïdes, tanins.

A. FLAVONOÏDES

La recherche des flavonoïdes dans les feuilles de *Sclerocarya birrea* est positive à la réaction de la cyanidine, avec une coloration rose orangée indiquant la présence de flavones.

B. TANINS

Avec la solution de chlorure ferrique à 1%, la décoction aqueuse des feuilles de *Sclerocarya birrea*, donne un précipité de couleur bleu noir indiquant la présence des tanins.

II. DOSAGES DES SUBSTANCES POLYPHENOLIQUES

A. FLAVONOÏDES

La teneur en flavonoïdes dans les feuilles de *Sclerocarya birrea* calculée à partir de la gamme d'étalonnage est de 1,24 % en quercétine.

B. TANINS

La teneur des tanins dans les feuilles de *Sclerocarya birrea* est de 18,38%.

III. FRACTIONNEMENT PAR EXTRACTION LIQUIDE - LIQUIDE

Les fractions obtenues par la séparation liquide – liquide présentent les colorations suivantes :

Tableau N°3 : Colorations de l'extrait aqueux et des différentes fractions.

Solvants	Couleur
Ether (extrait A)	Jaune
Acétate d'éthyle (extrait B)	Jaune orange
n-Butanol (extrait C)	Jaune foncé
Eau phase aqueuse restante (extrait D)	Rouge-brun

IV. CHROMATOGRAPHIES

A. CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE

Avec la 1^{ère} colonne, les 70 différentes fractions colorées ont été recueillies dans des flacons de 90 ml en fonction des solvants utilisés pour l'éluion.

La CCM de contrôle a permis de rassembler et de concentrer les fractions qui ont une coloration identique. Les fractions ayant une couleur jaune intense ont été retenues car elles renferment plus de flavonoïde.

Nous avons obtenu 8 fractions dont la CCM a montré que les 4 premières renferment une quantité plus importante de produit apparemment propre, elles ont ensuite été rassemblées et séparées sur une 2^{ème} colonne.

Une première éluion faite d'abord par l'éther, a donné 6 fractions, après les différentes étapes de rassemblement, d'évaporation et de CCM de contrôle.

3 de ces 6 fractions riches en quercétine ont donné chacun un spot net.

A la CCM de contrôle, ces 3 fractions réunies ont montré en plus de la quercétine une faible tache d'impureté d'où la nécessité pour nous de passer à une 3^{ème} colonne pour purifier notre produit.

Dès la 1^{ère} fraction, nous avons obtenu notre produit pur confirmé après CCM de contrôle avec une fluorescence jaune nette.

Les chromatogrammes dans le BAW et Ethanol - Chloroforme sont meilleurs et ont été retenus pour le calcul du Rf.

B. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

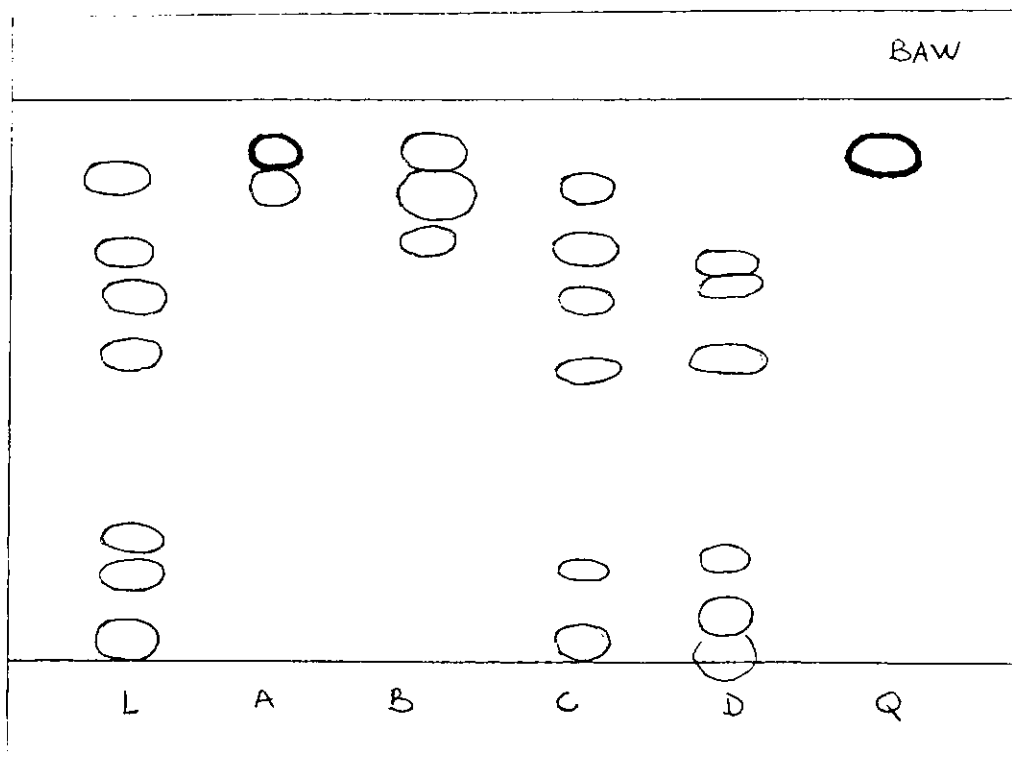
Même si cette technique chromatographique ne suffit pas toujours pour identifier un produit, elle nous a permis d'avoir des renseignements utiles pour reconnaître la quercétine par sa fluorescence examinée en lumière UV (254-366 nm) avant ou après révélation par le réactif citroborique et le PEG/NTS, son Rf, sa coloration.

Notre produit présente une fluorescence jaune à la lumière UV à 366 nm. Il donne une coloration jaune après pulvérisation du chromatogramme par le réactif citroborique et chauffage à 100°C à l'étuve pendant 2-3 minutes.

Avec le PEG/NTS, nous obtenons une fluorescence jaune typique de la quercétine.

Les trois premiers chromatogrammes ont été obtenus avec l'extrait aqueux et ses fractions issues de la séparation liquide-liquide.

Le quatrième chromatogramme a été obtenu en faisant migrer une fraction impure et la quercétine pure obtenue de cette même fraction.



Chromatogramme N°1 :

Support : plaque de silice

Dépôt : 10 μ l

Solvant de migration : BAW

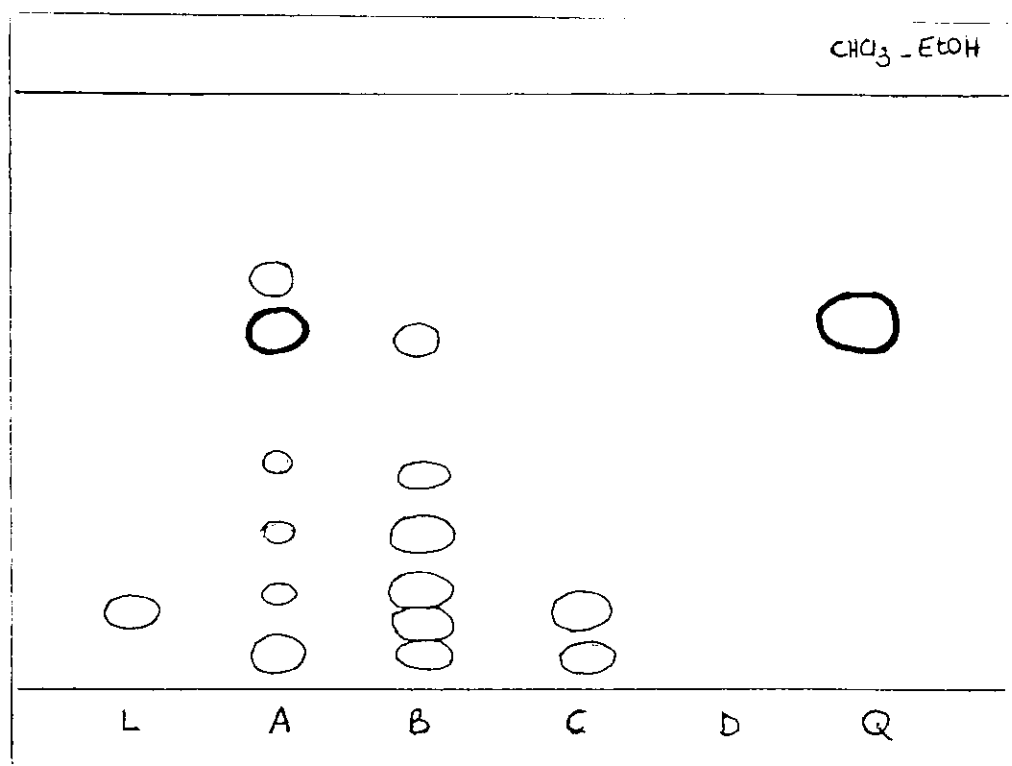
Front de solvant : 7,5.

Révélateur : citroborique.

Tableau N°4 : Résultats de la CCM de l'extrait aqueux et de ses différentes fractions dans le solvant de migration BAW.

Extraits	Rf	Observations	
		Avant Révélation	Après Révélation
Aqueux total lyophilisé	0,14	Bleu	Bleu
	0,21	"	"
	0,53	Brun	Jaune
	0,64	Bleu	Bleu
	0,72	"	"
	0,85	Brun	Jaune
Phase étherée (A)	0,82	Brun	Jaune
	0,89	"	"
Phase Acétate d'éthyle(B)	0,73	Bleu	Bleu
	0,82	Brun	Jaune
	0,90	"	"
Phase n-Butanol (C)	0,14	Bleu	Bleu
	0,50	"	"
	0,64	"	"
	0,73	"	"
	0,84	Brun	Jaune
Phase aqueuse restante (D)	0,06	Bleu	Bleu
	0,17	Brun	Jaune
	0,53	"	"
	0,66	Bleu	Bleu
	0,69	"	"
Quercétine	0,89	Jaune	Jaune

L'éther éthylique et l'acétate d'éthyle sont les deux solvants les plus sélectifs pour l'isolement de la quercétine à partir de l'extrait aqueux. La phase étherée ne contient que deux taches dont la quercétine avec un Rf de 0,89.



Chromatogramme N°2 :

Support : plaque de silice

Dépôt : 10 μ l

Solvant de migration: CHCl_3 -EtOH:40-10/v-v

Front de solvant : 8.

Révéléteur : citroborique.

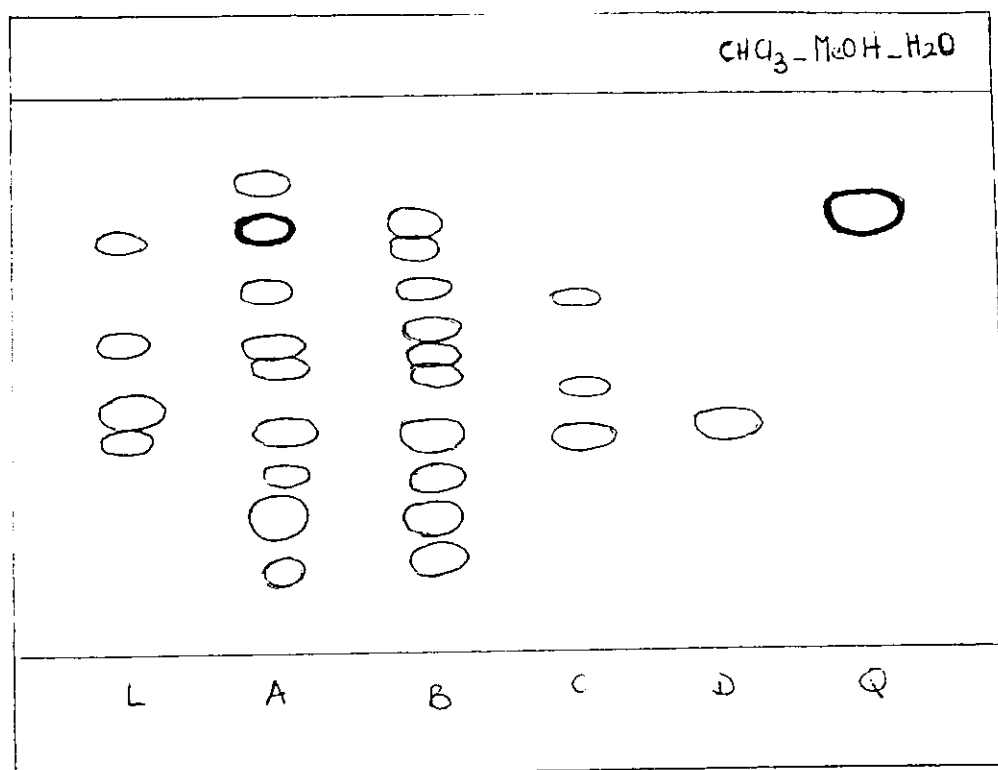
Tableau N°5 : Résultats de la CCM de l'extrait aqueux et de ses différentes fractions dans le solvant de migration CHCl_3 -EtOH (40-10/v-v)

Extraits	Rf	Observations	
		Avant	Après révélation
Aqueux total lyophilisé	0,12	Bleu	Jaune
Phase étherée (A)	0,06	Bleu	Bleu
	0,15	Brun	Jaune
	0,26	Jaune	"
	0,38	"	"
	0,60	"	"
	0,70	Bleu	Bleu
Phase Acétate d'éthyle(B)	0,06	Jaune	Jaune
	0,10	Brun	"
	0,16	"	"
	0,26	"	"
	0,36	"	"
	0,58	Bleu	bleu clair
Phase n-Butanol (C)	0,12	Jaune	Jaune
	0,13	Bleu	"
	0,28	"	bleu clair
Phase aqueuse restante (D)	-	Marron	"
Quercétine	0,61	Jaune	Jaune

La quercétine est passée dans l'éther.

On peut noter une tache de Rf 0,60 présente dans la phase étherée seulement.

Ce solvant n'est pas bon pour l'extrait aqueux de départ et la phase aqueuse restante.



Chromatogramme N°3

Support : plaque de silice

Dépôt : 10 µl

Solvant de migration : CHCl₃ -MeOH-H₂O : 40-9-1

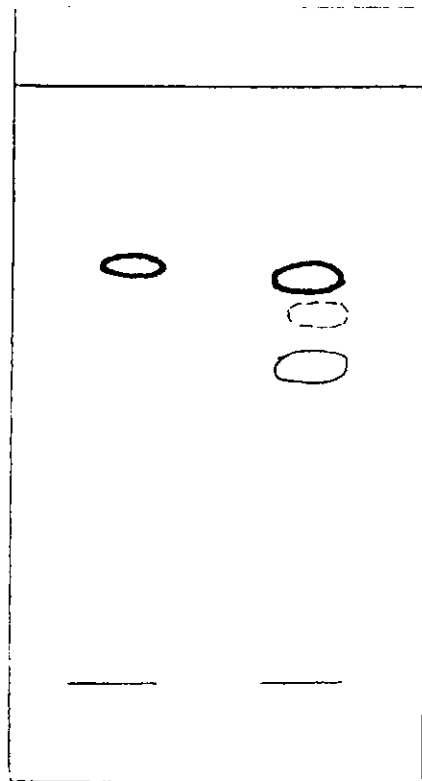
Front de solvant : 7,5.

Révéléateur : PEG/NTS.

Tableau N°6 : Résultats de la CCM de l'extrait aqueux et de ses différentes fractions dans le solvant Chloroforme-Méthanol-Eau : 40-9-1

Extraits	Rf	Observations	
		Avant - révélation	Après
Aqueux total lyophilisé	0,38	Jaune	Orange
	0,44	Bleu clair	Bleu
	0,56	Brun	Jaune
	0,74	Bleu clair	Bleu
Phase étheréc (A)	0,16	Jaune	Orange
	0,25	"	"
	0,33	"	"
	0,4	"	"
	0,50	"	"
	0,56	Brun	Jaune
	0,65	"	"
	0,76	Jaune	Orange
	0,84	Bleu	Bleu-vert
Phase Acétate d'éthyle(B)	0,17	Jaune	Orange
	0,24	"	"
	0,32	"	"
	0,4	"	"
	0,49	"	"
	0,53	Brun	jaune
	0,58	Bleu	bleu-vert
	0,65	Brun	jaune
	0,73	Bleu	bleu-vert
0,77	"	"	
Phase n-Butanol (C)	0,4	Bleu	Violet-bleu
	0,48	Bleu clair	Bleu
	0,64	Bleu clair	Bleu
Phase aqueuse restante (D)	0,41	Bleu	Violet-bleu
Quercétine	0,78	Jaune	Orange

Le solvant est très intéressant et la phase étherée renferme la quercétine.



Chromatogramme N°4
Support : plaque de silice
Dépôt : 10 microlitres
Solvant : Ethanol-Chloroforme (2-8 /v-v)
Révélateur : réactif citroborique
UV 254 – 366 nm

Le Rf de la quercétine a été calculé dans les systèmes de solvants :

Ethanol - chloroforme : Rf = 0,68

BAW : Rf = 0,86

Tableau N°7 : Rf de la quercétine en fonction de l'éluant.

Eluants	Rf de la quercétine
Butanol -Acide acétique -eau : 40 :10 : 50/v - v	0,86
Ethanol-Chloroforme 20 : 80 /v-v	0,68

V. SPECTROPHOTOMETRIE UV

La spectrométrie ultraviolette permet d'avoir une orientation sur la nature des composés.

Les points d'absorption intenses sont traduits par des pics.

Notre produit a donné 2 maxima d'absorption à savoir 371 nm et 271 nm dans le méthanol.

Notre bande I présente un maximum de 371 nm et d'après Marbry [57], une bande I comprise entre 352 nm et 385 nm indique la présence de Flavonol non substitué en 3 (Figure 2).

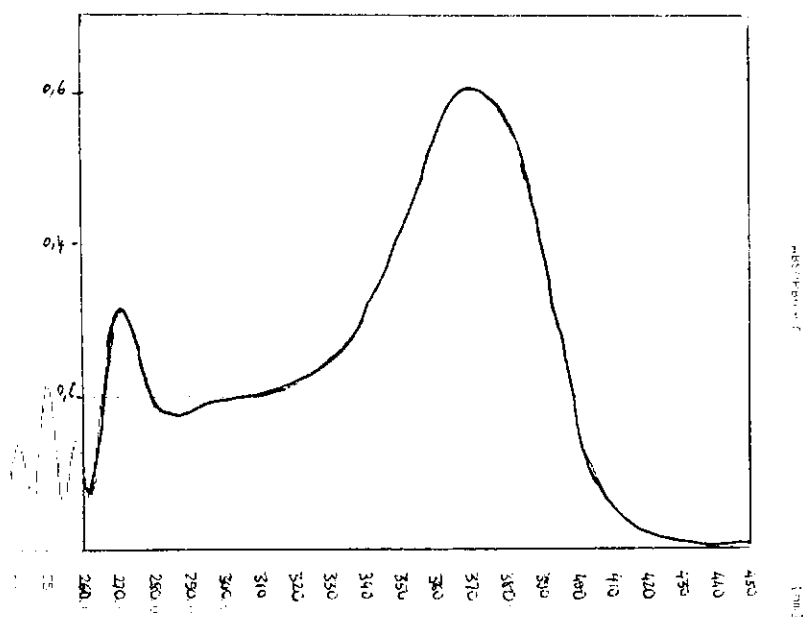


Figure N°2 : Spectre de la Quercétine dissoute dans le MeOH

I. DETERMINATION DE LA SUBSTITUTION DE L'HYDROXYLE EN 5 ET DE LA PRESENCE D'UN SYSTEME ORTHODIHYDROXYLE SUR LE NOYAU B

La figure 3 donne le spectre UV de la quercétine dissoute dans le méthanol, additionné de chlorure d'aluminium et d'acide chlorhydrique.

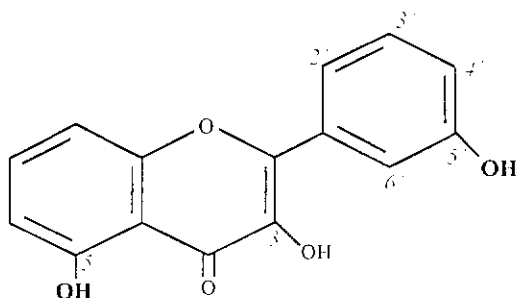
Tableau N°8 : Maxima et déplacements des spectres dans le MeOH, MeOH+ AlCl₃, MeOH + AlCl₃ +HCl.

Solvants + Réactifs	Maxima (nm)		Déplacements (nm)		Interprétation
	Bande I	Bande II	Bande I	Bande II	
MeOH	371	271			
MeOH +AlCl ₃	444	271	+73	0	Fort effet bathochrome(BI) OH libre en 5
MeOH +AlCl ₃ +HCl	428	262	-16	-9	Effet hypsochrome (BI). Présence d'un système orthodihydroxylé

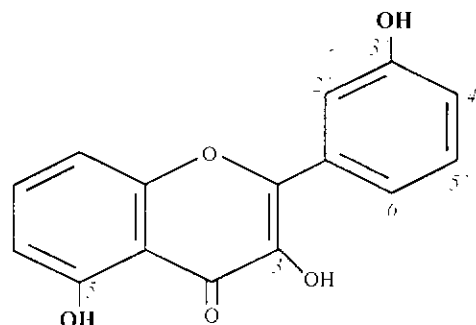
Conclusion :

Présence de OH libre en 5

Présence du système orthodihydroxylé sur le noyau B.



OU



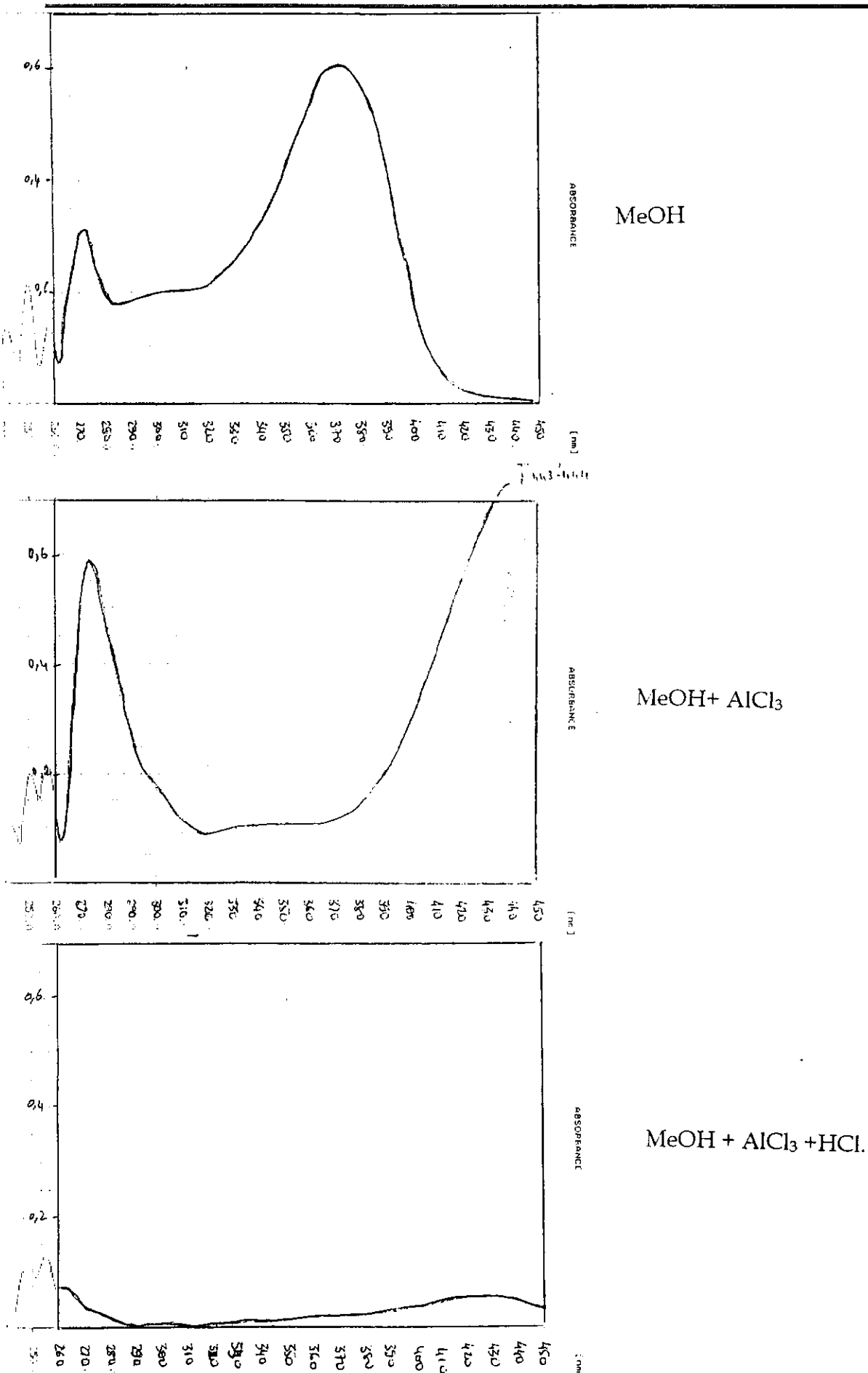


Figure N°3 : Spectre de Quercétine dissoute dans :

2. DETERMINATION DE LA SUBSTITUTION DE L'HYDROXYLE EN 7

La figure 4 représente le spectre UV de la quercétine dissoute dans le méthanol en présence d'acétate de sodium NaOAc et

d'acétate de sodium NaOAc + acide borique H₃BO₃

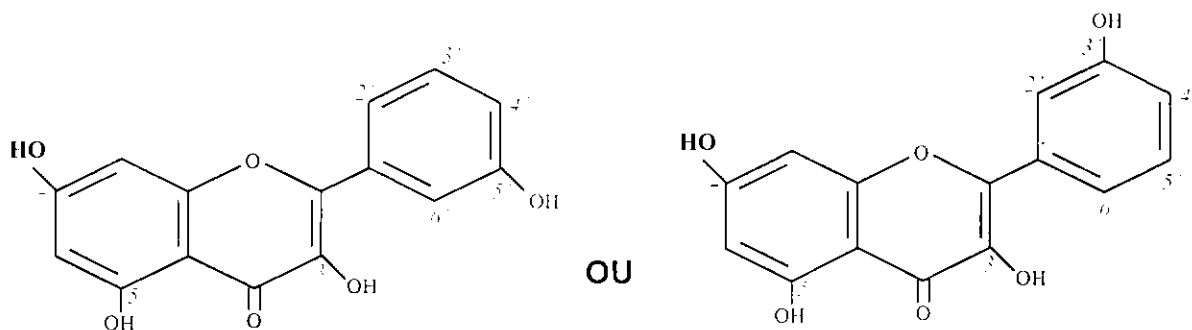
Tableau N°9 : Maxima et déplacements des spectres dans MeOH, MeOH + NaOAc, MeOH + NaOAc + H₃BO₃

Solvants + Réactifs	Maxima (nm)		Déplacements (nm)		Interprétation
	Bande I	Bande II	Bande I	Bande II	
MeOH	371	271			
MeOH + NaOAc	376	269	+5	-2	Effet bathochrome de la BI. Présence OH libre en 7.
MeOH + NaOAc+H ₃ BO ₃	379	269	+8	-2	Effet bathochrome de la BI. Présence du système orthodihydroxylé.

Conclusion :

Présence de OH libre en 7

Présence du système orthodihydroxylé sur le noyau B.



Extraction de la quercétine à partir des feuilles de *Sclerocarya birrea*

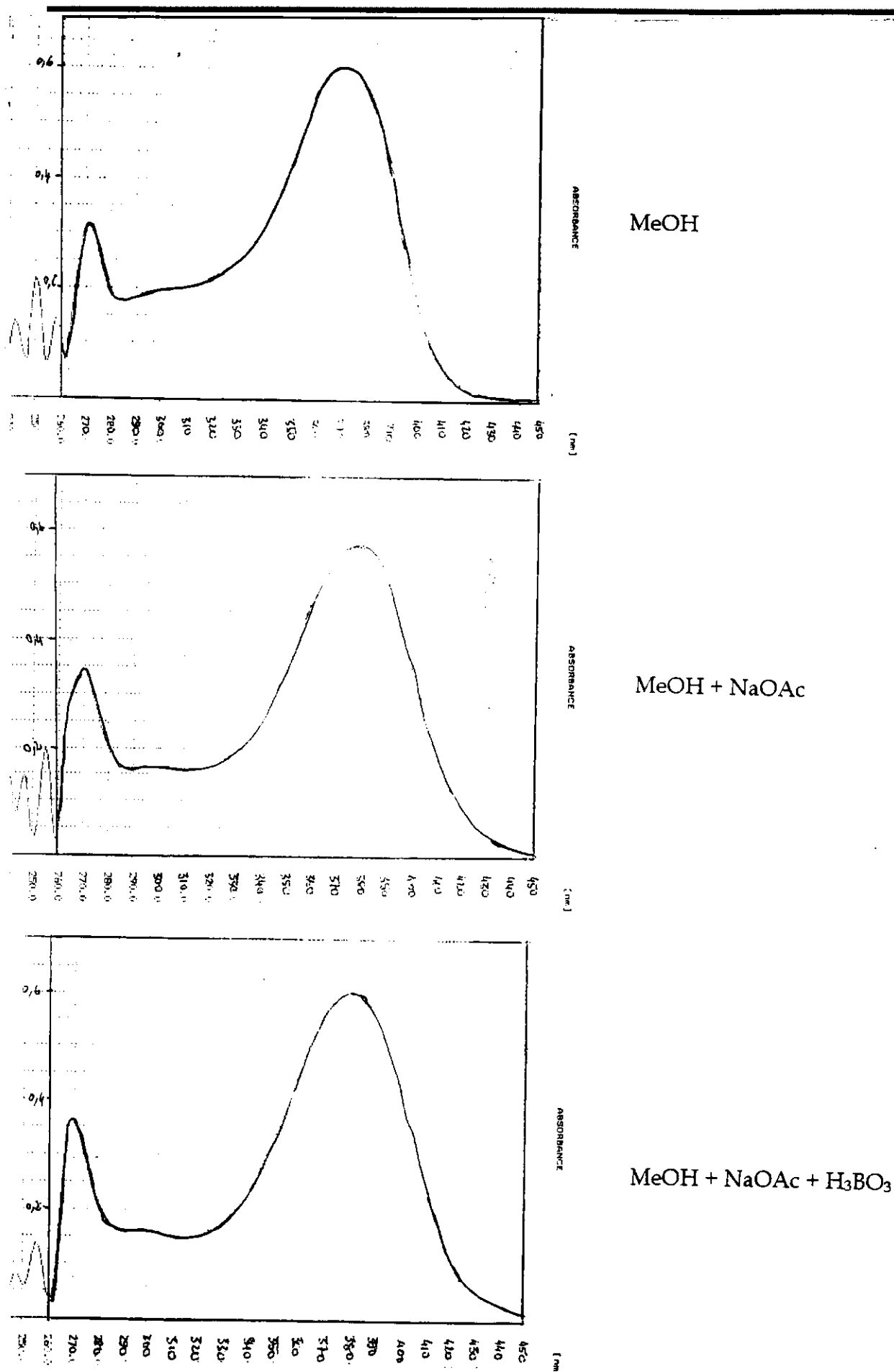


Figure N°4 : Spectre de la Quercétine dissoute dans :

3. DETERMINATION DE LA SUBSTITUTION DE L'HYDROXYLE EN 4'

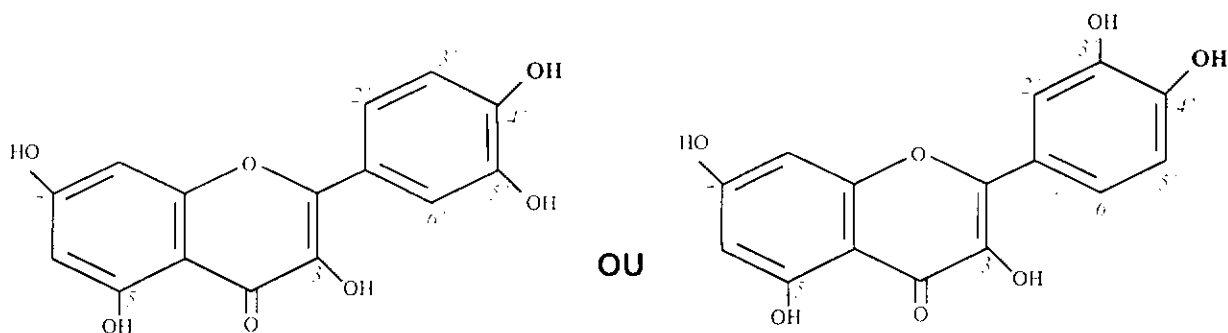
La figure 5 représente le spectre UV de la quercétine dissoute dans le méthanol, puis en présence de soude NaOH.

Tableau N°10 : Maxima et déplacements des spectres dans le MeOH et MeOH + NaOH.

Solvants + Réactifs	Maxima (nm)		Déplacements (nm)		Interprétation
	Bande I	Bande II	Bande I	Bande II	
MeOH	371	271			
MeOH + NaOH	395	278	+24	+7	Effet bathochrome de la BI. Présence de OH libre en 4'.

Conclusion :

Présence de OH libre en 4'.



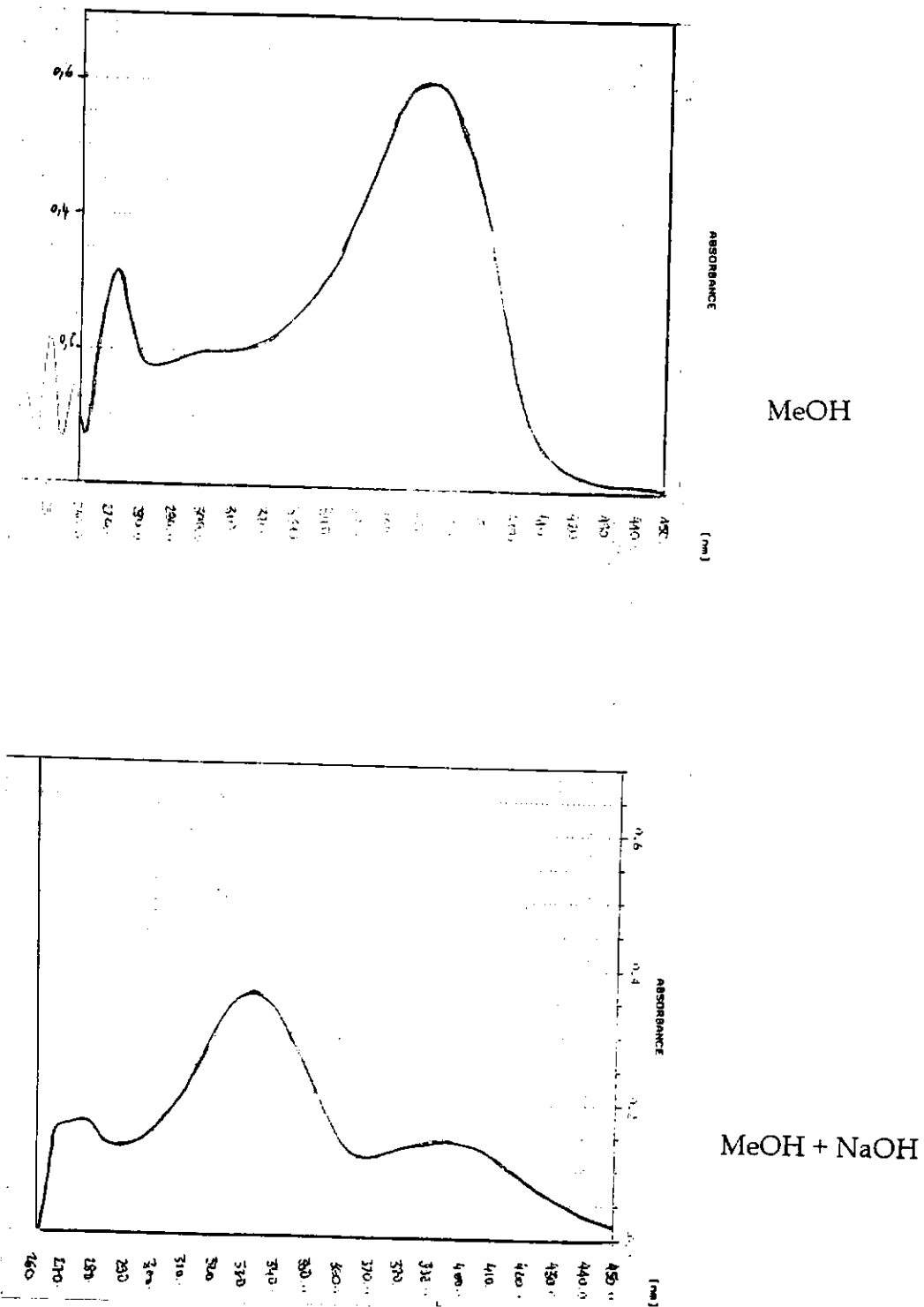
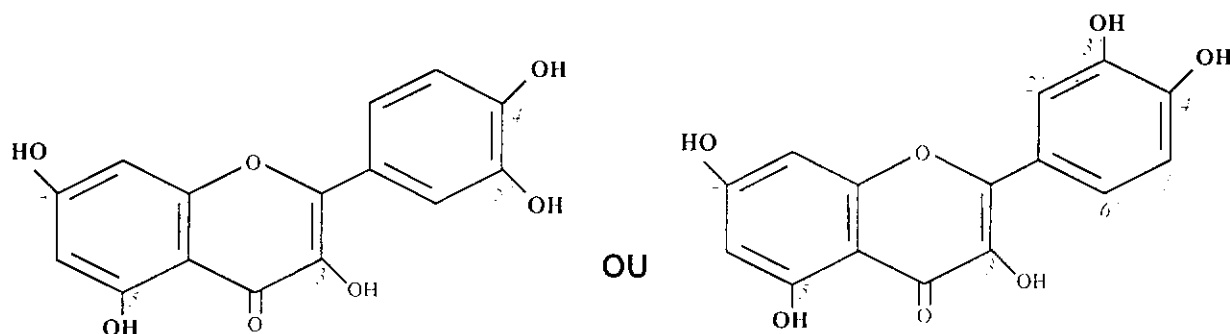


Figure N°5 : Spectre de la Quercétine

Tableau N°11: Récapitulatif des maxima d'absorption et déplacement dans l'UV de la Quercétine dissoute dans le méthanol.

Solvants+ Réactifs	Bande I (nm)	Bande II (nm)	Déplacement (nm)	Interprétation
MeOH	371	271	---	Flavonol
MeOH + AlCl ₃	444	271	BI:Bathochrome de 73 nm BII:0	Présence de OH libre en 5
MeOH + AlCl ₃ + HCl	428	262	BI:Hypsochrome de 16 nm BII:Hypsochrome de 9 nm	Présence d'un système orthodihydroxylé sur noyau B
MeOH + NaOAc	376	269	BI:Bathochrome de 5 nm BII:Hypsochrome de 2 nm	Présence de OH libre en 7
MeOH + NaOAc + H ₃ BO ₃	379	269	BI:Bathochrome de 8 nm BII:Hypsochrome de 2nm	Présence d'un système orthodihydroxylé sur le noyau B
MeOH + NaOH	395	278	BI:Bathochrome de 24 nm BII:Bathochrome de 7 nm	Présence de OH libre en 4'

Structure finale de la Quercétine :



VI. SPECTROPHOTOMETRIE IR

Spectrophotométrie dans l'Infrarouge (IR)

Les mesures spectrophotométriques dans l'IR sont principalement utilisées pour l'identification, en effet le spectre IR d'un corps est son empreinte digitale.

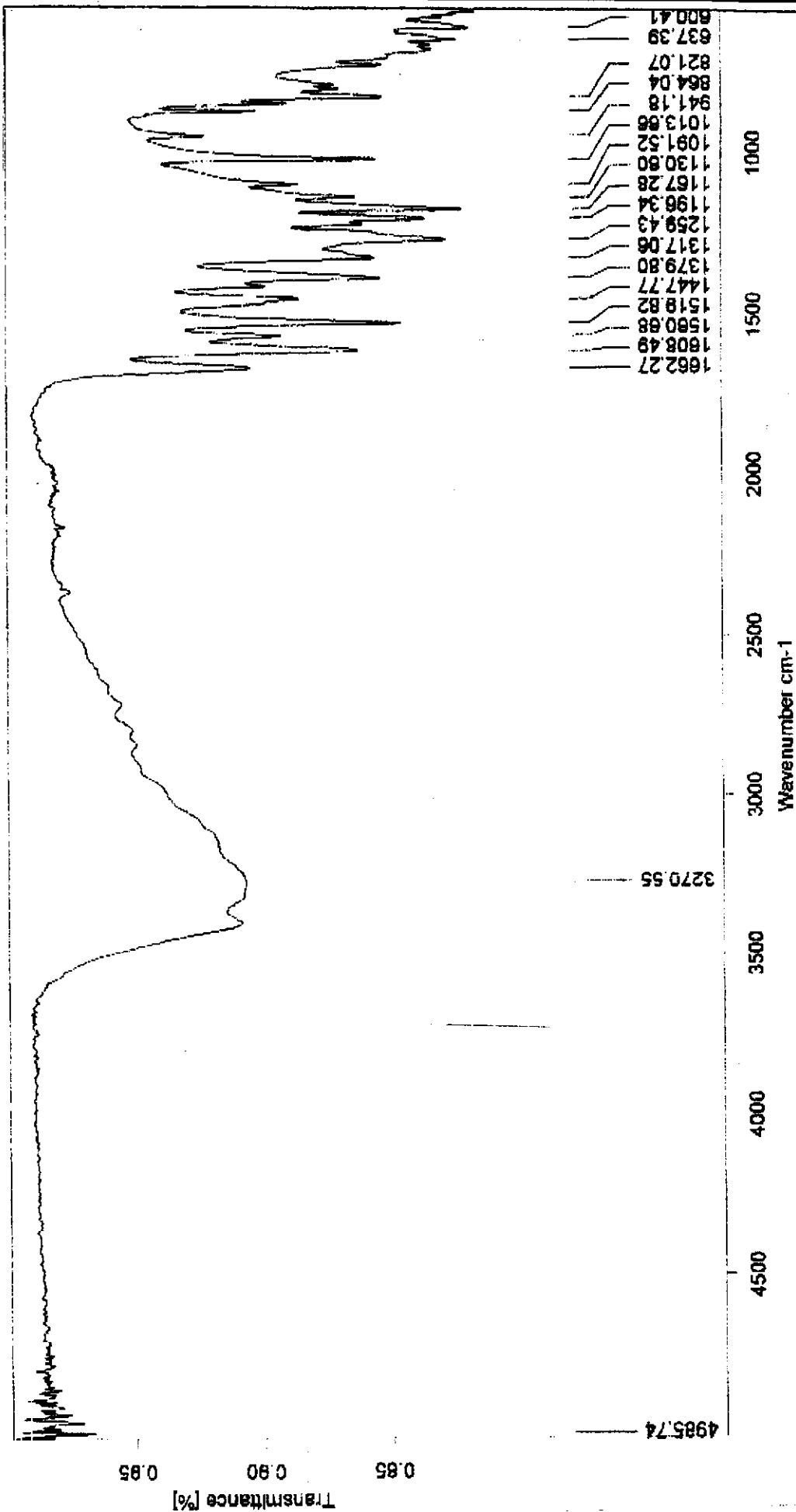
Le spectre d'absorption dans l'IR est obtenu sur un spectrophotomètre SHIMADZU Corporation de type Chart 200-91527 après pastillage dans le Bromure de Potassium (KBr) totalement déshydraté.

Tableau N°12: Les pics caractéristiques dans l'IR

Position des groupements	Bandes (cm ⁻¹)	Références
H	3600, 3436	BELLAMY (1957)
3-OH	3350-3250 (prononcé)	GOTTLIEB (1975)
5-OH	3000-2500 (faible)	GOTTLIEB (1975)
7-OH	3200-3100 (prononcé)	GOTTLIEB (1975)
4'-OH	3450-3350 (prononcé)	GOTTLIEB (1975)
3,5-OH	1640	GOTTLIEB (1975)
3-OH, 5-Ome	1616	GOTTLIEB (1975)
C=O	1744	GOTTLIEB (1975)

Notre IR a donné les pics caractéristiques suivants :
3408,0(4'OH) ; 1744 (CO).

Figure N°6 : Spectre IR du Quercétol



Echantillon : quercetol

Gamme spectrale : 4999.06 - 549.665

Mesuré le : 13/11/2000

Technique :

Instrument : VECTOR22

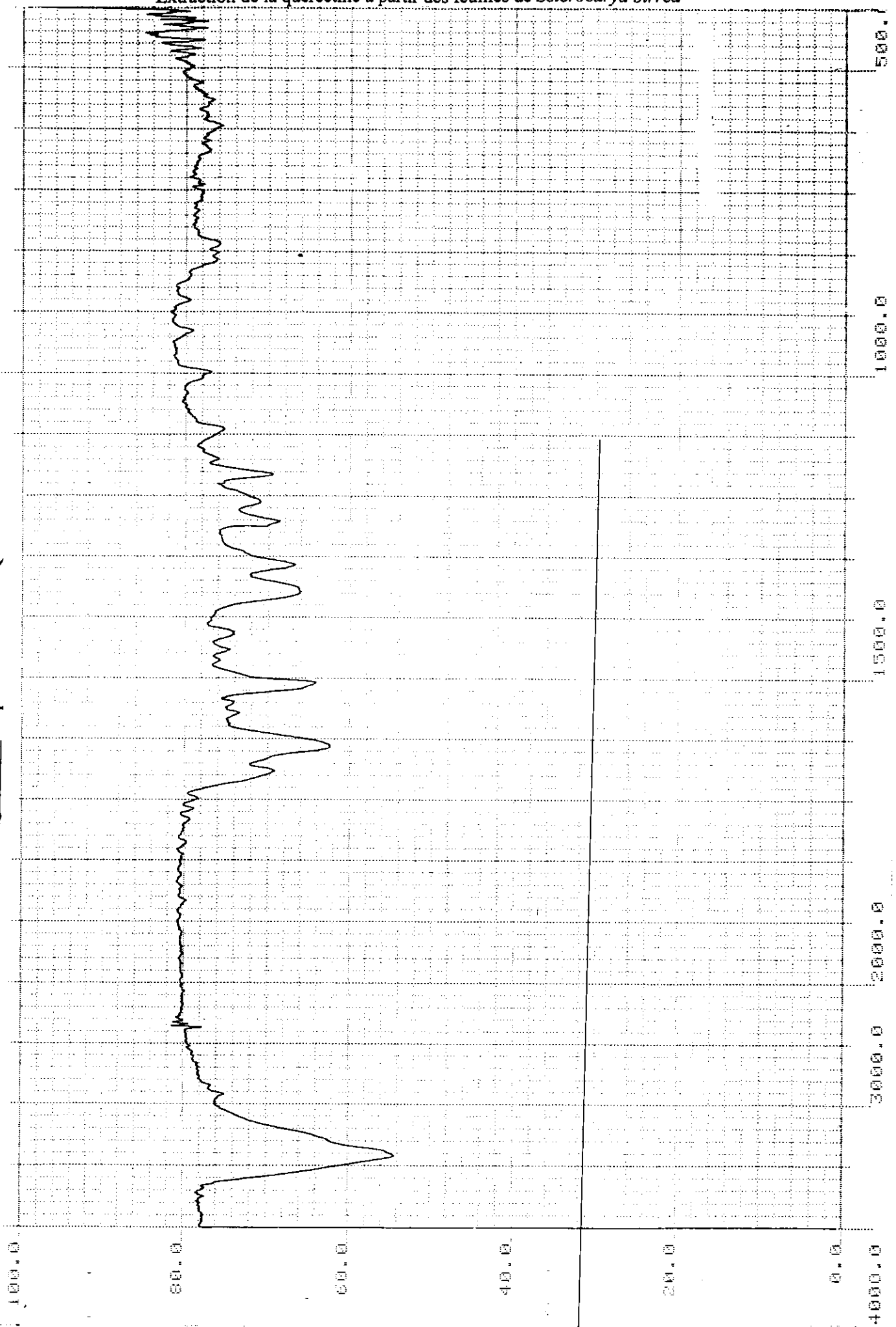
Nbr de Scans : 16

Résolution : 4

Nom du Fichier: QUERCETOL.2 dans D:\DATA\ID5

Extraction de la quercétine à partir des feuilles de *Sclerocarya birrea*

Figure N°7 : Spectre IR de la Quercétine.



COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

Notre étude qui avait pour objectif de contribuer à la recherche sur les antidiabétiques de la pharmacopée traditionnelle malienne par le contrôle de qualité de la matière première, en vue de la production d'un MTA à action hypoglycémiante sûre, efficace et accessible; nous a permis de procéder à l'extraction, à l'isolement et au dosage de la quercétine à partir des feuilles de *Sclerocarya birrea*.

Dans les recherches, nous avons passé en revue un grand nombre de données bibliographiques sur la quercétine. Il ressort de cette littérature un grand intérêt pour ce flavonoïde très répandu dans le monde végétal.

En effet, la quercétine joue un rôle important dans notre santé, et constitue 63 % de la consommation de flavonoïdes contenus dans beaucoup d'aliments.

Elle est douée de nombreuses propriétés pharmacologiques dont l'activité antioxydante, anticancérigène, des effets sur les maladies cardio-vasculaires, le système immunitaire. En général, la consommation de flavonoïdes, et de quercétine en particulier, est inversement proportionnelle à la fréquence des infarctus du myocarde.

Cependant, la quercétine possède des propriétés mutagènes mais pas cancérigènes. Sa toxicité n'apparaît qu'à fortes doses (1900mg/kg par voie intrapéritonéale) provoquant des lésions au niveau rénal et un retard de croissance chez les rats[17].

La littérature scientifique nous a également permis de passer en revue les données botaniques, chimiques, pharmacologiques et les utilisations en MT de *Sclerocarya birrea*.

Nos études expérimentales ont permis, après extraction des substances polyphénoliques de la drogue par des solvants appropriés, de doser les flavonoïdes et les tanins, de procéder à un fractionnement par la séparation liquide – liquide, de faire des fractionnements par chromatographie sur colonne, de contrôler la qualité par chromatographie sur couche mince des fractions et d'isoler la quercétine à partir de certaines fractions obtenues de l'extrait aqueux de départ.

La confirmation de l'identité de la quercétine a été ensuite faite par la CCM et par les spectrophotométries UV et IR.

Les extraits des feuilles de *Sclerocarya birrea* ont été séparés par le fractionnement liquide – liquide et par chromatographie sur colonne de gel de silice avec différents éluants pour aboutir à des fractions riches en flavonoïdes.

A l'aide de la chromatographie sur colonne, nous avons pu suivre les différentes phases de purification de ces fractions. Il a fallu trois colonnes successives pour aboutir à une quercétine pure.

C'est ainsi que la CCM de contrôle a donné un chromatogramme qualitatif où on passe de trois taches (quercétine et impuretés) pour l'échantillon commercial utilisé comme témoin à une tache (quercétine pure).

Même si la chromatographie sur colonne est une méthode non coûteuse et surtout accessible pour nos pays, les différents passages que nous avons dû faire, risquent de jouer sur le rendement de la purification. Il serait mieux d'effectuer une telle purification avec la HPLC qui utilise les colonnes RP-18 ou RP-8 [7].

Pour un contrôle de qualité simple, on pourra utiliser la sélectivité des solvants de polarité croissante par séparation liquide – liquide des constituants de la drogue et de passer ensuite à la CCM.

La CCM a permis dans un premier temps, de nous rendre compte de la richesse des extraits de départ et de contrôler les différentes fractions résultant de chromatographie sur colonne.

Aussi, elle oriente sur la nature du groupe chimique par la fluorescence jaune obtenue à l'UV (366 nm) avant et après révélation par le réactif citroborique.

C'est ainsi que nous avons réuni les fractions identiques ayant une forte fluorescence jaune qui indique la présence de flavonoïdes.

La CCM ainsi que les spectrophotométries UV et IR, ont également permis de vérifier et de confirmer l'identité de la quercétine.

Notre R_f 0,86 dans le BAW (40-10-50/v-v) est différent de celui de LE LOUS, MAJOIE [54] qui ont obtenu 0,80 dans le Butanol acétique de Partridge et HARBORNE [35] qui a trouvé 0,64 dans le BAW (40-10-50/v-v).

Avec la spectrophotométrie UV, nous avons eu des maxima de 371 et 271 nm dans le méthanol, caractéristiques de la quercétine.

Les déterminations des substituants des hydroxyles et la présence de systèmes orthodihydroxylés sur le noyau B ont permis de certifier la présence de OH en 4', 5, 7 et de systèmes orthodihydroxylés sur le noyau B (3' ou 5').

Les pics donnés par l'IR révèlent la présence de ces hydroxyles et de la double liaison C=O.

CONCLUSION

La valorisation de la Médecine Traditionnelle Africaine passe aussi par la recherche de substances chimiques contenues dans les plantes qui entrent dans la composition de médicaments de nos tradithérapeutes.

Dans le cas des feuilles de *Sclerocarya birrea*, utilisées dans le traitement traditionnel du diabète et pour la production du MTA « Diabétisane », la connaissance d'un de ses principes actifs, la quercétine, pourrait être utile pour la détermination d'une méthode efficace de contrôle de qualité.

Les résultats de nos travaux nous ont ainsi permis de définir une méthode de contrôle de qualité des feuilles de *Sclerocarya birrea* par la CCM à travers la détermination de son titre en quercétine, par dosage au spectrophotomètre UV et par caractérisation des groupes fonctionnels de la quercétine par IR.

En effet, pour une pathologie aussi délicate comme le diabète, il est très important de pouvoir déterminer, dans les drogues utilisées, la teneur en principes actifs responsables de l'activité hypoglycémiante.

Nous espérons avoir contribué à l'amélioration de la sécurité et de l'efficacité dans l'utilisation du MTA « Diabétisane » par un contrôle de qualité simple, à travers le dosage d'un de ses principes actifs, la quercétine, qui possède, avec d'autres substances polyphénoliques présentes dans la plante, des activités biologiques intéressantes dans le traitement du diabète.

Vu l'omniprésence de la quercétine dans bon nombre de plantes africaines et son importance dans la thérapeutique, dans l'alimentation et dans le domaine pharmaceutique, il serait aussi avantageux de procéder à des extractions de la quercétine à partir des plantes locales avec les moyens que nous disposons dans nos laboratoires.

En effet, les résultats de nos recherches ont démontré que les feuilles de *Sclerocarya birrea* peuvent être utilisées comme source de quercétine pure, utile pour l'industrie pharmaceutique mais aussi comme substance témoin dans le domaine de la recherche scientifique sur les plantes à flavonoïdes.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABDEL RAHMAN AHY. (1985) Les flavonoïdes des graines de coton et d'arachide comme antioxygènes. *Rivista italiana delle Sostanze grasse* .Vol. 62 ;No. 3 ; PP. 147 – 149.
2. ADJANOHOUN , E – J et al (1985) Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali, ACCT, Paris.
3. ARAVINDAKSHAN M., CHAUHAN PS., SUNDARAM K.(1985) Studies on germinal effects of quercetin, a naturally occurring flavonoid. *Muta Res.* ;144 ;PP.99 – 106.
4. BALANSARD G ; BOUFEK K (1975) Drogues végétales à activité hypoglycémiant. Lyon Pharmacie.
5. BELGUENDOZ L., DURAND G.(1997) Effets protecteurs des polyphénols du vin contre la modification oxydative des lipoprotéines plasmatiques. Thèse Université de Paris XI ; 1997 – 07 ; 222 P.
6. BOKKENHEUSER VD, SCHOLES JV, KLINGER MM, WINTER J.(1991) Natural anticarcinogens. *Arch. Chir. Scand. Suppl.* ; 562 : 71-76.
7. BRASSEUR T., WAUTERS J-N., ANGENOT L.(1988.) Dosage densitométrique d'hétérosides de la quercétine dans les extraits végétaux. *Journal of chromatographie*, 437, pp. 260-264 Elsevier Sciences Publishers.B.V.
8. BRAZIER J-L.(1974) La spectroscopie infrarouge et ses applications pharmaceutiques Lyon Pharmaceutique, 25, 6, 639-649.
9. CAIRNS WHITTERN C., MILLER EE., PRATT DE.(1984) Les flavonoïdes de coton comme antioxydants des lipides. *Journal of the American oil chemists' society* ; Vol. 61 ; No. 6 ; PP. 1075 – 1078.
10. CHAUDHRY PS., CABRERA J., JULIANI HR., VARMA SD. (1983) Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. *Biochemical pharmacology* ; Vol.32 ; No. 13 ; PP. 1995 – 1998.
11. COULIBALY , B; COULIBALY , K; KEITA, A; (1989) Etude de l'activité antihyperglycémiant d'une préparation utilisée dans le traitement du diabète en médecine traditionnelle au Mali *Bull. Méd. Pharm. Trad.* , vol 3 n° 1 ; P 25-29
12. COULIBALY . B. (1988) Contribution à l'étude des remèdes traditionnels utilisés dans le traitement du diabète au Mali . Thèse Pharmacie. ENMP Bamako Mali.

13. CREBELLI R., AQUILINA G., FALCONE E., CARERE A.(1987) Urinary and faecal mutagenicity in Sprague- Dawley rats dosed with the food mutagens quercetin and rutin. *Food and Chemical Toxicology*; Vol. 25 ; No. 1 ; PP.9 – 15.
14. DAO. A (1998) Etudes botaniques et phytochimiques de *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hochst (Anacardiaceae) Thèse pharmacie FMPOS, Bamako Mali.
15. DELLA LOGGIA R., RAGAZZI E., TUBARO A., FASSINA G., VERTUA R. (1988) Anti- inflammatory activity of benzopyrones that are inhibitors of cyclo- and lipo-oxygenase. *Pharmacological Research Communications* ; Vol. 20 ; No. Suppl. 5 ;PP. 91 – 94.
16. DRAGSTED LO, STRUBE M., LETH T.(1997) Dietary levels of plant phenols and other non-nutritive components: Could they prevent cancer ? *Eur J Cancer Prev.* ; 6 ;PP. 522-528.
17. DUNNICK JK, HAILEY JR. (1992) Toxicity and carcinogenicity studies of quercetin, a naturel component of foods. *Fundam Appl Toxicol*, 19 : PP.423- 431.
18. ELATTAR TMA, VIRJI AS. (1999) The effect of red wine and its components on growth and proliferation of human oral squamous carcinoma cells. *Anticancer research* . Vol.19 ; No. 6B ; PP. 5407-5414.
19. ENCYCLOPEDIE MEDICALE DE L'AFRIQUE (1986) *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hochst Anacardiaceae " Tome 4. Larousse Afrique ; P 1071
20. ENNIS M., TRUNEH A., WHITE JR., PEARCE FL.(198) Inhibition of histamine secretion from mast cells. *Nature*. College of London.Vol. 289 ; No. 5794 ; PP.186 – 187.
21. FARNSWORTH, N.R. et BINGEL, A.S., (1977) « Problems and prospects of discovering new drugs from higher plants by pharmacological screening », *New Natural products and plant Drugs with Pharmacological, Biological or therapeutical Activity* (Wagner H. et Wolff, P., eds), Springer Verlag, Berlin, pp.1-22.
22. FERRY DR, SMITH A, MALKHANDI J, FYFE DW, DE TAKATS PG, ANDERSON D. et al.(1996) Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin : Pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. *Clin Cancer Res*; 2 ; PP. 659-668.

23. FICARRA R., TOMMASINI S., FICARRA P., CARULLI M., MELARDI S., DI BELLA M.R., CALABRO M.L., DE PASQUALE R., GERMANO M.P., SANOGO R., CASUSCELLI F. (1997) Isolation e characterization di *Guiera senegalensis*. J.F. Gmel Actives principes. *Bolletino Chimico Farmaceutico*. Vol.136, 454-459.
24. FORMICA JV, REGELSON W. (1995) Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food and chemical toxicology*. Vol. 33 ; No.12 ; PP.1061- 1080.
25. FRIEDMAN M., SMITH GA. (1984) Inactivation of quercetin mutagenicity. *Food and chemical Toxicology*. Vol. 22 ; No. 7 ; PP.535 – 539.
26. GALVEZ . J . et al . (1992) (-) Epicatechin .S. galloyl ester : A secretagogue compound from. the Bark of *Sclerocarya birrea*. *Planta Medica* ; vol 58 ; p 174 – 175.
27. GALVEZ J; A . ZARZUELO . M. E. CRESPO ; M.P. UTRILLA AND J . JIMENEZ ; C. SPIESSENS AND P. DE WITTE (1991) Antidiarrhoic activity of *Sclerocarya birrea* Bark Extract and it's active tannin constituent in Rats, *Phytotherapy Research*; vol .5 ; P 276-278.
28. GALVEZ. J. M.E ; CRESPO AND A .ZARZUELO* P . de Witte AND C.SPIESSENS (1993) Pharmacological activity of a procyanidin isolated from. *Sclerocarya birrea* bark : Antidiarrhoeal activity and Affects on Isolated Guinea – piglleum, *Phytotherapy Research*, vol 7 ; P 25-28.
29. GASPAR J., LAIRES A., MONTEIRO M., LAUREANO O., RAMOS E., RUEFF J.- (1993) Quercetin and the mutagenicity of wines. *Mutagenesis* ; 8 ; PP. 51 – 55.
30. GERASHCHENKO GI, BANDYUKOVA VA, KOMPANTSEV VA, ROCHCHIN YU V, KARPOVA W. (1972) Action biologique de la quercétine et de ses glucosides. *Périodique LA* ;Vol. 15 ; No. 6 ; PP. 35-39.
31. GROSS M., PFEIFFER M., MARTINI M., CAMPBELL D., SLAVIN J., POTTER J.- (1996) The quantitation of metabolites of quercetin flavonols in human urine. *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* ; 5 ; PP.711 – 720.
32. GUEYE, M (1973) Contribution à l'étude pharmacodynamique d'une plante antidiabétique (*Sclerocarya birrea*) Thèse doctorat Pharmacie; Dakar Sénégal.

33. GUGLER R., LESCHIK M., DENGLER HJ. (1975) Disposition of quercetin in man after single oral and intravenous doses. *Eur. J. Pharmacol.*; 9 ; PP. 229-234.
34. HAIDARA T. (1999) Etude botanique, phytochimique et pharmacologique de trois plantes de la pharmacopée malienne indiquées dans le traitement du diabète. Thèse Pharmacie FMPOS, Bamako Mali.
35. HARBORNE J-B. (1984) *Phytochemical Methods A Guide to modern techniques of plants analysis*. Second edition- London- New York. Chapman and Hall.
36. HERRMAN K. (1976) Flavonols and flavones in food plants. A review. *J. Food Technol.*; 11 ; PP. 433- 448.
37. HERTOGL MGL, FESKENS EJM, HOLLMAN PCH, KATAN MB, KROMHOUT D. (1993) Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease : the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 1993a ; 342 ; PP.1007-1011.
38. HUI CST, HOWELL SL. (1985) Effects of flavonoids on insulin secretion and Ca^{2+} handling in rat islets of Langerhans. *Journal of Endocrinology*. Vol. 107 ; No. 1 ; PP.1 – 8.
39. HOLLMAN PCH, DE VRIES JHM, VAN LEEUWEN SD, MENGELERS MJB, KATAN MB. (1995) Absorption of dietary quercetin glucosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *American Journal of Clinical Nutrition* ; Vol. 62 ; No. 6 ; PP.1276-1282.
40. HOSAKA S., HIRONO I.- (1981) Carcinogenicity test of quercetin by Pulmonary-adenoma bioassay in strain a mice. *GANN*. University of Tokyo. Vol. 72 ; No. 2 ; PP.327 – 328.
41. IARC Monographs .-(1983) Quercetin. 31 ; PP. 213 – 229.
42. IIO M., MORIYAMA A., MATSUMOTO Y., TAKAKI N., FUKUMOTO M. (1985) Inhibition , par les flavonoïdes, de la xanthine oxydase. *Agricultural and biological chemistry*. Vol. 49 ; No. 7 ; PP.2173 – 2176.
43. INDEX MERCK (1989) eleventh edition, Published by MERCK and Co., Inc. Rahway, N.J., USA.
44. ITO N., HAGIWARA A., TAMANOS , KAGAWA M., SHIBATA M. et al. (1989) Lack of carcinogenicity of quercetin in F344/DU Crj Rats. *Jpn J Cancer Res* ; 80 ; pp.317 – 325.

45. KEITA A.- (1986) Recherches phytochimiques et pharmacologiques sur une préparation utilisant *Vepris heterophylla* R. Let.(Rutaceae) et *Cymbopogon giganteus* Chiov.(Poaceae) comme antihypertenseur en médecine traditionnelle au Mali. Thèse- Doctorat de 3eme cycle – Université Paul Sabatier de Toulouse (Sciences).
46. KEITA A., (1986) Constituants chimiques des inflorescences sèches de *Cymbopogon giganteus* Chiovenda (Poceae) Thèse Doct. 3ème cycle Pharmacognosie Université Paul Sabatier. Toulouse, France.
47. KERHARO . J et Adam (1974) Pharmacopée sénégalaise traditionnelle, plantes médicinales et toxiques. Vigot et frères éd .
48. KHALID SA, FAROUK A, GEARY TG, JENSEN JB.- (1986) Potential antimalarial candidates from african plants : an in vitro approach using *Plasmodium falciparum*. *Journal of ethnopharmacology*. Vol. 15 ; No. 2 ; PP. 201 – 209.
49. KUHNAU J. (1976) The Flavonoids. A class of semi-essential food components : Their role in human nutrition. *World Rev Nutr Diet* ; 24 ; PP.117-191.
50. KURT R. (1971) Chromatographie sur couche mince traduit de l'allemand par N'Guyen. Dan – Tam. 2ème édition revue et augmentée. Gauthiers Villars.
51. LAUGHTON MJ., HALLIWELL B., EVANS PJ., HOULT JRS. (1989) Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin :effects on lipid peroxidation, hydroxyl radical generation and bleomycin-dependent damage to DNA. *Biochemical pharmacology*. Vol.38 ; No. 17 ; PP.2859 – 2865.
52. LAURENS A (1976) Sur des Anacardiées africaines et malgaches : *Poupartia birrea* , *Poupartia caffra* et *Anacardium occidentale* (Etude particulière des polyphénols des feuilles). Thèse doct. Pharm., Paris.
53. LAURENS A ; GIONO BABBER P ; MOSSER J ; SYLLO O ; GIONO BABBER H (1977) Activités antidiabétiques d'extraits de feuilles de *Poupartia birrea* (Hochst) Avlor. Annales pharmaceutiques françaises, Vol 42 . n°6 ; P 547-551.
54. LE LOUS J., MAJOIE B., MORONIERE J-L, WULFERT E.(1975) Etude des flavonoides de *Ribes nigrum*. Mémoire présenté à l'Académie de Pharmacie, séance du 4 Juin 1975.
55. MAIGA A A (1984) Effets d'extraits de rameaux feuilles de *Sclerocarya birrea* sur la glycémie chez le lapin en comparaison avec l'effet de l'insuline. Mémoire de Biologie ; ENSUP. Bamako

56. MALGRAS D. (1992) " Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes " Editions Kartala et ACCT.
57. MARBRY T.J., MARKHAM K.R., THOMAS M.B.- (1970) The systematic identification of flavonoids. Springer Verlag. Berlin, New-York.
58. MARTIN MJ, MOTILVA V, ALARCON DE LA LASTRA C.(1993) Quercetin and naringenin; effects on ulcer formation and gastric secretion in rats. *Phytotherapy research*. Vol. 7 ; No. 2 ; PP. 150 – 153.
59. MEI ING CHUNG, KIM HONG GAN, CHUN NAN LIN, FENG NIENKO, CHE MING TENG. (1993) Antiplatelet effects and vasorelaxing action of some constituents of formosan plants. *Journal of natural products*. Vol. 56 ; No. 6 ; PP. 929 – 934.
60. MOSSER J., TROUILLOUD M., FAURAN F. et CROS P. Pharmacologie des flavonoïdes : aspects pharmacocinétiques. Université Paul Sabatier – UFR des Sciences Pharmaceutiques. Laboratoire de Pharmacodynamie II – Toulouse.
61. NTP Technical Report on the toxicology and carcinogenesis of quercetin in F344/N rats (1992) NIH Publication No.91-3140. USDHHS, PHS, Research Triangle Park, North Carolina, USA.
62. OLIFSON LE, OSADCHAYA ND, CHAJKOVSKAYA EV, SEMCHENKO YU P.(1978) nouveau colorant alimentaire à partir de l'enveloppe de la graine de sorgho et sa caractéristique toxicologique. Périodique LA ;No 1 ; PP. 76 – 80.
63. O.M.S.(1978) Conférence Internationale sur SSP Alma- Ata, URSS, 6-12 Septembre 1978.
64. PARIS R.R, NOTHIS A.- (1970) « Plantes à dérivés phénoliques. » Plantes médicinales et Phytothérapie, vol.4 n°1, pp.63-74.
65. PATHAK D., PATHAK K., SINGLA A.K. (1990) Flavonoids as medicinal agents Recents advances. Departement of Pharmaceutical Sciences, Panjab University.
66. PHARMACOPEE AFRICAINE (1988) Méthodes générales d'analyses. 1ère édition vol.2 Lagos-Nigéria.OUA.
67. RASTOGI PB, LEVIN RE. (1987) Induction of sperm abnormalities in mice by quercetin. *Environ Mutagen* ; 9 ; PP.79 – 86.

68. REMESY C., MANACH C., DEMIGNE C., TEXIER O., REGERAT F.- (1996) Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Médecine et Nutrition*. Vol. 32 ;No. 1 ; PP. 17 – 27.
69. RICE-EVANS CA, PACKER L. – (1998) *Flavonoids in Health and Disease*. New York : Marcel Dekker.
70. ROMISCH H.- (1960) « Bestimmung des Rutingehalts in pflanzene-xtrakten und preparation mit alumin clonid in mit eisessig pyridin gepuffneter losung » *Die Pharmazie* 15 pp. 33-38.
71. SILVERSTEIN R.M., BASLER G.C., MORILL T.C. (1998) *Identification spectrométriques de composés organiques Traduction de la 5ème édition américaine par Emmanuel Larue. Revision scientifique par André Schanck. De Boeck. Université.*
72. STAHL E.- (1974) *Analyse chromatographique et microscopie des drogues*. Traduction de M. Denayer – Tournay. *Entreprise moderne d'édition*.
73. STARVIC B. (1994) Quercetin in our diet : From potent mutagen to probable anticarcinogen *Clin biochem* ; 27 ; PP.245 – 248.
74. TAKEDA N., YASUI Y. (1985) Identification des substances mutagènes dans les pigments de roselle, de baie de sureau et dans le colorant jaune du safran. *Agricultural and biological chemistry* Vol 49 ; No. 6 ; PP.1851- 1852.
75. TESSOU K., SESS, D., ADRA A. (1995) Intérêt et place de la Médecine traditionnelle dans la traitement du diabète sucré - résultats préliminaires *Pharm. Méd. Trad.* pp. 19-28. Dans *Actes du VIIIe colloque du Conseil Africain et Malgache pour l'Enseignement Supérieur (CAMES)* La presse de l'U B Lomé Togo 1995.
76. UENO I., NAKANO N., HIRONO I.- (1982) Metabolic fate of [14C] quercetin in the ACI rat. *Jpn J. Exp Med.* ; 53 ; PP.41-50.
77. WILLHITE CC.- (1982) Teratogenic potential of quercetin in the rat *Food Chem Toxicol.*; Vol.20 ; No. 1 ;PP. 75 – 79.
78. XIE ML, LU Q, GU ZL.- (1996) Effect of quercetin on platelet agregation induced by oxyradicals. *Périodique LA*; Vol. 17 ; No. 4 ; PP. 334 - 336.
79. YANISHLIEVA NV, MARINOVA EM. Antioxidative action of some flavonoïde at ambients and high temperatures. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. Vol. 73 ; No. 10 ; PP.445 – 449.

80. Banque de données. Documents INIST.

ANNEXE

Quelques plantes-sources de quercétine [80]

Plantes	Familles
<i>Abies alba</i> Mill	Abietaceae
<i>Picea excelsa</i> (Lam) LK	Abietaceae
<i>Pinus contorta</i>	Abietaceae
<i>Rhus salicifolia</i>	Anacardiaceae
<i>Ilex colchica</i> P.	Aquifoliaceae
<i>Asclepias syriaca</i>	Asclepiadaceae
<i>Cynanchum vincetoxicum</i> L. Pers. IX	Asclepiadaceae
<i>Tecomella undulata</i>	Bignoniaceae
<i>Campanula glomerata</i>	Campanulaceae
<i>Capparis spinosa</i>	Capparidaceae
<i>Viburnum rhytidophyllum</i> Hemsl	Caprifoliaceae
<i>Casuarina equisetifolia</i>	Casuarinacées
<i>Catha edulis</i>	Celastraceae
<i>Celastrus gemmata</i> Loes	Celastraceae
<i>Celastrus loeseneri</i> Rehd. et Wills	Celastraceae
<i>Celastrus rugosa</i> Rehd. et Wills	Celastraceae
<i>Celastrus scandens</i> L.	Celastraceae
<i>Licania carii</i>	Chrysobalanaceae
<i>Licania pyrifolia</i>	Chrysobalanaceae
<i>Cistus hirsutus</i> Lam	Cistacées
<i>Cistus populifolius</i> L.	Cistacées
<i>Cichorium pumilum</i> Jacq	Composée
<i>Lactuca sativa</i> L.	Composée
<i>Onopordon alexandrinum</i>	Composée
<i>Helichrysum orientale</i>	Composées
<i>Helichrysum plicatum</i> DC	Composées
<i>Inula viscosa</i>	Composées
<i>Jasonia tuberosa</i>	Composées
<i>Tanacetum vulgare</i>	Composées
<i>Tessaria dodoneifolia</i> (Hook et Am.) Cabr.	Composées
<i>Baccharis trimera</i>	Compositae
<i>Bidens pilosa</i>	Compositae
<i>Cynara scolymus</i> L.	Compositae
<i>Doronicum grandiflorum</i> Lam	Compositae
<i>Tagetes campanulata</i>	Compositae
<i>Tagetes elliptica</i>	Compositae
<i>Cuscuta epithimum</i> Murr	Convolvulaceae

Plantes	Familles
<i>Cornus canadensis</i> L.	Cornaceae
<i>Brassica oleracea</i>	Cruciferae
<i>Erysimum diffusum</i>	Cruciferae
<i>Cephalaria procera</i>	Dipsacaceae
<i>Ephedra alata</i>	Ephedraceae
<i>Equisetum silvaticum</i>	Equisetacées
<i>Arctostaphylos uva-ursi</i>	Ericaceae
<i>Calluna vulgaris</i>	Ericaceae
<i>Enkianthus nudipes</i>	Ericaceae
<i>Rhododendron ellipticum</i>	Ericaceae
<i>Rhododendron linealifolium</i>	Ericaceae
<i>Vaccinium myrtillus</i>	Ericaceae
<i>Andrachne rotundifolia</i>	Euphorbiaceae
<i>Bridelia ferruginea</i>	Euphorbiaceae
<i>Euphorbia geniculata</i>	Euphorbiaceae
<i>Euphorbia granulata</i>	Euphorbiaceae
<i>Euphorbia lucida</i> W.K.	Euphorbiaceae
<i>Euphorbia paralias</i> L.	Euphorbiaceae
<i>Euphorbia prostrata</i>	Euphorbiaceae
<i>Euphorbia sequieriana</i>	Euphorbiaceae
<i>Phyllanthus caroliniensis</i>	Euphorbiaceae
<i>Phyllanthus niruri</i> L.	Euphorbiaceae
<i>Phyllanthus orbiculatus</i> L. C Rich	Euphorbiaceae
<i>Phyllanthus sellowianus</i>	Euphorbiaceae
<i>Phyllanthus urinaria</i> L.	Euphorbiaceae
<i>Crotalaria juncea</i> Linn.	Fabaceae
<i>Tephrosia wallichii</i> Geartn	Fabaceae
<i>Nothofagus antarctica</i> (Forst.) Oerst.	Fagaceae
<i>Lepisorus ussuriensis</i>	Filicineae
<i>Woodsia montvidensis</i>	Filicineae
<i>Ginkgo biloba</i> L.	Ginkgoacées
<i>Larix gmelinii</i> (Rupr.) rupr . wood	Gymnospermae
<i>Pinus halepensis</i> mill.	Gymnospermae
<i>Pinus sylvestris</i> L.	Gymnospermae
<i>Pseudotsuga menziesii mirb</i> (Douglas)	Gymnospermae
<i>Coleus amboinicus</i>	Labiatae
<i>Thymus hirtus</i>	Labiatae
<i>Trifolium pratense</i>	Leguminosae
<i>Entada scandens</i> Benth	Leguminosae
<i>Acacia nilotica</i>	Leguminosae

Plantes	Familles
<i>Albizia lebbek</i>	Leguminosae
<i>Aspalathus linearis</i>	Leguminosae
<i>Cassia tora</i>	Leguminosae
<i>Dalbergia sericea</i>	Leguminosae
<i>Flemingia strobilifera</i>	Leguminosae
<i>Genista carinalis</i> GR SB	Leguminosae
<i>Lathyrus odoratus</i> L.	Leguminosae
<i>Lotus corniculatus</i>	Leguminosae
<i>Lotus tenuis</i>	Leguminosae
<i>Lygos raetum</i>	Leguminosae
<i>Oxytropis myriophylla</i> (Pall.)	Leguminosae
<i>Pisum sativum</i>	Leguminosae
<i>Pithecolobium dulce</i>	Leguminosae
<i>Trigonella occulta</i>	Leguminosae
<i>Allium cepa</i>	Liliaceae
<i>Convallaria maialis</i> L.	Liliaceae
<i>Convallaria majalis</i>	Liliaceae
<i>Tulipa gesneriana</i> L.	Liliaceae
<i>Smilax glabra</i> (Roxb)	Liliacées
<i>Strychnos variabilis</i>	Loganiaceae
<i>Ammannia coccinea</i>	Lythraceae
<i>Byrsonia verbascifolia</i>	Malpighiaceae
<i>Hibiscus mutabilis</i> F. Versicolor	Malvaceae
<i>Hibiscus esculentus</i>	Malvaceae
<i>Melia azedarach</i>	Meliaceae
<i>Soymida febrifuga</i>	Meliacées
<i>Psidium guajava</i> L.	Myrtaceae
<i>Eschscholtzia californica</i>	Papaveraceae
<i>Sophora japonica</i> L.	Papilionacées
<i>Pinus virginiana</i>	Pinaceae
<i>Calligonum comosum</i> L. Henry	Polygonaceae
<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench	Polygonaceae
<i>Persicaria lapathifolia</i>	Polygonaceae
<i>Polygonum nodosum</i>	Polygonaceae
<i>Polygonum viscosum</i>	Polygonaceae
<i>Lysimachia vulgaris</i>	Primulaceae
<i>Lomatia hirsute</i>	Proteaceae
<i>Anemone nemorosa</i> L.	Ranunculaceae
<i>Ranunculus biternatus</i>	Ranunculaceae
<i>Ranunculus pseudotrullifolius</i>	Ranunculaceae
<i>Ranunculus moyselei</i>	Ranunculaceae

Plantes	Familles
<i>Anemone hepatica</i> L.	Renonculacées
<i>Ceanothus americanus</i> L.	Rhamnaceae
<i>Rhamnus nakaharai</i>	Rhamnaceae
<i>Prunus persica</i> Batsch	Rosaceae
<i>Prunus cerasus</i>	Rosaceae
<i>Spirea bumaldi</i>	Rosaceae
<i>Alchemilla xanthochlora</i>	Rosaceae
<i>Dryas octopetala</i>	Rosaceae
<i>Laurocerasus officinalis</i> Roem	Rosaceae
<i>Prunus domestica</i>	Rosaceae
<i>Pyrus communis</i>	Rosaceae
<i>Rosa multiflora</i>	Rosaceae
<i>Rubus ulmifolius</i>	Rosaceae
<i>Sorbus aucuparia</i> L.	Rosaceae
<i>Cinchona officinalis</i>	Rubiaceae
<i>Galium cruciatum</i>	Rubiaceae
<i>Citrus aurantifolia</i>	Rutaceae
<i>Citrus sinensis</i>	Rutaceae
<i>Dodonea viscosa</i>	Sapindaceae
<i>Sapindus emarginatus</i>	Sapindaceae
<i>Chrysplenium tetrandrum</i>	Saxifragaceae
<i>Ribes nigrum</i>	Saxifragaceae
<i>Saxifrage stolonifera meerburg</i>	Saxifragaceae
<i>Tellima grandiflora</i>	Saxifragaceae
<i>Arlanthus glandulosa</i> Desf.	Simarubaceae
<i>Petunia "Mitchell"</i>	Solanaceae
<i>Thea sinensis</i>	Theaceae
<i>Corchorus olitorius</i> L.	Tiliaceae
<i>Tilia cordata</i>	Tiliaceae
<i>Anthriscus sylvestris</i>	Umbelliferae
<i>Centella asiatica</i>	Umbelliferae
<i>Heracleum mantegazzianum</i>	Umbelliferae
<i>Heracleum sphondilium</i> L.	Umbelliferae
<i>Hydrocotyle vulgaris</i>	Umbelliferae
<i>Peucedanum</i> L.genus	Umbelliferae
<i>Peucedanum ostruthium</i> L. Koch	Umbelliferae
<i>Boehmeria tricuspis makino</i> I.	Urticaceae
<i>Parietaria officinalis</i>	Urticaceae
<i>Parthenocissus tricuspidata</i>	Vitaceae
<i>Vitis vinifera</i>	Vitidaceae

Nom : IGNEGONGBA
Prénoms : Layébé Caroline
Titre de la Thèse : Extraction de la Quercétine à partir des feuilles de *Sclerocarya birrea* (A.Rich.) Hochst (Anacardiaceae).
Année : 2001
Ville de la soutenance : Bamako
Pays d'origine : Mali
Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Mali.
Secteur d'intérêt : Médecine Traditionnelle

Résumé : Ce travail porte sur l'extraction de la Quercétine à partir des feuilles *Sclerocarya birrea* (A.Rich.) Hochst. La littérature scientifique a permis de passer en revue les généralités sur la Quercétine et sur *Sclerocarya birrea* en ce qui concerne la botanique, la phytochimie, la pharmacologie et les usages en médecine traditionnelle ; l'auteur se familiarise avec les méthodes d'analyses chromatographiques permettant l'extraction. La teneur en flavonoïdes est de 1,24 % dans les feuilles de *S. birrea*. L'éther semble être le solvant le plus approprié pour l'extraction, car la fraction renferme de la quercétine qui a, ensuite, été comparée à une substance témoin. La quercétine isolée est identifiée par CCM, UV et IR.

Mots-clés : *Sclerocarya birrea* – Flavonoïdes – Quercétine – Contrôle de qualité - Diabète.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes Condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels ;

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.