

Etude des propriétés physicochimiques et de la qualité microbienne de matières premières à base d'écorces de tronc de *khaya senegalensis* A. Juss (Meliaceae) utilisées dans la production de crème et gel anti inflammatoires

[Study of the physicochemical properties and microbial quality of raw materials based on *khaya senegalensis* A. Juss (Meliaceae) used in the production of anti-inflammatory cream and gel]

Salfo Ouédraogo^{1,2}, Jules Yoda¹, Lazare Belemnaba¹, Geoffroy G. Ouédraogo¹, Sylvain Ilboudo¹, Noufou Ouédraogo¹, Felix Kini¹, Marius Lompo¹, and Sylvain Ouédraogo¹

¹Département Médecine Pharmacopée Traditionnelles et Pharmacie, Institut de Recherche en Sciences de la Santé (MEPHATRA-PH /IRSS), 03 BP 7192 Ouagadougou 03, Burkina Faso

²Laboratoire du Développement du Médicament (LADME), Ecole Doctorale de la Santé, Université Joseph KI-ZERBO. 03 BP 7021 Ouaga 03, Burkina Faso

Copyright © 2020 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: *Introduction:* In Burkina Faso, ethnopharmacological surveys have shown that the bark of *khaya senegalensis* trunks are used for the treatment of several chronic and acute inflammatory diseases. Previous pharmacological and toxicological preclinical studies have demonstrated the efficacy and safety of the extracts. Partial chemical screening of the powder allowed characterization of the chemical groups in the plant. This work was undertaken to study the physicochemical properties and the microbiological quality of the extracts for standardization of plant raw materials for the manufacture of anti-inflammatory cream and gel.

Methodology: The raw material was consisted of *khaya senegalensis* trunk bark powder extracted by aqueous maceration followed by lyophilization. The parameters studied were organoleptic properties, particle size distribution, residual moisture content, total ash content, impurities such as mycotoxins, pesticide residues and heavy metals according to the specifications of the European Pharmacopoeia 6.0. The yield by successive extractions, the phytochemical screening such as the development of the chromatographic fingerprint and the identification of the main chemical groups were carried out.

Results: The results obtained show that the total ash content, pesticide residues, mycotoxins and the microbial quality of raw materials were in line with the recommendations of the European Pharmacopoeia 6.0. The chemical screening has made it possible to characterize apolar compounds on the chromatographic plates, in particular terpenes and sterols as active compounds which can serve as tracers.

Conclusion: The results of the present study will serve as a basis for the standardization of plant raw materials used in the manufacture of phytomedicines.

KEYWORDS: standardization, *khaya senegalensis*, phytomedicine, anti-inflammatory.

RESUME: *Introduction :* Au Burkina Faso, des enquêtes ethnopharmacologiques ont montré que les écorces des troncs de *khaya senegalensis* sont utilisées pour la prise en charge de plusieurs maladies inflammatoires chroniques et aiguës. Des études précliniques antérieures pharmacologiques et toxicologiques ont permis de démontrer l'efficacité et l'innocuité des extraits. Un criblage chimique partiel de la poudre a permis de caractériser les groupes chimiques de la plante. Ce travail a pour but d'étudier les propriétés physicochimiques et la qualité microbiologique des extraits pour la fabrication de crème et gel

antiinflammatoires. *Méthodologie* : La matière première était constituée de poudre d'écorces de tronc de *khaya senegalensis* ayant à subir une extraction par macération aqueuse suivi de lyophilisation. Les propriétés organoleptiques, la granulométrie, le taux d'humidité résiduel (THR), la teneur en cendres totales, les impuretés tels les mycotoxines les résidus de pesticides, les métaux lourds, le rendement par extractions successives, le criblage phytochimique tel que l'empreinte chromatographique et l'identification des principaux groupes chimiques ont été réalisées. *Résultats* : Le THR, la teneur en cendres totales, les résidus de pesticide les mycotoxines et la qualité microbienne des matières premières étaient conformes aux recommandations de la Pharmacopée Européenne 6.0. Le criblage chimique a permis de caractériser des composés apolaires, notamment des terpènes et stéroïdes comme étant les composés actifs et pouvant servir de traceurs. *Conclusion* : Les résultats de la présente étude serviront de base à la préparation d'extrait de plante standardisé pour la fabrication des phytomédicaments.

MOTS-CLEFS: standardisation, *khaya senegalensis*, phytomédicament, antiinflammatoire.

1 INTRODUCTION

Une maladie inflammatoire désigne la présence d'une inflammation pouvant toucher la plupart des organes et tissus du corps humain. L'inflammation est une réaction de l'organisme à une agression infectieuse (bactérienne, virale ou parasitaire), traumatique ou chimique. Elle se caractérise par quatre symptômes typiques que sont la douleur, la rougeur, le gonflement (œdème) et la chaleur [1]. Ces symptômes sont dus à la sécrétion locale de substances chimiques et caractérisent le processus inflammatoire dont la douleur constitue le principal motif de consultation.

Le processus inflammatoire peut parfois revêtir un caractère nuisible dans le cas des inflammations allergiques et des cicatrices hypertrophiques. Il peut même provoquer une invalidité comme le cas de certaines maladies traumatologiques, rhumatologiques, dermatologique [2]. La prise en charge thérapeutique de l'inflammation par la médecine moderne procède par l'utilisation d'anti-inflammatoires dont les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) [3]. Dans certains cas, une prise en charge chirurgicale est nécessaire rendant le traitement onéreux et difficilement supportable par la large frange des populations. En plus, l'utilisation des AIS et AINS au long cours peut entraîner des effets indésirables tels que des ulcères gastro-intestinaux, des hémorragies, une insuffisance rénale et des troubles cardiovasculaires [3]. Ces inconvénients liés à l'utilisation des AINS et des AIS en plus de leur coût prohibitif justifient le recours à d'autres alternatives de traitements dont la médecine traditionnelle.

Dans le but d'offrir une alternative thérapeutique, le département de Médecine-Pharmacopée Traditionnelles et Pharmacie de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (MEPHATRA-Ph/IRSS) à travers une approche basée sur l'ethnopharmacologie et des études précliniques, a mis en évidence les propriétés antiinflammatoires et analgésiques ainsi que l'innocuité des extraits aqueux lyophilisés des écorces de tronc de *Khaya senegalensis* A. JUSS (Meliaceae) [4], [5]. Ces études préliminaires ont permis d'ouvrir des perspectives pour le développement de prototypes de formes galéniques de phytomédicaments pour la prise en charge des douleurs d'origine traumatique, rhumatologique, dermatologique [4]. Cette valorisation passe par la standardisation des matières premières car il ne s'agit pas de fabriquer des médicaments dont les teneurs en principes actifs varient d'une formulation à une autre [6]. La présente étude a pour but de contrôler la qualité et déterminer les paramètres de standardisation des poudres des écorces de tronc de *khaya senegalensis*.

2 MATERIELS ET METHODES

2.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Le matériel végétal est constitué de l'écorce de tronc de *khaya sénégalensis*. Les échantillons ont été récoltés à Korsimoro une localité de région du centre Nord de Burkina Faso. Les échantillons prélevés ont été séchés à l'ombre à la température ambiante. Ils ont ensuite été pulvérisés à l'aide d'un broyeur à lames de marque *Gladiator Est 1931 Type BN1 Mach 40461 1083*. Par la suite, les poudres ont été tamisées à l'aide d'un appareil de type *Retsch 5657 HAAN W. GERMANY* comportant une série de 7 tamis superposés, dont les mailles varient de 0,9 à 0,1 mm, pour que chaque drogue pulvérisée présente une surface de contact uniforme avec les solvants extracteurs, les poudres des tamis de maille 0,5 à 0,1 mm ont été rassemblées pour la suite des analyses.



Fig. 1. L'arbre entier et l'écorce de tronc de *Khaya senegalensis*

2.2 MÉTHODES

2.2.1 CARACTÉRISTIQUES ORGANOLEPTIQUES

Les paramètres physiques et organoleptiques qui seront évalués sont la couleur, l'odeur et la saveur. Ces paramètres seront déterminés en goutant la poudre et leur odeur en sniffant.

2.2.2 PERTE À LA DESSICCATION

Prendre une prise d'essai P_0 en triplicata ($P_0 = 1$ g) dans un verre de montre et sécher dans une étuve réglée à $105\text{ }^\circ\text{C}$ pendant 3 h. Après refroidissement dans un dessiccateur, peser la prise d'essai étuvée et noter la masse obtenue. Répéter l'étuvage pendant 30 min jusqu'à obtention d'une masse constante. Le taux d'humidité sera ensuite calculé à l'aide de la formule ci-dessous :

$$R = \frac{P_0 - P}{P_0} \times 100$$

R= Taux de d'humidité

P_0 = masse initiale du matériel végétal

P = masse finale du matériel végétal après chauffage à $105\text{ }^\circ\text{C}$ à l'étuve.

2.2.3 ANALYSE GRANULOMÉTRIQUE

La granulométrie sera déterminée par la méthode de tamisage de la Pharmacopée Européenne. Une colonne de dix (10) tamis d'ouverture de maille de 1,6;1,25;1;0,9;0,71; 0,63; 0,5; 0,4; 0,32 et 0,1 mm sera utilisée. La masse de chaque tamis sera pesé individuellement, avant d'être, disposée sur le vibreur. Ensuite, 100 g de poudre sera introduites sur le tamis supérieur (ouverture de maille 1,6 mm). Puis on met en route l'appareil, la colonne de tamis subit des vibrations qui mettent la poudre en mouvement : les particules de taille inférieure à l'ouverture des mailles passent alors sur le tamis inférieur, et ainsi de suite jusqu'au fond de la colonne (réceptacle). Après un temps de vibration de 30 minutes à l'amplitude 80 vibrations par minute, les tamis seront retirées et pesés de nouveau afin de connaître la masse de particule retenue sur chacun d'eux. A l'issue du tamisage, la poudre de chaque tamis est pesée et un pourcentage est calculé (pour chaque tamis) par rapport à la masse totale, selon la formule ci-dessous:

$$P = \frac{m_x}{m_t} \times 100$$

P = pourcentage de poudre recueilli par le tamis x

m_x : masse de poudre sur le tamis x

m_t : masse totale de poudre

Les poudres des tamis de maille 0,5 à 0,100 seront regroupées et utilisées ensuite pour les autres analyses.

2.2.4 TAUX DES CENDRES TOTALES

Les cendres totales ont été déterminées en calcinant les poudres dans un four. La poudre est répartie dans trois creusets préalablement tarés (T1, T2 et -T3), et les masses de l'ensemble (M1, M2 et M3) ont été enregistrées. L'ensemble a été par la suite chauffé au four à la température d'environ 600°C, puis soumis à un refroidissement dans un dessiccateur. Après refroidissement, 371 es masses finales des creusets plus contenant (M1', M2 et M3') la poudre calcinée ont été déterminées. La teneur des cendres totales (% Ct) a été déterminée par la formule suivante:

$$\%Ct = (Mct/PE) \times 100$$

$$MCt = M' - T$$

MCt : Masse des cendres totales

PE : Masse de la prise d'essai

% Ct : Teneur des cendres totales

2.2.5 QUALITÉ MICROBIENNE

La qualité microbiologique a été déterminée suivant les indications de la pharmacopée Européenne 6^{ème} édition [7] et en conjonction avec les normes internationale ISO 7218. Les germes recherchés étaient:

- Flore totale,
- Levures et moisissures,
- Bactéries gram négatives,
- Escherichia coli,
- Salmonelle,
- Staphylococcus aureus.

Ce contrôle a nécessité l'utilisation de milieux de culture appropriés prescrits dans la

Pharmacopée Européenne 6.0 et les résultats obtenus ont été interprétés selon la disposition spéciale de Pharmacopée Européenne 6.0 pour les médicaments à base de plantes exclusivement composés d'une ou plusieurs drogues végétales (entières, divisées ou en poudre).

2.2.6 TENEUR EN ELEMENTS TRACES METALLIQUES

Dosage des éléments traces métalliques dans la poudre de plante sera effectué par ICP (Inductively Coupled Plasma). Les métaux toxiques recherchés étaient l'arsenic total (As), le mercure (Hg), le cadmium (Cd) et le plomb(Pb). Ils ont été dosés par la spectrométrie d'absorption atomique à flamme (FAAS). Le spectromètre d'absorption atomique de type VARIAN AA 240FS a été utilisé.

2.2.7 TENEURS RÉSIDUELS EN PESTICIDES

La teneur en pesticides a été déterminée par GC (Gas Chromatography). Les pesticides recherchés étaient les organochlorés, pyrèthronides de synthèse, les organophosphorés-composé azotés, les carbamates et autres. Le dosage des pesticides a été réalisé par la méthode normalisée de QuEChERS***NF EN 15662. Cinq (05) grammes de chaque poudre végétale a été solubilisé dans dix (10) mL d'eau ultra-pure. Avec cette suspension une extraction des pesticides avec de l'acéto-nitrile a été réalisés en présence de substances déshydratantes. Le mélange a été centrifugé et 1,5 mL du surnageant a été injecté pour le dosage des pesticides par chromatographie gazeuse avec détecteur à capture d'électron (GC- μ ECD). Les normes retenues pour la contamination en pesticides sont les normes de la pharmacopée européenne (6.8.1.).

2.2.8 RECHERCHE DES MYCOTOXINES

La recherche de mycotoxine a été effectuée sur la poudre et les résultats ont été interprétés conformément à la réglementation (CE) N° 1881/2006 de la commission du 19 décembre 2006 portant fixation des teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires (*Journal officiel de l'union Européenne*).

2.2.9 SCREENING PHYTOCHIMIQUE

2.2.9.1 PREPARATION DES EXTRAITS ET RENDEMENT D'EXTRACTION

100 g de poudre d'écorces sont mis à macérer dans 500 ml d'eau distillée pendant 24 h. Après agitation magnétique, l'extrait est filtré sur du coton hydrophile et lyophilisé. Préalablement à l'extraction, les drogues, qui se présentent sous forme de fragments séchés, sont broyées jusqu'à atteindre un degré de granulométrie adapté à une dissolution optimale des constituants à isoler. La granulométrie retenue représente un compromis entre degré d'extraction maximal, filtration aisée et absence de tassement dans les percolateurs.

2.2.9.2 EMPREINTE DIGITALE DES EXTRAITS PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM)

Deux (2) g de poudre a été extrait successivement avec du n-hexane (50 mL), du dichlorométhane (50 mL) et du MeOH (50 mL) par macération pendant 30 min, suivi d'une agitation continue (ou sonication) pendant 30 min. Les extraits de chaque solvant ont ensuite été mélangés et filtrés avec du papier Whatman (ou centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min). Le solvant a été évaporé sous pression réduite pour donner des extraits secs. Les rendements d'extraction ont par suite été calculés par rapport à la masse initiale. Chaque extrait sec a été solubilisé dans son solvant d'extraction à la concentration de 10 mg/mL (10 mg dans 1 mL de solvant) et 5 L sont déposés sur la plaque CCM pour le développement du chromatogramme. La chromatographie a été développée sur un parcours de 8 cm dans les systèmes de solvant représentés dans le tableau I.

Tableau 1. Systèmes de solvant et réactifs de révélation

Extraits	Système de solvant	Réactif de révélation
Hexane	- Hexane – Acétate d'éthyle-méthanol (7 : 2 : 1) - Chloroforme (1) - Hexane – acétate d'éthyle (7 : 3)	1- observation à $\lambda = 254$ nm 2- observation à $\lambda = 365$ nm 3- Anisaldéhyde sulfurique
DCM	-Toluène-acétate d'éthyle-acide acétique (5 : 4 : 1) - DCM – MeOH (49 : 1) - n-butanol – Acétate d'éthyle – acide formique – eau (3 : 5 : 1 : 1)	1- observation à $\lambda = 254$ nm 2- observation à $\lambda = 365$ nm 3- Anisaldéhyde sulfurique
Acétate d'éthyle	- Acétate d'éthyle – Methanol – Eau (8 : 2 : 1)	1- observation à $\lambda = 365$ nm 2- Anisaldéhyde sulfurique
MeOH	-Toluène-acétate d'éthyle - acide formique (8 : 2 : 1) - Acétate d'éthyle – Methanol – Eau (8 : 2 : 1)	1- observation à $\lambda = 365$ nm 2- Anisaldéhyde sulfurique

2.2.9.3 CARACTERISATION PAR CCM DES PRINCIPAUX GROUPES PHYTOCHIMIQUES

La caractérisation des différents groupes chimiques a concerné les tanins, les flavonoïdes, les saponosides, les anthocyanosides / stérols, les tritèrènes et anthraquinone. Les solvants de migration ainsi que les réactifs de révélation sont représentés dans le tableau II.

Après migration, séchage et révélation toutes les plaques sont observées à la lampe UV et on note les colorations caractéristiques.

L'analyse des chromatogrammes a consisté à la détermination des références frontales (R_f) des taches correspondant à des groupes chimiques après élution. La référence frontale R_f est calculée suivant la formule : $R_f = \text{Distance parcourue par la substance} / \text{Distance parcourue par le solvant}$.

Tableau 2. Systèmes de solvant et réactifs de révélation

Groupes chimiques	Solvants de migration	Réactifs de révélation
Tanins	Toluène – acétone – acide formique (25 ; 25 ; 5 v/v/v)	Solution alcoolique à 95% et d'acide chlorhydrique HCl à 2%
Flavonoïdes	Acétate d'éthyle – acide formique – eau distillée (6 ; 1 ; 1 v/v/v)	Réactif de Neu (Diphénylborinate 1% dans du méthanol + PEG 4000 5% dans du méthanol)
Saponosides	Acétate d'éthyle – méthanol – eau (80,15 ; 5 ; v/v/v)	Anisaldéhyde 0,5ml, H ₂ SO ₄ 5mL méthanol 85ml
Anthocyanoside/ anthraquinone	Toluène – acétone – acide formique (25 ; 25 ; 5 v/v/v)	Solution alcoolique à 5% de KOH
Stérols et triterpènes	Acétate d'éthyle – méthanol – eau (80 ; 15 ; 5, v/v/v)	Anisaldéhyde 0,5ml, H ₂ SO ₄ 5mL, méthanol 85ml

3 RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1 CARACTÉRISTIQUES ORGANOLEPTIQUES

La poudre d'écorce de tronc de *K. senegalensis* est de couleur rousse, pratiquement sans odeur avec un gout amer.



Fig. 2. Photographie de Poudre d'écorce de tronc de *K. senegalensis*

3.2 PERTE À LA DESSICCATION

La perte à la dessiccation de la poudre était de $7,14 \pm 0,16$ %. Cette valeur est inférieure à 10, et signifie que la poudre est sèche et peut être conservée sur une longue période sans le développement de moisissures ou de levures [7].

3.3 ANALYSE GRANULOMÉTRIQUE

La distribution granulométrique de la poudre est représentée par la figure 3. La taille des particules intervient dans les propriétés physiques et fonctionnelles d'une poudre (écoulement, masse volumique, solubilité, mouillabilité,) [8]. Elle détermine le choix (granulométrique) des excipients à utiliser, ainsi que les caractéristiques rhéologiques de la future formulation [9]. Le cumule des poudres retenues par les tamis de maille 0,5 à 0,1mm ont été choisi pour la suite de l'étude.

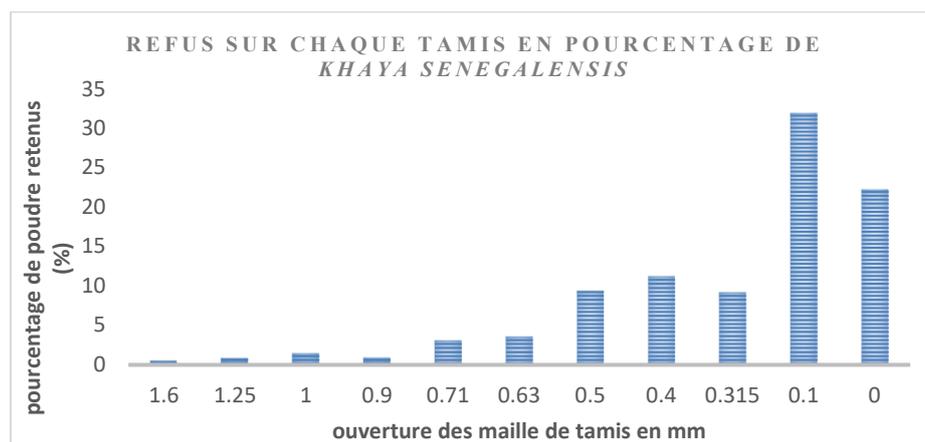


Fig. 3. Granulométrie des matières premières végétales de *Khaya senegalensis*

3.4 TAUX DES CENDRES TOTALES

Les teneurs en cendres réalisées sur les matières premières végétales ont donné une valeur de 17 %. La teneur résiduelle en cendre dans les matières premières végétales constitue un indicateur de la teneur en éléments inorganiques. Ces derniers peuvent être des impuretés comme des éléments siliceux résultants d'une contamination de la drogue avec du sable ou de la poussière. En effet, la pesée du résidu, uniquement constitué de matières minérales, permet d'évaluer le degré de propreté de la plante (une addition, volontaire ou non, de terre ou de sable au moment de la récolte, ou un lavage insuffisant de la matière première, augmentant le taux de cendres), ainsi que de déterminer les agents de fertilisation utilisés durant la culture. Certaines plantes, riches en minéraux présentent un taux de cendres naturellement élevé.

3.5 QUALITÉ MICROBIENNE

La poudre de *Khaya Senegalensis* soumis à l'analyse microbiologique satisfait aux essais ci-dessus selon la pharmacopée européenne [7].

Tableau 3. Qualité microbienne des poudres de *khaya senegalensis*

Types paramètres	Résultats (UFC/g)	Spécification	Références
- Germes totaux - Germe spécifique	- Bactérie : 140	$\leq 10^5$ UFC/g	Ph. Eur.
	- Levures et moisissures : 40	$\leq 10^4$ UFC/g	Ph. Eur.
	- Bactéries gram négatives $\leq 10^2$	$\leq 10^2$ UFC/g	Ph. Eur.
	- Escherichia coli : Absent/1g	Absence /g	Ph. Eur.
	- Salmonelle : Absent/10g	Absence /10 g	Ph. Eur.
	- Staphylococcus aureus : absent /g	Absence /g	Ph. Eur.

Les résultats des analyses microbiologiques des deux drogues végétales étaient dans les normes selon les recommandations de la Pharmacopée Européenne [7], concernant les préparations pour administration orale contenant des matières premières d'origine naturelle.

3.6 TENEUR EN ELEMENTS TRACES METALLIQUES

Le dosage des éléments trace métalliques sont représentés dans le tableau IV. Les teneurs en métaux lourds des échantillons sont en dessous des valeurs limites autorisées. Celles-ci attestent évidemment la bonne qualité de la poudre. Les valeurs limites autorisées sont : Arsenic ≤ 2 ppm ; Plomb ≤ 5 ppm ; Mercure ≤ 1 ppm ; Cadmium ≤ 1 ppm.

Tableau 4. Le dosage des métaux lourds

Poudre végétale	Teneur en ppm			
	Arsenic (RSD %)	Mercuré (RSD %)	Cadmium (RSD %)	Plomb (RSD %)
échantillon	< LOD	< LOD	< LOD	0,128 (± 0,0122)

LOD : Limite de détection (1ppb)

3.7 TENEURS RÉSIDUELS EN PESTICIDES

La poudre de *Khaya senegalensis* ne renferme pas de teneurs en pesticides supérieures aux valeurs limites autorisées (Tableau V).

Tableau 5. Teneurs résiduels en pesticides des poudres de *Khaya senegalensis*

Pesticides Recherchés	LQ*(mg/L)	Résultats (mg/kg)	**LMRs (mg/kg)
ORGANOCHLORES			
2,4'-DDT	0,01	< 0,01	-
Aldrine	0,01	< 0,01	-
Dieldrine	0,01	< 0,01	-
Heptachlore	0,01	< 0,01	-
Lindane	0,01	< 0,01	-
Alachore	0,01	< 0,01	-
Alpha-endosulfan	0,01	< 0,01	-
Béta-endosulfan	0,01	< 0,01	-
Filpronil	0,01	< 0,01	-
PYRETHRINOIDES DE SYNTHÈSE :			
Cypermethrine	0,01	< 0,01	-
Deltamethrine	0,01	< 0,01	-
Lambda-cyhalothrine	0,01	< 0,01	-
Tétramethrine	0,01	< 0,01	-
ORGANOPHOSPHORES/ COMPOSES AZOTES			
Chlorpyrifos méthyl	0,05	****ND	-
Diazinon	0,05	ND	-
Pyrimiphos méthyl	0,05	ND	-
Fénitrothion	0,05	ND	-
Malathion	0,05	ND	-
Metidathion	0,05	ND	-
CARBAMATES et autres			
Quintozone	0,01	< 0,01	-
Oxadiazon	0,01	< 0,01	-
imazalil	0,01	< 0,01	-

(*) : LQ : Limite de quantification

(**) : LMRs : Limite maximale de résidus pour les pesticides

(***) : QuEChERS: Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe

(****) : ND : Non détecté

(*****) : GC- μ ECD : Chromatographie Gazeuse avec Détecteur micro-ECD

(*****) : GC-FECD : Chromatographie Gazeuse avec Détecteur Azote et phosphore

Selon les résultats décrits dessus, la poudre de l'écorce de drogues végétales analysées satisfont aux exigences en matière de résidus de pesticides.

3.8 RECHERCHE DES MYCOTOXINES

La poudre de *khaya senegalensis* ne renferme pas des teneurs en mycotoxine supérieures aux valeurs limites autorisées (Tableau VI).

Tableau 6. Teneurs résiduels en mycotoxine des poudres de *khaya senegalensis*

Paramètre	Résultats	Valeurs limites	Méthodes utilisées	Observations
Mycotoxines :				Conforme à la réglementation (CE) N° 1881/2006
- Aflatoxine B1	< LOQ	≤ 2.0 ppb*	Iso/ DIS 16050.2 (2002)	-
- Aflatoxine B2	< LOQ	-		-
- Aflatoxine G1	< LOQ	-		-
- Aflatoxine G2	< LOQ	-		-
- Aflatoxines totales (G1+G2+B1+B2)	Non détectées	≤ 4.0 ppb*		-

La poudre soumise à l'analyse est conforme à la réglementation (CE) N° 1881/2006 de la commission du 19 décembre 2006 portant fixation des teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires (*Journal officiel de l'union Européenne*).

3.9 SCREENING PHYTOCHIMIQUE PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM)

3.9.1 PREPARATION DES EXTRAITS ET RENDEMENT D'EXTRACTION

Les résultats obtenus montrent que le rendement d'extraction de 100 g de poudre d'écorces mis à macérer dans 500 ml d'eau distillée pendant 24 h puis lyophilisé était de 5, 9%.

3.9.2 EMPREINTE DIGITALE DES EXTRAITS PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM)

Les analyses chimiques effectuées par CCM ont mis en évidence la présence d'une grande variété de groupements chimiques. Ces groupements chimiques à travers leurs rapports frontaux (Tableau VII) constituent une empreinte chromatographique qui va servir d'identité aux poudres. Selon les données de la littérature, les résultats obtenus par la CCM peuvent être utilisés pour les analyses de routines des poudres lors des futures préparations pour contrôler leur qualité [10]. Les images photographiques des CCM des fractions hexaniques des poudres sont représentées dans la figure 4.

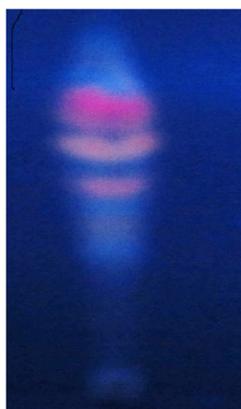


Fig. 4. Empreinte digitale de l'extrait hexanique

Éluant: hexane – acetate d'éthyle-méthanol (7, 2, 1; V, V, V)

Lecture: sous la lampe UV à 366nm

3.9.3 CARACTERISATION PAR CCM DES PRINCIPAUX GROUPES PHYTOCHIMIQUES

Les colorations caractéristiques obtenues lors des tests de caractérisation après révélation et observation à la lampe UV ont permis de confirmer et ou d'infirmer la présence des différents groupes chimiques représentés dans le tableau VIII et les Figure 5 à 9. Selon les données de la littérature, les résultats obtenus par la CCM peuvent être utilisés pour les analyses de routines [11].

Tableau 7. Réaction de caractérisation des groupes chimiques

Groupes chimiques	Poudre d'écorces de tronc
Alcaloïdes sels	ND
Tanins	+
Saponosides	+
Composés réducteurs	+
Triterpènes et stérols	+
Emodols	+
Coumarines	+
Anthraquinones	+
Anthocyanes	+

(+) Réaction de caractérisation **positive** ; (ND) Réaction de caractérisation **négative**

CARACTÉRISATION DES TANINS

La révélation par le trichlorure de fer a permis de mettre en évidence des trainées sur le parcours des dépôts des fractions E₁, F₁, F₂ et du témoin T. Le témoin a montré 3 spots de couleur bleue foncée de R_f = 0,51 ; 0,55 et 0,62. La fraction F₁ a montré 3 spots de 0,43 ; 0,55 et 0,62. Sur le parcours de F₂ on observe 2 spots de R_f = 0,43 et 0,55. Les fractions E₁ et G₁ ont montré chacune un spot de R_f = 0,55. Les spots étaient de colorations intermédiaires entre le vert et le bleu témoignant de la présence de tanins catéchiques et de tanins galliques. Par contre on n'a pas observé de spot sur le parcours de C₁. Cela peut s'expliquer par la pauvreté de cette fraction en tanins.



Fig. 5. Images photographiques des empreintes digitales des tanins

CARACTÉRISATION DES ANTHOCYANES

La révélation par la solution alcoolique à 5 % de KOH a permis de mettre en évidence des trainées et des spots sur le parcours des différents dépôts. On a observé une trainée et 2 spots (R_f = 0,4 et 0,78) de coloration bleue sur le parcours du témoin T. A l'exception du témoin et la fraction C₁, on a noté un spot de R_f = 0,71 sur les différents trajets des dépôts. Des spots verts dont les R_f ont été de 0,16 et 0,51 sont remarquables sur le parcours de la fraction F₂. On également observé une trainée verte sur le parcours de la fraction E₁ (plaque A).

Ces spots de colorations bleue et vert témoignent de la présence des anthocyanes dans les différents extraits de *Khaya senegalensis*.



Fig. 6. Images photographiques des empreintes digitales des anthocyanes

CARACTÉRISATION DES ANTHRAQUINONES

L'exposition des chromatogrammes à la solution alcoolique à 5% de KOH a mis en évidence des spots jaune vert, rouges ou oranges sur le parcours des témoins T_2 ($R_f = 0,12 ; 0,375 ; 0,97$) oranges sur le parcours de T_1 ($R_f = 0,58 ; 0,93$ et $0,97$) plaque B. On observe des traînées sur l'ensemble des parcours à l'exception de celui de C_1 (plaque C). Sur le parcours de E_1 , on a observé une traînée et un spot de $R_f = 0,72$. Ce même spot s'observe sur le parcours de E_2, F_1, F_2, C_2 et G_1 . La fraction E_2 a montré un autre spot de $R_f = 0,375$. La fraction F_2 a montré en plus 2 autres spots de $R_f = 0,375$ et $0,58$.

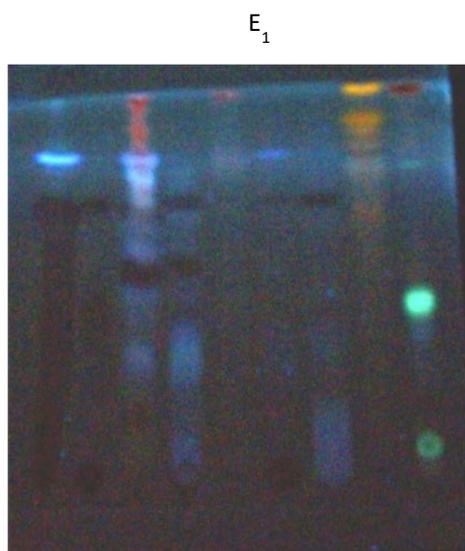


Fig. 7. Images photographiques des empreintes digitales des anthraquinones

CARACTÉRISATION DES FLAVONOÏDES

L'exposition des chromatogrammes par la solution de diphényl borinate, a mis en évidence des spots jaunes oranges (plaques B et C) et vert (plaque A) sur le parcours de T_1 et T_2 ($R_f = 0,88$). On observe des traînées sur le parcours de E_1, E_2, F_2, C_2 et G_2 .

La fraction F₁ a présenté 2 spots jaunes oranges (plaque B) ou verts (plaque A) Rf = 0,78 et 0,86 tandis que F₂ a présenté une trainée bleu (plaque A) ou jaune orange (plaque B) tout au long du parcours avec un spot jaune orange ou vert de Rf = 0,86. La fraction G₂ a montré un spot bleu de Rf = 0,54.

Les spots de colorations jaunes oranges ou vert témoignent de la présence des flavonoïdes dans les différents extraits de *Khaya senegalensis*.

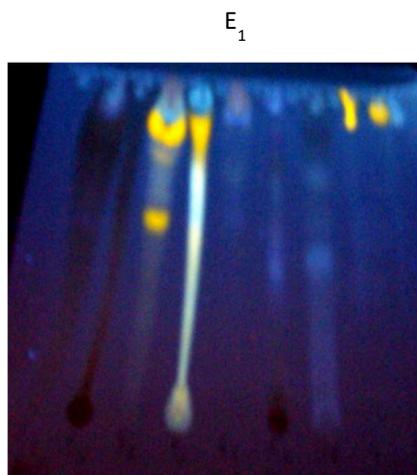


Fig. 8. Images photographiques des empreintes digitales des flavonoïdes

CARACTÉRISATION DES SAPONOSIDES

Des spots violacés sont observables sur le chromatoplaque au niveau des échantillons d'extraits E₁ avec un Rf = 0,83, F₁ et F₂ de Rf = 0,62 ; 0,81. F₁ et G₁ ont présenté un spot au même niveau de Rf = 0,28. Tous les dépôts ont montré des trainées (plaque C).



Fig. 9. Images photographiques des empreintes digitales des saponosides

4 CONCLUSION

Les différentes analyses sur la poudre de l'écorce de tronc de *Khaya senegalensis* tels la teneur en eau (THR), la teneur en cendres totales, en résidus de pesticide et en mycotoxine confirment la qualité de la matière première constitutive du phytomédicaments. La qualité microbienne montre absence de toutes contaminations de la poudre et de l'extrait lyophilisé.

La CCM avec les références frontales développer ont permis de réaliser une empreinte chromatographique de a matière première. Le criblage phytochimique a permis de caractériser sur les plaques chromatographiques les groupes chimiques, notamment les terpènes et les stérols qui sont indiqués comme composes actifs dans le traitement des pathologies inflammatoires. L'identification de ces principaux groupes chimiques permet de faciliter choix du traceur.

REFERENCES

- [1] R.P.Awadhiya, J.L.Vegad, and G.N.Kolte. Studies on acute inflammation in the chicken using mesentery as a test system. *Research in veterinary science*; 29:172-80, 1980.
- [2] F. Clinard, C. Sgro, M. Bardou, M.Dumas, P. Hillon, and C. Bonithon-Kopp. Non-steroidal anti-inflammatory drug prescribing patterns in general practice: comparison of a general practitioner-based survey and a pharmacy-based survey in France. *Pharmacoepidemiology and drug safety*; 10:329-38, 2001.
- [3] P. Lévy, S. Fanello, J. Pivette, E. Parot-Schinkel, G. Le Grand, and J. Schoux. Antiinflammatoires non stéroïdiens et risques iatrogènes potentiels: analyse des données de l'assurance maladie. *Rev Médicale Assur Mal*;36:153-61,2005.
- [4] Lompo M. Activités anti-inflammatoires des extraits d'écorces de tronc de *Khaya senegalensis* A. Juss (MELIACEAE). Mise au point d'une forme galénique topique (phase I) Université de OUAGADOUGOU; 1999.
- [5] M. Lompo, S. Ouedraogo, S. Sourabie, and I. P. Guissou. KASE: Valorisation d'une plante médicinale anti-inflammatoire. *Pharm Méd Trad Afr*;10:68-79,1998.
- [6] OMS. Règlementation des médicaments à base de plantes: la situation dans le monde. Genève: Organisation mondiale de la Santé; 1998.
- [7] Pharmacopée européenne 6ème Édition: Conseil de l'Europe; 2007.
- [8] D Hörter, and J. Dressman. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Advanced drug delivery reviews*; 46:75-87, 2001.
- [9] G. Pifferi, P. Santoro, and M. Pedrani. Quality and functionality of excipients. *IL Farmaco*; 54:1-14, 1999.
- [10] S.D. Katekhaye, and K.K. Bhutani. Standardization of a polyherbal Ayurvedic formulation: Ayaskrti. *Indian Journal of Traditional Knowledge* Vol. 10(4), pp. 589-593, 2011.
- [11] Ross I.A. *Medicinal plants of the world, volume 3: Chemical constituents, traditional and modern medicinal uses*: Springer Science & Business Media; 2007.