



## Identification et dosage des vitamines A, E et K dans quelques plantes utilisées pour le traitement des troubles de la menstruation et de l'allaitement

K. E. Inès DELEKE KOKO<sup>1,2\*</sup>, F. GBAGUIDI<sup>3</sup>, Julien Gaudence DJEGO<sup>1</sup> et Brice SINSIN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire d'Ecologie Appliquée, Faculté des Sciences Agronomiques (UAC).

<sup>2</sup> Ecole de Foresterie et d'Ingénierie du Bois, Université Nationale d'Agriculture (UNA)

<sup>3</sup> Laboratoire de Pharmacognosie et des Huiles Essentielles, Faculté des Sciences Techniques (UAC).

\*Corresponding author; E-mail: [idelekedna@yahoo.fr](mailto:idelekedna@yahoo.fr) / [idelekedna@gmail.com](mailto:idelekedna@gmail.com)

### REMERCIEMENTS

Le travail a reçu le soutien financier du Laboratoire d'Écologie Appliquée (LEA) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC) en collaboration avec le projet « Biodiversity Transect Analysis in Africa (BIOTA) ».

### RESUME

Plusieurs travaux ont démontré que les vitamines A, E et K sont efficaces dans le traitement des troubles de la menstruation et de l'allaitement. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité thérapeutique des plantes galactogènes et emménagogues utilisées dans les terroirs de la Réserve de Biosphère de la Pendjari. La Chromatographie en phase Liquide Haute Performance (CLPH) a été utilisée pour identifier et doser les vitamines A, E et K dans ces plantes avec la méthode de Billion-Rey et al. modifiée. La méthode modifiée a été adaptée et validée par sa fidélité et le taux de récupération. Les calibrations obtenues sont linéaires avec des R<sup>2</sup> de 1 ; 0,98 et 0,99. Les teneurs en vitamine A des écorces de *Vitellaria paradoxa*, de *Adansonia digitata*, et des graines de la variété à fleur blanche de *Hibiscus sabdariffa* sont respectivement 1,55 mg/g ; 0,208 mg/g et 0,08 mg/g. Les feuilles de *A. digitata* renferment la plus grande teneur en vitamine K (196,4 µg/g) et les graines de la variété à fleur rouge de *H. sabdariffa* ont la plus forte teneur en vitamine E (256 µg/g). Ces résultats montrent que ces plantes pourraient être efficaces dans le traitement des troubles de la menstruation et de l'allaitement.

© 2018 International Formulae Group. All rights reserved.

**Mots clés:** CLPH, vitamines A, E et K, galactogènes, emménagogues.

### Identification and dosage of vitamins A, E and K in some plants used for the treatment of menstruation and breastfeeding disorders.

### ABSTRACT

Several studies have shown that vitamins A, E and K are used to solve menstrual and breast-feeding disorders. The objective of this study is to determine the therapeutic efficiency of emmenagogue and lactogenic plants most used by local populations in the Pendjari Biosphere Reserve. The High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used to identify and quantify the vitamins A, E and K, in those plants with the modified method of Billion-Rey et al. The modified method was adapted and validated by his fidelity and the

recovery rate. Calibrations obtained were linear with  $R^2$  equal to 1; 0.98 and 0.99. Vitamin A levels in the bark of *Vitellaria paradoxa*, *Adansonia digitata*, and seeds of the white flowered variety of *Hibiscus sabdariffa* are respectively 1.55 mg / g 0.208 mg / g and 0.08 mg / g. The leaves of *A. digitata* had the highest content of vitamin K with 196.4 mg / g. and the seeds of the red-flowered variety of *H. sabdariffa* had the highest value of vitamin E (256  $\mu$ g / g). The results show that the studied plants could be efficient for the treatment of menstrual and breast feeding disorders.

© 2018 International Formulae Group. All rights reserved.

**Keywords:** HPLC, vitamins A, E and K, lactogenic, emmenagogue.

## INTRODUCTION

Différentes études se sont consacrées aux remèdes intervenant dans le soulagement des femmes souffrant des troubles de la menstruation et des troubles de l'allaitement. Parmi les substances étudiées, les vitamines ont fait l'objet de plusieurs études et les résultats obtenus concluent que les vitamines A, E et K sont efficaces de diverses manières dans le traitement des affections étudiées.

Depuis les années 1980, en médecine traditionnelle chinoise, une technique consiste à injecter la vitamine K au point d'acupuncture appelé « San Yin Jiao/Rate 6 » pour traiter des problèmes d'ordre gynécologique, comme les troubles menstruels, la dysménorrhée et la rétention urinaire, de même qu'au moment du travail à l'accouchement. Wang et al. (2004), s'appuyant sur cette technique, ont mené une étude intégrant à la fois des notions de médecine traditionnelle chinoise et de médecine classique sur 40 femmes âgées de 14 à 25 ans, dont la moitié étaient des Chinoises et l'autre moitié des Italiennes. Toutes souffraient, au début de leurs règles, de dysménorrhée. Dès le premier jour de leurs douleurs menstruelles, elles recevaient une injection de 4 mg de vitamine K (en Chine) et de 5 mg de vitamine K (en Italie). A l'évaluation de l'intensité des douleurs menstruelles ressenties, elles avaient toutes rapporté un soulagement de leur douleur. En moyenne, la douleur avait chuté de deux points (sur une échelle de 0 à 12) à chaque mesure. De plus, toutes les participantes soumis au traitement ont signalé une réduction de la durée de la douleur, et de la prise d'analgésiques.

Les auteurs en viennent donc à la conclusion que l'injection de vitamine K à ce

point d'acupuncture peut procurer un soulagement appréciable de la dysménorrhée grave. Pour ce qui est de la vitamine K en injection, elle relaxerait les spasmes du muscle utérin.

Par ailleurs, en 1922, des chercheurs californiens ont découvert une substance liposoluble dans le germe de blé et la laitue et l'ont baptisée « Facteur X ». Ils ont déterminé que cette substance était indispensable à la fonction reproductrice des rats. Le Facteur X fut ensuite appelé vitamine E puis, en 1936, tocophérol, un mot provenant du grec (*tokos* : accouchement, race et *pherein* : porter) qui rappelait son importance pour le système reproducteur des animaux. Par la suite, plusieurs expériences ont été menées par différentes équipes et ont abouti à des résultats concluants. Ainsi une étude à double insu effectuée auprès de 100 étudiantes indique que la prise de 500 UI de vitamine E par jour pendant cinq jours (en commençant deux jours avant les menstruations) peut soulager les douleurs menstruelles (Ziaei et al., 2001). Par ailleurs, la vitamine E est un antioxydant qui intervient dans la synthèse des hormones de la reproduction (Ziaei et al., 2001). Plus spécifiquement, la vitamine E, prise sous forme de suppléments, permettrait de soulager sensiblement les douleurs menstruelles. C'est ce qu'indiquent les résultats d'une étude (à double insu avec placebo), rapportés dans Ziaei et al. (2005). Selon Ziaei et al. (2005), la vitamine E aurait pour effet de contrer la production de prostaglandine, une substance qui est associée aux crampes menstruelles parce qu'elle stimule les contractions utérines, lesquelles ont pour fonction d'expulser le sang menstruel. Ces crampes (dysménorrhée) affectent environ 40% des femmes. Par

ailleurs, les travaux de Bendich (2000), Cross et al. (2001) et de French (2005) indique que la vitamine E réduirait l'inflammation, ce qui explique leur efficacité dans le traitement des douleurs menstruelles. On ne peut, toutefois, pas obtenir cet effet uniquement par les aliments, il faut prendre un supplément. La vitamine E a fait l'objet de recherches scientifiques au cours des dernières années. Par ailleurs, la vitamine E naturelle est préférable à la vitamine E synthétique, car elle est mieux absorbée et demeure plus longtemps dans les tissus. Elle est donc plus efficace et, à dose égale, elle est plus puissante que la vitamine E synthétique. De plus, il semble que les tocophérols apparentés (bêta, delta et gamma) que contiennent certains suppléments de vitamine E naturelle, en particulier le gamma-tocophérol, soient plus efficaces que l'alpha-tocophérol seul (le terme « tocophérols mélangés » apparaît sur les étiquettes de ces suppléments). Des études ont démontré que les tocophérols « synthétiques » étaient moins bien assimilés que leurs équivalents « naturels » et que l'organisme les retenait moins longtemps dans ses tissus. Un consensus semble s'être établi, parmi les experts, autour d'un rapport d'équivalence de 1,5 (Hoppe et Krennich, 2000). Ce qui signifie que, pour obtenir l'équivalent de 50 mg de vitamine E naturelle, il faut prendre 75 mg de la forme synthétique (multiplier par 1,5). Cependant, certains recommandent, malgré tout, d'avoir recours exclusivement aux suppléments qui se présentent sous une forme naturelle plutôt que de prendre une dose et demie de suppléments de synthèse.

Eu égard à ces recommandations, il s'avère important de rechercher les quantités de ces vitamines dans les plantes utilisées traditionnellement par les populations locales afin de ressortir les plantes qui auraient un intérêt thérapeutique.

D'autre part, la composition du lait humain est régulée par divers mécanismes complexes. Une sévère carence maternelle ou un excès d'apports a un impact significatif sur la composition du lait. Plusieurs facteurs influencent les caractéristiques nutritionnelles du lait humain. Les enfants peuvent tolérer

une certaine marge de variation dans les taux des divers nutriments qu'ils absorbent, mais toute déviation importante par rapport aux limites de la normale est susceptible d'avoir de graves conséquences sur la croissance et la santé de l'enfant, comme le montre la morbidité et la mortalité plus élevée chez les enfants qui sont nourris au lait industriel. Le taux lacté de vitamine A semble dépendre essentiellement des apports alimentaires maternels. Ce taux est élevé dans le colostrum, puis baisse dans le lait mature avant de se stabiliser. Le lait humain contient aussi de nombreux caroténoïdes. Le taux lacté moyen de vitamine K est de 2 à 3 µg/l ; il est peu affecté par les apports alimentaires maternels, mais une supplémentation maternelle de 5 à 20 mg/jour de vitamine K permettra d'augmenter significativement le taux lacté. Le taux de vitamine E passe de 8 mg/l dans le colostrum à 3-4 mg/l dans le lait mature ; il est peu affecté par l'alimentation maternelle. Plusieurs travaux ont montré que les vitamines interviennent dans la production et l'utilisation des hormones sexuelles. Or les troubles de la menstruation et de l'allaitement sont fortement corrélés aux concentrations d'hormones sexuelles dans le sang. La recherche des vitamines dans les plantes permettra donc de vérifier si leur utilisation est justifiée dans une certaine mesure. L'objectif de l'étude est d'évaluer la valeur thérapeutique des plantes galactogènes et emménagogues les plus utilisées dans la Réserve de Biosphère de la Pendjari. Plus spécifiquement, il s'agit:

- d'identifier les vitamines A, E et K dans les plantes les plus utilisées par les populations de la ZCP pour le traitement des troubles de l'allaitement et de la menstruation ;
- de doser les vitamines A, E et K dans les plantes les plus utilisées par les populations de la ZCP pour le traitement des troubles de l'allaitement et de la menstruation ;
- de comparer les quantités contenues dans les échantillons analysés avec les quantités recommandées pour le

traitement des troubles de l'allaitement et de la menstruation.

## MATERIEL ET METHODES

### Matériel

Les organes de plantes galactogènes et emménagogues les plus utilisées ont été analysés avec la Chromatographie en phase Liquide Haute Performance (CLPH). Les équipements de la CLPH qui ont été utilisés pour le dosage des vitamines dans cette étude sont :

- un injecteur automatique WISP 310 (Waters, Millford, USA) ;
- un pré-filtre fritté ;
- une pré-colonne Browle C18, C10 mm, 30 X 3,9 mm (Touzart et Matignon, Grenoble, France) ;
- une colonne Hypersil ODS C18, 5 µm, 15 X 3,9 mm ;
- une pompe modèle M45 (Waters, Millford, USA) ;
- un spectrophotomètre à double longueur d'onde fixe (254 et 280 nm), M440 (Waters, Millford, USA) ;
- un spectrophotomètre à simple détecteur (313 nm) modèle M440 (Waters, Millford, USA) monté en série avec le précédent ;
- un enregistreur omnscribe à une voie (enregistrement à 313 nm) ;
- un enregistreur CR 6525 (II Instruments) à deux voies (enregistrement à 280 et 254 nm).

La phase mobile est constituée par du méthanol pour spectroscopie (Merck, Damstadt, RFA). Les solutions étalons des vitamines utilisées sont :

- le Palmitate de all-trans-rétinol (SIGMA, La verpillière, France) ;
- l'Acétate de dl-alpha- tocophérol (SIGMA, La verpillière, France) et
- la Phylloquinone (SIGMA, la verpillière, France).

### Méthodes

#### Séparation chromatographique des vitamines

La méthode de dosage qui a été utilisée est la Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance (CLHP) qui permet à la

fois d'identifier et de quantifier les molécules et les substances recherchées. La CLHP est une technique analytique. Elle permet l'évolution de la chromatographie préparative sur colonne et l'utilisation de phases stationnaires très élaborées.

Dans cette étude, les vitamines A E et K ont été dosés selon la méthode de Billion-Rey et al (1991) qui a été modifiée suivant les conditions expérimentales. Dans un premier temps, la colonne a été conditionnée Pour ce faire, 12,5 mL de méthanol CLHP ont été filtrés dans trois flacons puis passés dans le chromatographe pour le conditionnement de la colonne. Pour la séparation chromatographique des vitamines, 4,8 mg de palmitate de rétinol, 3,9 mg d'acétate de tocophérol et 12,9 mg de phylloquinone ont été prélevés puis dilués dans 10 mL de méthanol. La solution méthanolique étalon (10 mL) ainsi obtenue permettra dans un premier temps d'étudier les conditions de séparations chromatographiques des trois vitamines. Les conditions analytiques sont les suivantes :

- Phase mobile : méthanol
- Débit : 1 mL/min ;
- Detection à 254 (vitamine K) ; 280 (vitamine E) ; 313 (vitamine A)
- Sensibilité des détecteurs: 0,005 aufs pour la vitamine A et 0,01 pour les vitamines E et K.

Dans un second temps, cette solution a servi d'étalon externe au dosage des vitamines A, E et K dans les échantillons (évaluation de la répétabilité, de la reproductibilité, et de la linéarité).

La solution diluée a été répartie en aliquots de 5 mL dans des tubes bouchés en verre, conservés à 18 °C, à l'abri de la lumière. Par la suite, la solution mère des solutions étalons méthanoliques concentrées en chacune des vitamines a été diluée au 1/5, au 1/10 et au 1/20. Les solutions concentrées obtenues ont été conservées dans des fioles jaugées de 100 mL. Ces fioles ont été immédiatement bouchées et placées à -18 °C à l'abri de la lumière. Elles serviront ultérieurement aux études de reproductibilité

et de linéarité (conservation maximale de 1 mois).

**Préparation et analyse des échantillons**

25 mL d’hexane sont ajoutés à 5 g de chaque échantillon préalablement réduit en poudre. Les solutions ainsi obtenues sont extraites à l’ultrason pendant 30 mn en bouchant l’extrémité de l’erlenmeyer contenant le macéré avec du papier film. Après filtration, 5 mL du filtrat est recueilli puis évaporé à l’obscurité. Le résidu obtenu est dissout dans 10 mL de méthanol puis passé au sonnicateur pendant 10 minutes pour homogénéisation. La solution méthanolique est filtrée sur un filtre hydrophobe (hydrophobic PTFE FLUOROPOR® filter) puis conservée dans des tubes à essais. Par la suite, 20 µl de chaque échantillon préparé dans les conditions précédentes sont injectés pour analyse chromatographique.

**Validation analytique de la méthode de dosage**

La stratégie de la Société Française des Sciences et Technique Pharmaceutiques (SFSTP) a été choisi pour la validation de la technique utilisée. Ce protocole a été initialement développé pour l’analyse des échantillons biologiques mais peut aisément s’appliquer aux méthodes utilisées dans l’industrie agroalimentaire ou celles utilisées dans l’environnement. La méthode utilisée a été validée par sa fidélité dans les conditions de travail (la répétabilité). La répétabilité est réalisée sur une série de 4 dosages successifs à 3 concentrations différentes. Pour chaque niveau de concentration j, la variance de répétabilité des concentrations  $X_{ijk}$  obtenue est estimée globalement pour toutes les p séries comme suit :

$$CV_j(r) = \frac{\sqrt{s_j^2(r)}}{\bar{X}_{\circ j^{\circ}}} \cdot 100 = \frac{s_j(r)}{\bar{X}_{\circ j^{\circ}}} \cdot 100$$

avec

$$s^2(r) = \frac{\sum_{k=1}^p \sum_{i=1}^{n_{jk}} (X - \bar{X})^2}{\sum_k n_{jk} - p}$$

Dans ce travail, les erreurs de répétabilité sont exprimées sous forme de

coefficient de variation (CV) en divisant l’écart type de répétabilité (racine carré de la variance) par la moyenne des concentrations estimées au niveau de la concentration j quelle que soit la série. Les temps de retentions, obtenus pour les mêmes vitamines dans la solution étalon diluée, sont comparés. 20 µl des solutions de chaque plante sont injectés dans le système CLHP et les surfaces des pics sont mesurées. Les concentrations en vitamines A, E et K sont déterminées par la mesure des pics obtenus rapportée à la surface des pics de la solution étalon diluée (étalon externe). La concentration en chacune des vitamines dans chaque solution est ensuite déterminée par rapport à la solution méthanolique étalon diluée. La formule de la teneur en vitamine se présente :

$$\% [Vit] = \frac{(5 \cdot [vit_{20 \mu l}] \cdot 10 \text{ mL} \cdot 100)}{5000 \text{ mg}}$$

Avec  $[vit_{20 \mu l}]$  étant la quantité de vitamine dans les 20 µl injectés dans le chromatographe.

Par la suite, les moyennes, écarts types et coefficients de variation pour chaque vitamine dans chacun des mélanges et aux différentes concentrations sont calculés

**RESULTATS**

**Détermination de la longueur d’onde de lecture**

Les analyses ont été réalisées à 280 nm et 313 nm, longueur d’onde à laquelle on observe une meilleure sensibilité au CLHP/UV.

**Etablissement de la fonction réponse**

A partir des réponses obtenues des 4 répétitions avec les solutions de référence, les courbes de corrélation ont été établies entre les concentrations et les surfaces sous courbes avec la gamme de concentrations exprimées dans le Tableau 1. Pour les trois vitamines, les coefficients de corrélation sont supérieurs à 0,95 soit respectivement 1 (palmitate de rétinol) ; 0,9768 (acétate de tocophérol) 0,99 (phyloquinone). Les Figures 1, 2 et 3 montrent bien une bonne relation linéaire entre les concentrations des standards des trois

vitamines et les réponses mesurées. Le modèle de régression linéaire a été choisi pour la validation de la méthode.

### Fidélité de la technique

Afin d'estimer la fidélité de la technique à chaque niveau de concentration, les CV de répétabilité ont été estimés. Les coefficients des variations (CV%) ou répétabilité pour l'analyse des trois vitamines par cette méthode sont inférieurs à 6% pour toute la série des concentrations analysées (Tableau 2), ce qui est conforme à la stratégie utilisée et aux normes de la Société Française des Sciences et Technique Pharmaceutiques (SFSTP).

### Pureté des pics analysés

La pureté des pics a été contrôlée par comparaison des spectres des échantillons et des pics correspondant aux vitamines A, E et K dans l'extrait. Les Figures 4 à 12 montrent les spectres obtenus pour chaque échantillon.

### Teneur en vitamines des échantillons

Le Tableau 3 présente les pourcentages en vitamines A, E et K de chacun des

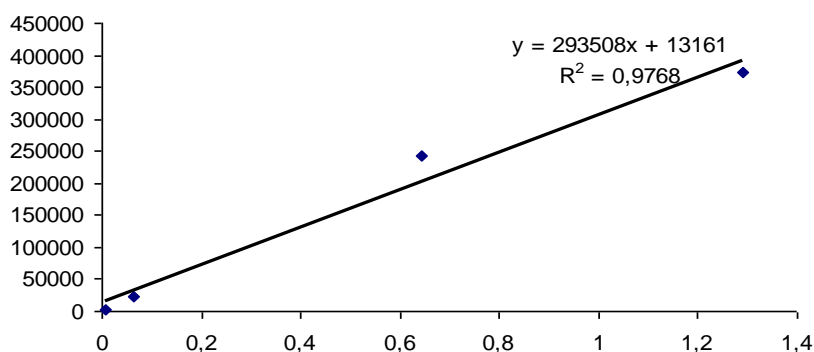
échantillons étudiés. La méthode de CLHP compatible à une détection de masse développée présente une bonne relation linéaire entre les concentrations et les réponses (absorption UV), et une bonne répétabilité et fidélité pour la gamme de concentrations analysées (0.5 à 5 mg/ml). Les coefficients de variations (CV) pour l'analyse des trois vitamines étaient inférieurs à 6% pour toute la série des concentrations analysées.

### Taux de récupération (Recovery)

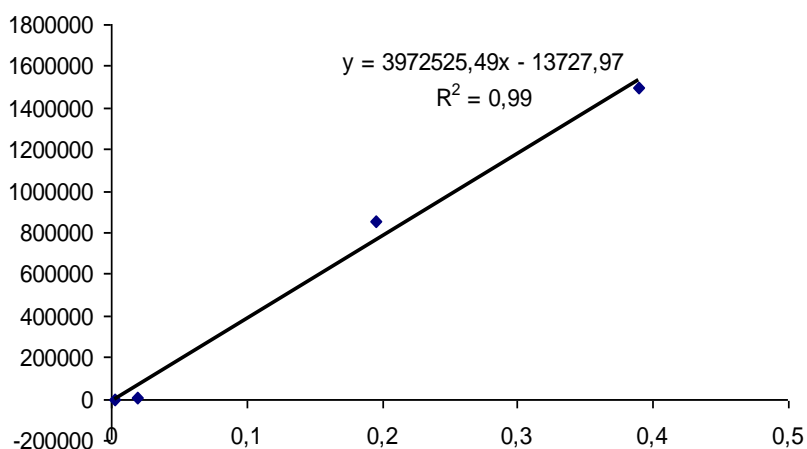
Les taux de récupération obtenus pour les trois vitamines dans les différents échantillons (Tableau 4) analysés sont pour la majorité compris entre 97 et 98,76%. On observe, toutefois, une valeur plus faible de 95,71%. Néanmoins, vu la complexité de la matrice (le matériel végétal) utilisée dans le cadre de cette étude et la stratégie d'analyse adoptée (SFSTP), nous pouvons conclure, avec les taux obtenus, que la méthode d'extraction que nous avons développée pour l'identification et le dosage des vitamines A, E et K est efficace et fiable.

**Tableau 1 :** Concentrations ( $10^{-1}$  mg/ml) utilisées pour l'établissement de la fonction réponse.

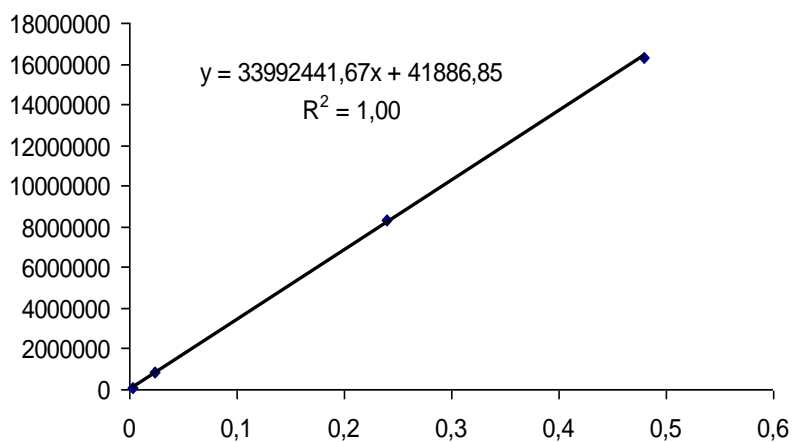
Vitamine A	Vitamine E	Vitamine K
0,0024	0,00645	0,00195
0,024	0,0645	0,0195
0,24	0,645	0,195
0,48	1,29	0,39



**Figure 1 :** Modèle de régression linéaire du standard de la vitamine A.



**Figure 2** : Modèle de régression linéaire du standard de la vitamine E.



**Figure 3** : Modèle de régression linéaire du standard de la vitamine K.

**Tableau 2** : Coefficients des variations sur les analyses.

Standard	Concentrations ( $10^{-1}$ mg/mL)	CV%
Vitamine A	0,024	2,426783
	0,24	5,260263
	0,48	1,671392
Vitamine E	0,0645	5,069745
	0,645	3,410085
	1,29	2,51682
Vitamine K	0,0195	2,288911
	0,195	5,686717
	0,39	4,649149

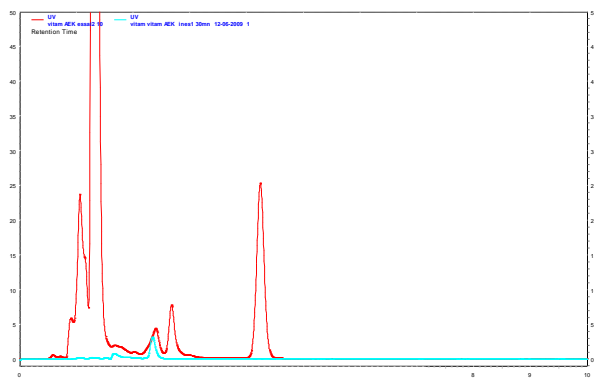


Figure 4 : *Adansonia digitata* (pulpe)

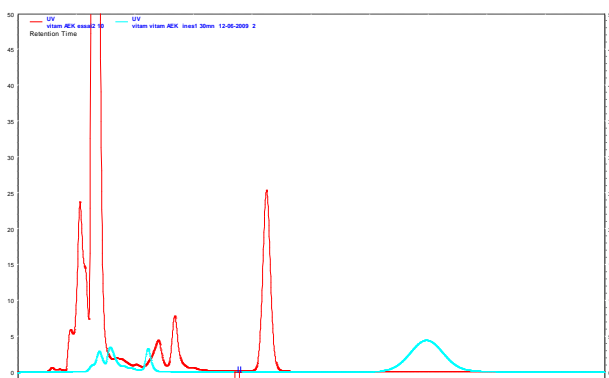


Figure 5 : *Adansonia digitata* (feuille)

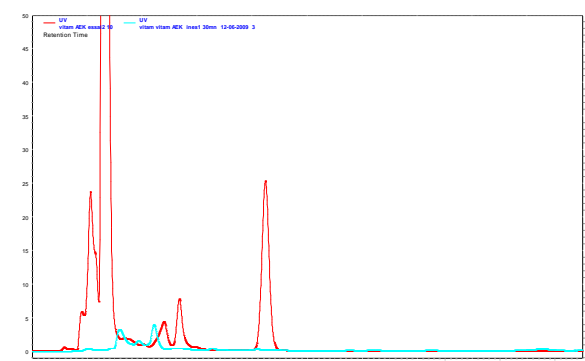


Figure 6 : *Hibiscus sabdariffa*

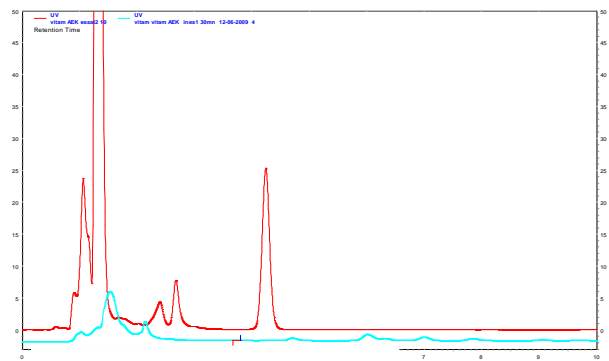


Figure 7 : *Hibiscus sabdariffa* (corolles)

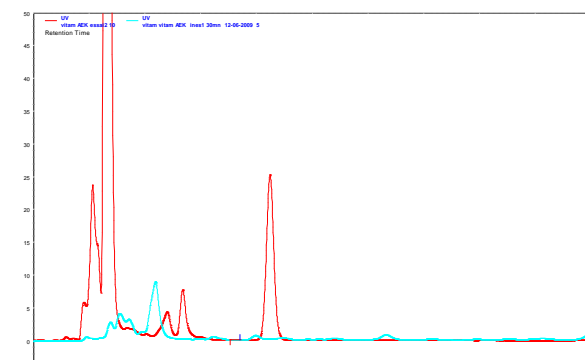


Figure 8 : *Vitellaria paradoxa*

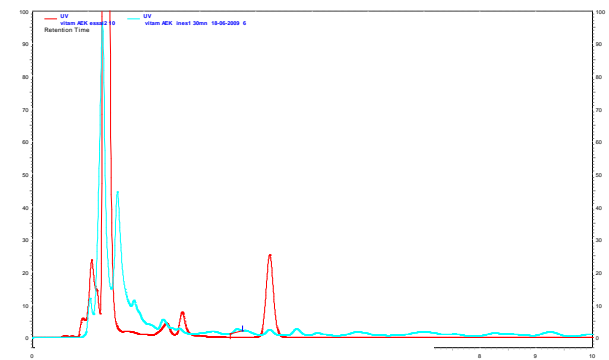


Figure 9 : *Hibiscus sabdariffa* (graine rouge)

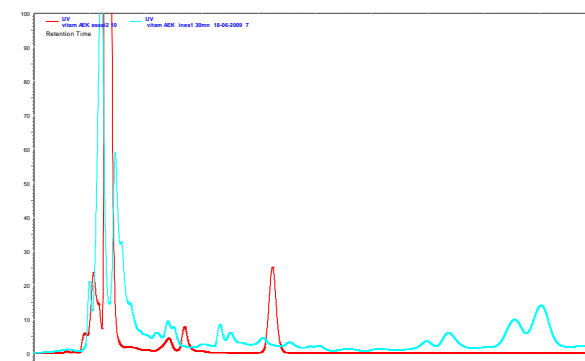


Figure 10 : *Hibiscus sabdariffa* (graine)

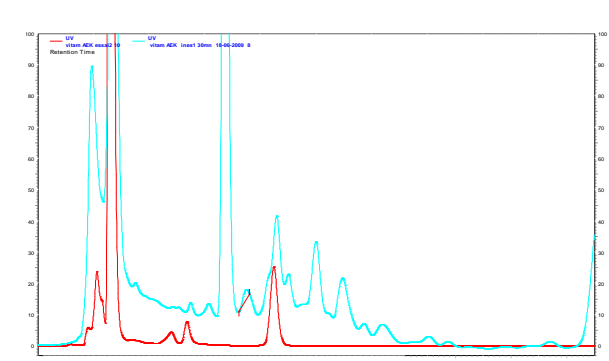
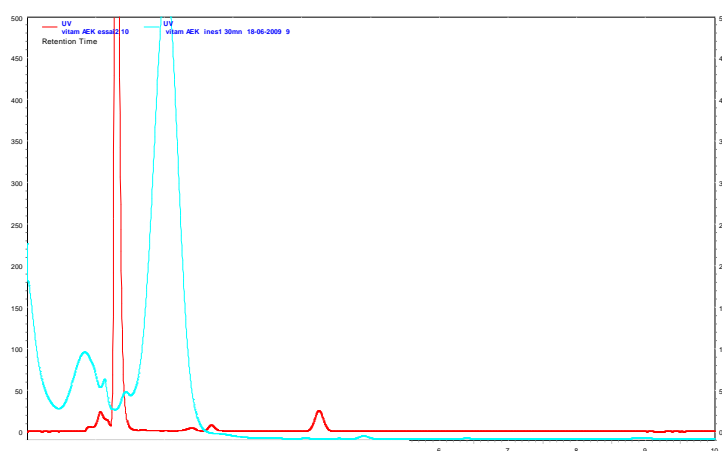


Figure 11 : *Adansonia digitata*





**Figure 12 :** *Vitellaria paradoxa* (écorce)

**Figure 4 à 12:** Comparaison entre les spectres des échantillons et ceux des standards.

Légende : ----- : Spectre du standard ; ----- : spectre de l'échantillon.

**Tableau 3 :** Teneur (%) en vitamine A, E et K dans les échantillons.

Echantillons	Teneur (%) en vitamines dans les échantillons		
	vitamin A	vitamin E	vitamin K
<i>Adansonia digitata</i> (pulpe)	0,0010901	0	0,004148739
<i>Adansonia digitata</i> (feuille)	0,00104288	traces	0,196435233
<i>Adansonia digitata</i> (écorces)	0,20817072	0	0,08376887
<i>Hibiscus sabdariffa</i> (feuille)	0,00149169	traces	0,0042741
<i>Hibiscus sabdariffa</i> (calices)	0,00056304	0,02086144	0,013189335
<i>Hibiscus sabdariffa</i> (graine variété à fleurs rouges)	0,06545223	0,25696404	0,017540471
<i>Hibiscus sabdariffa</i> (graine variété à fleurs blanches)	0,08185473	0,09532619	0,024928467
<i>Vitellaria paradoxa</i> (feuille)	0,00909378	0,02848645	0,013080462
<i>Vitellaria paradoxa</i> (écorces)	1,55558399	0	0,038376084

**Tableau 4 :** Taux de récupération des vitamines A, E et K.

Echantillons	Taux de récupération (%)		
	Vitamine A	Vitamine E	Vitamine K
<i>Adansonia digitata</i> (pulpe)	<b>98,76394165</b>	-	98,68848727
<i>Adansonia digitata</i> (feuille)	98,52377291	97,5054174	98,219126
<i>Adansonia digitata</i> (écorces)	97,56309793	-	98,33646632
<i>Hibiscus sabdariffa</i> (feuille)	97,6831823	<b>95,7113962</b>	97,16306315
<i>Hibiscus sabdariffa</i> (calices)	97,32292918	97,7732051	97,04572283
<i>Hibiscus sabdariffa</i> (graine variété à fleurs rouges)	98,76394165	96,123758	97,39774378
<i>Hibiscus sabdariffa</i> (graine variété à fleurs blanches)	97,20284481	97,7732051	97,63242442
<i>Vitellaria paradoxa</i> (feuille)	98,40368854	98,1855669	97,74976473
<i>Vitellaria paradoxa</i> (écorces)	97,32292918	-	98,57114695

## DISCUSSION

Les différentes vitamines dosées sont présentes dans différentes proportions dans les plantes étudiées. Des travaux publiés sur les produits issus du baobab, on note que les informations sur les macronutriments, les micronutriments, les acides aminés, les acides gras contenus dans les feuilles, la pulpe les graines et les amandes de *A. digitata* sont disponibles. En ce qui concerne la vitamine A, les travaux de Sena et al. (1998) sur la pulpe de baobab ont révélé qu'elle contient 1.53  $\mu\text{g/g}$  de lutéine, 0.17  $\mu\text{g/g}$  de  $\alpha$ -carotène et 0.17  $\mu\text{g/g}$  de  $\beta$ -carotène. Au mali, Nordeide et al. (1996) rapportent un taux de 112  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  soit 1.12  $\mu\text{g/g}$  dans les feuilles de baobab. Dans cette étude, nous avons trouvé 1,09  $\mu\text{g/g}$ , 1,04 et 208,17  $\mu\text{g/g}$  respectivement pour la pulpe, les feuilles et les écorces de *A. digitata*. La teneur en vitamine A obtenue pour les feuilles est très proche des résultats de Diop et al. (2006). Ses travaux sur la vitamine A contenue dans les feuilles de baobab ont montré, par ailleurs que, le séchage à l'ombre des feuilles de baobab diminue les risques de pertes en vitamine A contenue dans les feuilles.

Selon Diop et al. (2006), les variations des teneurs en vitamines observées dans les différentes études sont dues à la variabilité des échantillons utilisés pour les analyses. En effet, la littérature exploitée montre que les échantillons analysés sont choisis et collectés de différentes manières. Par exemple, certains chercheurs collectent les échantillons dans les marchés (Lockett et al., 2000 Nnam et Obiakor, 2003 ; Makalao et al., 2015) alors que d'autres les récoltent directement des arbres ( Leбри et al., 2015 ; Adepo et al., 2017). Au mali, les résultats ont montré que les teneurs en vitamine A sont plus faibles dans les échantillons collectés sur les marchés comparativement aux échantillons directement récoltés sur les arbres. Il a été noté que les échantillons collectés sur les marchés sont fréquemment dénaturés par addition de certains produits (Nnam et Obiakor, 2003 ; Diarra et al., 2016). De tous les travaux, on peut retenir que les feuilles de baobab sont riches en vitamines A (Diop et al., 2006).

Concernant *V. paradoxa*, de nombreuses recherches ont été faites sur la composition chimique du beurre de karité. Par contre les autres parties de la plante utilisées en médecine traditionnelle n'ont pas attiré l'attention des chercheurs. Le beurre est le sous-produit le plus prisé de l'espèce et l'importance de son commerce justifie bien cet intérêt des recherches sur sa composition. Dans nos investigations, plusieurs traitements consistent également en l'utilisation du beurre en application locale. La teneur trouvée en vitamine E (tocophérol) dans les feuilles de *V. paradoxa* dans notre étude est de 28,48  $\mu\text{g/g}$ . Les travaux de Maranz et Wiesman (2004), sur le dosage du tocophérol des karités de plusieurs régions d'Afrique, par la CLHP, ont montré que la teneur en tocophérol est variable en fonction des provenances et que le climat a un effet significatif sur les teneurs. La teneur en tocophérol de 101 karité de 11 pays varie de 29 à 805  $\mu\text{g/g}$  avec une moyenne de 220  $\mu\text{g/g}$ . L'alpha-tocophérol, la principale forme détectée représente en moyenne 64% de la teneur totale. Les travaux de Maranz et al. (2004) sur la composition chimique de 42 populations de *Vitellaria paradoxa*, dans 11 pays ont également révélé qu'il existe une grande variabilité intra et extra population pour tous les paramètres étudiés. Les populations de *V. paradoxa* des zones chaudes et sèches ont les plus fortes teneurs en  $\alpha$ -tocophérol (par exemple, une moyenne de 414  $\mu\text{g/g}$  dans les échantillons de N'Djamena, Tchad). Les plus faibles concentrations en  $\alpha$ -tocophérol ont été enregistrées dans les échantillons des zones froides et montagneuses, notamment dans le Nord de l'Uganda (29  $\mu\text{g/g}$  en moyenne) (Maranz et Wiesman (2004) en viennent à la conclusion que la composition d'un aliment peut être significativement influencée par des paramètres environnementaux tels que le type de sol, les engrais, la disponibilité en eau et l'insolation. De par son importance dans la nutrition et l'industrie cosmétique, la présence d' $\alpha$ - tocophérol dans le beurre de karité en a fait une huile importante spécialement en cosmétique, en nutrition humaine et aussi dans

l'industrie pharmaceutique (Okullo et al., 2010).

En ce qui concerne les teneurs en vitamines A des deux variétés de *H. sabdariffa*, notre étude a trouvé de faibles valeurs pour les feuilles et les corolles tandis que dans les graines, les teneurs sont de 65,45 et 81,85 µg/g respectivement pour la variété à fleur rouge et la variété à fleur blanche. Nnam et Onyeke (2003) avait conclu que les deux variétés de *H. sabdariffa* sont riches en vitamine A, en se basant sur la teneur en β carotène estimée à 281.28–285.29 µg/100 g.

Contrairement aux teneurs en vitamines A et E sur lesquelles peu de données sont disponibles, des études n'ont pas été recensées pour les teneurs en vitamines K des espèces étudiées.

L'étude des formes d'utilisation des différentes plantes par les populations de la ZCP révèle que ces plantes sont également utilisées comme des alicaments et des compléments alimentaires. En effet, plusieurs recettes consistent à incorporer les parties de plantes utilisées dans les mets quotidiens ou à utiliser le décocté ou le macéré des végétaux pour la confection des mets. Les apports nutritifs fournis sont divers, comme démontré plus haut, et contribuent au traitement de plusieurs maux. Le rôle des vitamines a été abordé dans plusieurs études. Le tableau clinique de la dénutrition chez la femme a été particulièrement bien décrit par Bendich (2000) qui se base sur l'observation des femmes en état de dénutrition. Il observe sur 76% des malades en âge menstruel, une atrophie mammaire et chez 50% des femmes jeunes, une aménorrhée permanente est observée. D'autres auteurs comme Revankar et al. (2005) signalent un tableau d'hypoestrogénie dans la dénutrition. Plusieurs travaux ont montré que les vitamines interviennent dans la production et l'utilisation des hormones (Blatt et al., 2001 ; Mustacich et al., 2007; Manor et Morlet, 2007). En ce qui concerne la vitamine A, sa présence est clairement démontrable dans les tissus ovariens (Revankar et al., 2005). Dans l'ovaire, la vitamine A disparaît chez les animaux soumis à l'inanition et réapparaît

lorsque les animaux sont nourris de nouveau. Il semblerait donc qu'il joue un rôle dans la physiologie sexuelle. Selon Cross et al. (2001), la vitamine A pourrait agir sur les ovaires (lutéinisation partielle des ovaires). Ces mêmes auteurs observent qu'une supplémentation en vitamine A entraîne la disparition des douleurs chez les femmes affectées de mastodynie dû au syndrome prémenstruel ou à la congestion des seins lors de l'allaitement aussi. Les travaux de Filardo et Thomas (2005) ont démontré que l'administration journalière (10 et 20 mg) de la vitamine K à des lapines impubères provoque une hypertrophie mammaire, une augmentation du volume des ovaires et des trompes, congestion et hypertrophie utérine et une « tendance à la maturation des follicules ovariens ». Fang et al. (2001) avaient déjà signalé une action de la vitamine K sur l'utérus et sur les mamelles et une augmentation nette des follicules ovariens.

Par ailleurs, en raison de ses faibles réserves à la naissance, il est particulièrement important d'assurer un apport adéquat en vitamine A au nourrisson. Il est donc conseillé d'augmenter les apports de la mère Picciano (2001). Ces différentes études démontrent l'effet potentialisateur sur la gonadotrophine de diverses vitamines. En ce qui concerne *A. digitata* et *H. sabdariffa* par exemple, excepté les études sur les vitamines A, les autres vitamines (E et K) ont très peu été abordées. Par contre sur *V. paradoxa* nous avons obtenu quelques éléments de comparaison pour la vitamine E.

Eu égard à tout ce qui précède, la recherche des vitamines dans les plantes que nous avons analysées nous a donc permis donc de vérifier que leur utilisation est justifiée pour le traitement des troubles de la menstruation et de l'allaitement.

## Conclusion

L'étude des formes d'utilisation des différentes plantes par les populations de la ZCP révèle que ces plantes sont également utilisées comme des alicaments et des compléments alimentaires. En effet, plusieurs recettes consistent à incorporer les parties de

plantes utilisés dans les mets quotidiens ou à utiliser le décocté ou le macéré des végétaux pour la confection des mets. Les apports en vitamines fournis sont divers et pourraient contribuer au traitement de plusieurs maux. Les différentes vitamines dosées sont présentes dans des proportions variables d'une plante à l'autre. Les échantillons ont des teneurs relativement satisfaisantes en vitamine A et K. Pour la vitamine A, les écorces de *V. paradoxa* et *A. digitata*, et les graines de la variété à fleur blanche de *H. sabdariffa* ont respectivement 1,55 mg/g ; 0,208 mg/g et 0,08 mg/g. Les feuilles de *A. digitata* renferment la plus grande teneur en vitamine K avec 196,4 µg/g. Les feuilles, la pulpe, les écorces de *A. digitata* et les écorces de *V. paradoxa* ont des teneurs nulles en vitamine E la plus forte valeur est enregistrée dans les graines de la variété à fleur rouge de *H. sabdariffa* (256 µg/g). Il semble bien acquis, par exemple, que la dénutrition extrême produit l'atrophie anatomique et fonctionnelle des gonades. Les carences ou les excès vitaminiques jouent un rôle clinique important dans la physiologie sexuelle. Il est évident que de nombreux points restent à éclaircir. Quel est le rôle exact des diverses vitamines et particulièrement des vitamines A, E et K dans l'économie des hormones sexuelles ? Par quels mécanismes enzymatiques ou autres agissent ces vitamines dans la synthèse et la libération hormonale ? Les études sur la digestibilité et la biodisponibilité dans l'organisme sont également indispensables pour mieux comprendre la contribution à la résolution des problèmes de santé étant donné que les quantités ingérées ne sont pas toujours absorbées en totalité par l'organisme humain.

#### CONFLITS D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'il n'existe aucun conflit d'intérêts pour le présent article.

#### CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

KEIDK a réalisé la collecte des données sur le terrain, les manipulations au laboratoire et la rédaction de l'article ; FG a contribué à la mise au point du protocole de dosage des différentes vitamines étudiées ;

JGD a contribué à l'affinement des collectes de terrains, l'identification des espèces végétales et la rédaction ; BS a contribué à travers le Laboratoire d'Ecologie Appliquée au soutien logistique, technique et a également participé à la relecture du présent article.

#### REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont à l'endroit des populations des villages riverains de la zone cynégétique de la Pendjari pour leur contribution à la collecte des données sur le terrain. Nous remercions également, le Laboratoire de Pharmacognosie et des Huiles Essentielles et le Laboratoire d'Ecologie Appliquée (LEA) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC) pour l'appui technique.

#### REFERENCES

- Adepo YP, Bolou GEK, Akoa EEF. 2017. Effet sur le développement mammaire et analyse phytochimique de deux plantes lactogènes de la pharmacopée traditionnelle ivoirienne: *Euphorbia hirta* L. et *Secamone afzelii* (Roem. & Schult.) *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **11**(4): 1872-1877. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i4.35>
- Bendich A. 2000. The Potential for Dietary Supplements to Reduce Premenstrual Syndrome (PMS). *Journal of the American College of Nutrition*, **19**(1): 3 - 12. DOI: <https://doi.org/10.80/07315724.2000.10718907>
- Billion-Rey F, Guillaumont M, Frederich AY, Aulagner G. 1993. Stability of fat-soluble vitamins A (retinol palmitate), E (tocopherol acetate), and K1 (phylloquinone) in total parenteral nutrition at home. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, **17**(1): 56-60. DOI: <https://doi.org/10.1177/014860719301700156>
- Blatt DH, Leonard SW, Traber MG. 2001. Vitamin E kinetics and the function of tocopherol regulatory proteins. *Nutrition*, **17**(10): 799-805. DOI:

- [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(01\)00637-2](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(01)00637-2)
- Chadare FJ, Linnemann AR, Hounhouigan JD, Nout MJR, Van Boekel MAJS. 2009. Baobab Food Products: A Review on their Composition and Nutritional Value. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **49**(3): 254–274. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408390701856330>
- Cross GB, Marley J, Miles H, Willson K. 2001. Changes in nutrient intake during the menstrual cycle of overweight women with premenstrual syndrome. *Br J Nutr.*, **85**(4): 475-482. DOI: <https://doi.org/10.1079/BJN2000283>
- Diarra N, Togola A, Denou A, Willcox M, Daou C, Diallo D. 2016. Etude ethnobotanique des plantes alimentaires utilisées en période de soudure dans les régions Sud du Mali. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **10**(1): 184-197. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i1.14>
- Diop AG, Sakho M, Dornier M, Cisse M, Reynes, M. 2006. Le baobab Africain (*Adansonia digitata* L.): principales caractéristiques et utilisations. *Fruits*, **61**: 55–69. DOI: <https://doi.org/10.1051/fruits:2006005>
- Fang H, Tong W, Shi LM, Blair R, Perkins R, Branham W, Hass BS, Xie Q, Dial SL, Moland CL, Sheehan DM. 2001. Structure-activity relationships for a large diverse set of natural, synthetic, and environmental estrogens. *Chemical Research in Toxicology*, **14**(3): 280-294. DOI: <https://doi.org/10.1021/tx000208y>
- Filardo EJ, Thomas P. 2005. GPR30: a seven-transmembrane-spanning estrogen receptor that triggers EGF release. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, **16**(8): 362-367. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2005.08.005>
- French L. 2005. Dysmenorrhea. *Am. Fam. Physician*, **71**(2): 285-291. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15686299>
- Hoppe PP, Krennrich G. 2000. Bioavailability and potency of natural-source and all-racemic alpha-tocopherol in the human: a dispute. *Eur. J. Nutr.*, **39**(5):183-193. DOI: <https://doi.org/10.1007/S003940070010>
- Lebri M, Bahi C, Fofie NBY, Gnahoue G, Lagou SM, Achibat H, Yapi A, Zirihi GN, Coulibaly A, Hafid A, Khouili M. 2015. Analyse phytochimique et évaluation de la toxicité aiguë par voie orale chez des rats de l'extrait total aqueux des feuilles de *Abrus precatorius* Linn (Fabaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **9**(3): 1470-1476. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i3.29>
- Lockett CT, Calvert CC, Grivetti LE. 2000. Energy and micronutrient composition of dietary and medicinal wild plants consumed during drought. Study of rural Fulani, Northeastern Nigeria. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **51**(3): 195-208. DOI: <https://doi.org/10.1080/09637480050029700>
- Manor D, Morley S. 2007. The alpha-tocopherol transfer protein. *Vitam Horm*, **76**: 45-59. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(07\)76003-X](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(07)76003-X)
- Makalao MM, Savadogo A, Zongo C, Traore AS. 2015. Composition nutritionnelle de 10 fruits sauvages consommés dans trois départements du Tchad. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **9**(5): 2385-2400. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i5.11>
- Maranz S, Wiesman Z. 2004. Influence of Climate on the Tocopherol Content of Shea Butter. *J. Agric. Food Chem.*, **52** (10): 2934–2937. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf035194r>
- Maranz S, Wiesman Z, Bisgaard J, Bianchi G. 2004. Germplasm resources of *Vitellaria paradoxa* based on variations in fat composition across the species distribution range. *Agroforestry Systems*, **60**: 71–76. DOI: <https://doi.org/10.1023/B:AGFO.0000009406.19593.90>
- Mustacich DJ, Bruno RS, Traber MG. 2007. Vitamin E. *Vitam Horm*, **76**: 1-21. DOI:

- [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(07\)76001-6](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(07)76001-6)
- Nnam NM, Obiakor PN. 2003. Effect of fermentation on the nutrient and antinutrient composition of baobab (*Adansonia digitata*) seeds and rice (*Oryza sativa*) grains. *Ecology of Food and Nutrition*, **42**(4-5):265–277. DOI: <https://doi.org/10.1080/03670244.2003.9657684>
- Nnam NM, Onyeke NG. 2003. Chemical composition of two varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa* L.), calyces and the drinks made from them. *Plant Foods for Human Nutrition*, **58**(3): 1–7. DOI: <https://doi.org/10.1023/B:QUAL.0000040310.80938.53>
- Nordeide MB, Hatloy A, Folling M, Lied E, Oshaug A. 1996. Nutrient composition and nutritional importance of green leaves and wild food resources in an agricultural district, Koutiala, in Southern Mali. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **47**(6): 455–468. DOI: <https://doi.org/10.3109/09637489609031874>
- Okullo JBL, Omujal F, Agea JG, Vuzi PC, Namutebi A, Okello JBA, Nyanzi SA. 2010. Physico-chemical characteristics of shea butter (*Vitellaria paradoxa* C.F. Gaertn.) oil from the shea districts of Uganda. *Afr. J. Food Agric. Nutrition and Development*, **10**(1): 2070-2084. DOI: <https://doi.org/10.4314/ajfand.v10i1.51484>
- Picciano MF. 2001. Nutrient composition of human milk. *Pediatr. Clin. North Am.*, **48**(1): 53-67. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-3955\(05\)70285-6](https://doi.org/10.1016/S0031-3955(05)70285-6)
- Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, Arterburn JB, Prossnitz ER. 2005. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science*, **307**(5715): 1625-1630. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1106943>
- Sena, LP, Van der Jagt DJ, Rivera C, Tsin AT, Muhamadu I, Mahamadou O, Millson M, Pastuszyn A, Glew RH. 1998. Analysis of nutritional components of eight famine foods of the Republic of Niger. *Plant Foods for Human Nutrition*, **52**(1): 17–30. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9839831>
- Wang L, Cardini F, Zhao W, Regalia AL, Wade C, Forcella E, Yu J. 2004. Vitamin K Acupuncture Point Injection for Severe Primary Dysmenorrhoea: An International Pilot Study. *Medscape General Medicine*, **6**(4): 45. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1480551/>
- Ziaei S, Faghihzadeh S, Sohrabvand F, Lamyian M, Emamgholy T. 2001. A randomised placebo-controlled trial to determine the effect of vitamin E in treatment of primary dysmenorrhoea. *BJOG*, **108**(11): 1181-1183. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11762659>
- Ziaei S, Zakeri M, Kazemnejad A. 2005. A randomised controlled trial of vitamin E in the treatment of primary dysmenorrhoea. *BJOG*, **112**(4): 466-479. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2004.00495.x>