

MINISTERE DE L'EDUCATION

UNIVERSITE DU MALI

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple - Un But - Une Foi

**FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE
ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE (FMPOS)**

ANNEE : 2000 - 2001

N° 5

ETUDE DE DEUX PLANTES A ACTIVITE ANTIOXYDANTE AU MALI

**LANEA VELUTINA A. Rich ANACARDIACEAE
PSOROSPERMUM GUINEENSE HOCHR HYPERICACEAE**

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement le 10 Décembre 2001 devant
la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par

Monsieur Diabé BATHILY
Pour obtenir le Grade de Docteur en Pharmacie

D I P L O M E D' E T A T

JURY :

PRESIDENT : Professeur Amadou DIALLO
MEMBRES : Professeur Abdel Kader TRAORE
Docteur Elimane MARIKO

DIRECTEUR DE THESE : Docteur Drissa DIALLO

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2001 - 2002

ADMINISTRATION

DOYEN : MOUSSA TRAORE - PROFESSEUR

1^{ER} ASSESSEUR : AROUNA KEITA † - MAITRE DE CONFERENCES AGREGÉ

2^{EME} ASSESSEUR : ALHOUSSEYNI AG MOHAMED - MAITRE DE CONFERENCES AGREGÉ

SECRETAIRE PRINCIPAL YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - MAITRE DE CONFERENCES AGREGÉ

AGENT COMPTABLE : YEHIHA HIMINE MAIGA - CONTROLEUR DE TRESOR

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Aliou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie - Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
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
Mr 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 Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïssata SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr. Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie. Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophthalmologie
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale
Mr Adama SANGARE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie - Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL
Mr Sanoussi BAMANI	Ophthalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophthalmologie
Mr Issa DIARRA	Gynéco-obstétrique
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie - Traumatologie

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Bréhima KOUMARE	Bactériologie-Virologie
Mr Siné BAYO	Anatomie-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 Ogobara DOUMBO	Parasitologie - Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yéniégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Amadou TOURE	Histoembryologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie - Virologie
Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Amagana DOLO	Parasitologie
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie

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 DER
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mr Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Mr Boubakar DIALLO	Cardiologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Leprologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-entérologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mr Mamady KANE	Radiologie
Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie
Mr Diankiné KAYENTAO	Pneumo-Phtisiologie
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Mamadou B. CISSE	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie

5. ASSISTANT

Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie
------------------------	------------

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR

Mr Boubacar Sidiki CISSE Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Arouna KEITA † Matière Médicale
Mr Ousmane DOUMBIA Pharmacie Chimique
Mr Flabou BOUGOUDOGO Bactériologie - Virologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boukassoum HAIDARA Législation
Mr Elimane MARIKO Pharmacologie, **Chef de D.E.R.**
Mr Massa SANOGO Chimie Analytique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Drissa DIALLO Matières Médicales
Mr Alou KEITA Galénique
Mr Ababacar I. MAIGA Toxicologie
Mr Yaya KANE Galénique

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA Santé Publique, **Chef de D.E.R.**

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A. MAIGA Santé Publique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Yanick JAFFRE Anthropologie
Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G. TOURE Santé Publique
Mr Adama DIAWARA Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO Santé Publique
Mr Massambou SACKO Santé Publique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie
Mr Sidiki DIABATE	Bibliographie
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Arouna COULIBALY	Mathématiques
Mr Mamadou Bocary DIARRA	Cardiologie
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie Médicale
Mr Yaya COULIBALY	Législation
Mr Saïbou MAIGA	Législation

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. A.E. YAPO	BIOCHIMIE
Pr. M. L. SOW	MED. LEGALE
Pr. Doudou BA	BROMATOLOGIE
Pr. M. BADIANE	PHARMACIE CHIMIQUE
Pr. Babacar FAYE	PHARMACODYNAMIE
Pr. Eric PICHARD	PATHOLOGIE INFECTIEUSE
Pr. Mounirou CISS	HYDROLOGIE
Dr. G. FARNARIER	PHYSIOLOGIE
Pr. Amadou Papa DIOP	BIOCHIMIE

DEDICACES

JE DEDIE CE TRAVAIL A :

ALLAH LE TOUT -PUISSANT, LE MISERICORDIEUX

A MON PERE FEU SOULEYMANE BATHILY

« J'aurai tant aimé que tu assistes à ce jour mémorable mais Allah en a décidé autrement.

Repose en paix, Père ! »

Tu seras toujours un exemple pour moi, ta simplicité, ton amour, ta générosité, ton sens élevé de la famille.

A MA MERE OUMOU DIAGOURAGA

« Maman, ce travail est le témoignage de ma reconnaissance pour toutes ces années de don de soi et d'abnégations de ta part. Merci »

Tu es une mère exemplaire, tu as été mon réconfort, mon espoir, ma protectrice tout le long de ma vie.

Que tes efforts trouvent leur récompense dans ce travail.

A MONSIEUR DIABE N'DIAYE ET MA TANTE N'DIAYE F.B.

Je saisis cette occasion unique pour vous remercier de votre concours si déterminant pour la réussite non seulement de ce travail mais surtout de m'avoir donné un cadre idéal pour mes études.

A MA BELLE-MERE MADINA SANGARA A SEGOU

A MON ONCLE SEKOU BATHILY

A MES ONCLES MODIBO KANTARA DIAGOURAGA, ET SOULEYMANE TABOURE
(LIBREVILLE, PARIS, KOROFINA.)

A MES TANTES FATOUMATA, MARIAM, OUMOU, MAH, MAKANE TOUTES A BAMAKO
A MES GRANDS PARENTS

FEU OUALY DIAGOURAGA, FEUE FATOUMATA KEITA DITE BAFO.

FEU YELY BATHILY, FEUE KADIATOU DIAWARA.

A MON BEAU PERE ABOU DIALLO ET FAMILLE A KOULIKORO

- *FAMILLE GABOU DIAWARA A MEDINE*
- *FAMILLE PA SYLLA A MEDINE*
- *FAMILLE FEU BOULKASSOUM TOURE DIT BABLE A NIARELA*

A mes frères et sœurs : *AOUA, FATOUMATA, ASSETOU, OUALY, GUELADIO, BINTILY DITE BI, SAMBALLA, KADIATOU DITE FOUNY, SOULEYMANE ET FEU YELY.*

A mes cousins et cousines :

De la famille N'Diaye : Fatoumata, Kadiatou dite Tou, Nènè, Maba, Bah, Kiri, Barou sans oublier notre femme Mah.

Famille DIAGOURAGA : Djo, Nakana, Papis, Bafo, Mamoutiny

A mes nièces et neveux :

«Pour votre amour, votre respect et vos encouragements tout au long de ces années d'études. Profonde gratitude. »

Mamadou, Souleymane, Mariam, Abou, Djénébany, Yély, Alou, Assa Karamoko, Bagnery, Bathily (2), Djédjé, Adou, Ladj, Takaty, Mamourou, Boua, Djénéba, Bathily la binjamine.

Je vous dédie ce travail en espérant que vous me dédierez un jour une œuvre.

A MES BEAUX FRERES :

MODIBO MAKALOU, ABDOULAYE BABA KONATE, MAHAMBE MAKADJI, SEYDOU CAMARA, MAHAMANE MAIGA, FEU YACOUBA DIAKITE, BOUBACAR DIALLO.

AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE *MAITRE ET PRESIDENT DU JURY*

PROFESSEUR AMADOU DIALLO

Professeur de Biologie animale, de Parasitologie et Chef de DER de Biologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Pour avoir accepté de juger ce travail et de présider notre jury, trouvez ici l'expression de notre profond respect. Vous nous faites un grand honneur et un grand plaisir en acceptant de présider cette thèse.

Nous nous réjouissons de compter parmi les bénéficiaires de vos cours de Biologie animale et de parasitologie que vous avez toujours dispensé avec amour, sympathie et efficacité.

Veillez trouver ici, l'expression de notre sincère admiration et de notre profond respect.

A NOTRE *MAITRE ET JUGE*

PROFESSEUR ABDEL KADER TRAORE, MAITRE DE CONFERENCE AGREGE A LA FMPOS

*Chargé de cours de sémiologie médicale et de pathologie médicale à la FMPOS
Directeur de la Cellule d'Appui de Lutte contre la Maladie.*

Pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse, recevez nos remerciements les plus sincères.

Nous avons été très honoré de la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail.

Votre courage, votre sympathie et votre culture scientifique ont forcé notre admiration.

A NOTRE *MAITRE ET JUGE*

COLONEL ELIMANE MARIKO

Docteur en Pharmacologie, maître chargé des cours de Pharmacologie à la FMPOS

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail.

Nous avons pu apprécier à maintes reprises vos hautes qualités tant humaines que professionnelles.

Tronvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

A NOTRE *MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE*

DOCTEUR DRISSA DIALLO

Maître assistant de Matière Médicale à la FMPOS

Chef du Département de Médecine Traditionnelle à l'I.N.R.S.P.

Nous sommes très honoré que vous ayez bien voulu nous accepter dans votre service, de diriger ce travail et nous faire bénéficier de votre compétence en matière de phytochimie et de Médecine traditionnelle.

Votre rigueur dans la recherche scientifique, votre dévouement dans le travail ont forcé notre admiration pour vous.

Au moment d'achever de travail nous garderons de vous le bon souvenir d'un Maître assidu mais aussi d'un grand organisateur.

Soyez assurer de notre grande reconnaissance.

REMERCIEMENTS

A MADAME **ROKIA SANOGO GIANNI**
DR EN PHARMACIE

A TOUT LE PERSONNEL DU DEPARTEMENT DE MEDECINE TRADITIONNELLE (DMT) DE L'INRSP POUR LEUR DEVOUEMENT ET LE CADRE AMICAL QUI A REGNE TOUT AU LONG DE CE TRAVAIL.

« Recevez mes remerciements les plus cordiaux pour vos conseils et votre soutien . »

*Remerciement particulier à Monsieur Abdel Karim FOFANA, Secrétaire de Direction au Département Médecine Traditionnelle.
Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour les sages conseils prodigués tout au long de ce travail.*

DR MAHAMANE TRAORE, PHARMACIE DU CENTRE

MONSIEUR AMADOU NIANG, PHARMACIE DU CENTRE

A MON AMI BOUBACAR DAFPE, GUIDA LANDOURE VOTRE AMITIE, VOTRE DEVOUEMENT NE M'ONT JAMAIS FAIT DEFAUT. VIVE L'AMITIE.

A DJENEBA MAIGA ET TOUTES SES AMIES

A TOUS MES AMIS DE TAKISSEBOUGOU

ALOU BADRA WADE, SEKOU LAMINE, FOTIGUI, MADJID, BELCO, SOUL, YOUSOUF (MARIO).

MES AMIES : KADY, SATOUROU, ASSA, KAMA, AWA, DJENEBA

AUX TAKISSETTES : DJAGOUSS, RA, INA, DIM, NENE.

MES AMIS DE BOULKASSOUMBOUGOU : SEYDOU SANGARE, BAOU, PAPOU NIAMBELE, SOUNGALO, PABLO, ZOUROUGOU, MADOU KEITA.

- A LA GRANDE FAMILLE RASERE

- *Mon amie Doussou DIALLO à Djélibougou*

- *Mes camarades Assétou COULIBALY, Mama FOMBA, Caroline, Mama BAGYOYOKO, Bakary TRAORE et Abdoulaye KONIPO tous Docteurs en Pharmacie.*
TOUS MES CAMARADES DE PROMOTION

A tous mes amis ci-dessus cités :

« Votre Amitié m'a beaucoup aidé à terminer mes études à la FMPOS. Que vive l'amitié et la fraternité ».

- FAMILLE MOUHAMED CHERIF SIDIBE, KOULIKORO

- FAMILLE DR TOKA CISSE A BOULKASSOUMBOUGOU

- FAMILLE LAMINE TRAORE A BOULKASSOUMBOUGOU

- FAMILLE NIAMBELE, KEITA, DEMBELE, DIANE A BOULKASSOUMBOUGOU

- FAMILLE SANGARE A DJELIBOUGOU

- FELA, PLEAH, LASSY, DR DRY, GAOUSSOU, MAIGA, ABDOULAYE A KOROFINA

- OUMAR BERTHE, BABLE, THIerno, MOUSSE A NIARELA.

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac :	Acétate d'éthyle
Aq :	Aqueux
Ara :	Arabinose
CAMES :	Conseil Africain et Malgache pour l'Enseignement Supérieur.
Cb :	<i>Cussonia barteri</i>
CCM :	Chromatographie sur couche mince
CHCl ₃ :	Chloroforme
DCM :	Dichlorométhane
DMT :	Département de Médecine Traditionnelle
DMSO :	Diméthylsulfoxyde
DPPH :	le 1-1-Diphényl-2-Picrylhydrazyle
Ea :	<i>Entada africana</i>
Eac :	Extrait acétate d'éthyle.
Eaq :	Extrait aqueux
Enda :	Environnement et Développement du Tiers-monde. Programme Santé.
EtOH :	Ethanol
F :	Fraction
F. F :	<i>Flacourtia flabescens</i>
FMPOS :	Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
Gal :	Galactose
Glu :	Glucose
H ₂ O :	Eau
IC ₅₀ :	Concentration inhibitrice à 50 %
L/L :	Liquide, liquide
L.V :	<i>Lannea velutina</i>
L.Ve :	<i>Lannea velutina</i> écorce
L.Vf :	<i>Lannea velutina</i> feuille
L.Vr :	<i>Lannea velutina</i> racine
Man :	Mannose
Me :	Méthanol
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
OUA :	Organisation de l'Unité Africaine
P. G :	<i>Psorospermum guineense</i>
PNUD :	Programme des Nations Unies pour le Développement
PS :	<i>Pteolopsis suberosa</i>
Rf :	Rétention factors
Rha :	Arabinose
U.V :	Ultra-violet
Xyl :	Xylose
RMN :	Raisonance magnétique Nucléaire

1. INTRODUCTION	1
2. MOTIVATION	3
3. OBJECTIFS	4
3.1. Objectifs généraux	
3.2. Objectifs spécifiques	
4. TRAVAUX ANTERIEURS	
4.1. Rappels sur les antioxydants et plantes à activité antiradicalaire	6
4.1.1. Rappels sur les antioxydants	6
4.1.2. Les plantes sources d'antioxydants naturels	10
4.2. Molécules à activité antioxydante isolées des plantes	10
4.3. <i>Lannea velutina</i> A. Rich	21
4.3.1. Description botanique	21
4.3.2. Systématique	21
4.3.3. Noms vernaculaires	21
4.3.4. Habitat	21
4.3.5. Utilisation en Médecine Traditionnelle	22
4.3.6. Propriétés pharmacologiques	22
4.3.7. Phytochimie	22
4.4. <i>Psorospermum guineense</i>	24
4.4.1. Description	24
4.4.2. Noms vernaculaires	25
4.4.3. Synonyme	25
4.4.4. Systématique	25
4.4.5. Habitat	25
4.4.6. Utilisations en Médecine Traditionnelle	25
4.4.7. Propriétés pharmacologiques	26
4.4.8. Phytochimie	27

5. METHODOLOGIE	30
5.1. Matériel végétal	31
5.2. Phytochimie	34
5.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)	34
5.2.2. Réaction de caractérisation	37
5.3. Extraction de <i>Psorospermum guineense</i>	49
5.4. Chromatographie sur Colonne	50
5.4.1. Description de l'injection solide	50
5.4.2. Elution	50
5.4.3. Système de suivi de la colonne	50
5.4.4. Chromatographie sur couche mince (CCM)	51
5.4.5. Migration	51
5.4.6. Révélation	51
5.4.7. Test biologique	51
5.5. Hydrolyse acide	52
5.6. Détermination de l'activité antioxydante et antiradicalaire	
Par la méthode de dilution	52
5.7. RMN	52

6.1. RESULTATS	53
6.1. CCM des extraits bruts	54
6.2. Révélation Godin et lumière U.V	56
6.3. Test biologique	56
6.4. <i>Lannea velutina</i>	57
6.4.1. Réaction en tubes du screening phytochimique	57
6.4.2. Dosage de l'eau	58
6.5. <i>Psorospermum guineense</i>	61
6.5.1. Réaction en tube du screening phytochimique <i>Psorospermum guineense</i>	61
6.5.2. Dosage de l'eau	63
6.6. Synthèse des résultats des études phytochimiques de la poudre de feuilles de <i>Psorospermum guineense</i> et de la poudre de l'écorce de racine de <i>Lannea velutina</i> .	65
6.7. Schéma d'extraction de <i>Psorospermum guineense</i> .	67
6.8. Séparation liquide liquide	68
6.9. Chromatographique sur colonne	69
6.10. Chromatographie sur couche mince (CCM).	70
6.11. Hydrolyse acide	71
6.12. Activité antioxydante et antiradicalaire des quatre fractions isolées de la colonne par la méthode de dilution au DPPH.	72
6.13. Rayonnement magnétique nucléaire (RMN)	73
7. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS	74
8. CONCLUSION	77
9. BIBLIOGRAPHIE	78
10. RESUME	79
11. SUMMARY	80
12. ANNEXE	81

1. INTRODUCTION :

Au Mali, l'ensoleillement, la pollution (auto, industrialisation etc.) et la consommation de cigarettes avec le nombre grandissant de jeunes fumeurs peuvent provoquer dans l'organisme des substances que nous appelons radicaux libres. Un radical libre est une molécule indépendante ayant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa dernière couche.

Ces radicaux libres sont utilisés par l'organisme pour combattre les agents infectieux.

L'oxydation de ces radicaux libres peut favoriser le développement de certaines maladies comme l'athérosclérose, l'arthrite, l'asthme, la maladie de Parkinson, la neurodégénération (Miller, 1993 ; Harman, 1992).

Une étude menée à l'Hôpital Gabriel TOURE (HGT) du 1^{er} novembre 1996 au 31 octobre 1997 sur les accidents vasculaires cérébraux non hypertensives (A V C) a donné 67,5 % d'hémiplégie avec 20 % de décès dont 58,8 % d'hommes et 41,2 % de femmes sur 34 cas enregistrés. Une prédominance masculine a été observée avec un sexe-ratio égal à 1,42. (Diarra, 1999).

L'AVC par l'athérosclérose est un événement irréversible dont les conséquences peuvent être catastrophiques pour le malade. La lutte contre cette maladie passe obligatoirement par la prévention. L'une des préventions pourrait être la lutte contre l'oxydation des radicaux libres qui, sans en être la cause favorisent les AVC.

Dans notre étude, nous amorçons la recherche dans notre patrimoine végétal des plantes présentant des propriétés antioxydantes.

Sans connaître la Chimie des plantes, le Malien à l'instar des autres hommes a toujours eu recours à la nature pour se soigner. Au fil des siècles, il a accumulé des connaissances empiriques, parfois accompagnées de superstitions sur les plantes médicinales.

Dans la région de l'Afrique, 80 % de la population se soigne en faisant appel aux ressources de la flore et de la Pharmacopée locale. La demande en Médecine Traditionnelle est aujourd'hui de plus en plus présente compte tenu du sous développement économique, résultat de diverses crises que connaît le continent (KOUMARE, 1983 ; ADJANOHOUN, 1990).

L'utilisation massive de ces plantes médicinales par nos populations a poussé l'OMS/PNUD/OUA/CAMES/ENDA) à financer et à encourager les chercheurs à approfondir les connaissances scientifiques sur ces plantes. Les plantes sélectionnées qui présenteraient une activité thérapeutique et sans toxicité pour l'homme seront sélectionnées et mises à la disposition des populations à un coût acceptable.

Aujourd'hui nous estimons que les principes actifs provenant de végétaux représentent 25 % des médicaments prescrits, soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes (Potterat et Hostettmann, 1995).

Sur environ 500.000 espèces, seule une petite partie a été étudiée du point de vue chimique et pharmacologique. Ce potentiel gigantesque offert par le règne végétal suscite un engouement croissant (Chevaley, 2000).

La capacité des plantes de synthétiser de nouveaux composés constitue un énorme potentiel pour la découverte de nouveaux médicaments. Ces médicaments pourraient être utilisés pour résoudre le problème que constitue l'apparition des formes de résistance bactérienne, de nouveaux types de cancer ou de virus (Calvin, 1999).

Notre travail est une contribution à l'étude des plantes à activité antiradicalaire au Mali. Après un criblage biologique de 33 extraits de sept plantes, nous avons mené une étude phytochimique des feuilles de *Psorospermum guineense* et des écorces de racine de *Lannea velutina* qui ont présenté une bonne activité antiradicalaire.

2. MOTIVATION :

En 1978, l'Organisation Mondiale de la Santé s'est résolument engagée à la recherche et à la valorisation de la Pharmacopée traditionnelle afin de pouvoir satisfaire aux besoins de santé des populations. Notre travail s'inscrit dans cette perspective et a été motivé par :

- la volonté de valoriser et de promouvoir les plantes médicinales au Mali.
- La nécessité de faciliter l'accès des populations aux médicaments à moindre coût, compte tenu du coût élevé des médicaments conventionnels.
- L'intérêt que suscite l'étude des biomolécules naturelles à activité antioxydante et antiradicalaire.
- Les extraits bruts des différentes parties de plantes du Mali ont montré une activité antioxydante, antiradicalaire (Diallo, 2000).
- Les extraits bruts des feuilles de *Psorospermum guineense* et de l'écorce de racine de *Lannea velutina* ont été actifs au test biologique de DPPH (le 1-1-Diphényl-2-Picrylhydrazyle) (Diallo, 2000).

3. OBJECTIFS :

3.1. Objectifs généraux :

- Déterminer l'activité antioxydante des extraits de plantes médicinales maliennes.

3.2. Objectifs spécifiques :

- Identifier les deux (2) plantes ayant plusieurs substances antioxydantes
- Déterminer les groupes chimiques présents dans les feuilles de *Psorospermum guineense*.
- Déterminer les teneurs en eau, cendres totales, substances extractibles par l'eau des feuilles de *Psorospermum guineense*.
- Déterminer les groupes chimiques présents dans les écorces de tronc de *Lannea velutina*.
- Déterminer les teneurs en eau, cendres totales, substances extractibles par l'eau des écorces de tronc de *Lannea velutina*.
- Identifier la fraction la plus active au DPPH de l'extrait des feuilles de *Psorospermum guineense*.

TRAVAUX ANTERIEURS

4. TRAVAUX ANTERIEURS :

4.1. RAPPEL SUR LES ANTIOXYDANTS ET PLANTES A ACTIVITE ANTIRADICALAIRE :

4.1.1. Rappels sur les antioxydants :

L'oxygène est la source d'énergie indispensable à toute vie, à l'exception des organismes anaérobiques. Cette énergie est utilisée par les cellules de l'organisme pour oxyder les hydrates de carbone, les protéines et les graisses pour produire principalement du CO₂, H₂O et de l'énergie nécessaire au processus de la vie.

Au cours des divers phénomènes oxydatifs tels que les rayonnements UV, de radiations ionisantes (IR), de métaux de transition (Cuivre, zinc) et de diverses réactions enzymatiques des « espèces réactives de l'oxygène » apparaissent telles que le radical superoxyde O₂, le radical hydroxyle HO, le radical alkyle RO et peroxyde ROO, eau oxygénée H₂O₂ et l'oxygène singulet. Ces espèces sont utilisées par l'organisme afin de combattre les agents infectieux. La production par le corps humain de certains composés comme les prostaglandines passe aussi par des intermédiaires radicalaires. Cependant cette production des radicaux libres est strictement contrôlée par l'organisme (l'homéostasie). Par définition l'homéostasie est un équilibre fragile entre la formation de pro-oxydants et leur élimination (antioxydants). Si cet équilibre est rompu en faveur de la formation des pro-oxydants, l'organisme endure ce que l'on appelle un stress oxydatif. Il y a donc une surproduction de pro-oxydants que la cellule ne peut plus éliminer. Ces espèces instables peuvent provoquer des dommages dans l'organisme en peroxydant des lipides ou l'hémoglobine des globules rouges ou encore en fragmentant la protéine. Dans la plupart des cas, les oxydants ne sont pas la cause mais jouent un rôle secondaire au processus primaire de certaines maladies telles l'athérosclérose. Les dommages oxydatifs secondaires causés aux lipides au niveau des parois des vaisseaux sanguins sont une contribution significative au développement de cette maladie (Halliwell, 1996). « Ces espèces réactives » peuvent être aussi à l'origine de l'arthrite, de l'asthme, de la maladie de Parkinson, du mongolisme et de la neurodégénération (Müller, 1992 ; Harman, 1992).

Les radicaux libres semblent également participer aux phénomènes de vieillissement, qui pourraient être la conséquence des dommages oxydatifs irréversibles accumulés tout au long de l'existence (Seelert, 1992).

Le terme radical libre a très souvent été assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant ; il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres.

L'origine des radicaux libres est diverse. La pollution de notre environnement peut générer la formation d'espèces réactives de l'oxygène, mais aussi la fumée. Rappelons qu'une bouffée de cigarettes contient environ 10^{14} radicaux.

Ces mêmes cigarettes contiennent également des traces d'ions métalliques qui peuvent réagir avec le peroxyde d'hydrogène pour former des radicaux hydroxyles. La vitamine C par exemple, considérée comme un anti-oxydant peut aussi être à l'origine de la formation des radicaux hydroxyles en présence de peroxyde d'hydrogène.

Les radicaux libres constituent cependant une cible particulièrement prometteuse pour prévenir un certain nombre de maladies telles les AVC. (Harman, 1992).

Un antioxydant est défini comme toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat. Le terme de substrat oxydable inclut toutes sortes de molécules in vivo. Ainsi, lorsque des espèces réactives de l'oxygène sont générées in vivo, de nombreux anti-oxydants interviennent. Il s'agit principalement d'enzymes comme la superoxyde dismutase, le glutathion peroxydase, la catalase et aussi les molécules de faibles masses moléculaires comme le tripeptide glutathion ou l'acide urique (Michiels et al, 1994).

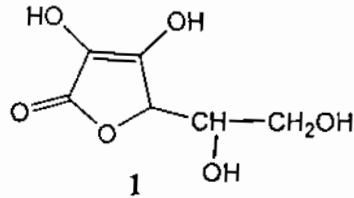
En plus de ces substances propres à l'organisme, il existe d'autres sources d'anti-oxydants telles que l'alimentation et les médicaments.

En ce qui concerne les médicaments, de nouveaux composés aux propriétés anti-oxydantes font l'objet de nombreuses recherches. Rappelons toutefois que pour trouver une application en tant que médicament, un composé doit posséder non seulement une activité anti-oxydante, présenter une innocuité totale vis-à-vis de l'organisme, mais aussi être doté de propriété physico-chimique permettant une distribution correcte dans des cellules et dans les tissus, ce qui n'est pas toujours évident.

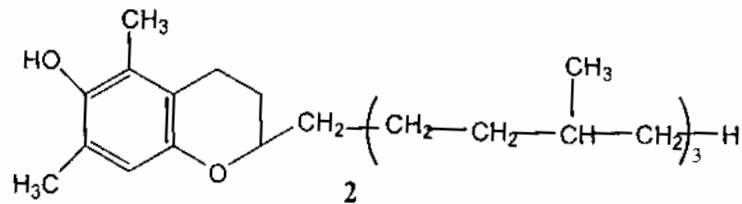
Actuellement, les agents thérapeutiques tels que les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les anti hyperlipoprotéïnémiques, les β -bloquants et autres anti hypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés anti-oxydantes. Citons deux exemples le Probuco[®] est un médicament qui, en plus de ses effets reconnus dans la baisse du taux sanguin de cholestérol, prévient l'atherogénèse en agissant comme anti-oxydant et en supprimant la modification oxydative des lipoprotéines de basse densité (LDL). La N. acétyl cysteine, a fait l'objet de nombreuses études. Cette molécule pénètre les cellules et agit de manière très efficace dans la régénération du glutathion. Des recherches ont également démontré que la N.acetyl-cysteine peut être utile dans le traitement des blessures du poumon dues à des espèces réactives de l'oxygène.

L'alimentation apporte à l'organisme des substances naturelles antioxydantes parmi lesquelles nous pouvons citer les vitamines C, E et P ainsi que le β -carotène.

- La **vitamine C** (acide ascorbique) (1) est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (Sies et Stahl, 1995). On retrouve la vitamine C principalement dans les aliments suivants : les légumes (surtout le brocoli), le chou, le poivron, le persil, les agrumes, et le cynorrhodon (Calvin, 1999). Le citron, la mandarine, et l'orange.

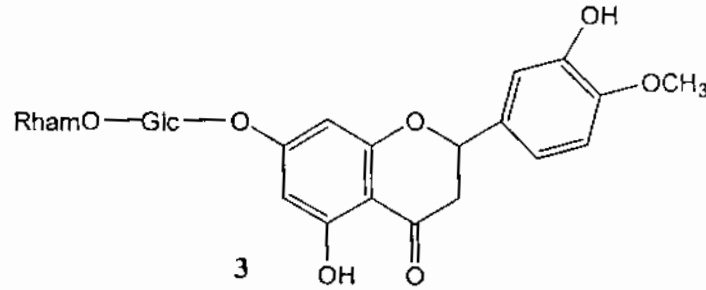


- La **vitamine E** (Tocopherol) (2) prévient la peroxydation des lipides membranaires in vivo en capturant les radicaux peroxydes. Elle est présente dans les huiles végétales (huile d'arachide, de soja, de palme, de maïs, de tournesol et d'olives pressés à froid) ainsi que les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes (Calvin, 1999).

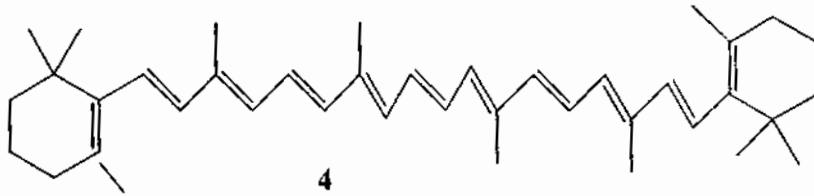


La vitamine P (3) : (Citrine, bioflavonidine et naringine, rutine, hesperidine, (-catechol)
La vitamine P intervient dans l'insuffisance veineuse par une diminution de la perméabilité et une augmentation de la résistance des capillaires. Elle agit par inhibition de la formation et de la libération de l'histamine ; nous pensons que l'oxydation de l'adrénaline serait empêchée. L'activité antiradicalaire de la vitamine P serait due à l'entité catéchole qui est un très bon capteur de radicaux libres (Chevaley, 2000).

Il existe une synergie importante avec la vitamine C. Elle se trouve dans le foie, viande (volaille, poisson), fruits secs, légumes secs, pomme de terre, céréales (Rakipov, 1987).



- Le β -carotène (4) qui, outre l'activité provitaminique A, possède la capacité de capter l'oxygène singulet. On le retrouve dans les légumes verts, les épinards, la salade, les carottes, le haricot, le melon, le potiron, la papaye et d'autres fruits jaunes (Calvin, 1999).



- Les recommandations parlent d'un apport quotidien de 60 mg de vitamine C et de 10 mg de vitamine E. Il n'en existe pas pour le β -carotène. Toutefois, ces quantités suffisent juste à prévenir les phénomènes de carence. C'est la raison pour laquelle les spécialistes recommandent en général un apport quotidien nettement plus élevé : 150-300 mg de vitamine C, 50-150 mg de vitamine E et 2-6 mg de β -carotène (Calvin, 1999).
Pour la vitamine P les besoins sont de 15 à 20 mg par jour pour l'adulte et augmente pendant l'adolescence, la grossesse et l'allaitement.

L'industrie alimentaire est toujours à la recherche d'anti-oxydant d'origine naturelle pour fournir une alternance à l'utilisation de composés synthétiques tels que le butyl hydroxytoluène (BHT) ou le butyl hydroxyanisole (BHA). Ils utilisent actuellement des diterpènes du romarin (*Rosmarinus officinalis*, Lamiaceae) disponibles commercialement comme additifs alimentaires (Schwarz et Ternes, 1992).

La chimie recherche également dans les anti-oxydants d'origine naturelle de nouvelles structures modèles pour le développement de nouveaux médicaments.

4.1.2. Les plantes sources d'antioxydants naturels :

L'importance des anti-oxydants d'origine naturelle ne cesse de croître ces derniers temps. En effet, on retrouve dans la littérature de plus en plus de publications sur les composés naturels aux propriétés anti-oxydantes (Potterat, 1997).

Les mécanismes d'action sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réactions d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition (Larson, 1995).

En tant que constituant alimentaire ces anti-oxydants d'origine naturelle semblent contribuer de manière significative à la prévention de maladies telles que le cancer ou encore des maladies cardio-vasculaires. Les procyanidines du thé vert et du thé noir (Weissburger, 1997) et les polyphénols du vin rouge (Tamura et Yamagami, 1994) ont été étudiés dans cette optique.

En ce qui concerne les plantes médicinales bien connues et économiquement importantes nous pouvons citer l'ail (*Allium sativum* L., Liliaceae) et le *Ginkgo boliba* L., Ginkgoaceae) qui sont utiles dans le traitement de problèmes cérébrovasculaires et circulatoires dus à la vieillesse (Yamasaki et al, 1994).

4.2. Molécules à activité antiradiculaire isolées des plantes :

Les anti-oxydants naturels sont recherchés et étudiés dans le but de trouver de nouvelles structures modèles pour le développement des médicaments. Ils représentent une alternative à l'utilisation d'antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxytoluène (BHT) ou le butylhydroxyanisol (BHA). Au cours de ces dix dernières années, on a découvert de nombreux composés ayant des propriétés anti-oxydantes et ceci dans de nombreuses classes de substances naturelles et le nombre de composés actifs connus ne cesse d'augmenter.

Les anti-oxydants naturels sont présents dans toutes les plantes supérieures et dans toutes les parties de la plante. Ce sont pour la plupart des composés phénoliques. On définit par composé phénolique tout composé possédant un noyau aromatique contenant un ou plusieurs substituants hydroxyles, incluant différents groupes fonctionnels dérivés (esters, glycosides, etc.). Ils sont largement répandus parmi les plantes alimentaires et sont régulièrement consommés par un grand nombre de personnes. Parmi ces composés les flavonoïdes représentent la classe de substances la plus étudiée (Bors et al, 1990). N'oublions cependant pas de mentionner d'autres classes de substances telles que les xanthones, les coumarines, les caroténoïdes, les dérivées de l'acide hydroxycinnamique, les tanins et les lignanes pour lesquelles des activités anti-oxydantes ont été établies.

- **Les flavonoïdes :**

Les flavonoïdes sont très répandus dans le règne végétal à différentes concentrations, où ils jouent un rôle déterminant dans le système de défense comme anti-oxydant.

Les flavonoïdes sont également très intéressants du point de vue médical car ils sont associés à de nombreuses activités biologiques telles que anti-inflammatoires, anti hépatotoxiques, antitumorales, anti hypertensives, antithrombiques, antibactériennes, antivirales, antiallergiques et anti-oxydantes (Anderson et al., 1996).

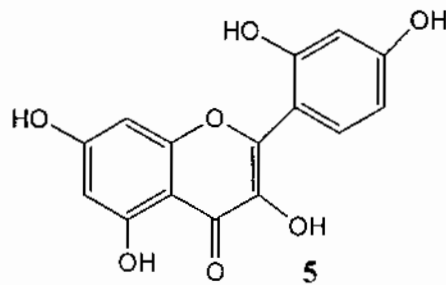
Les flavonoïdes peuvent fonctionner soit comme chélateurs de métaux (quercétine) soit comme capteurs de radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxyles et peroxyiles (quercétine, rutine, kaempferol) (Madhavi et al., 1996). Les relations structure activité anti-oxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont démontré que l'activité anti-oxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation (Salvi, 1998).

Bien qu'étant anti-oxydants, les flavonoïdes ont également des effets pro-oxydants sur les protéines (Ahmed et al., 1994) des lipides et sur l'ADN (Langhton et al., 1989).

Les flavonoïdes sont largement présents dans les fruits, les légumes, le thé et le vin.

L'apport quotidien de flavonoïdes au sens large est estimé à 1 gramme dans les pays du Nord, mais ils sont généralement très mal absorbés par le tractus gastro-intestinal (Formica et Regelsonn, 1995).

Parmi les flavonoïdes, citons la morine (5) qui présente non seulement une activité antioxydante envers les radicaux peroxyiles mais également une activité hépatoprotectrice. Elle contribue aussi à l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LdL) impliquées dans l'athérogénèse (Potterat, 1997).

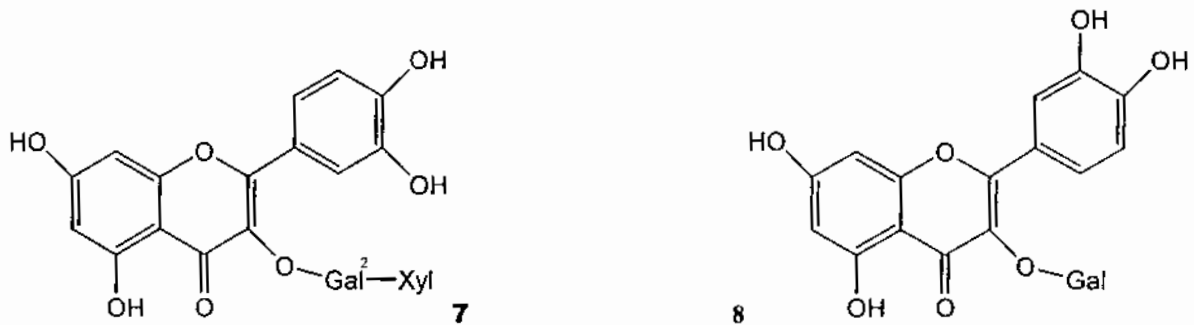
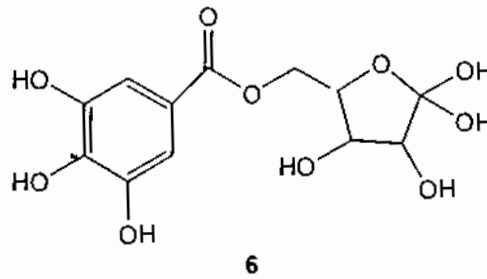


L'extrait méthanolique de *Saxifraga stellaris* L. a permis d'isoler les composés (6), (7) et (8) qui ont montré une forte activité antiradicalaire au test de DPPH. Cette activité est comparable à celle de la quercétine, plus élevée que celle du BHT. Ces composés contiennent une entité cathéchole sont de très bons capteurs de radicaux libres (Chevaley, 2000).

(6) = 6-O-galloylfructose (stillarine)

(7) = 3-O-[2-O-(β -xylopyranosyl)- β -galactotopyranosyl]-Kaempferol

(8) = 3-O-[2-O-(β -xylopyranosyl)- β -galactotopyranosyl]-quercétine



L'extrait buthanolique de *Saxifraga cuneifolia* L. a permis d'isoler neuf composés (9), (10), (11), (12), (13), (14), (15), (16) et (17) qui sont des flavonoïdes dont l'activité est comparable à celle de la quercétine et de l'acide gallique. En effet les composés (9), (10), (11), (13), (16) et (14) possèdent tous un cycle orthotrihydroxyle et selon Bors et Sara, 1987 ceci est un critère pour avoir une bonne activité antioxydante. Quant aux composés (11), (15), et (17) leur activité est liée à l'entité catéchole (Chevaley, 2000).

(9) acide 3, 4, 5-trihydroxybenzoïque [3,4-dihydro-5,7,dihydroxy-(3,4,5 trihydroxyphenyl-2h-1-benzopyran-3-yl-6-deoxyglucopyranosid-6-c-yl] ester (=3-O-(6''-O-galloyl- β -D-glucopyranosyl)-gallocatéchine.

(10) = 3-O-galloyl-gallocatéchine

(11) = rutine

(12)=1-0-galloyl- β -glucose

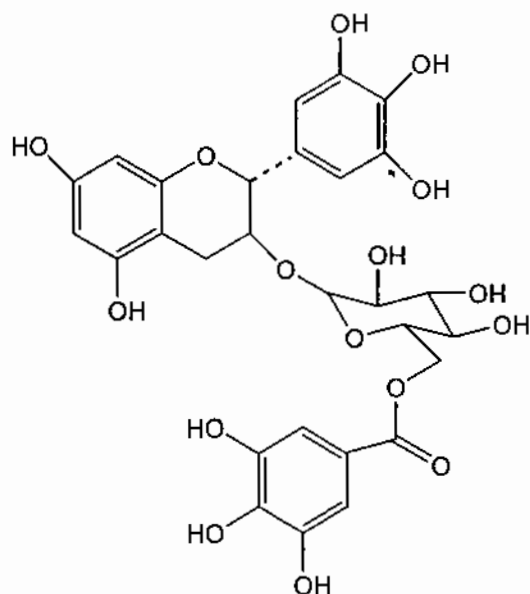
(13)=3-0- β -glucopyranosyl-gallicacétine

(14)=gallicacétine (2 S, 3 R)

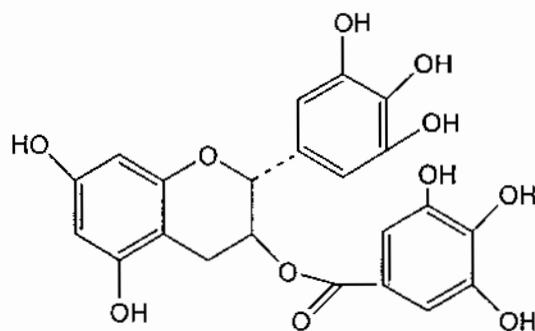
(15)=catéchine (2 S, 3 R)

(16)=acide 3,4,5-hydroxybenzoïque[2-hydroxy-4-(3-oxobutyl)-6-deoxyglucopyranoside-6-c-yl]
ester (=4-[4'-0-(6''-0-galloyl- β -D-glucopyranosyl-3'-hydroxyphenyl] butan-D-one)

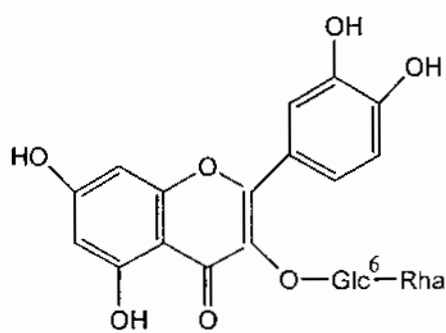
(17)=3-[(E)-1-(3,5,-dihydroxyphenyl) ethenyl] -3,4-dihydroxyphenyl- β -D-glucoside (= (E)-3-0- β -D-glucopyranosyl-stilbene-3-3',4,5'-tétraol.



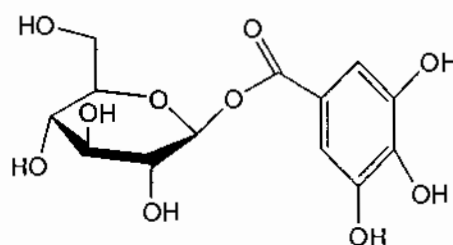
9



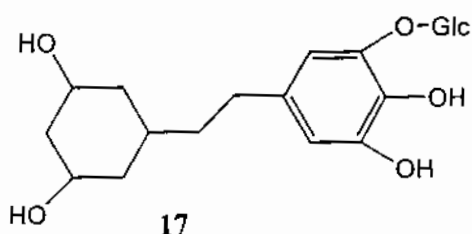
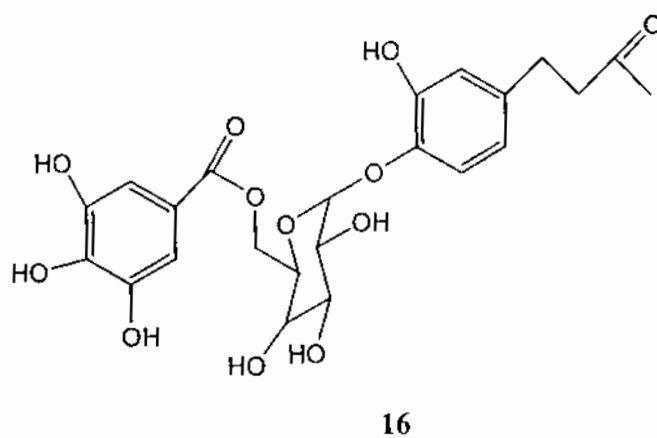
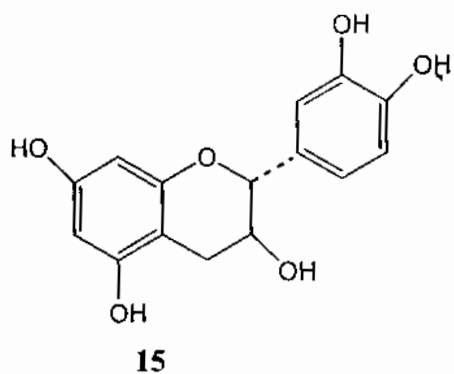
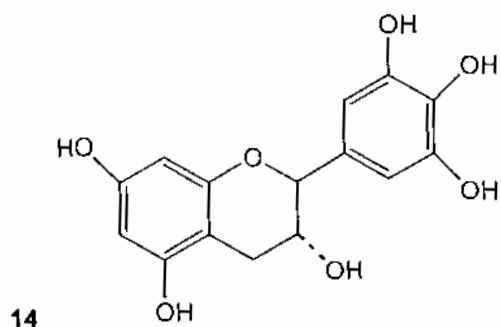
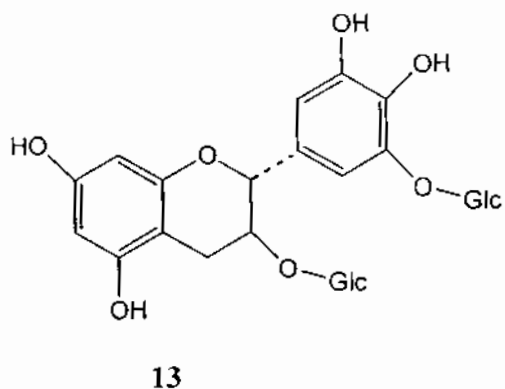
10



11

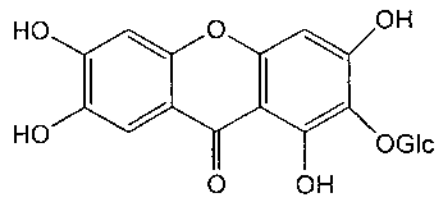


12



Les xanthonnes :

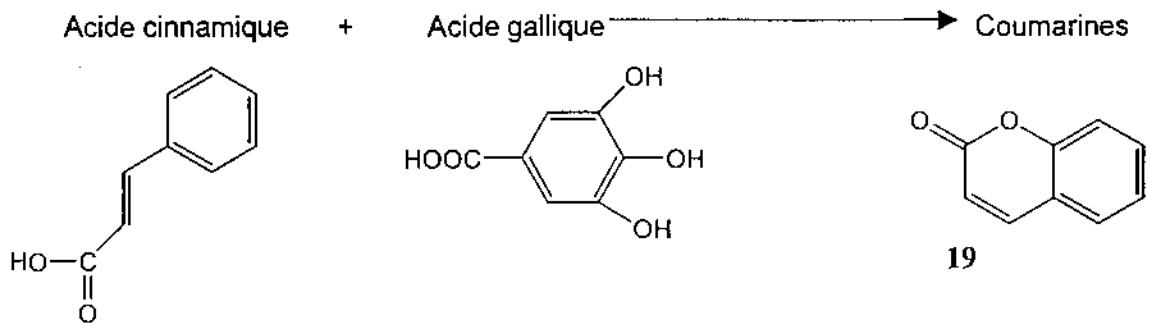
Les propriétés pharmacologiques reconnues sont l'inhibition de la monoamino-oxydase, leurs activités antimicrobiennes et leurs cytotoxicités (Hostettmann et Hostettmann M., 1989). Cependant, suite au rapport sur les propriétés anti-oxydantes de la mangiferine (18) (Sato et al., 1992), de nombreuses études ont démontré que ces polyphénols possèdent également de très intéressantes propriétés d'inhibition envers la peroxydation lipidiques, ainsi que des propriétés capteurs de radicaux libres ainsi que des anions superoxydes (Anderson et al., 1996).



18

Les coumarines :

Les coumarines (19) sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes (Anderson et al., 1996).



Paris M. Hurabelle M. (1981)

Les caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont des constituants membranaires des chloroplastes et forment un groupe de pigments liposolubles. Ils contribuent à la coloration jaune, orange ou rouge des fruits et légumes. Nous les trouvons souvent dans les plantes alimentaires.

Le β -carotène est le caroténoïde le plus abondant dans la nourriture et il semblerait qu'il diminue les risques de certains cancers (Peto et al., 1981). Les caroténoïdes réagissent avec l' O_2 singulet, les radicaux peroxydes et alkoxydes en capturant les radicaux libres (Krinsky, 1989).

Dérivés d'acides phénoliques et divers composés phénoliques :

Le nombre de publications concernant l'activité antioxydante des acides phénoliques et de ses dérivés est considérable.

La plupart de ces composés sont des dérivés de l'acide hydroxycinnamique, plus exactement des dérivés des acides P coumariques, caféïques, féruliques et chlorogéniques. Ils sont présents dans de nombreux fruits et légumes, soit sous formes libres, soit sous formes de dérivés.

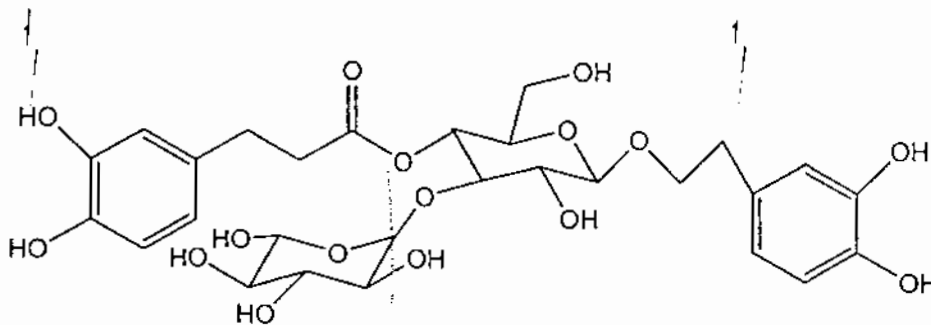
On les retrouve principalement dans le café (4%), les prunes (0,9%), les myrtilles (0,2%), le raisin (0,2%) et les pommes (0,1%) (Huang et Ferraro, 1991).

Ces dérivés possèdent également des propriétés antitumorales. En effet, ils peuvent bloquer la nitrosation des amines soit par réduction du nitrite en oxyde nitrique, soit par formation de dérivés C-nitroso en agissant non seulement *in vitro*, mais également *in vivo* (Huang et Ferraro, 1991).

Ces composés possèdent également des activités antioxydantes et antiradicalaires. Ainsi, l'acide caféïque, les radicaux superoxydes produits par le système NADPH/méthosulfate de phénazine, présentent de fortes activités antioxydantes et anti radicalaires envers le radical DPPH (Ohnishi et al., 1994).

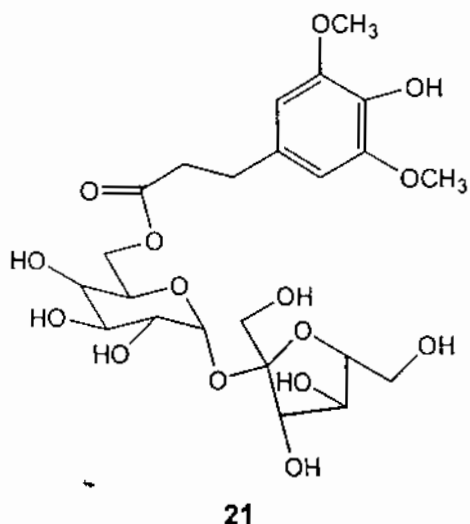
De nombreux glycosides du phényl propane, en particulier ceux qui possèdent une partie catéchole, ont montré de fortes activités antioxydantes. Ainsi, le verbascoside (20), un composé ubiquitaire très étudié, inhibe l'autooxydation de l'acide linoléïque et la peroxydation lipidique microsonale. Il présente également une forte inhibition de la peroxydation lipidique dépendante du fer dans les mitochondries et possède une forte capacité de capter le radical libre DPPH (Potterat, 1997).

20

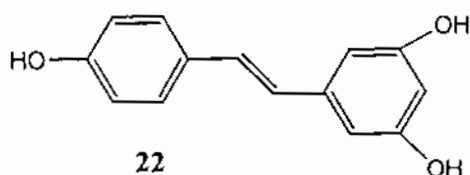


20

- L'acide ester sinapique (21) extrait d'*Iberis amara* a montré des propriétés antioxydantes lors du test au DPPH (Fabre *et al.*, 1999).



Parmi les dérivés phénoliques, le resveratrol (22) est le composé qui sera bientôt le plus étudié. En effet, ce stilbène, isolé du raisin, possède de fortes propriétés antioxydantes. Il inhibe également des lésions prénéoplastiques de la souris et rencontre un certain intérêt en tant qu'agent chimiopréventif chez l'être humain (Jang *et al.*, 1997).



Les tanins :

Les propriétés antioxydantes ont été démontrées pour les tanins hydrosolubles (les gallocatéchines du thé vert) et les procyanidines. Ils inhibent aussi bien l'autooxydation de l'acide ascorbique de la peroxydation ; lipidique des mitochondries du foie et des microsomes. Les tanins agissent en donneurs de protons face aux radicaux libres lipidiques produits lors de la peroxydation, des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation lipidique. Ils sont par conséquent de très bons capteurs de radicaux libres.

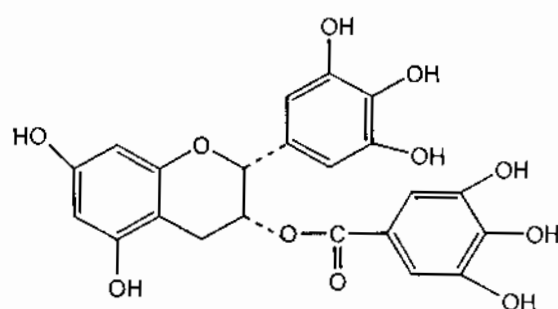
Le thé vert est l'exemple le plus souvent cité (*Camellia sinensis* O. Kuntze, Theaceae). En effet, de part son utilisation abondante dans l'alimentation, le thé vert a fait l'objet de nombreuses recherches sur ses propriétés antioxydantes ainsi que sur ses mécanismes d'action. Les substances actives isolées sont les gallocatéchines.

Le thé vert contient 9-13% de gallate d'(-)-epigallocatéchine (23), 3-6% de gallate d'(-)-epicatéchine, 3-6% d'(-)-epigallo-catéchine et 1-2% d'(-) epicatéchine. Par comparaison, le thé noir ne contient que 5% d'(-) epigallocatéchine.

La Chine et le Japon sont les plus grands consommateurs de thé vert. Bien que la moyenne en Europe soit de 7 à 9 grammes de thé vert, certains grands buveurs pouvaient consommer jusqu'à 1 gramme de gallate (gallocatéchine) par jour (Huang et Ferraro, 1991).

Les effets bénéfiques des polyphénols du thé vert, particulièrement le gallate d'(-)-epigallocatéchine, sont attribués à leurs propriétés antioxydantes et à leurs capacités de capter des radicaux libres. Ces substances présentent également des propriétés anticancéreuses non négligeables.

De nombreuses études ont démontré, suite à des administrations d'extrait de thé vert, une diminution significative des cancers (Gutman et Ryri, 1996). Les polyphénols du thé vert ont aussi montré des propriétés antioxydantes (Weissbuger, 1997).

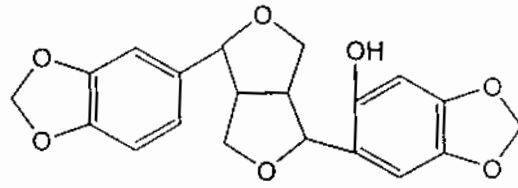


23

Les lignanes :

Les lignanes les plus étudiés du point de vue de leurs activités antioxydantes sont les dérivés bifuranyles des graines de sésame (*Sésamum indicum* DC., Pedaliaceae). La forte résistance à la détérioration oxydative de l'huile de sésame a suscité depuis plusieurs années de nombreuses recherches sur les graines de sésame. Les lignanes diaryl furanofuraniques tels que le sésaminol (24) ont démontré des propriétés antioxydantes expliquant ainsi la stabilité de cette huile.

Aujourd'hui, on recense plusieurs publications sur l'activité anti-oxydante des lignanes (Potterat, 1997).



24

Les alcaloïdes :

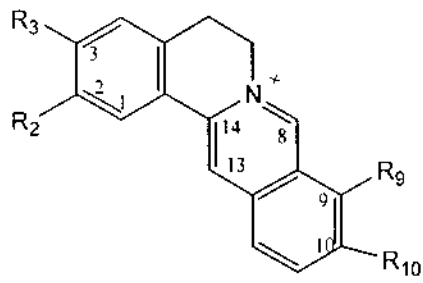
Les alcaloïdes sont des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale, azotés ou basiques et constituent la majorité des principes actifs des plantes médicinales.

La structure chimique des alcaloïdes est extrêmement variée, le seul point commun est la présence d'un azote qui confère à la molécule un caractère basique.

En effet du point de vue physiologique les alcaloïdes agissent comme dépresseurs du système nerveux central d'autres sur le système nerveux autonome : sympathomimétique (Ephédrine) ; sympatholytique (Ergotamine) ; parasymphatomimétique (Pilocarpine) ; parasymphatholytique. Ils ont aussi des propriétés anesthésiques locales, antitumorales, antiprotozoaires (Paris et Hirabelle ., 1981). Certains alcaloïdes principalement les alcaloïdes protobérine (25), berbérine (26), oxyberbérine (27), jatrorrhizine (28), columbamine (29) et les alcaloïdes aporphines (isoquinoléines + phénanthrène) magnofflorine (30), corytuberine (31) ont montré des propriétés lipidiques anti-oxydantes. Les études ont démontré que les alcaloïdes protobérines présentent des propriétés d'inhibition de la lipoxygénase tandis que pour les aporphines ces propriétés sont très faibles (Misik et al., 1995).

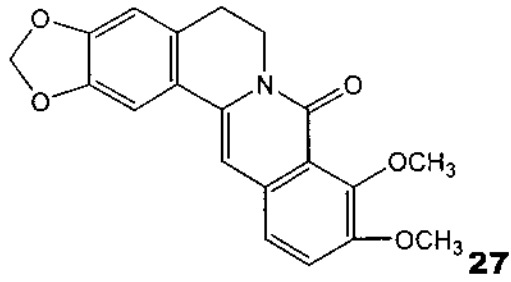
Le mécanisme de l'inhibition du lipoxygénase par ces alcaloïdes peut être lié à celle de l'accumulation de substrat lipidique hydroperoxyde qui serait à la base de leurs propriétés anti-oxydantes. (Misik et al., 1995).

Les alcaloïdes sont présents dans toutes les parties de la plante mais sont le plus souvent localisés dans certains organes ; racines (Ipéca) ; feuilles (Coca) ; fruits (Pavot), écorce (Quiquina) ; graine (colchique). Ils sont très répandus chez les dicotylédones.

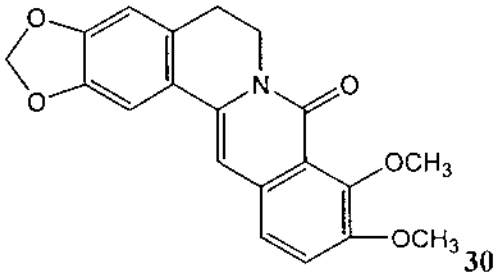


25

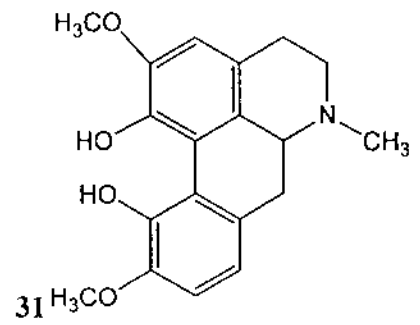
NOM	R ²	R ³	R ⁹	R ¹⁰
Berberine (26)	O-CH ₂ -O-		OCH ₃	OCH ₃
Jatrovizine (28)	O-CH ₂ -O-	OH	OCH ₃	OCH ₃
Columbamine (29)	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃



27



30



31

4.3. *Lannea Velutina* A .Rich

4.3.1. Description botanique : C'est un petit arbre haut de 2 à 6 m à feuilles imparipennées alternes très souvent condensées au sommet avec 3 à 5 folioles très pubescentes, arrondies à l'extrémité (Photo n° 1). Ces folioles peuvent atteindre 9 cm de long sur 5 cm de large. Avec l'âge les folioles peuvent devenir glabres dessus.

Les fleurs de couleur vert jaunâtre sont en racèmes spéciformes, portant parfois des petites ramifications vers la base.

Les fruits de *Lannea Velutina* sont des baies ovales oblongues, veloutés, longues de 8 à 10mm, large de 6 à 7 mm, portant 4 dents au sommet (Ouologuem, 1999).

4.3.2. Systématique de *Lannea velutina* A. Rich :

Règne	Végétaux
Sous-règne	Eucaryotes
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales
Série	Disciflores
Sous-série	Diplostemones
Ordre	Celastrales
Famille	Anacardiacees
Genre :	<i>Lannea</i>
Espèce :	<i>Velutina</i>

IV.3.3. Noms vernaculaires :

Wolof : son abey (Berhaut), ndogot ; serère : ndaberndoki (Berhaut),ndog ; falor tagba (Sebire) ; Malinké . bembegaga (aubreville) ; manding. Bembemuso (aubreville) ; babadembeke ; bambara. Bakorompeku (aubreville) ; Peulh. Tubo nabé (aubreville) tinoli poley ; diola bukuta, mutopedamen (Berhaut) ; bainbâgok (*kheraro et Adams., 1974*).

4.3.4. Habitat :

Il se rencontre dans toutes les savanes boisées soudaniennes, mais il est surtout abondant au sud de la voie ferrée du Mali (Kheraro 1974) ; zanzana (Sikasso), Bamako - Sotuba, Yanfolila, Goinso, Sebekoro (*Ouologuem, 1999*).

4.3.5. Emplois en médecine traditionnelle :

Cette espèce est peu réputée. Les préparations d'écorces et de racines sont utilisées par voie interne comme antidiarrhéique, par voie externe en bain chez les enfants rachitiques et chez les adultes souffrant de douleurs généralisées sans cause apparente, en massage pour les claquages musculaires (Kerharo et Adams, 1974).

La sève donne un bon vernis. L'épiderme du tronc, pris sous l'écorce est utilisée en massage pour donner de l'élasticité et de la tonicité aux muscles (Ouologuem, 1999).

4.3.6. Propriétés pharmacologiques :

A la suite d'un screening réalisé avec les extraits dichlorométhane des feuilles de *Lannea velutina* à différentes concentrations (250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm et 31,25 ppm) sur les larves (*Anophèle gambiae* ss et *Culex quinquefasciatus*). Après 24 heures d'exposition l'activité larvicide s'est dégagée avec une mortalité de 100 % à 250 ppm, 85 % à 125 ppm, 60% à 62,5 ppm et 50 % à 31,25 ppm. Cette activité larvicide serait due à la présence de substances glucosylées (Ouologuem, 1999).

4.3.7. Phytochimie :

Les tests phytochimiques effectués sur les feuilles de *Lannea velutina* ont permis de mettre en évidence la présence de tanins, de flavonoïdes, de stéroïdes, de triterpènes, d'oses et d'holosides et une forte présence de cendres sulfuriques (8 %).

La présence des substances glucosylées a été largement suspectée au RMN (raisonance magnétique nucléaire) (Ouologuem, 1999).

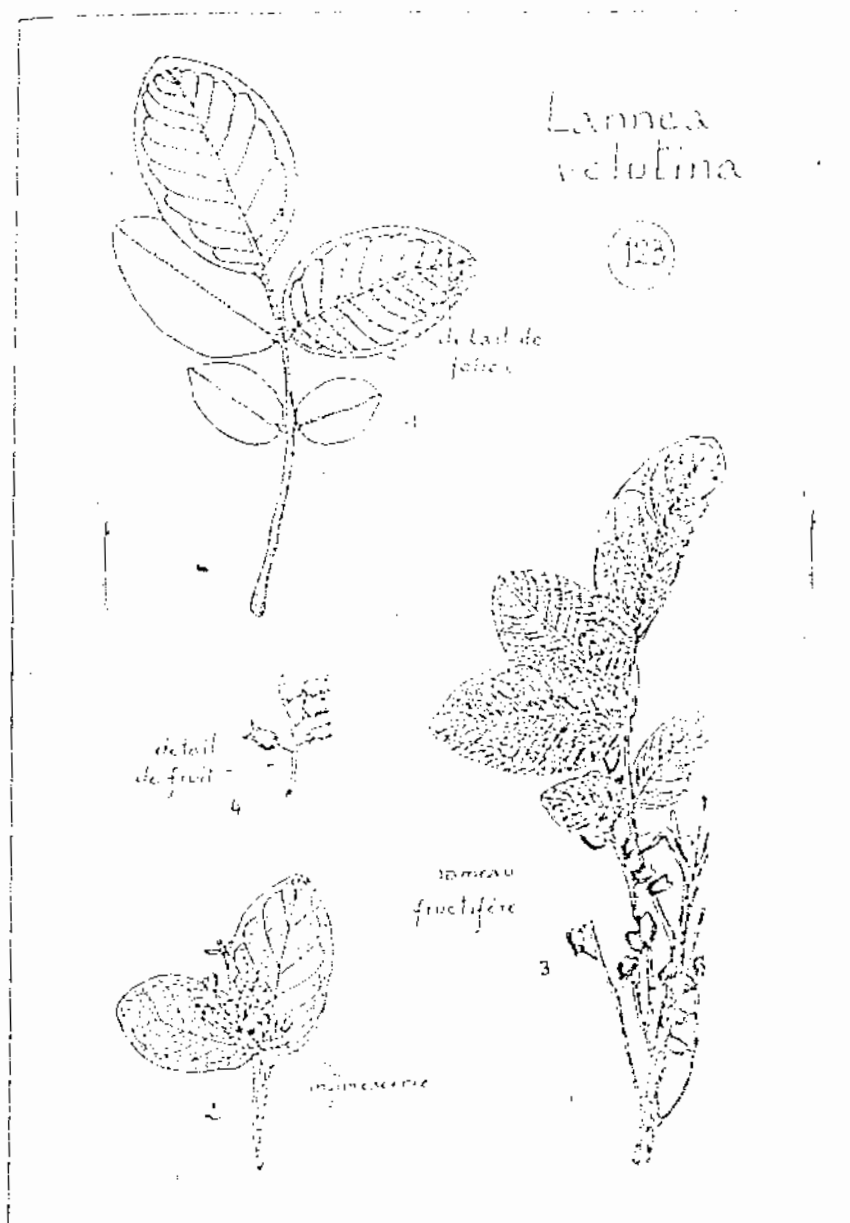


Photo n° 1

4.4. *Psorospermum guineense* Hochr.

4.4.1. Description botanique :

Psorospermum guineense est une Hypericaceae buissonnante de 3 à 5 m de hauteur. Les écorces (Photo 2) beiges et rougeâtres se desquament par petites plaques. Les limbes longs de 6 à 12 cm, larges de 5 à 6 cm sont opposés ovales ou elliptiques à base arrondie ou cordée, pubescente dessous à nervation saillante. Le dessous est criblé de points noirs, visibles quand la pubescence n'est pas trop dense (Diarra, 1991).

Dans la pubescence, on distingue des poils étoilés. Le pétiole est long de 6 à 12 cm à pubescence tomenteuse roussée de même que les jeunes tiges (Photo 3).

Les fleurs de *Psorospermum guineense* sont roses ou blanchâtres en panicules. Les fruits sont des baies globuleuses rouge foncés sur une collerette de sépales persistantes. Son cycle végétatif (Photo 4) donne des feuilles assez rapidement dès Octobre, les fleurs apparaissent en Novembre les fruits sont mûrs en Novembre-Décembre (Malgras, 1992).



Photo n° 2

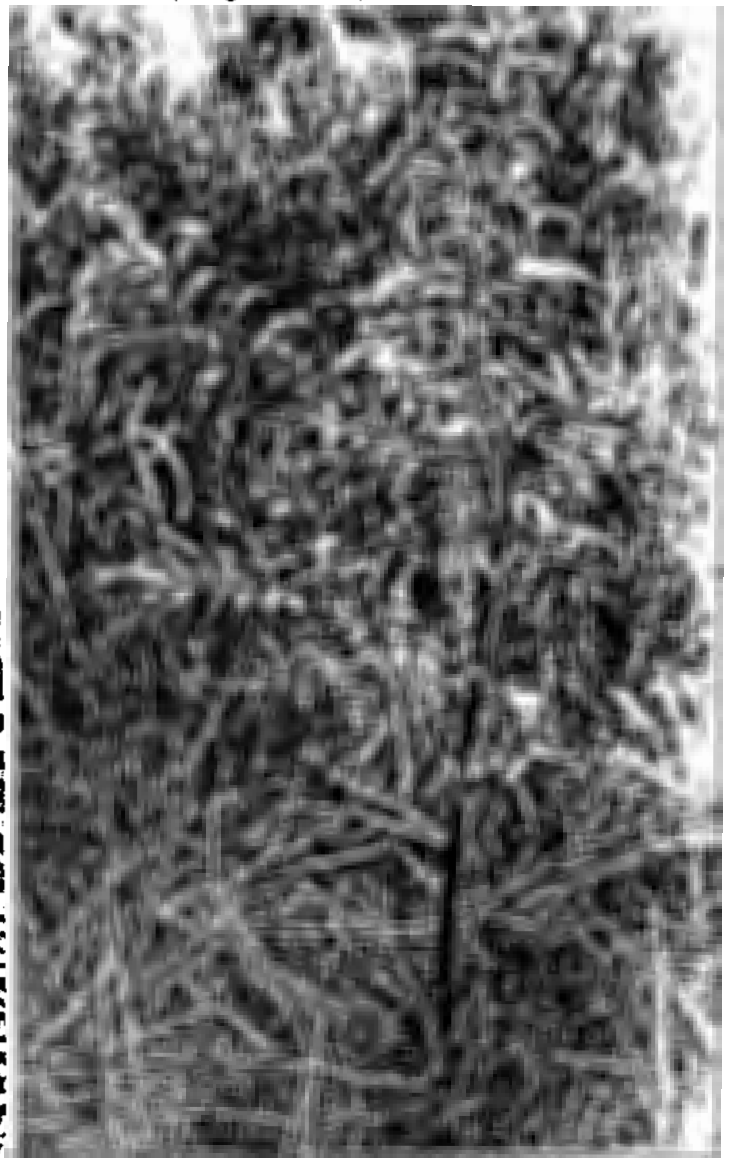


Photo n° 3

4.4.2. Nom vernaculaire : Bamabara : Karidjakuma Peulh : katidjakuma Ouolof : éklène

4.4.3. Synonymie : Pour G. Penso, *Psorospermum guineense* décrit par Hochr est identique à *Psorospermum senegalensis* (*Psorospermum febrifum*) décrit par Spach et *Vismia guineensis* décrit par Guil et Perr (TRAORE, 1999).

4.4.4. Systématique :

Règne	Végétaux
Sous règne	Eucaryotes
Groupe	Eucaryotes chlorophylliens
Sous groupe	Embryophytes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Série	Thalamiflores
Sous-série	Neristemones
Ordre	Gutiferales ou hypericales
Famille	<i>Hypericaceae</i>
Genre	<i>Psorospermum</i>
Espèce	<i>Guineense</i>

4.4.5. Habitat :

Psorospermum guineense est une espèce Soudano-guinéenne que l'on rencontre surtout dans les savanes arbustes boisées et dans les jachères car elle rejette facilement. Elle est répandue au Sénégal, au Cameroun. Elle est fréquente de façon dispersée dans le Sud et l'Est du Mali (Kheraro et Adams, 1974).

4.4.6. Utilisations en Médecine traditionnelle :

L'écorce et les racines de *Psorospermum guineense* sont employées au Mali en décoction pour des usages internes et externes contre plusieurs maladies telles que les dermatitis, la syphilis, herpès et eczéma au Mali. La plante est utilisée avec la vaseline ou avec le beurre de karité contenant 1% de la racine contre les maladies tropicales.

Les racines sont aussi utilisées sous différentes formes : poudre pour les coliques, décocté contre les blennorragies et macéré contre la lèpre. La plante est surtout indiquée dans les prescriptions antipsoriques d'où son nom Mandingue « la gale de chat » (Kheraro et Adams., 1974).

Elle est aussi employée dans le traitement de nombreuses dermatoses telles que le Kakafin (DIARRA, 1991).

Les feuilles sont utilisées pour le traitement des eczêmas, elles seraient également efficaces sur les prurits eczémateux (TRAORE, 1999).

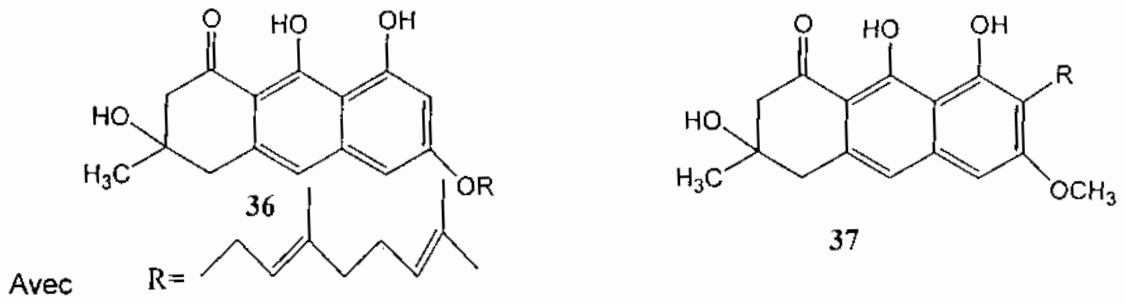
Les racines pilées et présentées en onguent sont utilisées contre les morsures de chiens et de serpents. Elles sont utilisées en décoction comme désintoxiquant mais aussi contre les maux de cœur, mêlées à du beurre de karité les racines de *Psorospermum guineense* sont utilisées en application locale contre les teignes. Les écorces pilées avec du beurre de karité sont utilisées dans le traitement des blessures, gale flarienne. Les feuilles sont utilisées en infusion pour arrêter la géophagie en décoction contre l'épilepsie. Les rameaux feuillés sont utilisés en décoction avec les rameaux feuillés de *Guiera senegalensis*, *Fadogra* et *Gardenia sokolensis* contre le paludisme (Denis et Malgras, 1992)

4.4.6. Propriétés pharmacologiques :

L'essai clinique de la poudre de racines de *Psorospermum guineense* mélangée au beurre de karité (la spermine pommade) en application locale pendant deux semaines dans le traitement des eczêmas et le beurre de karité simple a aussi été utilisé comme placebo. A la fin du traitement l'essai clinique a donné une disparition de 81,67 % des eczêmas sur les patients ayant utilisé la psorospermine et 14 % pour le placebo. Il a été noté aussi une disparition de 86,67 % de prurit chez les patients ayant utilisé la spermine contre 42 % pour le placebo. La tolérance du traitement a été excellente dans 83,33 % des cas.

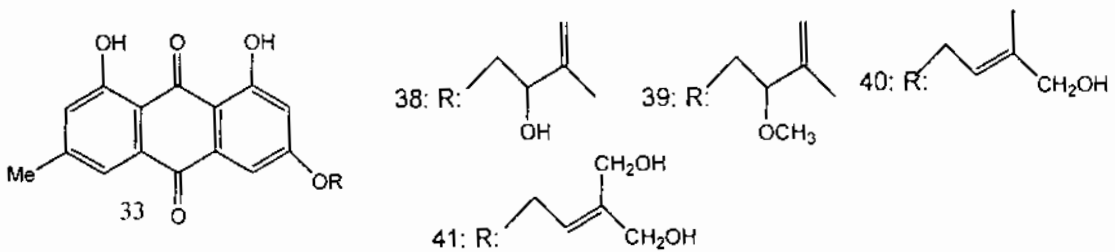
Ces propriétés thérapeutiques seraient dues à la présence des composés anthracéniques (acide chrysophanique) les dérivés de la geranyloxy : dihydroxyanthrone et de la vismione (TRAORE, 1999).

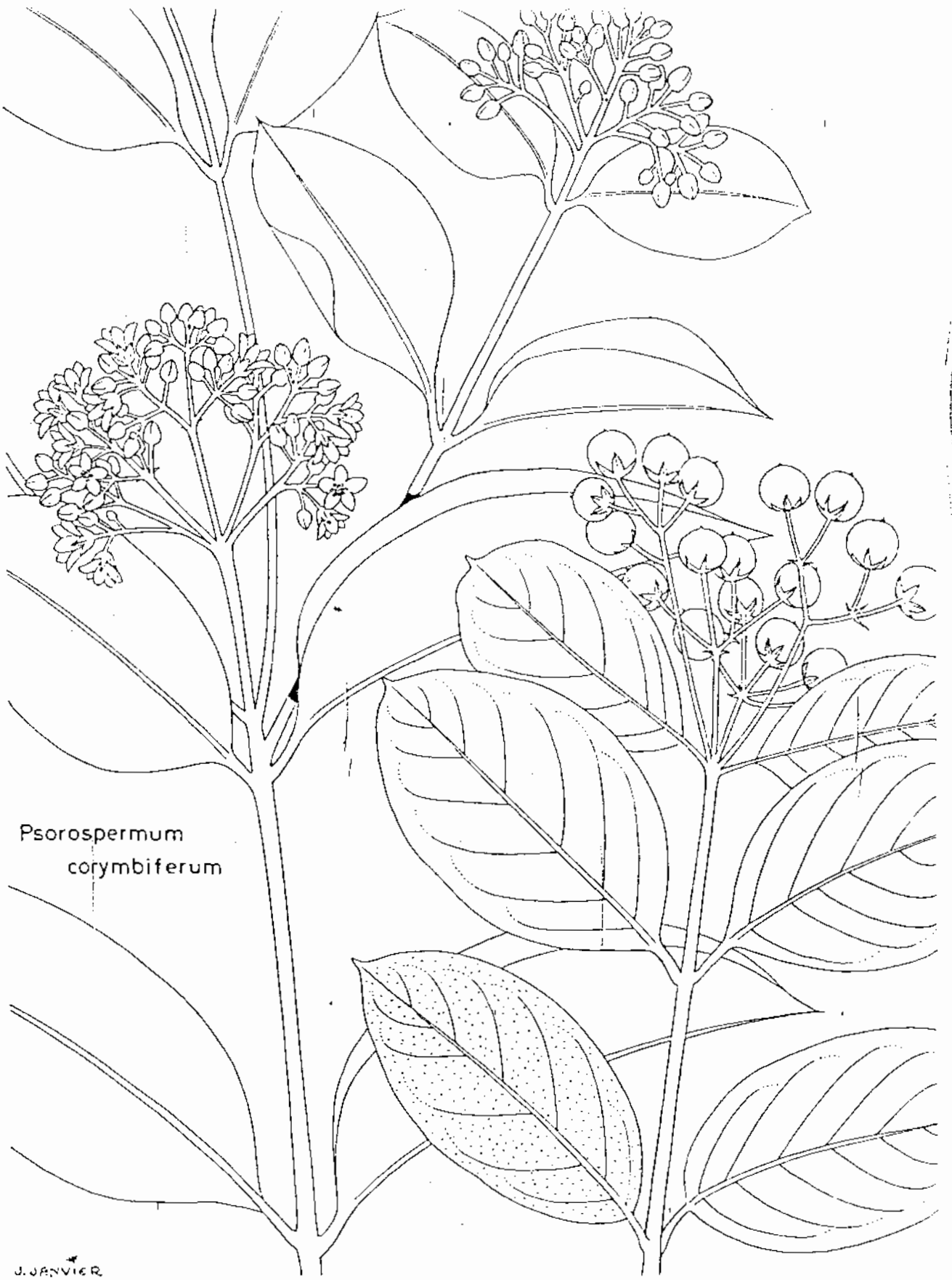
Les essais biologiques effectués sur la souris blanche ont montré que *Psorospermum guineense* Hochr présente une toxicité comparable à celle de l'hypéricine qui lui est conférée par un pigment rouge de nature anthraquinonique contenu dans l'écorce de racine. Cette toxicité se manifeste par une hypertrophie rénale avec congestion et par des hémorragies intestinales (TRAORE, 1999).



L'étude de l'extrait acétonique de la racine de *V. guineense* a permis d'isoler et d'identifier dix composés dont six xanthones (33) et quatre dérivés de l'émodine (38) (Bilia et al., 1999)

- (39) 3-O (2-hydroxy-3-méthylbut-3-enyl) emodine
- (40) 3-O (2-méthoxy-3-méthylbut-3-enyl) emodine
- (41) 3-O (E-3-hydroxyméthyl-4-hydroxybut-2-enyl) emodine
- (42) 3-O (3-hydroxyméthyl-4-hydroxybut-2-enyl) emodine
- (43) 1,8 Dihydroxy-3-géranylaxo-6 méthyl xanthone
- (44) 1,8 Dihydroxy-3-isoprenyloxy-6-méthyl xanthone
- (45) 1,8 Dihydroxy-3- (2 méthoxy-3-méthylbut-3-enyloxy)-6 méthyl xanthone
- (46) 1,8 Dihydroxy-3- (3-7-diméthyl-7 méthoxy-Oct-2 enyloxy)-6 méthyl xanthone
- (47) 1,8 Dihydroxy-3- (E-3 hydroxyméthylbut-2-enyloxy) -6 méthyl xanthone
- (48) 1,8 Dihydroxy-3- (3 hydroxyméthyl 4 hidroxybut 2-enyloxy) -6 méthyl xanthone.





Psorospermum
corymbiferum

J. JANVIER

Photo n° 5

TRAVAUX PERSONNELS

5. METHODOLOGIE :

Nous avons effectué les travaux au laboratoire du Département Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP/DMT) à partir de novembre 2000.

Une partie des tests biologiques a été réalisée à l'Université d'Oslo.

5.1. Matériel végétal : Extraits de plantes

Dans notre étude, nous avons dans un premier temps soumis 33 extraits provenant de 7 plantes de familles différentes à un screening biologique avec le DPPH visant à mettre en évidence leurs propriétés antioxydantes et antiradicalaires. Ces extraits avaient présenté des propriétés antioxydantes et antiradicalaires aux tests de DPPH et β -Carotène (Diallo, 2000).

Sur la base de ces tests, les feuilles de *Psorospermum guineense* (Hypéricaceae) et les écorces des racines de *Lannea velutina* qui ont présenté une forte activité antioxydante et antiradicalaire au test de DPPH, ont été sélectionnées pour une étude approfondie de leurs constituants phytochimiques. Les feuilles de *Psorospermum guineense* ont subi une extraction avec le méthanol et l'isolement de leurs constituants biologiques actifs au DDPH.

Les feuilles de *Psorospermum guineense* et les écorces de *Lannea velutina* ont été récoltées respectivement dans la deuxième quinzaine du mois de Décembre et la première quinzaine du mois d'Avril à Blendio dans la région de Sikasso. Les deux échantillons ont été séchés à la température du laboratoire et broyés avec la broyeuse ERWEKA Apparaturbau-Gumb, type EKO, N° 11481 au Département de Médecine Traditionnelle.

Tableau n° 1 : Présentation des différents extraits de plantes utilisées pour le screening biologique :

FAMILLE NOM SCIENTIFIQUE	NOMS VERNACULAIRES	PARTIE UTILISEE	TYPE D'EXTRAIT
Ebenaceae <i>Diospyros abyssinica</i> (hiern)	Koforoto	Racines Feuilles	MeOH MeOH
Anacardiaceae <i>Lannea velutina</i> A. Rich	Bakorompeku	Feuilles Ecorces Racines	MeOH MeOH DCM DCM
Araliaceae <i>Cussonia barteri</i>	Bolokuruni	Racines	H ₂ O EtOH
Hypériaceae <i>Psorospermum guineense</i> (L) Hochèr	Karidjakuma	Feuilles	H ₂ O EtOH
Flacourtiaceae <i>Flacourtia flabescens</i>	Samagnoni	Feuilles	EtOH H ₂ O
Mimosaceae <i>Entada africana</i> Guill et Perr	Samanèrè	Racines	EtOH DCM
Combretaceae <i>Pteleopsis suberosa</i> Engl et Diels	N'téréni	Ecorce de tige	EtOH H ₂ O

LISTE DES EXTRAITS DE PLANTES UTILISES AVEC LEUR NUMERO

1. *Entada africana* extrait méthanolique
2. *Diospyros abyssinica* Ecorce de racines extrait méthanolique
3. Extrait éthanolique du n° 10
4. Extrait aqueux du n° 4
5. Extraits éthanoliques du n° 11
6. Extrait aqueux du n° 17
7. Extrait méthanolique du n° 17
8. Extrait éthanolique du n° 12
9. Extrait acétonique de la plante n° 10
11. Extrait chloroformique du n° 17
12. *Entada africana* extrait dichlorométhane
13. Extrait acétonique de la plante n° 11
14. Extrait étheré du n° 4

15. Extrait acétonique de la plante n° 12
16. Extrait aqueux du n° 11
17. Extrait aqueux du n° 12
18. *Lannea velutina* extrait dichlorométhane
19. *Lannea velutina* extrait méthanolique des feuilles
20. *Psorospermum guineense* extrait aqueux feuilles
21. Extrait méthanolique de *Diospyros abyssinica* feuilles
22. *Lannea velutina* extrait dichlorométhane écorces
22. *Cussonia barteri* extrait méthanolique
23. *Flacourtia flabescens* extrait aqueux
24. *Lannea velutina* écorces extrait dichlorométhane
25. *Pteleopsis suberosa* extrait éthanolique
26. *Lannea velutina* feuilles extrait méthanolique
27. *Cussonia barteri* extrait aqueux
27. *Flacourtia flabescens* extrait éthanolique
28. *Pteleopsis suberosa* extrait éthanolique
29. *Flacourtia flabescens* extrait éthanolique
30. *Pteleopsis suberosa* extrait aqueux
31. *Psorospermum guineense* extrait éthanolique
32. *Lannea velutina* écorces extrait méthanolique
33. *Lannea velutina* racines extrait méthanolique

5.2. Phytochimie :

5.1.2. Chromatographie sur couche mince :

Tableau n° II : Regroupement des extraits selon le solvant de migration.

TYPE D'EXTRAITS	SYSTEME DE MIGRATION
Méthanolique Ethanolique Aqueux	Chloroforme méthanol 75 - 25
DCM Éthers chloroformiques	Ligroïne-acétate d'éthyle 1 - 1
Butanolique	Chloroforme-méthanol 8 - 1
Acétonique	Ligroïne-acétate d'éthyle 2 - 1

N.B : Les extraits éthers et chloroformiques ont été déposés sur la même plaque.

Nous avons déposé 10 u/l de chaque extrait, fraction ou produit pur à tester sur les plaques CCM de gel de silice GF₂₅₄ en aluminium et développées dans des systèmes de migration.

5.2.1.1. Description de la chromatographie sur couche mince :

C'est une méthode physico-chimique rapide de contrôle dont l'absorbant 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 (feuille d'aluminium). La phase mobile ou éluant se propage à la surface de la plaque par capillarité. C'est une méthode analytique de contrôle qui, à chaque stade de séparation permet de :

- suivre l'efficacité des extractions avec les différents solvants
- suivre la composition des différentes fractions obtenues au cours des séparations
- faire le meilleur choix des solvants d'éluant des colonnes.
- vérifier la pureté des produits isolés

Les techniques chromatographiques ne sont pas suffisantes pour identifier un produit mais elles apportent des renseignements susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structures, par exemple : fluorescence, coloration, RF. Dans notre cas cela nous apportait des renseignements pour confirmer la présence des groupes chimiques dans les poudres des feuilles de *Psorospermum guineense* et dans les poudres de l'écorce de racines de *Lanea velutina*.

5.2.1.2. Support :

Le support utilisé a été la plaque chromatographique de CCM (Chromatographie sur couche mince) : plaque silicagel 60 F₂₅₄ de 0,5 mm d'épaisseur. Ce sont des plaques d'aluminium du commerce que nous avons utilisé.

La chromatographie comprend essentiellement quatre phases : le dépôt de la solution à étudier, la migration, la révélation et le test biologique au DPPH (le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle).

5.2.1.3. Dépôt de solution à étudier :

La solution a été déposée sur la plaque à l'aide de micro-pipettes de 5 µl (micro-litre) Les dépôts ont été faits à 1 cm du bord inférieur et 1,5 cm des bords latéraux de la plaque. Les dépôts ont été espacés les uns des autres de 1,5 cm sur la ligne horizontale de départ. Nous avons déposé 10 µl de chaque extrait à la concentration de 100 mg/l de méthanol, le solvant a été évaporé à l'aide d'un séchoir, la plaque était ainsi prête pour la migration.

5.2.1.4. La migration :

La plaque a été placée dans une cuve à chromatographie ou chambre à chromatographie (contenant l'éluant) généralement en verre pour permettre d'observer le déplacement de la phase mobile le long de la plaque. L'éluant a été 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 phase stationnaire.

La phase stationnaire a été parcourue par la phase mobile dont la capillarité a provoqué une succession de partage des constituants entre les deux phases. Ce qui a entraîné la migration et la séparation des constituants. Le développement a été arrêté quand le solvant a été séparé d'un centimètre du sommet de la plaque.

5.2.1.5. Révélation :

La révélation a été faite selon la technique de Kurt, 1971, Sthal, 1974. Les plaques ainsi développées sont séchées à l'aide d'un séchoir. La détection a été faite à l'aide de révélateurs car les substances ne sont pas visibles sur le chromatogramme.

Parmi les révélateurs existants nous avons choisi :

5.2.1.6. La lumière UV 254 et 366.

Sur les plaques révélées avec le Godin nous avons encerclé les substances révélées à l'U.V 254 nm et encadrées celles qui sont révélées par la lumière UV à 366 nm.

5.2.1.7. Le réactif non spécifique de Godin :

Les corps ont différenciés par leurs colorations. Le chromatogramme chauffé après pulvérisation avec le Godin a permis l'identification des substances par leurs colorations. Les flavonoïdes sont colorés en jaunes et les composés triterpéniques en bleu ou brun.

RF est le rapport de la distance parcourue par la substance d_x sur la distance parcourue par le front du solvant d_s . RF : d_x/d_s .

5.2.1.8. Test biologique au DPPH (le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle) :

Le test employé pour déceler la présence de composés antioxydants dans les plantes utilise une technique mise au point par (Takao et al., 1994) la détection de l'activité antioxydante est basée sur le principe de la capture des radicaux libres fournis par le DPPH (le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle).

Après migration et séchage des plaques CCM ont été giclées avec une solution de DPPH 2 mg/ml de méthanol. Les propriétés antioxydantes ont apparues avec une coloration jaune sur fond pourpre.

5.2.2. Réaction de caractérisation :

Réaction en tube :

Les études analytiques ont été effectuées à partir de techniques utilisées au Département Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP).

5.2.2.1. Alcaloïdes :

Pour la recherche des alcaloïdes nous avons opéré comme suit :

Solution à analyser :

Nous avons introduit 10 g de matière végétale séchée et grossièrement pulvérisée dans un erlenmeyer de 250 ml sur laquelle nous avons ajouté 50 ml d'acide sulfurique dilué, puis fermé l'erlenmeyer, ensuite agité puis laissé macérer pendant 24 heures à la température du laboratoire, filtré sur papier et lavé à l'eau de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat.

- Caractérisations :

a. Réactions de précipitation :

Prendre deux tubes à essai et introduire 1 ml de filtrat dans chacun. Ajouter dans le tube n° 1 cinq (5) gouttes de réactif de Mayer (solution aqueuse de mercuri-iodure de potassium).

Introduire dans le tube n° 2 cinq (5) gouttes de réactif de Dragendorff (solution aqueuse d'iode bismuthite de potassium). En laissant reposer les tubes pendant dix (10) minutes, les résultats ont été évalués comme suit :

Précipité abondant : + + +

Précipité moyen : + +

Louche : +

Test négatif : 0

Nous avons opéré par rapport à un témoin de strychnine. La méthodologie prévue pour l'extraction des alcaloïdes a été la suivante :

Nous avons introduit 25 ml de filtrat dans une ampoule à décantier. Le filtrat a été alcalinisé avec de l'ammoniaque jusqu'à odeur (Ph = 0-9), ajouté du chloroforme dans un volume égal à la solution alcaline.

Agité sans former d'émulsion, après décantation, puis nous avons soutiré la phase organique.

Cette opération a été reprise trois (3) fois au total, réunit les phases organiques et séché sur du sulfate de sodium anhydre, puis filtré et partagé équitablement entre deux capsules qui ont été mises au bain-marie pour l'évaporation.

Repris le résidu de la première capsule par 2 ml dilué. La solution obtenue a été partagée entre deux tubes à essai, pour la révélation nous avons essayé les révélateurs généraux des alcaloïdes (Réactif de Dragendorff et réactif de Meyer : préparation voir annexe).

b. Alcaloïdes des solanacées mydriatiques :

Pour la caractérisation de ces alcaloïdes, le résidu sec contenu dans la seconde capsule a été repris par 1 ml d'acide nitrique fumant. Ensuite évaporé au bain-marie bouillant jusqu'à sec. Après refroidissement, nous avons introduit dans la capsule 10 ml d'acétone pur et ajouter goutte à goutte la solution de KOH à 5 % dans l'alcool fraîchement préparé.

En présence d'alcaloïdes de solanacées mydriatiques (esters de l'acide tropique et du propanol), il se développe une coloration violette (Réaction de Vitali-Morin).

5.2.2.2. STUPEFIANTS :

Pour l'identification des stupéfiants nous avons procédé à l'identification chimique des tétrahydrocannabinols. Cette opération a consisté à :

- peser 0,5 g de poudre et l'introduire dans un tube à essai
- ajouter 5 ml d'éther de pétrole et agiter pendant 15 minutes
- décanté la phase éthéro-pétrolique dans une capsule
- évaporer au bain-marie jusqu'à sec
- ajouter 3 à 4 gouttes de KOH à 5% dans l'éthanol

La coloration violette indique une réaction de Beem négative.

5.2.2.3. SUBSTANCES POLYPHENOLIQUES :

a) Solution à analyser :

Infusé à 5 % :

Pour la préparation de l'infusé à 5 % nous avons projeté 5 g de drogue (séchée) en poudre grossière dans 100 ml d'eau bouillante contenue dans un erlenmeyer de 250 ml. Arrêté l'ébullition ; refermer avec un verre de montre et laissé infuser pendant 15 minutes. Nous avons filtré sur papier filtre et rincé avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 100 ml de filtrat.

b) Caractérisations :

α Tanins :

- Pour caractériser les tanins nous avons introduire dans un tube à essai 5 ml d'infusé à 5 %. Ajouté la solution aqueuse diluée de $FeCl_3$ à 1 %. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

Pour caractériser la présence du tanin catéchique nous avons ajouté 5 ml d'infusé à (5 %), 1 ml d'acide chlorhydrique concentré, puis porté à ébullition pendant 10 minutes. L'observation d'un précipité rouge soluble dans l'éthanol amylique indique une réaction positive.

La différenciation des tanins (catéchiques et galliques) a été obtenue par la réaction de Stiasny. A 30 ml d'infusé à 5 %, nous avons ajouté 15 ml de réactif Stiasny puis chauffé au bain-marie pendant 15 à 30 minutes. L'obtention de précipité montre la présence de tanins catéchiques.

Nous avons ensuite filtré et saturé le filtrat avec 10 ml d'une solution d'acétate de sodium pulvérisé, puis ajouté 1 ml d'une solution de FeCl_3 à 1 % (1 ml).

Le développement d'une teinte bleue-noire indique la présence de tanins galliques non précipité par le réactif de Stiasny (Composition du réactif de Stiasny voir annexe).

Les tanins peuvent aussi être précipités par addition de gélatine salée à 1 % à l'infusé.

β . Flavonoïdes :

La caractérisation des flavonoïdes a été faite en ajoutant à l'infusé présentant une coloration plus ou moins foncée, 5 ml H_2SO_4 puis 5 ml de NH_4OH . Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, nous pouvons conclure à la présence d'anthocyane.

Réaction de la cyanidine :

Cette opération a consisté à introduire dans un tube à essai 5 ml d'infusé, ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (alcool 95%, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume) ; puis quelques copeaux de magnésium et 1ml d'alcool isoamylique.

L'apparition d'une coloration

- Rose-orangée → (flavones)
- Rose-violacée → (flavanones)
- Rouge → (flavonols, flavanonols)

Les colorations ont été moins intenses avec les hétérosides flavoniques.

Puisque la réaction a été négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les aurones, les catéchines et les isoflavones.

Nous avons effectué la réaction de la cyanidine sans ajouter de magnésium ensuite chauffé pendant quelques minutes au bain-marie.

En présence de leucoanthocyane, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée ; les catéchols donnent une teinte brun rouge.

5.2.2.4. DERIVEES ANTHRACENIQUES :

a) Solutions à analyser :

α Extrait chloroformique : Pour préparer l'extrait chloroformique nous avons ajouté à 1 g de drogue en poudre 10 ml de chloroforme ensuite chauffé prudemment pendant 3 minutes au bain-marie. Ensuite filtré à chaud et complété à 10 ml.

β . Hydrolysats : La préparation de l'hydrolysats a consisté à épuiser une partie du résidu de la poudre par le chloroforme, ajouter 10 ml d'eau et 1 ml de HCl concentré, ensuite nous avons maintenu le tube à essai dans le bain-marie bouillant pendant 15 minutes, puis le refroidir sous un courant d'eau et filtré.

b) Caractérisations :

α . Anthracéniques libres :

Nous avons introduit dans un tube à essai 1 ml d'extrait chloroformique préparé au A-1°. Ajouté 1 ml de NH_4OH diluée, ensuite agité, la coloration plus ou moins rouge indique la présence d'antraquinones libres.

β . Anthracéniques combinés :

- O-Hétérosides : Réaction Borntrager

Nous avons prélevé 5 ml d'hydrolysats préparé au A-2° et agité avec 5 ml de CHCl_3 ensuite soutiré la phase organique ; l'introduire dans un tube à essai et puis gardé la phase aqueuse. Nous avons ajouté à la phase organique 1 ml de NH_4OH diluée, puis agité.

La présence d'antraquinones est révélée par l'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense. A l'absence de cette coloration nous avons :

- Prélevé 5 ml d'hydrolysats préparé au A-2° et ajouté 3 à 4 gouttes de FeCl_3 à 10 % ensuite refroidit sous courant d'eau.
- Agité avec 5 ml de chloroforme
- Soutiré la phase chloroformique et l'introduire dans un tube à essai
- Ajouté 1 ml de NH_4OH diluée et agiter
- En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment c'est-à-dire sans addition de FeCl_3 à 10%).

- C-Hétérosides :

- Pour les C-hétérosides nous avons repris la phase aqueuse qui a été conservée par 10 ml d'eau et ajouté 1 ml de FeCl_3 à 10 %.
- Maintenu le tube à essai dans un bain-marie bouillant pendant 30 minutes. Ensuite refroidit sous courant d'eau, puis agité avec 5 ml de CHCl_3

- Soutiré la phase chloroformique et la recueillir dans un tube à essai
- Ajouté 1 ml de NH_4OH diluée et agité.

Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de C-hétérosides.

- Réaction de Brissemoret et Combes (différentiation des quinones) : Elle a consisté à :

- Introduire 1 g de poudre du matériel végétal dans un erlenmeyer de 250 ml et humecter avec H_2SO_4 dilué (10 %).
- Ajouter 250 ml d'un mélange (à volume égal) d'éther et de chloroforme
- Mélanger et laisser en macération pendant 24 heures
- Filtrer et placer 5 ml de filtrat dans une capsule
- Laisser évaporer à l'air
- Reprendre le résidu par quelques gouttes d'éthanol 95%. Ajouter goutte à goutte une solution aqueuse d'acétate de nickel à 5 %. Selon la nature de la quinone, on obtient une coloration variable :
 - Benzoquinones : coloration bleue et précipité
 - Naphthoquinones : coloration violette et précipité
 - Anthraquinones : coloration rouge sans précipité.

5.2.2.5. STEROLS ET TERPENES :

a. Extrait :

Nous avons introduire dans un tube à essai 1 g de poudre et 20 ml d'éther, boucher et agité. Ensuite laissé en contact pendant 24 heures, près ce temps nous avons filtré et complété à 20 ml.

b. Caractérisations : Nous avons procédé de deux (2) manières :

Stérols et triterpènes :

- Réaction de Liebermann-Buchard : Elles ont consisté à :

- évaporer à sec 10 ml d'extrait dans une capsule. Dissoudre le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique plus 1 ml de chloroforme. Recueillir dans deux tubes à essai où l'un servira de référence.
- ajouter 1 à 2 ml de H_2SO_4 concentré au fond du tube à essai à l'aide d'une pipette. Ne pas agiter. A la zone de contact des deux liquides, il y a formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et triterpènes

Caroténoïdes : Réaction de Carr et Price

Nous avons introduit 1 g de poudre de matériel végétal dans un tube à essai, puis ajouté (2 à 3 gouttes) de chlorure d'antimoine dans le chloroforme (ou dans le tétrachlorure de carbone). Il se développe en présence de caroténoïde une coloration bleue devenant rouge par la suite.

5.2.2.6. HETEROSIDES CARDIOTONIQUES :

a. Solution à analyser :

Nous avons introduit 1 g de poudre dans un tube à essai, ajouté 10 ml d'éthanol à 60° et 5 ml d'une solution d'acétate neutre de Pb à 10 % d'éther, porté au bain-marie bouillant pendant 10 minutes ensuite filtré sur coton.

b. Caractérisation :

- Réaction de Liebermann-Buchard : Pour réaliser cette réaction, nous avons :

- Agité le filtrat avec 10 ml CHCl_3 dans un tube à essai. Eviter la formation d'une émulsion. Laisse décanter et soutiré la phase chloroformique à l'aide d'une pipette et la partager entre trois (3) tubes à essai.
- Evaporé à sec au bain-marie bouillant, ensuite nous avons repris les résidus par 0,4 ml d'isopropanol. Ajouté dans les trois (3) tubes :

- ✓ Tube n° 1 : 1ml de réactif de Baljet (composition voir en annexe)
- ✓ Tube n° 2 : 1 ml de réactif de Keede (composition voir en annexe)
- ✓ Tube n° 3 : 1 ml de réactif de Raymond-Marthoud (composition voir en annexe).

- Puis, nous avons introduit dans chaque tube quatre (4) gouttes de KOH à 5 % dans l'éthanol. En présence de cardénolides, les réactions suivantes se développent :

- ✓ Tube n° 1 : Orangé
- ✓ Tube n° 2 : Rouge violacé
- ✓ Tube n° 3 : Violet fugace.

5.2.2.7. SAPONOSIDES :

a. Décocté à 1 % :

Pour la détermination le décocté à 1 % nous avons ensuite porté à l'ébullition dans un erlenmeyer de 250 ml 100 % d'eau distillée, ensuite nous avons projeté 1 g de poudre et maintenu une ébullition modérée pendant 15 minutes.

Puis filtré après refroidissement ajusté à 100 ml.

b. Caractérisation : Pour la caractérisation nous avons procédé de la manière suivante :

- Dans une série de dix (10) tubes à essai de 160 x 16 mm, numérotés de 1 à 10, répartir successivement 1, 2, 10 ml de décocté à 1 % préparé.
- Ajusté le volume dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée.
- Agité chaque tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de deux (2) agitations par seconde. Laissez reposer les tubes pendant 15 minutes et mesuré ensuite la hauteur de la mousse dans chaque tube.
- L'indice de mousse a été déterminé par le n° du tube dans lequel la hauteur de mousse est supérieure à 1 cm par la formule suivante :

$$\text{Indice de mousse (idem)} = \frac{1000}{\text{N}^\circ \text{ du tube à 1 cm de hauteur de mousse}}$$

5.2.2.8. Dosage de l'eau :

a. Méthode pondérale : C'est la détermination de la perte de poids par dessiccation à l'étuve.

Mode opératoire :

Nous avons opéré en utilisant les verres de montre préalablement chauffés, après refroidissement les peser ensuite. Utilisé au total 5 verres de montre. Le poids du verre de montre vide = tare.

Nous avons pris 1 g de poudre, dans les différents verres de montre, ensuite pesé pour obtenir ainsi la masse totale avant étuve. Nous avons placé les différents verres de montre à l'étuve à 80° pendant 24 heures, puis les peser, c'est la masse totale après étuve. A partir de ces données, calculer le pourcentage d'eau sachant que :

Masse drogue essai = masse totale avant étuve - tare

Masse eau = masse totale avant étuve - masse totale après étuve

$$F1 = \% \text{ eau} = \frac{\text{Masse eau}}{\text{Masse drogue essai}} \times 100$$

Nous avons effectué 3 à 5 pesées.

M1 : Masse eau dans la 1^{ère} pesée

M2 : Masse eau dans la 2^{ème} pesée M5 : Masse eau dans la 2^{ème} pesée

F2 : Teneur moyenne en eau = $\frac{M1 + M2 \dots \dots \dots M5}{5}$

5

b. Méthode volumétrique :

Dosage de l'eau par entraînement azéotropique :

L'eau a été entraînée par distillation dans un solvant non miscible qui forme avec elle un mélange azéotrope à température d'ébullition constante. Après condensation par réfrigération des vapeurs de l'azéotrope, l'eau se sépare et a été mesurée en volume.

Matériel et réactif :

L'appareillage (photo n° 4) était constitué d'un ballon de 250 cc, un réfrigérant à reflux qui est un tube gradué relié au réfrigérant. Nous avons utilisé 100 ml de solvant (toluène) et 1 ml d'eau

b. Méthode volumétrique :

Dosage de l'eau par entraînement azéotropique :

L'eau a été entraînée par distillation dans un solvant non miscible qui forme avec elle un mélange azéotrope à température d'ébullition constante. Après condensation par réfrigération des vapeurs de l'azéotrope, l'eau se sépare et a été mesurée en volume.

Matériel et réactif :

L'appareillage (photo n° 4) était constitué d'un ballon de 250 cc, un réfrigérant à reflux qui est un tube gradué relié au réfrigérant. Nous avons utilisé 100 ml de solvant (toluène) et 1 ml d'eau distillée (introduite dans le toluène).

Mode opératoire :

Nous avons fait bouillir cet ensemble pendant une heure à 110° C, laissé refroidir le dispositif pendant 30 minutes, lire le volume d'eau distillée initial (Vi) dans l'appareil, avec une précision de 0,05 ml ensuite pesé 5 g de poudre (Prise d'essai : PE).

Les introduire dans le toluène. Nous avons fait bouillir l'ensemble pendant une heure, laissé reposer pendant 30 minutes ensuite nous avons de nouveau lu le volume d'eau (volume final : Vf dans l'appareil).

Pourcentage d'eau dans la drogue :

$$F3 = \frac{(V_f - V_i) \times 100}{PE}$$

5.2.2.9. SUBSTANCES EXTRACTIBLES PAR L'EAU :

Nous avons pesé 1 g de poudre puis ajouter 20 ml d'eau distillée. Réalisé une décoction pendant 15 minutes. Laisser refroidir pendant 20 minutes, filtrer. Pesé un ballon d'évaporation vide.

Nous avons mis ensuite le filtrat dans le ballon et évaporé à sec, pesé le ballon après évaporation.

M = masse du ballon vide.

Masse du ballon après évaporation = m').

Pourcentage des substances extractibles par l'eau : $F4 = (m' - m) \times 100$.

5.2.2.10. DOSAGE DES CENDRES :

a. Dosage des cendres totales :

Mode opératoire :

Dans cinq creusets en quartz à fond plat préalablement chauffés au rouge, refroidis et tarés, Nous avons introduit une prise d'essai de 1 à 5 g exactement pesés dans chacun des creusets. La masse totale avant calcination = tare + masse de la prise d'essai.

En général, nous avons utilisé les prises d'essai ayant servi au dosage de l'eau. Placer les différents creusets dans le four à 800° C. Après disparition de toute particule noire, laisser refroidir dans un dessiccateur et les peser, c'est la masse totale après calcination et à partir de ces données, nous avons calculé le pourcentage de ces cendres totales sachant que :

Masse drogue essai = masse totale avant calcination - tare

Masse cendre = masse totale après calcination - tare

$$\text{Le \% d'eau dans la drogue F5} = \frac{\text{Masse cendre}}{\text{Masse drogue essai}} \times 100$$

b. Dosage des cendres insolubles dans HCl à 10 % :

Mode opératoire :

Pour le dosage des cendres nous avons ajouté aux cendres totales 20 ml de HCl à 10 %, puis chauffé dans une fiole conique pendant 30 minutes au bain-marie, filtrer sur du papier filtre, ensuite lavé le résidu insoluble à l'eau très chaude, puis incinéré le filtre et le résidu insoluble séché jusqu'à masse constante, laissé refroidir et pesé. Calculé ensuite le pourcentage des cendres insolubles dans HCl à 10 % sachant que :

Masse creuset vide = tare

Masse creuset + filtre séché = masse totale avant calcination

Masse creuset + filtre calciné = masse totale après calcination

La Masse drogue essai = masse avant calcination-tare

La Masse des cendres insolubles = masse totale après calcination - tare

Le Pourcentage des cendres totales insolubles dans HCl à 10 % :

$$F 6 = \frac{(\text{Masse cendres insolubles dans HCl})}{\text{Masse des cendres totales}} \times 100$$

c. Dosage des cendres sulfuriques dans H₂SO₄ à 50 % :

Mode opératoire :

Nous avons utilisé un creuset de silice ou de platine de forme basse qu'on porte au rouge, laisser refroidir le creuset dans un dessiccateur et le taré.

La prise d'essai 2 à 3 g a été pesée et placée dans le creuset, la mouiller avec une quantité suffisante d'acide sulfurique préalablement dilué par un volume égal d'eau ; ensuite nous avons chauffé au bain-marie jusqu'à évaporation à sec puis le placer au four à 800° C, après calcination il faut laisser refroidir dans le dessiccateur. Nous avons calculé le taux des cendres sulfuriques en les rapportant à 100 g de substance.

$$\text{Pourcentage cendres sulfuriques F7} = \frac{(\text{Masse cendres sulfuriques})}{\text{Masse drogue essai}} \times 100$$

Sachant que la masse du creuset vide = tare

Masse drogue essai = masse totale avant calcination - tare

Masse cendre = masse totale après calcination - tare

5.2.2.11. AUTRES CARACTERISATIONS :

a. Composés réducteurs :

Nous avons introduit 5 ml de décocté aqueux à 10 % dans une capsule et évaporé au bain-marie jusqu'à sec puis ajouter au résidu 1 ml de réactif de Felhing : 0,5 ml de réactif A + 0,5 ml de réactif de réactif B, mélange extemporané (composition du réactif de Felhing voir annexe).

L'obtention d'un précipité rouge-brique indique la présence de composés réducteurs.

b. Oses et holosides :

Il faut introduire 5 ml de décocté aqueux à 10 % dans une capsule et évaporé au bain-marie jusqu'à sec.

Ajouter au résidu 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré. Après 5 minutes, ajouter 3 à 4 gouttes d'éthanol saturé avec du thymol. Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides.

c. Mucilages :

Cette caractérisation a consisté à introduire 1 ml de décocté à 10 % dans un tube à essai et ajouter 5 ml d'éthanol pur. L'obtention d'un précipité floconneux, par mélange après 10 à 15 minutes indique la présence de mucilages.

d. Coumarines :

Pour la recherche de coumarines nous avons évaporé 5 ml d'extrait éthérique par macération pendant 24 heures dans une capsule et à l'air libre ensuite nous avons ajouté au résidu 2 ml d'eau chaude puis partagé la solution entre deux tubes à essai, ajouté au contenu de l'un des tubes 0,5 ml de NH_4OH à 25 %. Mélangé et observé la fluorescence sous UV 366 nm. Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

e. Hétérosides cyanogénétiques :

Pour les hétérosides cyanogénétiques il faut introduire dans un tube à essai environ 1 g de poudre de matériel végétal. Ajouter 5 ml d'un mélange à volume égal d'eau et de toluène. Bien agiter et nettoyer la partie supérieure du tube à essai.

Le papier picrosodé, fraîchement préparé est fixé à l'aide d'un bouchon à la partie supérieure du tube (sans tremper la solution) (préparation du papier picrosodé voir annexe).

La présence d'hétérosides cyanogénétiques est indiquée par la coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé.

V.3. EXTRACTION DE PSOROSPERMUM GUINEENSE :

Au cours de cette extraction nous avons pesé 250 g de la poudre *Psorospermum guineense*, mesuré 1250 ml d'éthanol 80° C (EtOH), ensuite les mélanger. Ce mélange a été mis à la macération pendant 24 heures dans un Becher de 3000 ml, ensuite nous avons ensuite nous avons fermé avec un papier aluminium, posé le Becher sur un agitateur magnétique mis à 500 t/mn. Après 24 heures filtrer avec du coton dans un erlenmeyer de 2000 ml.

Le filtrat a été évaporé à sec dans un rotavapor à 60° C. Le résidu de la filtration a été repris avec 1250 ml d'EtOH pour une nouvelle macération pendant 24 heures dans les mêmes conditions que la première extraction. Nous avons fait en tout trois (3) macérations.

Séparation liquide/liquide : Elle a consisté à :

Peser 100 g d'extrait de *Psorospermum guineense* dans un petit erlenmeyer. Puis dissoudre ces 100 g d'extrait avec 100 ml d'eau distillée et l'acétate d'éthyle 200 ml.

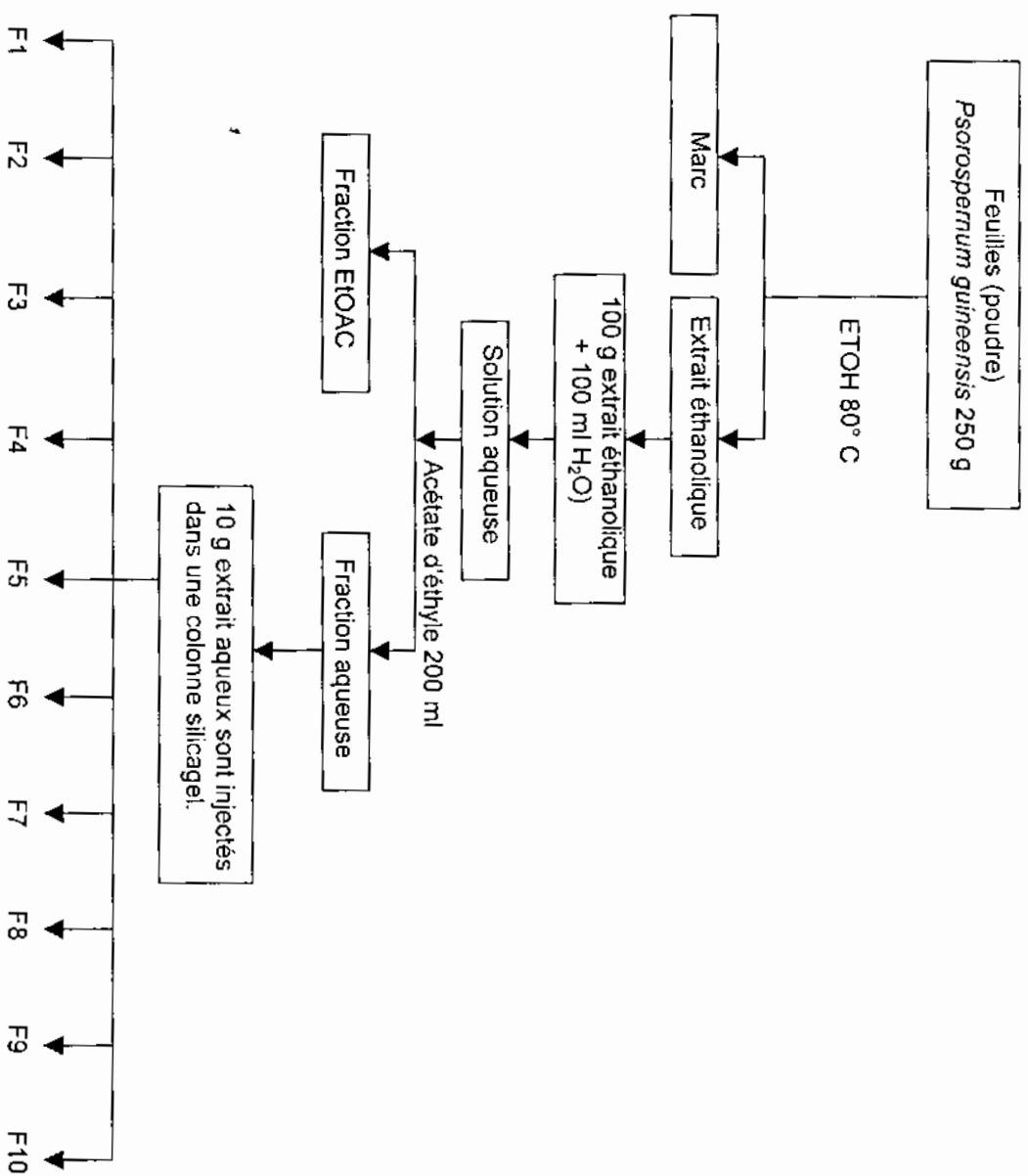
Partager ce mélange entre deux (2) ampoules à décanter de 250 ml. Ensuite nous avons effectué cinq (5) opérations d'extraction avec 200 ml d'acétate d'éthyle pour chaque opération.

Il y avait une troisième phase qui a été soutirée, nous avons effectué sur cette 3^{ème} phase cinq (5) opérations d'extraction en ajoutant 500 ml d'acétate d'éthyle pour chaque opération.

L'extrait de la phase aqueuse obtenu de la séparation a été évaporé à sec dans deux (2) plateaux en aluminium à la température du laboratoire.

Nous avons obtenu 47,33 g d'extrait qui ont été utilisé pour la chromatographie sur colonne et les tests biologiques.

SCHEMA DE L'EXTRACTION ET DE FRACTIONNEMENT DES EXTRAITS DE PSOROSPERMUM GUINEENSE



5.4. Chromatographie sur colonne :

Nous avons utilisé une colonne de chromatographie dont les dimensions sont les suivantes :

- Largeur : 90 cm
- Diamètre : 3,5 cm

Nous avons utilisé comme phase stationnaire du gel de silice 60 (0,063-0,200 mm).

Poids total de gel de silice : 260 g

Pour l'injection, nous avons utilisé un système d'injection solide.

5.4.1. Description de l'injection solide :

Nous avons mélangé 10 g d'extrait avec 100 ml du mélange (CHCl_3 : CH_3OH) (90 :10), évaporer au rotavapor à 60° C, ajouter 20 g de gel de silice ; ensuite trituré avec un mortier et un pilon en porcelaine avant de l'injecter et déposé la poudre au dessus du gel de silice surmonté d'environ 4 cm de solvant.

5.4.2. L'élution :

Pour l'élution de la colonne nous avons employé un système de solvant à polarité croissante avec le chloroforme et le méthanol.

Nous avons lavé la colonne avec de l'eau distillée :

Débit de la colonne : 5,33 ml/mn.

5.4.3. Système de suivi de la colonne :

Mode de suivi de la colonne par la chromatographie sur couche mince avec comme solvant de migration CHCl_3 CH_3OH - H_2O (65-35-5).

En fonction des substances contenues dans les différents tubes, nous avons obtenu dix (10) fractions.

Après obtention des dix (10) fractions de la grande colonne, nous avons procédé à l'identification et à la détermination de l'activité anti-oxydante des fractions obtenues par CCM et Test biologique.

Tableau n° III : Systèmes de solvants de suivi de la colonne

SYSTEME DE SOLVANTS	VOLUME UTILISE
CHCl_3 - CH_3OH (90-10)	3.000 ml
CHCl_3 - CH_3OH (80-10)	1.500 ml
CHCl_3 - CH_3OH (60-10)	1.600 ml
CHCl_3 - CH_3OH (40-10)	1.500 ml
CHCl_3 - CH_3OH (20-10)	1.000 ml
CHCl_3 - CH_3OH (10-10)	1.500 ml
CH_3OH	335 ml
Eau distillée	1.700 ml

5.4.4. Chromatographie sur Couche Mince : (CCM)

Nous avons déposé les 10 extraits de la colonne chromatographique sur les plaques CCM de gel de silice GF₂₅₄ en aluminium et développé dans des systèmes de migration suivant CHCl₃ - CH₃OH - H₂O (65-35-5).

Pour la migration, la révélation et le test biologique des plaques nous avons utilisé les mêmes méthodes que celles décrites précédemment.

5.4.5. Migration des plaques de CCM :

5.4.6. Révélation (idem) :

5.4.7. Lumière UV :

5.4.8. Godin :

5.4.9. Test biologique :

V.5. HYDROLYSE ACIDE :

Pour réaliser l'hydrolyse acide il faut peser 5 mg de chaque fraction (II, IV, VII, VIII). Ajouter 15 ml de HCL à 2 M dans chaque fraction. Mettre les fractions à l'étuve pendant trois heures à la température de 100° C.

Une extraction avec 15 ml de chloroforme (3 fois 5 ml). Rassembler la phase organique ; les phases aqueuses sont évaporées à sec.

Ensuite nous reprenons chaque résidu avec 0,5 ml de mélange méthanol eau (1-1).

Faire une chromatographie sur couche mince de ces mélanges avec un système de solvants isopropanol-eau (85-15).

La révélation est faite avec un révélateur composé de 100 mg de résorcine dans 50 ml d'éthanol, 50 ml d'acide phosphorique.

V.6. DETERMINATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE, ANTIRADICALAIRE DE PSOROSPERMUM GUINEENSE AVEC LE 1.1-DIPHENYL-2-PICRYLLHYDRAZYL (DPPH) PAR LA METHODE DE DILUTION

Les fractions II, IV, VII et VIII ont été dissoutes dans du DMSO dans des proportions de 2 mg/ml. La solution de DPPH a été utilisée à la concentration de 9,1 mg/250 ml de méthanol. La mesure des densités optiques a été faite avec un spectrophotomètre Shimadzu 160 A avec un dispositif Shimadzu cellule positionner CPS 240 A (Shimadzu Kyoto Japan).

Trois cuves ont été utilisées pour chaque mesure. 2,95 ml de la solution de DPPH ont été additionnées de 50µl de la solution de l'échantillon à tester pour obtenir une concentration de 33,33 µg/ml. Les deux solutions ont été bien mélangées et l'absorbance mesurée à 517 nm. La lecture a été faite 10 fois chaque trente secondes. Le résultat de la dernière mesure a été prise pour la détermination de la concentration inhibitrice de 50% de DPPH.

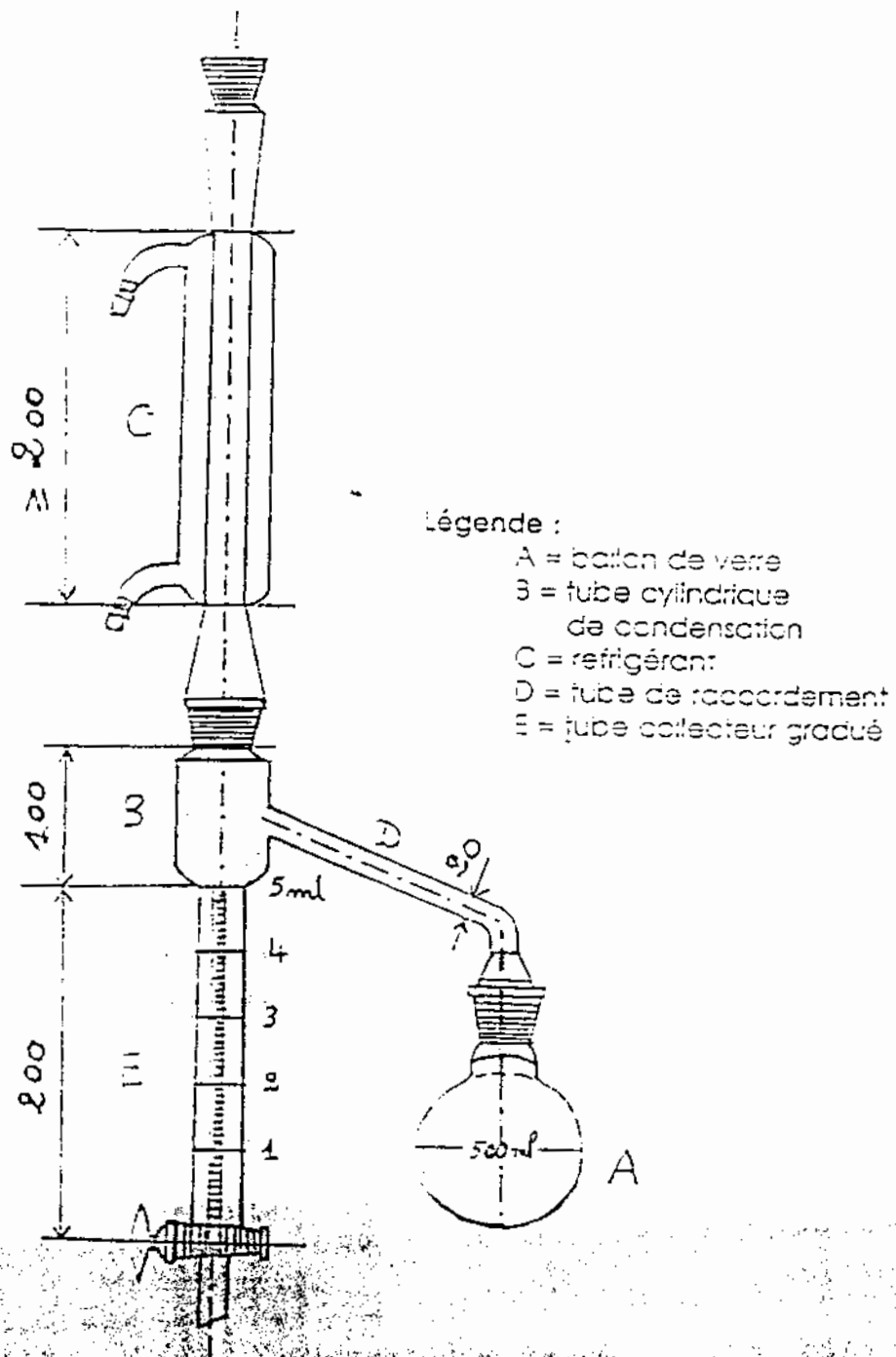
Par dilution ½ les autres concentrations ont été obtenues (16,66 µg/ml et 8,33 µg/ml).

V.7. RAISONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE :

Spectre ¹H de la fraction II.

Le spectre du proton a été réalisé à l'Université d'Oslo avec un spectrophotomètre. L'échantillon a été dissout dans du méthanol.

Figure N°2 Appareil pour le dosage de l'eau par entraînement azéotropique



RESULTATS

6.1. RESULTATS DE LA CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE DES EXTRAITS BRUTS :

Les propriétés antioxydantes ont été détectées par la coloration jaune après séchage. Les plaques CCM ont été giclées avec une solution méthanolique à 2 mg/ml de DPPH.

Tableau n° IV : Résultat du screening biologique des 33 extraits bruts des 7 plantes et leurs Rf.

SOLVANT D'EXTRACTION	NUMERO DES EXTRAITS	PROPRIETES ANTIOXYDANTES	Rf
Extrait méthanolique	1	+	0
	2	+	0,025
	7	-	
	19	+	0,0125
	21	-	
	23	-	
	26	+	0,9
	32	+	0
Ethanolique	33	+	0,125 - 0,4125
	3	-	
	5	+	0
	8	-	
	28	+	0,125
Aqueux	29	+	0,025
	31	+	0,5375
	4	+	0
	6	-	
	10	+	0
	16	-	
	17	-	
	20	+	0,3875-0,4625-0,5125
Acétonique	25	+	0
	27	-	
	30	+	0
DCM	9	+	0
	15	+	0
	13	+	0 - 0,9125
Ethéré	12	-	
	18	+	0,8846
Butanolique	24	+	0,8846
	14	+	0 - 0,1154
Chloroformique	22	-	
	11	-	

Au cours de ce test les extraits de feuilles de *Psorospermum guineense* et les écorces de tronc de *Lanea velutina* ont montré une grande activité antioxydante, c'est pourquoi les deux plantes ont fait l'objet de notre étude.

- Révélation Godin et UV :

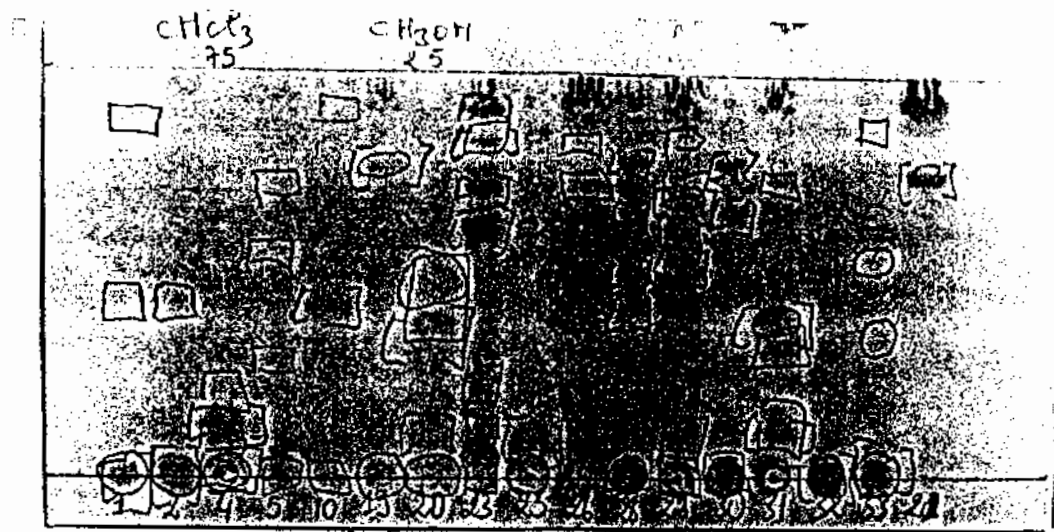


Photo n° 5

Nous remarquons sur la photo n° 5 la présence de flavonoïdes par leur coloration jaune et de composés triterpéniques à leur coloration bleue et brune.

Test biologique :

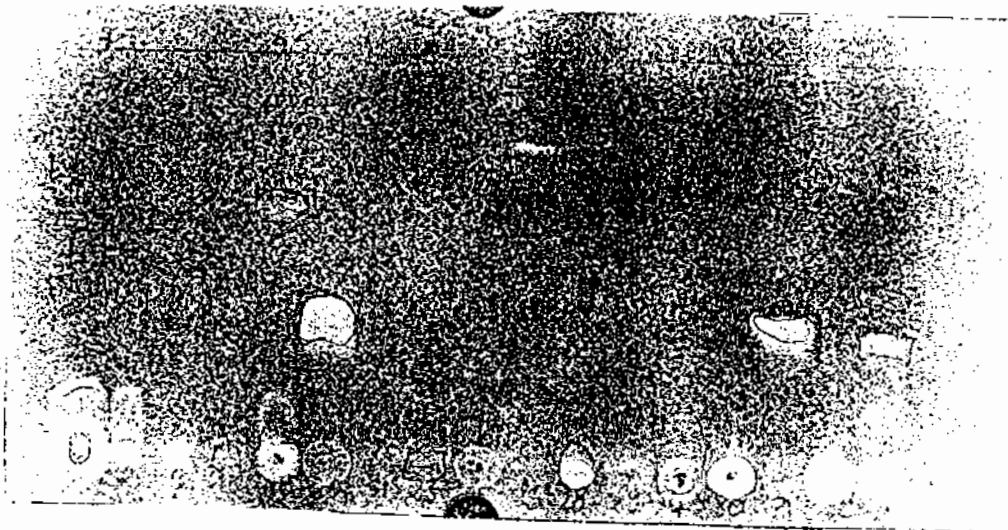


Photo n° 6

Nous remarquons les propriétés antioxydantes par leur coloration jaune sur fond pourpre.

Tableau n° V : Ref. des 33 extraits du screening biologique

	1	2	4	5	10	19	20	23	25	26	28	29	30	31	32	33	21
366	0,38	0,32	0,20	0,24	0,8		0,39	0,05	0,72	0	0,16	0,53	0,11	0,28	0	4,78	
354	0	0	0	-	-	0,68	0,44	0,72	0	0	0	-	0	0,33	0	0,49	0,72
Godin	0	0	0,11	0	0,39	0,58	0,12	0,72	0,08	0,60	-	0,61	0,7	0,11	0	0	0,72
DPPH	0	0,025	0	0	0	0,125	0,9125	-	0	0,9	0,0125	0,025	0	0,5375	0	0,41 25	-

Nous constatons que presque tous les extraits sont actifs au DPPH sauf l'extrait aqueux *Flacourtia flabescens* et l'extrait méthanolique des feuilles de *Diospyros abyssinica*.

6.2. Etudes phytochimiques (Screening phytochimique) :

6.2.1. *Lannea velutina* A. Rich

Nom scientifique : *Lannea velutina* A. Rich

Nom vernaculaire : Bakorompéku

Droque : Ecorces de racine.

6.2.1.1. Tableau n° VI : Résultats des réactions en tubes du screening phytochimique

RECHERCHE	RESULTATS
Hétérosides cyanogénétiques (papier picrosodé)	-
Coumarines (Fluorescence U.V. 366 nm)	+++
Caroténoïdes (Carr et Price)	-
Antracénosides libres (Borntrager)	-
Antracénosides combinés C-Hétérosides	-
Antracénosides combinés O-Hétérosides (Borntrager)	-
Flavonoïdes : Génines flavoniques (Shibata)	+++
Flavonoïdes : Hétérosides flavoniques (Shibata)	+++
Alcaloïdes : Base (Bouchardad-Mayer-Drageendorff)	-
Alcaloïdes : Sel (Bouchardad-Mayer-Drageendorff)	-
Saponosides : Mousse	-
Saponosides : indice de mousse	-
Tanins : Réaction avec FeCl ₃	++++
Tanins : Réaction avec HCl	++++
Tanins catéchiques : Réaction de Stiasny	++++
Tanins galliques : Réaction de Stiasny	+++
Composés réducteurs	++++
Oses et holosides	++++
Polyuronides (muclages)	++++
Stérols et triterpènes : Hétérosides triterpéniques (Lieberman)	+++
Stérols et triterpènes : Stéroïdes (Lieberman)	+++
Hétérosides cardiotoniques (Raymond-Marthoud)	+++
Hétérosides cardiotoniques (Keede)	+++
Hétérosides cardiotoniques (Baljet)	+++
Anthocyanes	-
Leucoanthocyanes	++++
Différentiation quinones	-
Stupéfiants (tétrahydrocannabinols)	-
Pourcentage alcaloïdes	-
Alcaloïdes des solanacées mydriatiques	-

Nous constatons que la poudre de l'écorce de tronc de *Lannea velutina* est riche en tanins, flavonoïdes, en hétérosides cardiotoniques et en oses et holosides. Par contre les anthracénosides et les alcaloïdes sont absents.

6.2.1.2. Dosage de l'eau :

6.2.1.2.1. Pourcentage en eau de la poudre de l'écorce de racine de *Lannea velutina* :

Tableau n° VII : Teneur en eau de la poudre de l'écorce de racine de *Lannea velutina*.

N°	Tare g	Masse totale avant étuve	Masse totale après étuve	Masse drogue essai	Masse eau	Pourcentage eau
1	13,14	14,99	14,93	1,85	0,06	3,34
2	13,50	15,87	15,79	2,37	0,08	3,25
3	12,93	14,44	14,39	1,51	0,05	3,11
4	12,80	14,51	14,45	1,71	0,05	3,16
5	13,19	15,55	15,46	2,36	0,09	3,89

Teneur moyenne en eau :

Pourcentage moyen en eau a été calculé selon la formule

$$F2 = \frac{(3,34 + 3,25 + 3,11 + 3,16 + 3,89)}{5} = 3,35 \text{ g}$$

La teneur moyenne en eau est 3,36 % < 10 %. Ce résultat confère à la drogue une bonne conservation de la poudre.

6.2.1.2.2. Méthode par entraînement azéotropique :

La teneur en eau a été calculée selon la formule

$$F3 = \frac{100 (1 - 0,80)}{5} = 4 \%$$

6.2.1.2.3. Pourcentage des substances extractibles par l'eau :

Avec PE = 1 g nous avons calculé le pourcentage des substances extractibles par l'eau par la formule F4.

$$F4 = (30,3853 - 30,1225) \times 100 = 26,28 \%$$

Avec PE = 10 g nous avons

$$F4 = (76,0643 - 73,9297) \times 100 = 2,1346.$$

6.2.1.3. Dosage des cendres totales :

Tableau n° VIII : Détermination de la teneur en cendres totales de l'écorce de racine de *Lannea velutina*.

N°	Tare g	Masse totale avant calcination	Masse totale après calcination	Masse drogue essai	Masse cendre	Pourcentage cendre
1	17,57	20,19	17,90	2,61	0,32	12,44
2	17,18	19,14	17,43	1,95	0,13	12,78
3	16,91	19,77	17,25	2,86	0,34	11,84

Teneur moyenne en cendres totales :

Nous avons utilisé la formule F6

$$F6 = (12,44 + 12,78 + 11,84) / 3 = 12,35 \%$$

La teneur moyenne en cendres totales est de 12,35 %

Tableau n° IX : Teneurs en cendres de l'écorce de racine de *Lannea velutina*.

CENDRES	POURCENTAGE
Cendres totales	12,35
Cendres sulfuriques à 50 %	19,51
Cendres insolubles dans HCl à 10 %	13,05

Pour la détermination des cendres sulfuriques à 50 % et des cendres insolubles à 10 % nous avons utilisé respectivement les formules F7 et F8.

6.2.1.4. Tableau n° X : Récapitulatif des dosages de l'eau, des substances extractibles par l'eau, des cendres insolubles dans HCl à 10 %, des cendres chlorhydriques et des cendres totales de la poudre de l'écorce de racine de *Lannea velutina*.

Teneur en eau		Teneur en substances extractibles par l'eau	Teneur en cendres sulfuriques à 50 %	Teneur en cendres insolubles dans HCl à 10%	Teneur en cendres totales
Masse azéotrope	Masse gravimétrique				
4 %	3,36 %	26,28 %	19,51 %	13 %	12,35 %

La teneur en eau par entraînement azéotrope est de 4 % et 3,36 % par la méthode gravimétrique. Ces taux sont nettement inférieurs à 10 %, ce qui explique une bonne conservation de la poudre.

La teneur en substances extractibles par l'eau est de 26,28 %. Ce qui confirme la richesse de la poudre en substances hydrosolubles.

Les teneurs en cendres sulfuriques à 50 %, en cendres insolubles dans HCl 10 % en cendres totales sont respectivement de 19,56, et 13 % et 12,35 %.

Nous constatons que le cinquième des substances de *Lannea velutina* sont extractibles par l'eau et seulement 7 % des cendres sont insolubles dans H₂SO₄ à 50 %. Ce résultat explique la richesse de la poudre en éléments minéraux ou en substances étrangères.

6.2.2. *Psorospermum guineense* Hochr :

Nom scientifique : *Psorospermum guineense*

Nom vernaculaire : Karidjakuma

Droque : Feuilles

6.2.2.1. Tableau n° XI : Résultats des réactions en tubes du screening phytochimique

RECHERCHE	RESULTATS
Hétérosides cyanogénétiques (papier picrosodé)	-
Coumarines (Fluorescence U.V. 366 nm)	++++
Caroténoïdes (Carr et Price)	-
Antracénosides libres (Borntrager)	++
Antracénosides combinés C-Hétérosides	++
Antracénosides combinés O-Hétérosides (Borntrager)	+
Flavonoïdes : Génines flavoniques (Shibaïa)	++++
Flavonoïdes : Hétérosides flavoniques (Shibata)	++++
Alcaloïdes : Base (Bouchardad-Mayer-Drageendorff)	-
Alcaloïdes : Sel (Bouchardad-Mayer-Drageendorff)	-
Saponosides : Mousse	-
Saponosides : Indice de mousse	-
Tanins : Réaction avec FeCl ₃	++++
Tanins : Réaction avec HCl	++++
Tanins catéchiques : Réaction de Stiasny	++++
Tanins galliques : Réaction de Stiasny	++
Composés réducteurs	++++
Oses et holosides	++++
Polyuronides (mucilages)	++++
Stérois et triterpènes : Hétérosides triterpéniques (Lieberman)	++++
Stérois et triterpènes : Stéroïdes (Lieberman)	
Hétérosides cardiotoniques (Raymond-Marthoud)	++++
Hétérosides cardiotoniques (Keede)	++++
Hétérosides cardiotoniques (Baljet)	++++
Anthocyanes	-
Leucoanthocyanes	++++
Différentiation quinones	++
Stupéfiants (tétrahydrocannabinols)	-
Pourcentage alcaloïdes	-
Alcaloïdes des solanacées mydriatiques	-

Cette poudre est caractérisée par une grande teneur en flavonoïde, en tanin et en hétéroside.

6.3.2. Dosage de l'eau :

6.3.2.1. Méthode pondérale :

Tableau n° XII : Teneur en eau de la poudre de feuilles de *Psorospermum guineense*

N°	Tare g	Masse totale avant étuve	Masse totale après étuve	Masse drogue essai	Masse eau	Pourcentage eau
1	13,31	14,44	14,33	1,13	0,11	9,95
2	14,11	15,36	15,23	1,25	0,12	9,71
3	12,93	14,28	14,15	1,35	0,13	9,60
4	12,80	14,03	13,91	1,23	0,12	9,59
5	13,18	14,31	14,20	1,12	0,11	9,62

Teneur moyenne en eau :

$$\text{Pourcentage eau} = F2 = (9,95 + 9,71 + 9,60 + 9,59 + 9,62) / 5 = 9,69 \%$$

La teneur moyenne en eau est de 9,69 %. Ce qui explique une mauvaise conservation de la drogue.

6.3.2.2. Méthode par entraînement azéotropique :

$$F3 = \frac{100 (1,35 - 0,90) \text{ masse cendre}}{5} = 9 \%$$

6.3.2.3. Pourcentage substances extractibles par l'eau :

PE = 1 g

$$\begin{aligned} \text{\% substance extractible par l'eau} &= (n' - n) \times 100 \\ &= (29,9623 - 29,7553) \times 100 \\ &= 0,207 \times 100 = 20,70 \%. \end{aligned}$$

PE = 10 g

$$\text{\% substance extractible par l'eau} \quad F4 = (76,60 - 73,90) = 2,70.$$

6.3.2.4. Dosage des cendres :

Calcul :

Tableau n° XIII : Détermination de la teneur en cendres totales de la poudre de feuilles de *Psorospermum guineense*.

N°	Tare g	Masse totale avant calcination	Masse totale après calcination	Masse drogue essai	Masse cendre	Pourcentage cendre
1	29,51	30,53	29,55	1,03	0,04	4,38
2	24,19	25,31	24,24	1,12	0,05	4,53
3	17,18	18,41	17,24	1,23	0,57	4,65
4	16,91	18,03	16,96	1,12	0,05	4,61
5	17,57	18,58	17,61	1,02	0,05	4,51

Teneur moyenne en cendres totales :

Pour calculer la teneur moyenne en cendres totales nous avons utilisé la formule :

$$F6 = (4,38 + 4,53 + 4,65 + 4,61 + 4,51) / 5 = 4,53 \%$$

Ce taux de 4,3 % indique une très faible présence de substances minérales.

Tableau n° XIV : Teneurs en cendres de la poudre de feuilles de *Psorospermum guineense*.

CENDRES	POURCENTAGE
Cendres totales	4,53
Cendres sulfuriques à 50 %	7,21
Cendres insolubles dans HCl à 10 %	4,50

Pour la détermination des cendres sulfuriques à 50 % et les cendres insolubles à HCl à 10 % nous avons utilisé simultanément les formules 7 et 8.

Tableau n° XV : Récapitulatif des dosages de l'eau, des substances extractibles par l'eau, des cendres insolubles dans HCL à 10 %, des cendres chlorhydriques et des cendres totales de la poudre de feuilles de *Psorospermum guineense*.

Teneur en eau		Teneur en substances extractibles par l'eau	Teneur en cendres sulfuriques à 50 %	Teneur en cendres insolubles dans HCl à 10%	Teneur en cendres totales
Masse azéotrope	Masse gravimétrique				
9 %	9,69 %	20,70 %	7,21 %	4,50 %	4,53 %

Nous constatons qu'un cinquième de la substance de *Psorospermum guineense* est extractible par l'eau ce qui confirme la richesse de la poudre en substances polyphénoliques. Ceci explique une bonne conservation de la poudre.

Le taux de cendres totales est 4,53 % dans les feuilles de *Psorospermum guineense* ceci explique leur pauvreté en substances minérales et l'absence de contamination.

6.4. Synthèse des résultats des études de la poudre de feuilles de *Psorospermum guineense* et de la poudre de l'écorce de racines de *Lanea velutina*.

6.4.1. Tableau n° XVI : Récapitulatif des études phytochimiques.

RECHERCHE	RESULTATS	
	<i>Psorospermum guineense</i>	<i>Lanea velutina</i>
Hétérosides cyanogénétiques (papier picrosodé)	-	-
Coumarines (Fluorescence U.V. 366 nm)	++++	++++
Caroténoïdes (Carr et Price)	-	-
Antracénosides libres (Borntrager)	++	-
Antracénosides combinés C-Hétérosides	++	-
Antracénosides combinés O-Hétérosides (Borntrager)	+	-
Flavonoïdes : Génines flavoniques (Shibata)	++++	++++
Flavonoïdes : Hétérosides flavoniques (Shibata)	++++	++++
Alcaloïdes : Base (Bouchardad-Mayer-Drageendorff)	-	-
Alcaloïdes : Sel (Bouchardad-Mayer-Drageendorff)	-	-
Saponosides : Mousse	-	-
Saponosides : Indice de mousse	-	-
Tanins : Réaction avec FeCl ₃	++++	++++
Tanins : Réaction avec HCl	++++	++++
Tanins catéchiques : Réaction de Stiasny	++++	++++
Tanins galliques : Réaction de Stiasny	++	+++
Composés réducteurs	++++	++++
Oses et holosides	++++	++++
Polyuronides (mucilages)	++++	++++
Stérols et triterpènes : Hétérosides triterpéniques (Lieberman)	++++	+++
Stérols et triterpènes : Stéroïdes (Lieberman)	-	+++
Hétérosides cardiotoniques (Raymond-Marthoud)	++++	+++
Hétérosides cardiotoniques (Keede)	++++	+++
Hétérosides cardiotoniques (Baljet)	++++	+++
Anthocyanes	-	-
Leucoanthocyanes	++++	++++
Différentiation quinones	++	-
Stupéfiants (tétrahydrocannabinols)	-	-
Pourcentage alcaloïdes	-	-
Alcaloïdes des solanacées mydriatiques	-	-

Les études phytochimiques sur les deux poudres *Psorospermum guineense* et de *Lanea velutina* ont montré leur richesse en tanins, flavonoïdes, hétérosides cardiotoniques, en oses et holosides et une absence d'alcaloïdes et de saponosides.

Les composés anthracéniques sont importants dans la poudre des feuilles de *Psorospermum guineense* et sont absents dans la poudre d'écorce de *Lanea velutina*.

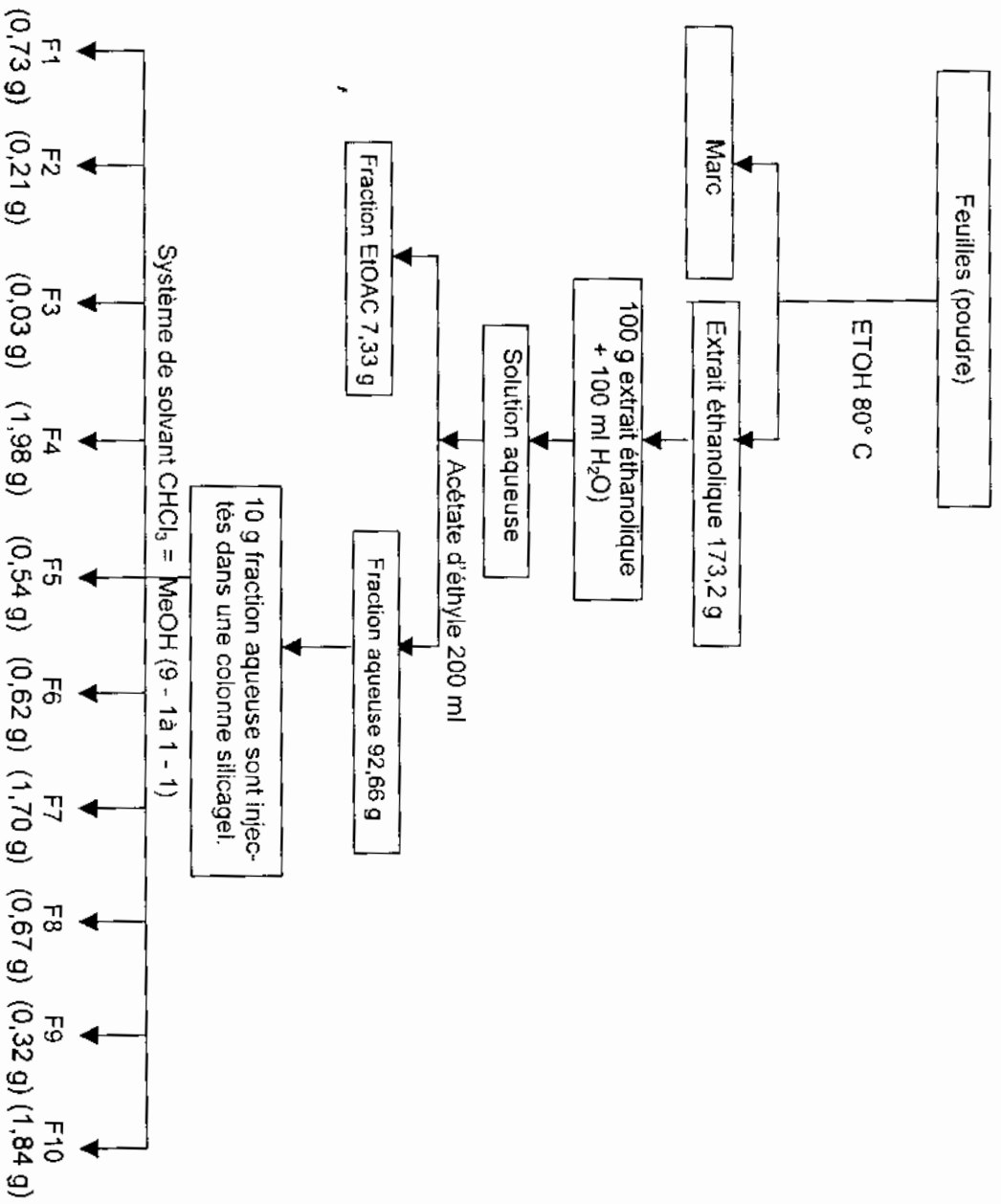
Les travaux antérieurs ont montré que les tanins, les flavonoïdes et les hétérosides présentent des propriétés antioxydantes. La propriété antioxydante de ces deux poudres de plantes serait due à la présence de ces composés.

6.4.2. Tableau n° XVII : Récapitulatif des dosages de l'eau, des substances extractibles par l'eau, des cendres insolubles dans HCL à 10 %, des cendres chlorhydriques et des cendres totales de la poudre de feuilles de *Psorospermum guineense* et de l'écorce de racines de *Lannea velutina*.

Plantes	Teneur en eau		Teneur en substances extractibles par l'eau	Teneur en cendres sulfuriques à 50 %	Teneur en cendres insolubles dans HCl à 10%	Teneur en cendres totales
	Masse azéotrope	Masse gravimétrique				
<i>Psorospermum guineense</i>	9 %	9,69 %	20,70 %	7,21 %	4,50 %	4,53 %
<i>Lannea velutina</i>	4 %	3,36 %	26,28 %	19,51 %	13 %	12,35 %

L'examen de ce tableau nous permet de conclure que la poudre l'écorce de racine de *Lannea velutina* se conserve mieux que celle des feuilles de *Psorospermum guineense* Il confirme également la richesse des deux poudres en substances hydrosolubles.

SCHEMA DE L'EXTRACTION ET DE FRACTIONNEMENT DES EXTRAITS DE PSOROSPERMUM GUINEENSE



6.6. Séparation liquide/liquide :

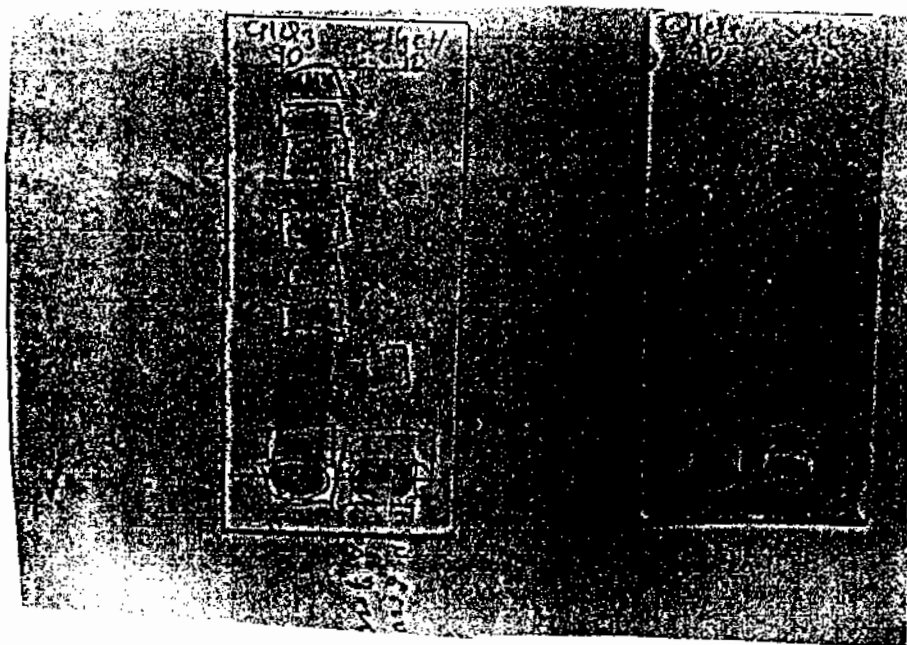


Photo n° 7

Extrait L/L Tableau XVIII :

	AC	Aq
366	0 0,64 0,08 0,60 0,24 0,64	0 0,16
254	0 0,42	-
Godin	0,18 0,72 0,74	-
DPPH	0,02	0,02

La fraction aqueuse présente la plus forte activité antioxydante.

6.7. CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE :

La chromatographie sur colonne a donné dix (10) fractions avec un rendement :

$$\text{Rendement de l'extraction} : \frac{100 \times (F1 + F2 + F3 \dots\dots\dots F10)}{\text{Prise d'essai}} =$$

$$\frac{100 \times (0,77 + 0,22 + 0,03 + 2 + 0,55 + 0,64 + 1,75 + 0,68 + 0,33 + 1,85)}{10} = \frac{8,82}{10} \times 100 = 88,2 \%$$

Rendement de l'extraction = 88,2 %

TABLEAU N° XIX : LES SYSTEMES DE SOLVANTS UTILISES POUR LA COLONNE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE PSOROSPERMUM GUINEENSE

NUMERO	SYSTEME DE	VOLUME	N° DE TUBE
1	CHCl ₃ – CH ₃ OH(90 – 10)	3000 ml	N° 1 – 144
2	CHCl ₃ – CH ₃ OH(80 – 10)	1.500 ml	145 – 178
3	CHCl ₃ – CH ₃ OH(60 – 10)	1.600 ml	179 – 203
4	CHCl ₃ – CH ₃ OH(40 – 10)	300 ml	203 – 325
5	CHCl ₃ – CH ₃ OH(20 – 10)	1.000 ml	326 – 405
6	CHCl ₃ – CH ₃ OH(1 – 1)	1.500 ml	406 – 520
7	CH ₃ OH	1.700 ml	520 – 677
	TOTAL SOLVANT	10.600 ml	

Volume CHCl₃ utilisé = 8595 ml

CHCl₃ – CH₃OH = 2005 ml

Eau distillée pour le lavage = 1700 ml

Quantité d'extrait injectée dans la colonne = 10 g

La CCM de suivi de la colonne est le chloroforme - méthanol - eau (65 - 35 - 5).

6.8. Chromatographie sur couche mince :

6.8.1. Révélation au Godin et à l'UV des dix (10) fractions isolées de la colonne :

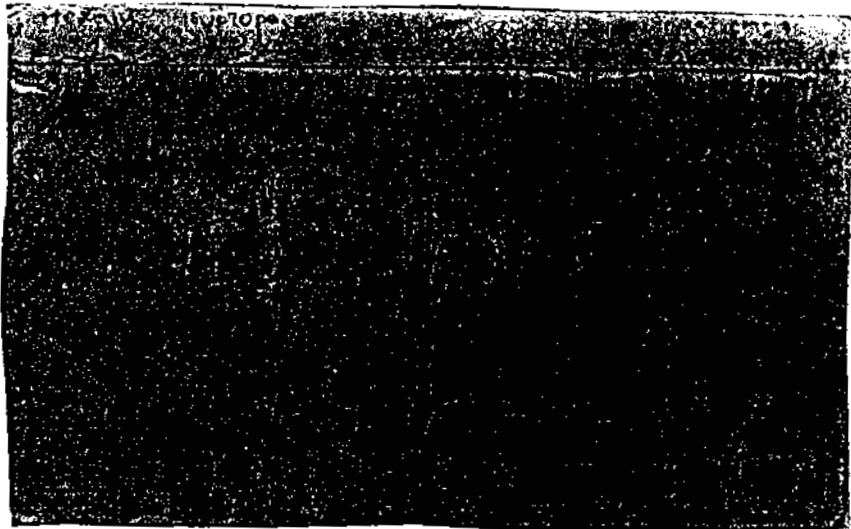


Photo n° 8 :

Nous constatons la présence de flavonoïdes par leur coloration jaune.

6.8.2. Test biologique des dix (10) fractions isolées de la colonne :

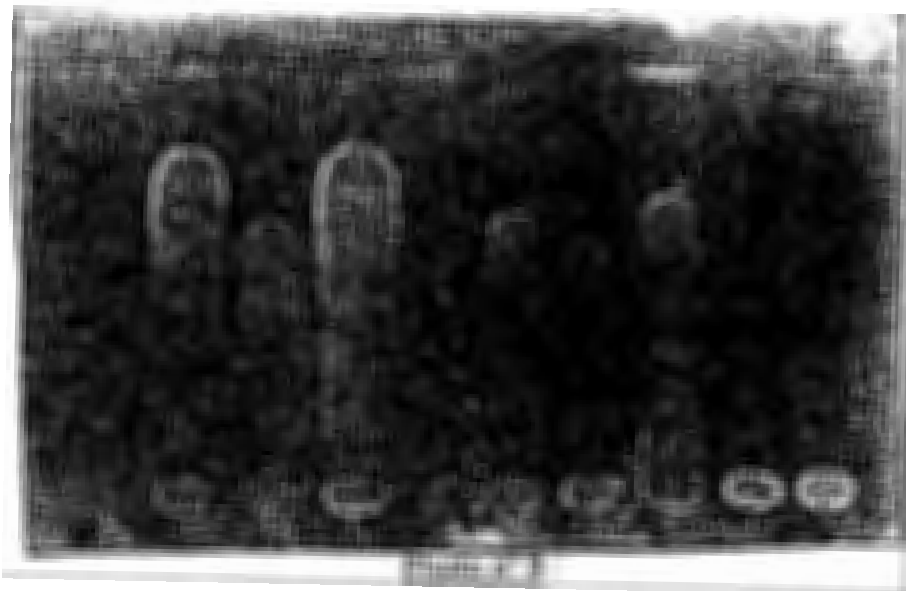


Tableau n° XX : Ref. des dix fractions obtenues de la colonne

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
	0 0,16 0,39 0,83	0 0,44 0,83	0 0,17 0,56 0,83 0,17 0,56	0 0,83	0 0,22 0,5	0,83 0,14 0,22 0,33	0,5 0,83 0,11 0,22	0 0,83 0,1	0,39 0,83 0,11
254	-	-	0,83 0,17 0,56	0,83	0, 0,82 0,5	0,14 0,22 0,83	0 0,11 0,83 0,22	0 0,1 0,83 0,2	0 0,89 0,11
Godin	-	0,48	0 0,16 0,58	-	8,16	0 0,16	0 0,16 0,48	0 0,16	0 0,16
DPPH	-	0,64	0,53	0,64 0,24 0	0 0,51	0 0,51	0,51 0,16 0	0	0

Au cours de ce screening biologique nous constatons que les fractions II, IV, VII et VIII présentent des propriétés antioxydantes avec des spots jaunes sur fond pourpre au test de DPPH. La fraction II a présenté la plus grande activité antioxydante.

6.9. RESULTAT HYDROLYSE :

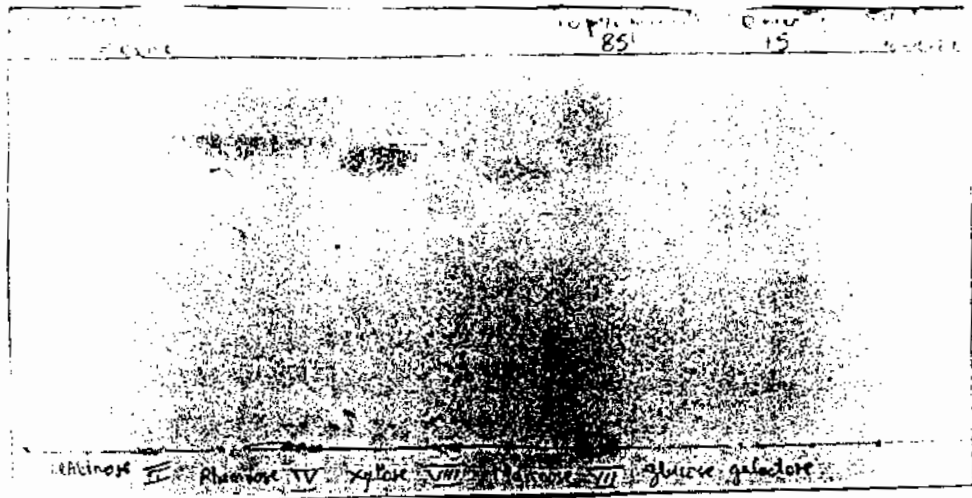


Photo n° 10

La présence de sucre dans les fractions isolées de la colonne a été déterminée par l'hydrolyse acide des quatre fractions (II, IV, VII et VIII).

Au cours de cette hydrolyse la présence de rhamnose a été déterminée dans les quatre fractions et du galactose dans la fraction, VII et VIII et de l'arabinose pour la fraction IV.

Tableau n° XXI : Réf. des différentes fractions isolées de la colonne à l'hydrolyse

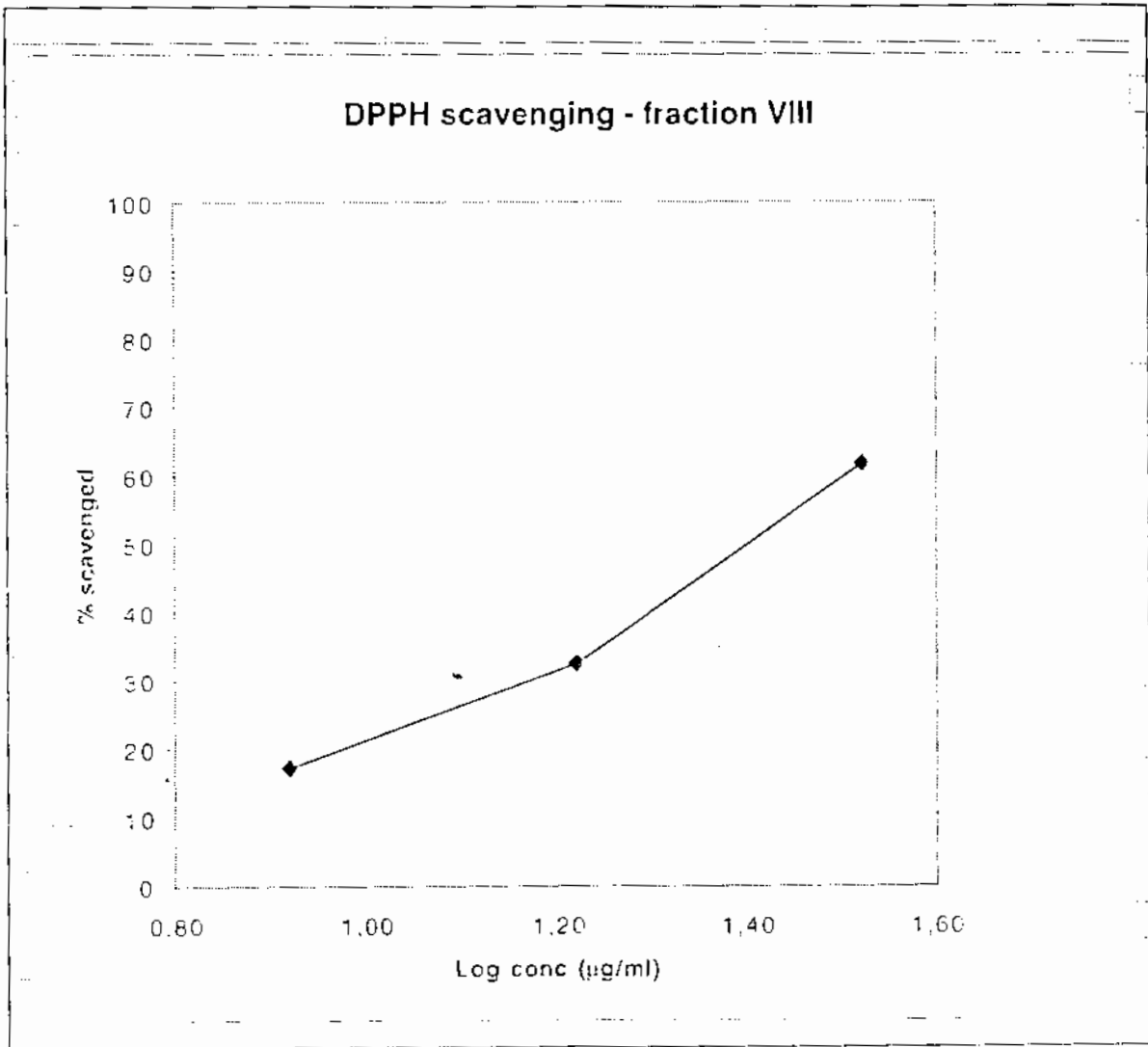
Fraction	Arabinose	F II	Rhamnose	F IV	Xylose	F VII	Manose	F VIII	Galactose	Glucose
Rf	0,67	0,77	0,77	0,77	0,74	0,62	0,69	0,62	0,62	0,67
Rf				0,67		0,77		0,77		

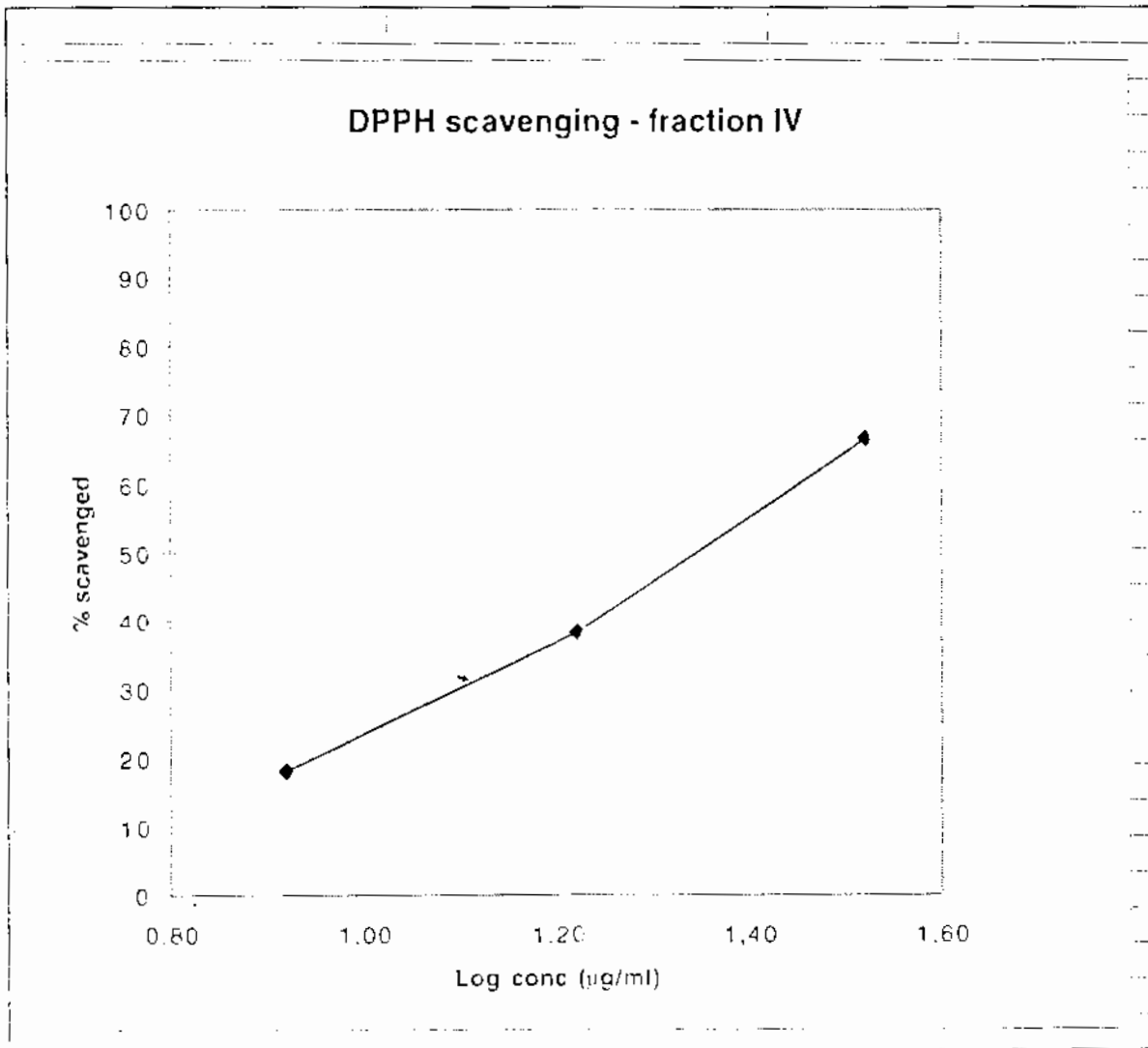
6.10. DETERMINATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE, ANTIRADICALAIRE PAR LA METHODE DILUTION

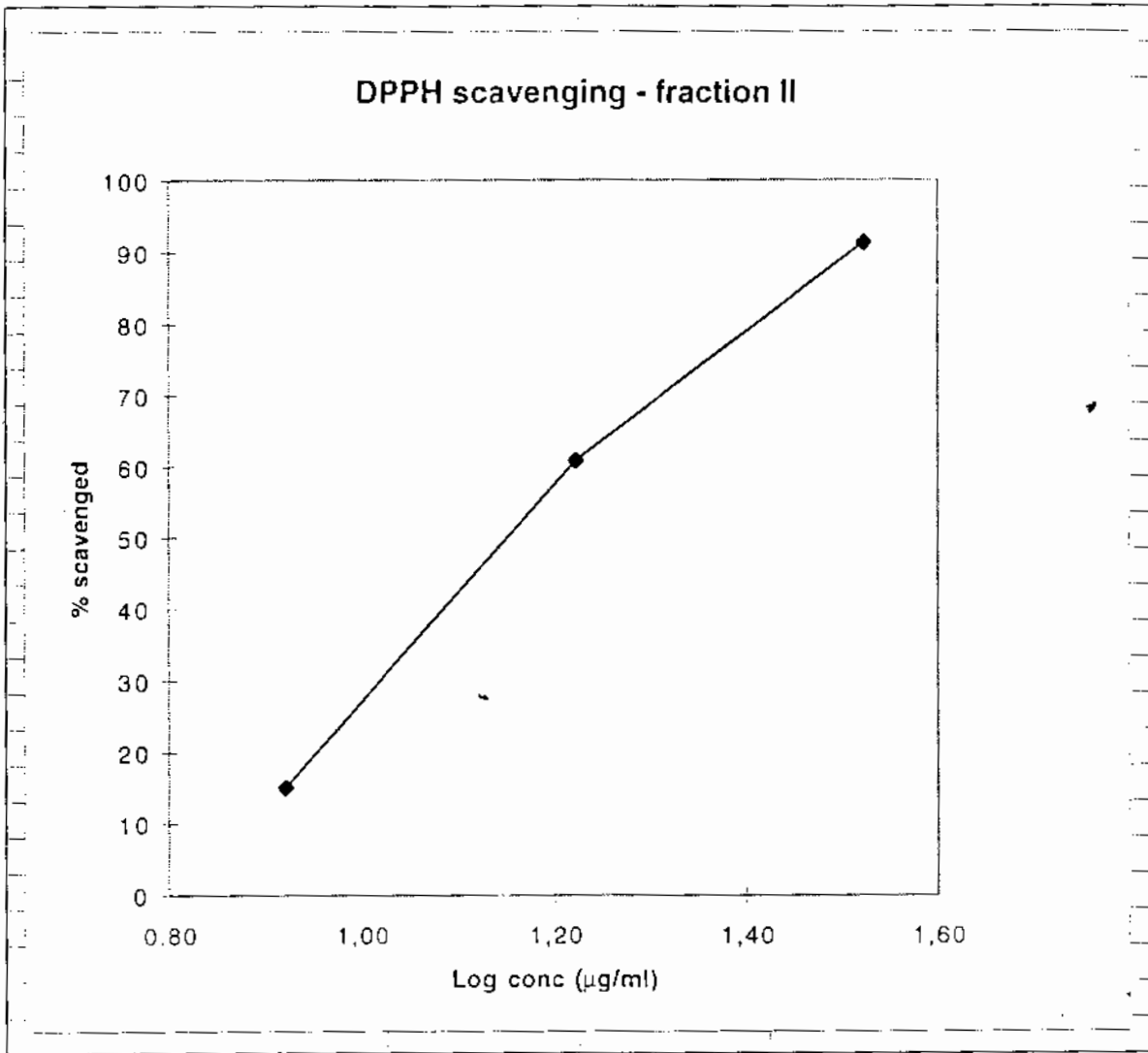
Tableau n° XXII : Résultat de la détermination de l'activité antioxydante avec le DPPH par la méthode de dilution des quatre fractions.

DPPH scavenging Aug 28, 2001		
Sample	Conc (µg/ml)	% scavenged
II	33,33	91,3
II	16,67	60,8
II	8,33	15,1
IC50	14±1 µg/ml	
Sample	Conc (µg/ml)	% scavenged
IV	38,33	34,4
Sample	Conc (µg/ml)	% scavenged
VIII	33,33	61,7
VIII	16,67	32,4
VIII	8,33	17,2
IC50	25±2 µg/ml	
1	2	3

La détermination de l'activité antioxydante antiradicalaire par la méthode de dilution des 4 fractions a permis de confirmer la forte activité de la fraction II avec 91,3 % d'activité à 33,33 µg/ml de fraction soit 60,80% à 16,67 µg/ml et 15,1% à 8,33 µg/ml contre 66,6% contre respectivement pour les mêmes concentrations 66,6%, 38,3%, 18,1% pour la fraction IV, 61,7%, 32,4% et 17,2% pour la fraction VIII ; la fraction VII n'a présenté qu'une seule activité. 34,4% pour 33,33 µg/ml de fraction (voir les tableaux Ark 1).







STANDARD IN OBSERVE

expl std1h

```
SAMPLE      DEC. 8 VT 199.977
date Aug 29 2001  dfrq  dh 199.977
solvent CD300  dh  H1 0
file      exp 0
ACQUISITION  da  nnn
sfrq 199.977  dam  c
ln  H1  damf  9100
at  4.000  temp  25.0
np  24000  PROCESSING 0.30
sw  3000.3  lb  wffile
fb  1504  proc  Ft
pw  25.0  fn  not used
dl  1.000 0
tof 0  warr 0
nt 18  wexp 0
ct 18  wos 0
atlock a  wnt
gain not used
FLAGS n
ll n
ln n
dp y
DISPLAY y
3p -51.6
wp 1727.9
vs 767
sc 0
wc 180
h2ma 1.55
fs 12171.76
rfi 113.1
rfp 0
tn 6
tns 100.000
nm cdc ph
```

8 7 5 5 4 3 2 1 0 ppm



7. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS :

L'étude s'est déroulée au Laboratoire du Département Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) courant 2000 - 2001.

Elle a consisté à effectuer un screening biologique de l'activité antioxydante avec le DPPH de 33 extraits de plantes appartenant aux familles des Anacardiaceae, Areliaceae, Asteraceae, Combretaceae, Ebenaceae, Flacourtiaceae, Lythraceae, Hyperaceae, Mimosaceae, Vitaceae disponibles au Département de Médecine Traditionnelle.

Au cours des tests biologiques les extraits de *Lannea velutina*, *Psorospermum guineense*, *Flacourtia flabescens*, *Entada africana*, *Pteleopsis suberosa* ont montré une activité antioxydante.

La plus forte activité a été observée au niveau des feuilles de *Psorospermum guineense* et les écorces de tronc de *Lannea velutina*.

Les tests phytochimiques des feuilles de *Psorospermum guineense* et des écorces de tronc de *Lannea velutina* ont montré la présence de tanins, de flavonoïdes, d'hétérosides cardiotoniques, Oses et holosides et une absence d'alcaloïdes et de saponosides.

La présence des composés anthracéniques dans les feuilles de *Psorospermum guineense* et leur absence dans les écorces de racines de *Lannea velutina* ont été constatées.

Les travaux antérieurs ont montré que les flavonoïdes, les coumarines et les tanins présentent une grande activité antioxydante. La présence de ces composés dans les deux extraits de plantes serait à la base de leurs propriétés antioxydantes.

En plus de ces propriétés antioxydantes la présence des flavonoïdes pourrait conférer aux deux extraits de plantes des propriétés diurétiques, anti-inflammatoires, anti-ulcère-gastriques, anti-spasmodiques, astringentes, anti-microbiennes, antivirales et hypoglycémiantes. Les coumarines ont surtout la propriété vitaminique P. Ce sont surtout des médicaments de l'insuffisance veineuse (Paris et Hurabelle, 1981).

En plus de ces propriétés, la présence de dérivés anthracéniques pourrait conférer à l'extrait de *Psorospermum guineense* des propriétés laxatives, purgatives ou drastiques (Paris et Hurabelle, 1981).

Le pourcentage des substances extractibles par l'eau est de 26,28 % pour *Lannea velutina* et 20,70 % pour *Psorospermum guineense*. Ces taux sont supérieurs à 20 %, ce qui indique leur richesse en substances hydrosolubles.

Le pourcentage de l'eau par entraînement azéotrope est de 9 % pour les feuilles de *Psorospermum guineense*, ce qui explique une mauvaise conservation de la poudre.

Quant à la poudre de l'écorce de racine de *Lannea velutina*, ce taux est de 4 %, ce qui explique une bonne conservation.

Le taux de cendres totales est de 4 % pour *Psorospermum guineense* et de 13 % pour *Lannea velutina*. Le taux élevé de 13 % pour la poudre de l'écorce de racine indique la richesse en substances minérales de la poudre ou une contamination en substances étrangères.

250 g de la poudre de feuilles de *Psorospermum guineense* ont été utilisés pour l'extraction méthanolique avec le méthanol (1375 ml). A la fin de l'opération nous avons obtenu 173,2 g d'extrait méthanolique.

La séparation liquide-liquide a été faite au moyen d'une ampoule à décanter nous avons introduit 100 g de l'extrait EtOAc avec 100 ml d'eau distillée et 20 ml d'acétate d'éthyle. Cette séparation a donné 7,33 g d'extrait d'acétate d'éthyle et 92,66 g d'extrait aqueux.

Les deux extraits ont subi un test avec le DPPH. A la suite de ce test l'extrait aqueux qui a présenté la plus grande activité a été utilisé pour le fractionnement de ses composés.

Pour le fractionnement 10 g de l'extrait aqueux sont introduits dans une colonne chromatographique contenant un gel de silice 60 (0,063-0,2000 mm). Ce fractionnement a donné 10 fractions dont les fractions II, IV, V, VI, VII et VIII ont montré une activité antioxydante au test avec le DPPH. La plus forte activité a été observée avec la fraction II.

La détermination de l'activité antioxydante antiradicalaire par la méthode de dilution des 4 fractions (II, IV, VII et VIII) a permis de confirmer la forte activité de la fraction II avec 91,3 % d'inhibition à 33,33 µg/ml contre 66,6 % pour la fraction IV, 61,7 % pour la fraction VIII et 34,4 % pour la fraction VII à la même concentration.

Les travaux réalisés sur les extraits méthanoliques sur *Saxifraga cuneifolia* ont permis d'isoler différentes molécules à activité antioxydante. Ces molécules sont majoritairement des flavonoïdes (Chevalley, 2000).

De notre extrait méthanolique nous avons eu trois fractions ayant des propriétés antioxydantes dont la fraction II est un produit pur. L'hydrolyse acide des fractions nous a permis d'identifier les sucres présents dans ces différentes fractions traduisant la présence d'hétérosides dans ces composés. La fraction II est un hétéroside dont la partie osidique est composée de rhamnose. Sous UV elle donne une fluorescence jaune indiquant la présence d'un flavonoïde. La fraction II est donc un flavonoïde ayant une génine et une partie sucre.

Si la fraction II est un flavonoïde à activité antioxydante d'autres molécules ayant la même propriétés mais de structures différentes ont été isolées par Calvin (1999) après un screening de plusieurs plantes Indonésiennes. Ces composés étaient surtout des lignanes et des dérivés du phényl propane.

Pour la IC_{50} nous avons obtenu $14 \pm 1 \mu\text{g/ml}$ pour la fraction II de *Psorospermum guineense* alors que Isabelle a obtenu une IC_{50} supérieure à $80 \mu\text{M}$ pour le composé H, P et T, $25 \mu\text{M}$ pour les composés K et L et $16,9$ pour le composé S.

Les utilisations traditionnelles de *Psorospermum guineense* soutenues par les résultats que nous avons obtenu les teneurs en flavonoïdes confèrent à la plante des propriétés vitaminiques P et anti-inflammatoires. L'activité antioxydante retrouvée dans les feuilles de *Psorospermum guineense* font qu'elles peuvent être utilisées contre d'autres pathologies contre l'athérosclérose, cancer, l'asthme et l'arthrite etc.

Cependant les travaux doivent se poursuivre par les tests sur les lipides et les protéines afin d'obtenir de meilleures indications de leur activité sur une cible biologique. En effet, le test du DPPH est un test simple, rapide et qui peut être effectué dans tous les laboratoires de recherche phytochimique. Il n'est cependant pas suffisant pour produire un effet biologique *in vivo*. Les phénomènes radicalaires sont complexes, de nombreux facteurs y interviennent comme la nature exacte des radicaux libres impliqués, la stabilité des produits intermédiaires et la cinétique des réactions (Calvin., 1999).

8. CONCLUSION :

Au cours de cette étude, nous avons tenté d'apporter notre contribution pour une meilleure connaissance des propriétés antioxydantes des 33 extraits de plantes de notre patrimoine végétal conservés au Département Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP).

A l'issu de cette étude, nous avons apporté une meilleure connaissance phytochimique de la poudre de feuilles de *Psorospermum guineense* et celle de l'écorce des racines de *Lannea velutina* qui ont présenté une forte activité antioxydante au cours du test au DDPH des 33 extraits de plantes.

Isoler les quatre fractions qui sont à la base de l'activité antioxydante de la poudre de feuilles de *Psorospermum guineense* par purification par chromatographie sur colonne de l'extrait méthanolique de cette poudre après séparation liquide/liquide.

La forte présence de tanins, de flavonoïdes et de coumarines serait à la base de l'activité antioxydante.

Au cours de l'hydrolyse acide nous avons identifié la présence de rhamnose dans les 4 fractions isolées de la colonne, du galactose dans les fractions VII et VIII et de l'arabinose dans la fraction IV.

Il serait souhaitable de continuer la recherche phytochimique, pharmacologique des plantes antioxydantes de notre pays pour mettre à la disposition de nos populations celles qui présenteraient une bonne activité antioxydante et une innocuité par rapport à l'organisme humain.

L'utilisation de ces plantes serait un moyen moins cher et plus efficace pour diminuer l'incidence des accidents vasculaires cérébraux (AVC) non hypertensive et d'un certain nombre de maladies dans notre pays comme le cancer, l'arthrite, l'asthme, maladie de Parkinson etc. Ces antioxydants peuvent être utilisés comme additifs alimentaires pour améliorer l'état de santé des populations.

BIBLIOGRAPHIE :

- AHMED, M.S., AINLEY, K., PARISH, J.H et HADI, S.M. (1994). Free radical induced fragmentation of proteins by quercetine carcinogenesis **15**, 1627-1630.
- ANDERSON, C.M., HALLBERG, A. HOGBERG, T. (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug-Res* **28**, 65-180.
- BILIA. A. R.; YUSUF A. W., BRACA. A. KEITA. A. and MOERLI. I. (1999) New Prenylated Anthraquinones and xanthones from *Vismia guineensis*.
Dipartimento di Science Farmaceutiche, Universita di Firenze, via Gino capponi 9, 55121 Firenze, Italy, Dipartimento di chimica Bioorganica e Profarmacia-Universita di Fisa, via Bonanno 33, 56126 Pisa, Italy, and Département de Médecine Traditionnelle, Institut National de Recherche en Santé Publique B.P 1746, Bamako, Mali. Received May 12, 1999.
- BORS, W., et SARAN, M. (1987). Radical scavenging by flavonoïd antioxidants free radical Res 2 (289-294)
- CAVIN A. (1999) Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires *Tinospora crispa* (Menispermaceae) *Merimia emarginata* (Convolvulaceae) et *crophoea enneandra* (Annonaceae). Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences, Université de Lausanne.
- CALVIN, A., HOSTETTMANN, K., POTTERAT, O. (1998) Antioxidant and Lipophilic constituents of *Tinospora crispa*. *Plant Med* **64**, 393 - 396.
- Denis MALGRAS (1992) Arbres et arbustes guérisseurs des Savanes maliennes, KARTHALA et ACCT P : 161 - 163.
- DIALLO D. (2000) Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and Phytopharmaceutical study of four of.
Theme : *Glinus oppositifolius* (AIZO ACEAE), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae) *Entada africana* (Mimosaceae) *Trichilia emetica* (Meliaceae) Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences de l'Université de Lausanne.
- DIARRA I. I (1991) Contribution à l'étude de quelques aspects des dermatoses en Médecine Traditionnelle au Mali. Thèse FMPOS, Bamako, N° 91 P-131.
- DIARRA, S. (1999) Accidents cardio-vasculaires non hypertensifs. Thèse FMPOS, Bamako, 99 N° M-71

- FORMICA, J.V. et REGELSON, W. (1995). Review of the Biology of quercetine and related bioflavonoids. *Food chem, Toxicol* **33**, 1061-1080.
- FABRE, N, URIZZI, P, SOUCHARD J.P, FRECHARD, CLARPAROL C, FOURASTE, I, MOULIS C. (1999). FITOTERAPIA., volume 71 n° 4, P **425-427**.
- GUTMAN, R.L. et RYU, B.H. (1996). Rediscovering Tea. *Herbal-gram* **37**,33-42.
- HALLIWELL, B. (1996). Antioxydants in human health and disease *Annu. Rev. Nutr.* **16**,33-50.
- HARMANN, D. (1992). Free radical reactions in aging and disease. *Drug news perspectives* **5**,461-466.
- HOSTETTMANN, K., CHINYANGANYA, F., MAILLARD, M. ; and WOLFENDER, J. L. (1996) *University of Zimbabwe* P 182-184
- HOSTETTMANN, K et HOSTETTMANN, M. (1989). Xanthones Dans *Methods in plant Biochemistry*, vol I (Harborne), J.B. edit Academic Press, London P 493-508.
- HUANG, M.T. et FERRARO, T. (1991). Phenolic compounds in food and cancer prevention. Dans phenolic compound in food and their effects on Health. Vol II (HUANG, M.T., HO, C.T and Lee, C.Y., edit). American chemical society, Washington, P. 8-34.
- CHEVALEY I., (2000). Contribution à l'étude phytochimique des Saxifragacées, isolement d'antioxydants à partir de *Saxifraga stellaris* et *Saxifraga cuneifolia* L. et d'un composé antifongique de *Ribes rubrum* L. Thèse de Doctorat, Université de Lausanne (Suisse).
- JANG, M., LUNGS., C., UDEANI, G.O., Slowing, K.V. et PEZZUTO, J.M. (1997). Assessment of cyclo oxygenase inhibitors using in vitro assay systems, *Method cell Biol* **19**, 25-31.
- JUANG, M. et PEZZUTO, J.M. (1997). Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derivated from grapes. *Science* **275**, 218-220.
- KHERARO et ADAMS, : La Flore du Sénégal (1974)
- KRINSKY, N.I. (1989). Anti oxydant functions of carotenoids. *Free Rad Biol. Med.* **7**.617-635.
- KOUMARE, ; ADJANOHOUN. *Revue de Médecine et Pharmacopées Africaines*, vol 11-12, 1997 P. 5-6.
- LARSON, R.A. (1995). Antioxydative stress and Antioxydant defense in Biology Ed. Ahmad, London.

- LAUGHTON, M.J., HALLIWELL, B., EVANS, P.J. et HOULT, J.R.S (1989). Antioxydant and pro-oxydant actions of the Plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. *Biochem. Pharmacol* **38**, 2859-2865.
- MADHAVI, D.L, DESHPANDLE, S.S et SALUNKHE, D.K. (1996). Food antioxydants technological, Toxicological, and Health perspectives. Marcel Dekker, New York.
- MICHIELS, C., RAES, M., TOUSSAINT, O. et REMACLE, J. (1994). Importance of seglutathione peroxydase, catalase and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxydative stress. *Free radical. Biol. Med* **17**, 235-248.
- MISIK, V. ; BEZAKOVA, L., MALEKOVA, L., and KOSTALOVA, D. (1995). Lipoxygenase inhibition and antioxidants properties of protoberberine and Aporphine alkaloid isolated from *Mahonia aquifolium* (Berberidaceae). *Planta Medica* **4** vol 61 (297-392)
- MULLER, K. (1992). Free radikale : *Bedeutung in pathophysiology and therapy*. *DTSCH APOTH. ZTG* **132**.1473-1482.
- OHNISHI, M., MORISHITA, H., IWASHI H, TODA, S., SHIRATAKI, Y., KIMURA, M et KIDO R. (1994). *Inhibitory effects of chlorogenic acids on linolenic peroxydation an hemolysis* *Phytochemistry* **36**, 579-583.
- OUOLOGUEM, T,. (1999) Contribution à étude de l'activité larvicide de quelques plantes médicinales sur les larves d'*Anophèles gambiae* ss et *Culex*. Thèse FMPOS, Bamako, N° 00 P 18.
- PARIS M., HURABIELLE. M. , (1981) Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie tome 1 généralités.
- PETO, R., DOLL, R., BUCKLEY, J.O et SPORN, M.B. (1981). Candietary beta-carotene materially reduce human cancer rates ? *Nature* **290**, 201-208.
- POTTERAT, O. (1997). Antioxidants and Free radical scavengers of natural origin. *Current organic chemistry* **1**, 415-440.
- POTTERAT, O. et HOSTETTMANN, K (1995). Plants sources of natural drugs and compounds. *Encyclopedia of environmental biology* **3**, 139-153.
- PROKSCH, P. (1997). Jamu-traditionnelle Herkunde Indonesians. *Zeits Ruff fur phytotherapy* **18**. 232-240.

- RAKIPOV. N., (1987) Biochimie des cultures tropicales.
- SALVI, A (1998). Esterase-like activity of human serum albumin : Pharmacokinetic significance, loss by Free radical attack, and protection by antioxydants. Thèse, Faculté des Sciences, Université de Lausanne (Suisse).
- SATO, T., KAWAMOTO, A., TAMURA, A., TATSUMI, Y, et FUJÜ, T (1992). Mechanism of antioxidant action of pucraria glycoside (P.G)-1 (an isoflavonoïds) and mangiferin (a xanthonoïd) *chem, Pharm, Bull*, **40**, 721-724.
- SCHOWARZET et TERNES, W. (1992) Antioxydative constituents of Rosmarinus officinalis and slavia officinalis F. Determination of phenolic diterpene with antioxydative activity among tocochromanols using HPLC Z Lebenson inters Forsch **195**, 95-98
- SEELERT, K. (1992). Free radikale und altern, ein altes thema wird neu diskutiert, Dtsch Apoth ZTG 132, 2479-2485.
- SIES ET SAHL (1995) Vitamins E and C, β -carotène and other caratenoids as antioxydant. Am. J. Nutr **62**, 1315 S.
- TAMURA, H. Et YAMAGAMI, A. (1994). Antioxydative activity of mono-acylated anthocyanins isolated from muscal bailey. a grape J. Agric. Food chem **42**, 1612 - 1615.
- TAKAO, T., KITATANI, F., WATANABE, N., YAGI, A. Et SAKATA, K. (1994). A simple screening method for antioxydants and isolation of several antioxydants produced by marine bacteria from fish and shell fish. *Brusci. Brotech-Brochem* **58**, 1780 - 1783.
- TRAORE B. (1995). Contribution à la recherche d'un traitement traditionnel de l'eczéma. Etude préliminaire sur la faisabilité d'un protocole d'essai clinique. Thèse, Médecine ENMP, Bamako, N° 95 M 25.
- WEISSBURGER, J.H. (1997). Tea and Health : a historical perspective. *Cancer lett.* **114**, 315 - 317.
- YAMASAKI, T., Li, L. et Lan, BHS (1994). Garlic compounds protect vascular endothelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidant injury *Phytother-Res* **8**, 408 - 412.

ANNEXE :

Composition des réactifs :

- Réactif de Baljet :

Acide picrique 1 g

Ethanol 50° qsp 100 cc

- Réaction de Keede :

Acide dinitro 3-5 benzoïque 1 g

Ethanol à 96° qsp 100 cc

- Réactif Raymond Marthoud :

1-3 m dinitrobenzène 1 g

Ethanol à 96° qsp 100 cc

- Liquueur de fehling :

Réactif à chaud

Solution A :

CuSO₄ 35 g

Eau distillée 500 cc contenant 5 cc d'H₂SO₄

Laisser refroidir compléter au litre avec eau distillée

Solution B :

Sel de seignette 150 g

Eau distillée 500 cc

Refroidir puis ajouter 300 cc de lessive de soude non carbonaté.

Compléter au litre avec eau distillée.

N.B : Mélanger les deux solutions à volume égal au moment de l'emploi

- Réactif de Guignard :

Préparation papier picrosodé

Acide picrique 1 g

Carbonate de sodium 10 g

Eau distillée 100 cc

Réactif de Dragendorff :

Nitrate de Bismuth pulvérisé 20,80 g

Iode 38,10 g

Iodure de sodium anhydre 200 g

Eau distillée 600 cc

Agiter pendant 30 minutes

- Réactif de Valsér Meyer :

Iodure de potassium 25 g

Chlorure mercurique 6,77 g

Eau distillée 250 cc

- Réactif de Godin :

Solution A

Vanilline 1 g + 1000 ml d'éthanol

Solution B

Acide perchlorique 3 cc + eau distillée 100 cc

Mélanger la Solution A et la Solution B au moment de l'emploi.

Ensuite pulvériser les plaques avec une solution de H_2SO_4 10 %

- Réactif de DPPH :

Faire un mélange de DPPH par ml d'éthanol.

Matériels utilisés :

Phytochimie :

Teneur en eau :

Becher

Entonnoir

Tube à essai

Balance analytique de précision type sartorius

Etuve erlenmeyer

Dessiccateur

Verre de montre

Capsule en verre

Pinces métalliques

Teneur en cendre :

Balance analytique

Dessiccateur

Creuset en silice

Four électrique

Pinces métalliques

Réaction de caractérisation :

Tube à essai

Entonnoir

Balance analytique de précision type sartorius

Etuve

Coton.

* **Pour macération** : Appareil à agitation magnétique mis à 500 t/mn.

- Erlenmeyer de 100 ml, 200 ml, 500 ml

- Agitateur magnétique

- Becher

- Coton pour la filtration

- Entonnoir

* **Concentration du macéré** :

- Becher

- Rotavapor de type BUCHI : R - 14

- **Séparation liquide/liquide** :

- Ampoule à décanter

- Tube à essai

- Verre à pied

- Les plateaux en aluminium

- Erlenmeyer

- Entonnoir

- Coton.

Chromatographie sur couche mince (CCM) et test biologique :

- Plaques en aluminium
- Micro-pipettes : pour le dépôt des spots sur les plaques CCM
- Cuves : pour la migration des dépôts
- Verre à pied.
- Pulvérisateur
- Séchoir.

Hydrolyse :

- Ampoules à décanter
- Sécher
- Entonnoir
- Balance analytique de précision type Sartorius
- Coton

Concentration inhibitrice 50 : Ic50

Shimadzu Wv 160 A

Shimadzu cell positioner

CPS - 240 A

(Shimadzu, Kyoto, Japan)

Raisonnance magnétique nucléaire (RMN) :

Spectrophotomètre :

Nom : BATHILY
Prénom : Diabé
Année : 2001
Ville de soutenance : Bamako
Pays d'origine : Mali
Lieu de Dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS), Bamako - Mali.

RESUME :

Notre travail est une contribution à l'étude phytochimique et biologique de deux (2) plantes à activité antioxydante, antiradicalaire du Mali. Après avoir soumis 33 extraits provenant de 13 plantes de familles différentes à un screening biologique avec le DPPH pour la détermination de leur activité antioxydante, antiradicalaire. Nous avons effectué des recherches phytochimiques sur les écorces de tige de *Lannea velutina* et les feuilles de *Psorospermum guineense* qui ont montré une bonne activité antioxydante, antiradicalaire au cours du test de DPPH.

Nous avons effectué une extraction de la poudre des feuilles de *Psorospermum guineense* du méthanol. Cet extrait a subi une séparation liquide/liquide avec de l'eau et l'acétate d'éthyle. Après séparation la partie qui a présenté une bonne activité aqueuse a été utilisée à la chromatographie sur colonne pour l'isolation de ces constituants.

A la fin de l'opération, nous avons obtenu dix (10) fractions dont quatre (4) ont présenté une bonne activité antioxydante, mais c'est la fraction II qui a présenté la plus grande activité au test de DPPH et au test de détermination de l'activité antioxydante par dilution au DPPH.

L'hydrolyse et le RMN de ces quatre (4) fractions a montré leur richesse en sucre notamment en phamnose.

Mots clés : *Psorospermum guineense*, *Lannea velutina* (A. Rich).

SUMMARY :

Our job (task) is a contribution to the phytochemical and biological study of two (2) plants with anti-oxidant activity , antiradicalary of Mali. After sumbmitting 33 extracts from 13 plants of various families to a biological screening with DPPH for the determination of their antioxidant antiradicalary activity.

We have done phytochemical researches on the bodies of tige of "*Lannea velutina*" and the leaves of "*Psorospermum guineense*" that have shown a very good antioxidant, antiradicalary activity during the DPPH test.

We have done an extraction of leaves powder of *Psorospermum guineense* with methanol. This extract has undergone a liquid (fluid) separation with water and acetate of ethyl. After separating, the acquous part that has shown a good activity, was useful to the chromatography on column for the isolation of these constituents.

After the operation we have obtained ten parts (fractions) four (4) of which have presented a good antioxidant activity, but it is the fraction II that has presented the greatest activity to the test of DPPH and to the test determination of the antioxidant activity by diluting to DPPH.

The hydrolyse and RMN of these four fractions has shown their wealth in sugar, namely in Rhamnose.
