

Direction Nationale de l'Enseignement Supérieur

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI

Année 1996

Thèse N°/ 19 /

**CONTRIBUTION A L' ETUDE PHYTOCHIMIQUE DU
"BOUAYE " VERNONIA KOTSCHYANA SCH. BIP.
(ASTERACEAE) UTILISE AU MALI DANS LE
TRAITEMENT DES ULCERES GASTRO-DUODENAU**

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement, le 1996
devant l'Ecole Nationale de Medecine et de Pharmacie du Mali.

Par Mr SOUMAHORO Amara

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (**DIPLOME D'ETAT**)

Examineurs :

Président du Jury : Professeur Siné BAYO

Membres : Professeur Gaoussou KANOUTE

: Docteur Elimane MARIKO

Directeur : Professeur Arouna KEITA

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI
ANNEE UNIVERSITAIRE 1995- 1996

ADMINISTRATION

Doyen: Issa TRAORE - Professeur

1er Assesseur: Boubacar S. CISSE - Professeur

2ème Assesseur: Amadou DOLO - Maître de conférence agrégé

Secrétaire général: Bakary CISSE - Maître de conférence

Econome: Mamadou DIANE- ontrôleur des finances

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Aliou BA

Ophtalmologie

Mr Bocar SALL

Ortho- Traumato-Sécourisme

Mr Souléyman SANGARE

Pneumo- phtysiologie

Mr Yaya FOFANA

Hématologie

Mr Mamadou L. TRAORE

Chirurgie Générale

Mr Balla COULIBALY

Pédiatrie

Liste du personnel enseignant par D.E.R & par grade

D.E.R DE CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE

Chef D.E.R de Chirurgie

Mr Sambou SOUMARE

Chirurgie Générale

Mr Abdou Alassane TOURE

Ortho-Traumatologie

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

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aissata SOW

Gynéco-Obstétrique

Mr Salif DIAKITE

Gynéco-Obstétrique

4. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Mamadou L. DIOMBANA

Stomatologie

Mr Abdoulaye DIALLO

Ophtalmologie

Mr Alhousseïni Ag MOHAMED
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE
Mr Abdoulaye DIALLO
Mr Gangaly DIALLO
Mr Sekou SIDIBE
Mr Abdoulaye K.DIALLO
Mr Mamadou TRAORE
Mr Filifing SISSOKO
Mr Tiéman COULIBALY
Mme TRAORE J. THOMAS
Mr Nouhoum ONGOIBA

O.R.L.
Gynéco-Obstétrique
Anesth-Réanimation
Chirurgie Générale
Ortho.Traumatologie
Anesthésie-Réanimation
Gynéco-Obstétrique
Chirurgie générale
Ortho-traumatologie
Ophtalmologie
Anatomie & Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS

Mr Ibrahim ALWATA
Mr Sadio YENA

Ortho-Traumatologie
Chirurgie Générale

D.E.R DES SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Bréhima KOUMARE
Mr Siné BAYO
Mr Gaoussou KANOUTE
Mr Yéya T. TOURE
Mr Amadou DIALLO
Mr Moussa HARAMA

Bactériologie-Virologie
Anatomie-Path.Histoembryologie
Chimie Analytique
Biologie
Biologie Chef de D.E.R.
Chimie Organique

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ogobara DOUMBO
Mr Anatole TOUNKARA

Parasitologie
Immunologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Yénimégué A. DEMBELE
Mr Massa SANOGO
Mr Bakary M. CISSE
Mr Abdrahamane S. MAIGA

Chimie Organique
Chimie Analytique
Biochimie
Parasitologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE
Mr Sekou F. M. TRAORE
Mr Abdoulaye DABO

Biologie
Entomologie médicale
Malacologie, Biologie Animale

Mr N'Yenigue Simon KOITA
Mr Flabou BOUGOUDOGO
Mr Amadou TOURE
Mr Ibrahim I. MAIGA

5. ASSISTANTS

Mr Benoît KOUMARE

Chimie Organique
Bactériologie
Histoembryologie
Bactériologie

Chimie Analytique

D.E.R DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY
Mr Aly GUINDO
Mr Mamadou K. TOURE
Mr Mahamane MAIGA
Mr Ali Nouhoum DIALLO
Mr Baba KOUMARE
Mr Moussa TRAORE
Mr Issa TRAORE
Mr Mamadou M. KEITA

Med. Int. Chef de D.E.R Médecine
Gastro-Enterologie
Cardiologie
Néphrologie
Médecine Interne
Psychiatrie
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumanie SIDIBE
Mr Bah KEITA
Mr Boubacar DIALLO
Mr Dapa Aly DIALLO

Pédiatrie
Pneumo-Physiologie
Cardiologie
Hématologie

3. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Abdel Kader TRAORE
Mr Moussa Y. MAIGA
Mr Somita KEITA
Mr Amar A. TRAORE
Mr Bou DIAKITE
Mr Bougouzié SANOGO
Mr Mamady KANE
Mr Sharé FONGORO
Mr Bakoroba COULIBALY

Médecine Interne
Gastroenterologie
Dermato-Leprologie
Médecine interne
Psychiatrie
Gastroenterologie
Radiologie
Néphrologie
Psychiatrie

4. ASSISTANTS

Mr Mamadou DEMBELE
Mr Adama D. KEITA
Mme Tatiana KEITA

Médecine Interne
Radiologie
Pédiatrie

D.E.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki CISSE Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCE AGREGES

Mr Arouna KEITA Matière Médicale

3. MAITRES DE CONFERENCE

Mr Boulkassoum HAIDARA Législation
Mr Ousmane DOUMBIA Pharmacie Chimique(Chef D.E.R)
Mr Elimane MARIKO Pharmacologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Drissa DIALLO Matière Médicale
Mr Alou KEITA Galénique

5. ASSISTANTS

Mr Ababacar I. MAIGA Toxicologie

D.E.R DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEURS

Mr Sidi Yaya SIMAGA Santé Publique(Chef D.E.R)

2. MAITRE DE CONFERENCE AGREGE

Mr Moussa A. MAIGA Santé Publique

3. MAITRE DE CONFERENCES

Mr Yanick JAFFRE Anthropologie
Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G. TOURE Santé Publique
Mr Sory I. KABA Santé Publique

5. ASSISTANTS

Mr Massambou SACKO Santé Publique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA Botanique

Mr Bouba DIARRA Bactériologie

Mr Salikou SANOGO Physique

Mr Daouda DIALLO
Mr Bakary I. SACKO
Mr Sidiki DIABATE
Mr Boubacar KANTE
Mr Souléymané GUINDO
Mme Sira DEMBELE
Mr Modibo DIARRA
Mme MAIGA Fatoumata SOGONA
Mr Nyamanto DIARRA
Mr Moussa I. DIARRA
Mr Mamadou Bakary DIARRA

Chimie Générale et Min.
Biochimie
Bibliographie
Galénique
Gestion
Mathématiques
Nutrition
Hygiène du milieu
Mathématiques
Biophysique
Cardiologie

PERSONNEL D'ENCADREMENT(STAGES & TP)

Docteur Madani TOURE	H.G.T.
Docteur Tahirou BA	H.G.T.
Docteur Amadou MARIKO	H.G.T.
Docteur Badi KEITA	H.G.T.
Docteur Antoine Niantao	H.G.T.
Docteur Kassim SANOGO	H.G.T.
Docteur Yéya I. MAIGA	I.N.R.S.P.
Docteur Chompere KONE	I.N.R.S.P.
Docteur Almahdy DICKO	P.M.I. SOGONIKO
Docteur Mohamed TRAORE	KATI
Docteur Reznikoff	IOTA
Docteur N'DIAYE F. N'DIAYE	IOTA
Docteur Hamidou B. SACKO	HGT
Docteur Hubert BALIQUE	C.T. MSSPA
Docteur Sidi Yéhiya TOURE	HGT
Docteur Youssouf SOW	HGT

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr F. S. DANO	Hydrologie
Pr M. L. SOW	Médecine Légale
Pr S. S. GASSAMA	Biophysique
Pr D. BA	Bromatologie
Pr M. BADIANE	Pharmacie Chimique
Pr B. FAYE	Pharmacodynamie
Pr Eric PICHARD	Médecine interne
Dr G. FARNARIER	Physiologie.

SOMMAIRE

	PAGES
INTRODUCTION	19
PREMIERE PARTIE : TRAVAUX ANTERIEURS	22
CHAPITRE I : DONNEES BOTANIQUES	23
I. POSITION DANS LA SYSTEMATIQUE.....	24
II. DESCRIPTION.....	24
III. NOM VERNACULAIRE.....	25
IV. HABITAT.....	26
V. DROGUE.....	28
1. Caractères morphologiques et organoleptiques.....	28
2. Caractères microscopiques.....	29
CHAPITRE II : CHIMIE	35
CHAPITRE III : PHARMACOLOGIE	41
CHAPITRE IV : UTILISATION EN MEDECINE	46
TRADITIONNELLE	
DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX PERSONNELS	48
CHAPITRE I : MATERIEL D'ETUDE	49
CHAPITRE II : ETUDES PHYTOCHIMIQUES	51
A. CARACTERES PHYSICO-CHIMIQUES.....	52
I. TENEUR EN EAU.....	53
II. TENEUR EN CENDRES.....	56
III. INDICE DE GONFLEMENT.....	57
IV. INDICE DE MOUSSE.....	58
V. DETERMINATION DU pH.....	58
VI. RESULTATS.....	59
.Teneur en eau.....	59
.Teneur en cendres.....	60
. Indice de gonflement.....	61
. Indice de mousse.....	61

pH	61
B. TECHNIQUES GENERALES D'ETUDE PHYTOCHIMIQUE	63
I. EXTRACTION DES SAPONOSIDES	63
1. Extraction à froid.....	63
2. Extraction liquide-liquide.....	63
II. METHODES CHROMATOGRAPHIQUES	63
1. Chromatographie sur couche mince.....	63
2. Chromatographie sur colonne.....	64
3. Chromatographie préparative sur plaque.....	64
4. Supports et solvants utilisés.....	65
5. Révélateurs.....	66
III. METHODES D'IDENTIFICATION	66
1. Méthodes chromatographiques.....	66
2. Méthodes spectrales.....	66
C. EXTRACTION DES SAPONOSIDES	68
I. PREPARATION DE L'EXTRAIT AQUEUX	68
II. EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE	68
III. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE	69
IV. ETUDE DES SAPONOSIDES DE L'EXTRAIT AQUEUX	72
1. Etudes des génines.....	72
a. Séparation.....	72
b. Chromatographie sur colonne.....	72
c. Chromatographie sur couche mince.....	73
d. Purification des génines.....	78
e. Identification des produits purifiés.....	82
. Méthode chromatographique.....	82
. Spectre dans l'ultra-violet du composé purifié..	83
2. Etude des hétérosides.....	84
a. Séparation	84
b. Chromatographie sur colonne.....	84
c. Chromatographie sur couche mince.....	84
d. Purification des hétérosides saponosidiques.....	88
e. Identification des produits purifiés.....	92
. Méthode chromatographique.....	92
. Spectre dans l'ultra-violet du composé purifié..	93
CHAPITRE III : CONCLUSION	95
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	97

DEDICACE

L'aboutissement de toute oeuvre humaine est le reflet d'une conjugaison saine d'efforts plus ou moins remarquables.

Celui de cette thèse n'échappe nullement à cette loi et est la consécration de toutes les compétences.

DEDICACE :

Je dédie ce travail

A LA MEMOIRE DE MON PERE SOUMAHORO LASSANA.

Au moment où je tourne une page importante de ma vie mes pensées vont à toi. Je t'ai à peine connu, mais la sobriété et la générosité dont tu as fait montrer durant la courte vie ici-bas ne cessent de me parvenir. Tu aurais aimé vivre cet instant mémorable qui voit l'aboutissement de tous tes sacrifices. Que ce modeste travail te prouve mon amour et te rende à jamais présent dans ma mémoire.

Dors en paix, heureux, à l'ombre du Dieu des récompenses.

A MA MERE SOUMAHORO HADJA MANON

Femme pieuse, timide, humble, généreuse tu représente pour moi l'exemple de la bonté, du respect de l'autre, de la femme modèle. Tu t'es dépouillée pour la réussite de tes enfants. Ce travail est le fruit de tes longues années de patience, d'effort et de sacrifices pour parfaire mon instruction et mon éducation.

Chère mère ce jour est la réalisation d'un de tes vœux,

Que Dieu te garde longtemps parmi nous et qu'il nous aide à te satisfaire davantage.

A MA SOEUR AÎNÉE : HADJA KOUMBA

Tu n'as ménagé aucun effort pour ma réussite. Tu es une femme déterminée à réussir à travers tes actes. Ton amour timide est accompagné le plus souvenir de tendresse inexplicables. ton souci de voir réussir tes frères ont toujours fait de toi une mère à mon endroit. Tu n'as cessé de m'encourager tout au long de mes études surtout aux

moments les plus pénibles. Puisse Dieu le Tout Puissant Miséricordieux exhausser tes vœux. Merci pour tous ceux que tu as fait pour moi, mon amour sincère.

A KARAMOKO LADJI

Père des orphelins du monde, Père des valeurs hautement morales, homme généreux, pieux, sobre ; homme dévoué pour les cause justes, acquis par tes qualités humaines la confiance et l'estime de ceux qui te connaissent et t'approchent. tu as su me conduire sur le chemin de la patience, à comprendre la portée de tes conseils ; que seul l'effort dans la persévérance est clé de tout succès dans toute entreprise humaine.

Tu as toujours gardé à l'esprit que mettre au monde un enfant est une bonne chose ; mais assurer son devenir pour faire de lui un homme est aussi un devoir.

Tes soutiens moral et financier m'ont permis de mener les études de pharmacie avec succès.

Puisse Dieu le Tout Puissant Miséricordieux exhausser tes vœux.

Je t'exprime mes vifs remerciements.

A MES FRERES AÎNES: ALHASSANE, ZOUMANA, ABOUBAKAR, SAHINDOU, ZOUM SAM, INZA, NAMORY, MAMADOU.

Frères aînés qui furent et demeurent pour moi un grand exemple dans le travail et le respect de la personne humaine. sans qualificatif à vous attribuer, je ne peux que me taire par pure sagesse intérieure. Restons unis et solidaires. Mon profond amour.

A ZOUMANA SOUMAHORO (CDCI)

Ta disponibilité et ton soutien n'ont jamais fait défaut.

Tu as su par tes conseil me donner confiance. Puisse ce travail te combler de joie. Soit rassuré de mon profond attachement et de ma gratitude.

A MES FRERES ET SOEURS : AÏCHA, YACOUB, HASSANE, IBRAHIM, CHEICK, LEILA, HABIB, MANON, FATOU, VAMORI, ALI, ADOU.

je ne sais pas comment vous dire merci pour votre soutien constant et inconditionnel. Ce travail est un modeste témoignage à tous les lourds sacrifices que vous avez consentis trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon grand amour. Restons unis et solidaires.

A MES ONCLES , TANTES, COUSINS ET COUSINES

A vous tous ma sincère affection, puisse nos liens familiaux se resserrer davantage.

A TOUTES MES BELLES SOEURS

Merci pour tout le service rendu de près ou de loin recevez ici mon attachement et mon amour total.

A TOUTE MA FAMILLE

Je pense particulièrement à tous ceux qui n'ont pas été cités, vous avez tous contribué de près ou de loin à ma réussite,

Veillez trouver ici l'expression de mon profond amour et de mon sincère attachement.

REMERCIEMENTS

A TOI AMADOU DIALLO DIT BABOYE

Mon ami de tous les jours, voici arrivé le grand jour. Ta disponibilité et ton soutien n'ont jamais fait défaut. Puisse ce travail te combler de joie et te rassurer ma profonde gratitude.

A TONTON ALOU DIAKO ET FAMILLE

Je ne sais pas comment vous dire merci. Vous avez été un acteur incontournable pour la réussite de cette oeuvre tant l'apport moral, matériel et surtout la chaleur familiale qui ont été un atout considérable pour notre réussite. Trouvez ici l'expression de mon attachement et de ma profonde gratitude.

Puisse Dieu le Tout Puissant exhausser vos vœux.

A TONTON MALAMINE TOUNKARA ET EPOUSE

Vous m'avez accueilli à Bamako comme un fils votre bonté et disponibilité n'ont jamais fait défaut merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Acceptez ce travail comme un modeste témoignage de ma profonde gratitude.

A LA FAMILLE SADA DIALLO

En témoignage de ma profonde gratitude pour toute l'attention et la générosité dont vous avez fait preuve à mon égard.

A MES GRAND COUSINS: MAMADOU TAMELA ; MOUSSA KARAMOKO

Trouvez ici l'expression de mon profond amour de mon attachement sans réserve.

A TOUS MES AMIS : BABA THIAM, CHERIF THIAM, MAMADOU CISSE, YAYA WANE, BABA SOUMARE, GAOUSSOU SOUMARE, MAITRE SOW, MAITRE TRAORE ETC...

Merci de votre soutien constant et inconditionnel ce travail est le fruit de vos multiples efforts ; toutes ma reconnaissance et mes sincères remerciements.

Comme le dit un vieil adage "l'amitié s'acquiert et se cultive"

AUX FAMILLES DAO BABALAYE ET BOCOUM

Veillez trouvez en ce modeste travail ma profonde gratitude et ma grande affection.

A FATOU THIAM, MME KANE DIALLO MAÏMOUNA SOUMARE, BABA SOUMARE

Pour Le travail fastidieux dans la saisie à l'ordinateur de cette thèse.

A TOUTE MA PROMOTION

Tous mes remerciements en souvenir des moments de joie et de peine passés ensemble sur le chemin des études de pharmacie.

A MES CONFRESSES : STEPHANIE AKPOUE, ISMAËL TOURE, AMARI NICKAISE

Votre attachement n'a jamais fait défaut. En ces derniers moments de mon stage j'ai le coeur lourd car j'appréhende déjà la séparation.

Je suis très reconnaissant pour votre soutien et vos encouragements. Merci pour tout.

AU PERSONNEL DU DEPARTEMENT MEDECINE TRADITIONNELLE ET PLUS PARTICULIEREMENT AU PROFESSEUR AROUNA KEÏTA, DOCTEUR ENE ARAMA, DOCTEUR DRISSA DIALLO, MESSIEURS FAGNAN SANOGO, KASSIM, CHEICK, AWA ETC...

Pour votre sympathie et votre soutien à la réalisation des travaux de laboratoire. Merci beaucoup.

AU DOCTEUR BENOIT KOUMARE AU LABORATOIRE NATIONAL DE LA SANTE

pour votre appui dans la réalisation des spectres ultra-violet.

AU PERSONNEL DE LA SOCIETE GENERALE DE SURVEILLANCE (SGS).

Pour votre sympathie et tout ce que vous avez entrepris pour rendre notre séjour au Mali agréable.

**AU GOUVERNEMENT, AU PEUPLE MALIEN ET AU CORPS
PROFESSORAL DE L'ENMP.**

Pour l'accueil qui m'a été réservé et pour m'avoir permis d'effectuer mes études avec succès au Mali.

A TOUS CEUX QUI N'ONT PAS ETE CITES DANS CE TRAVAIL

Je veux qu'ils sachent qu'ils ne sont pas oubliés qu'ils soient tous remerciés.

A NOTRE JURY

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le Docteur Elimane MARIKO

Maître de conférence de pharmacologie

Chargé de cours de pharmacologie à l'ENMP,

Lieutenant Colonel des Forces Armées du Mali

Pharmacien chef des armées

Chef de la Division Organisation Logistique à la Direction des Services de Santé des Armées (DSSA)

Nous vous remercions pour le grand honneur que vous nous faites ici en acceptant de siéger à ce jury ; cela confirme bien votre grand intérêt pour les problèmes de santé de nos populations.

Nous apprécions hautement votre qualité d'homme de science et votre manière que vous avez toujours dispensé avec abnégation et efficacité.

Veillez trouver ici Monsieur le Docteur l'expression de notre sincère admiration et notre profond respect.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Monsieur le Professeur Arouna KEÏTA

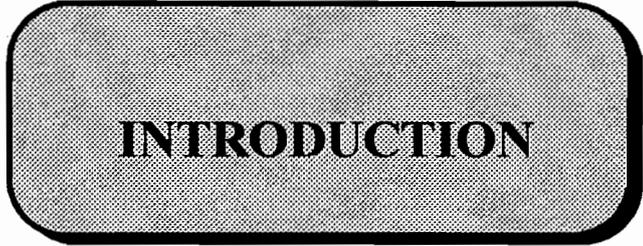
Professeur agrégé de matière médicale

Chef de Service du département Médecine traditionnelle à L'INRSP

Professeur de matière médicale à l'ENMP

Vous nous avez accueilli dans votre laboratoire et nous avons beaucoup admiré vos qualités scientifiques et pédagogiques tout au long de ce travail. Vous nous avez prodigué des conseils judicieux au bon moment et contribué activement à l'amélioration de la qualité technique de ce travail. Votre simplicité, votre humilité, votre disponibilité et surtout votre souci constant pour notre formation, forcent notre admiration et font de vous un maître de référence ; toutes ces qualités ne suffisent pas à peindre votre auguste personnalité et à symboliser la bonté dont nous avons bénéficié auprès de vous.

Permettez nous de vous exprimer toute notre gratitude et notre reconnaissance.



INTRODUCTION

Au Mali, la pratique de la médecine traditionnelle est largement répandue. Elle a un rôle prépondérant du fait d'un contexte économique caractérisé par l'insuffisance d'infrastructures sanitaires et le coût élevé des médicaments. Près de 80 % de la population a recourt à la médecine traditionnelle qui contribue ainsi à résoudre, aux côtés de la médecine moderne, les problèmes quotidiens de santé publique, malgré les méthodes de traitement encore empiriques.

Le Département Médecine traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé Publique soutient les thérapeutes traditionnels par l'étude des plantes médicinales et la mise à la disposition des patients des médicaments traditionnels améliorés, c'est-à-dire des médicaments à posologie déterminée et à toxicité établie.

Notre travail que nous espérons être une contribution à ce programme consiste à réaliser l'étude phytochimique d'une Asteraceae largement répandue au MALI et en Afrique de l'Ouest, Vernonia Kotschyana Sch. Bip. dont les racines sont utilisées par les thérapeutes traditionnels pour le traitement des maux de ventre. Son efficacité est démontrée dans le traitement des ulcères gastroduodénaux (16) (39).

Peu connue sur le plan scientifique, elle a fait l'objet d'un ensemble de travaux de recherche dans le laboratoire du Département de la Médecine Traditionnelle.

Ainsi, dans la perspective de la mise au point d'un médicament traditionnel à base de cette plante, il nous est apparu nécessaire d'approfondir les recherches sur sa composition chimique notamment la mise en évidence des composés pharmacologiquement actifs que sont les saponosides.

Dans la Première partie de notre travail nous avons fait une large présentation des travaux antérieurs sur les données botaniques de la plante ainsi que celles portant sur la chimie, la pharmacologie et les utilisations en médecine traditionnelle.

La Deuxième partie est consacrée à nos travaux personnels. Nous avons d'abord cherché à mettre au point une bonne méthode d'extraction des saponosides. Nous avons ensuite procédé à une hydrolyse acide pour pouvoir étudier concomitamment les structures des hétérosides et des génines.

**PREMIERE PARTIE
TRAVAUX ANTERIEURS**

CHAPITRE I- DONNEES BOTANIKUES

I. **POSITION DANS LA SYSTEMATIQUE DE VERNONIA KOTSCHYANA SCH. BIP**

Tableau I : La systématique [14]

REGNE	VEGETAL
EMBRANCHEMENT	SPERMAPHYTES
SOUS-EMBRANCHEMENT	ANGIOSPERMES
CLASSE	DICOTYLEDONES
SOUS CLASSE	GAMOPETALES INFEROVARIIEES
ORDRE	ASTERALES
FAMILLE	ASTERACEAE
GENRE	VERNONIA
ESPECE	KOTSCHYANA

II. **DESCRIPTION BOTANIQUE DE VERNONIA KOTSCHYANA SCH.BIP. [5]**

Vernonia kotschyana Sch. Bip. in Walp. Rep. 2: 947(1843); FTA. 3: 380; Chev. Bot. 355; Berhaut Fl, Sén. 176.

Vernonia Kotschyana Sch. Bip. est une plante de souche vivace, herbacée, annuelle, dressée, haute de 1 à 1,5 m.

1. Feuilles

Les feuilles sont alternes; le limbe elliptique est long de 10 à 15 cm ou davantage et large de 25-50 mm. La base est en coin allongé descendant presque au niveau d'insertion du pétiole ; le sommet est en coin aigu. Il y a une dizaine de nervures latérales penninerves, obovales, crénelées, dentées.

Leur sommet est obtus et la base décurrente. Elles ont une disposition tristique sur la tige, une pubescence rase des deux côtés, plus visibles dessous ; le pétiole est court, peu net (feuilles subsessibles).

2. Fleurs

Elles sont en capitules terminaux, larges de 3 cm environ, dont l'extérieur est formé de bractées frisées, blanchâtres sur les bords : bractées lancéolées qui sont longues de 10 à 15 cm et larges de 3 à 4 cm . Le sommet des fleurs est vésiculé fusiforme large de 2 mm ; du sommet sort le stylet à 2 stigmates opposés.

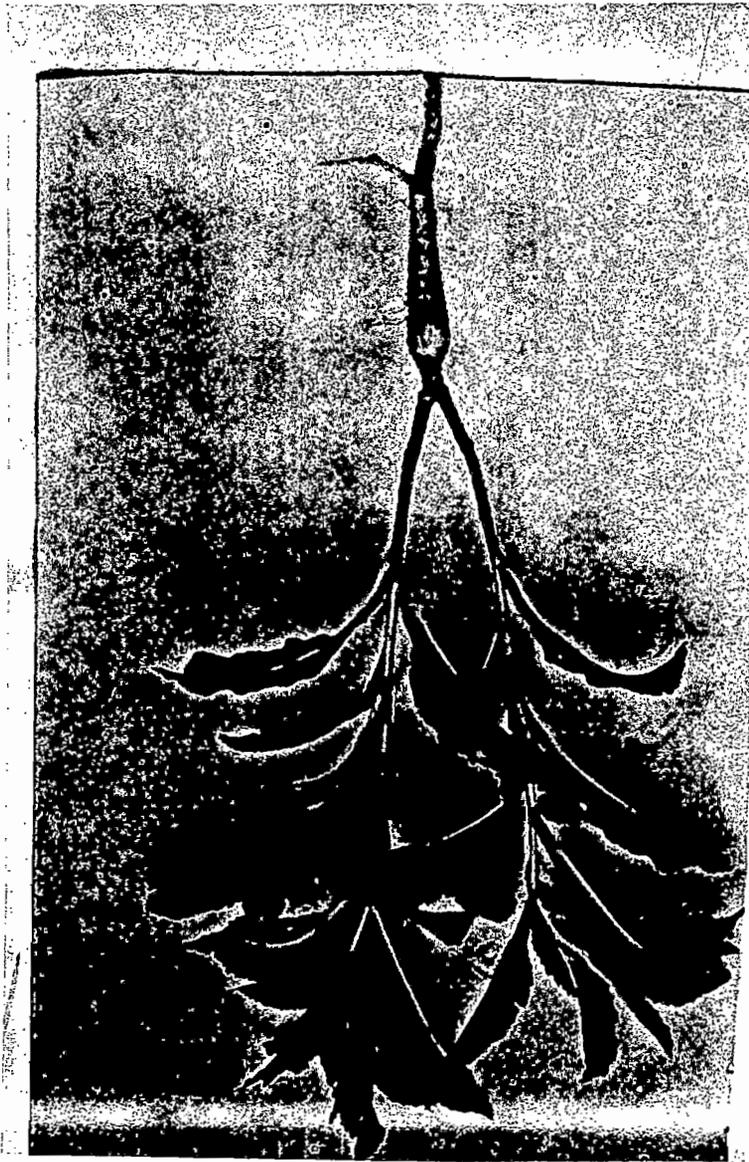
3. Akènes

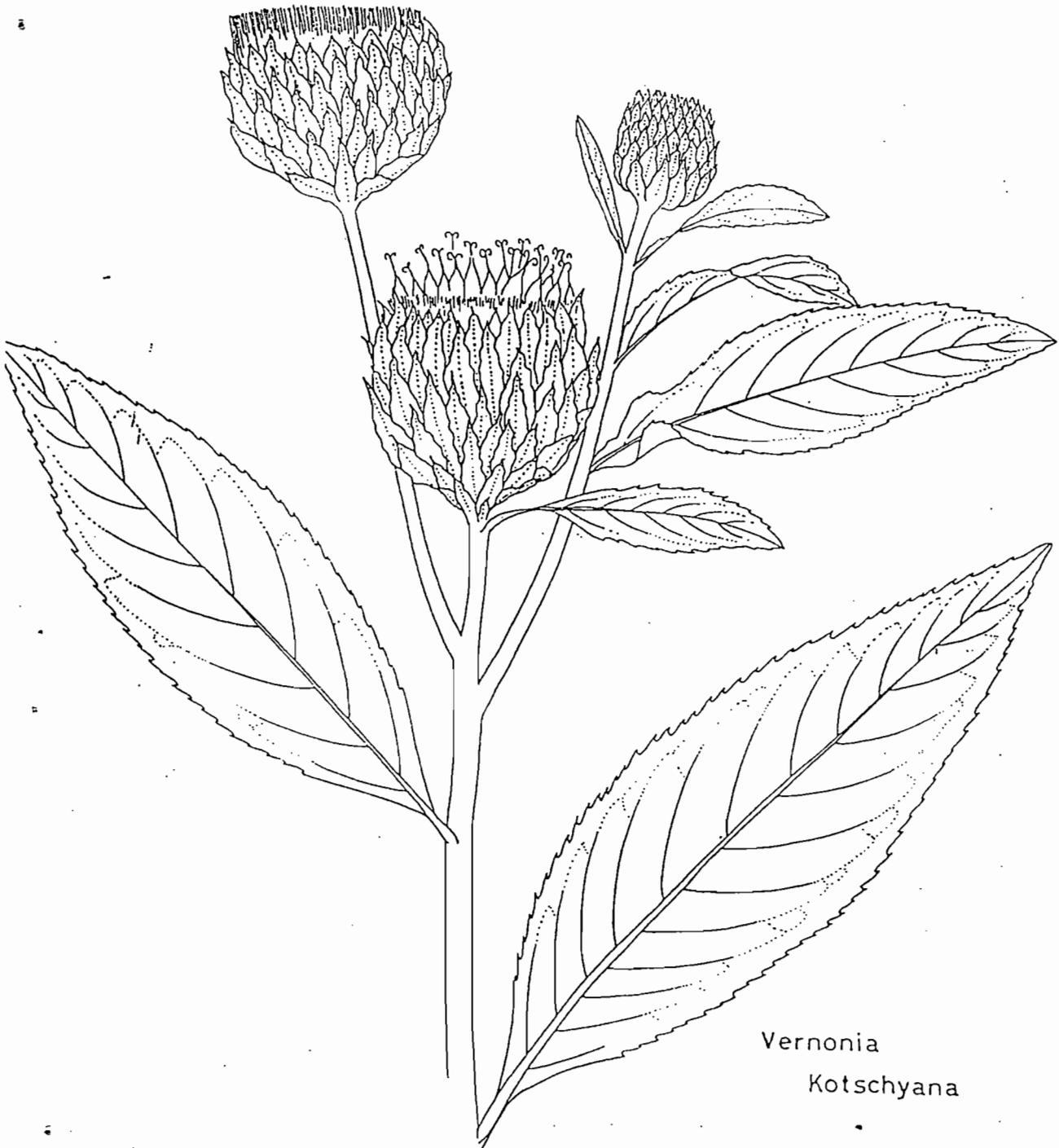
Les Akènes sont linéaires et longs de 3 mm, finement pubescents et surmontés d'une aigrette de soies blanches longues de 10 mm.

III. NOM VERNACULAIRE

En bambara il est appelé « bouayé »

Vernonia kotschyana Sch. Bip. Asteraceae





Vernonia
Kotschyana

Feuilles et inflorescences de Vernonia kotschyana (5)

IV. Habitat

Vernonia Kotschyana Sch. Bip. est une plante tropophyte rencontrée sur de vastes étendues de vieilles friches en Afrique tropicale et subtropicale. C'est une espèce particulièrement abondante sur les sols sablonneux , au Mali on le trouve à Massantola et Missira (Kolokani).

Le Département Médecine Traditionnelle a un champ expérimental dans la zone industrielle de Sotuba. C'est là que nos récoltes ont été effectuées [5].

V. Drogue

Elle est constituée par la racine de Vernonia kotschyana Sch. Bip.

1. Caractères macroscopiques

la Drogue est constituée de petits morceaux arrondis de 5mm de hauteur et de 2 à 5cm de diamètre. L'écorce externe, jaune sale est striée verticalement. La surface interne de la coupe transversale jaune clair, présente des striations radiales.[12]

2. Caractères organoleptiques

La poudre de racines épluchées de Vernonia kotschyana Sch-Bip est de couleur blanc- cendre ; elle est brun- noirâtre quand les racines ne sont pas épluchées. Elle a une odeur faible, une saveur astringente d'abord très amère puis sucrée. Elle est mucilagineuse à la mastication.[12]

3. Caractères microscopiques

3-1. la racine

colorant utilisé : Carmino-vert aluné de mirande [9]

Observations microscopiques

Examiné au microscope, la section transversale de la racine présente une fine couche de suber et des cellules parenchymateuses polygonales

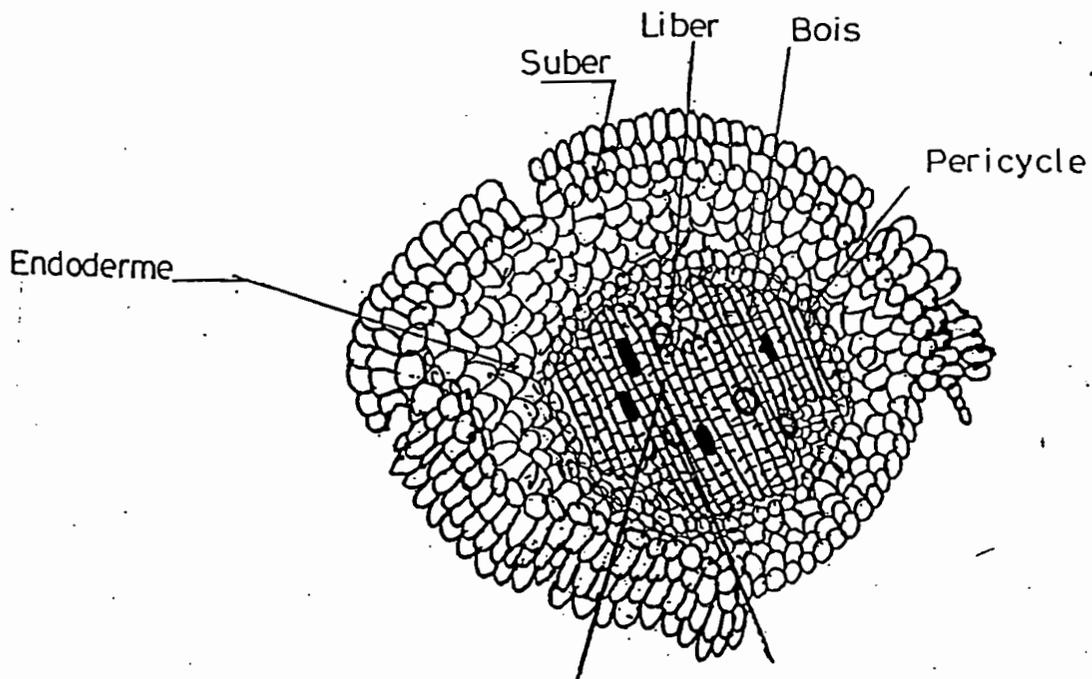


Figure 1 : Coupe transversale de la racine [11]



Figure 2 : Coupe transversale de la racine de Vernonia. Cellules polygonales [27]



Figure 3 : Coupe transversale de la racine de Vernonia. Vaisseaux annelés [27]

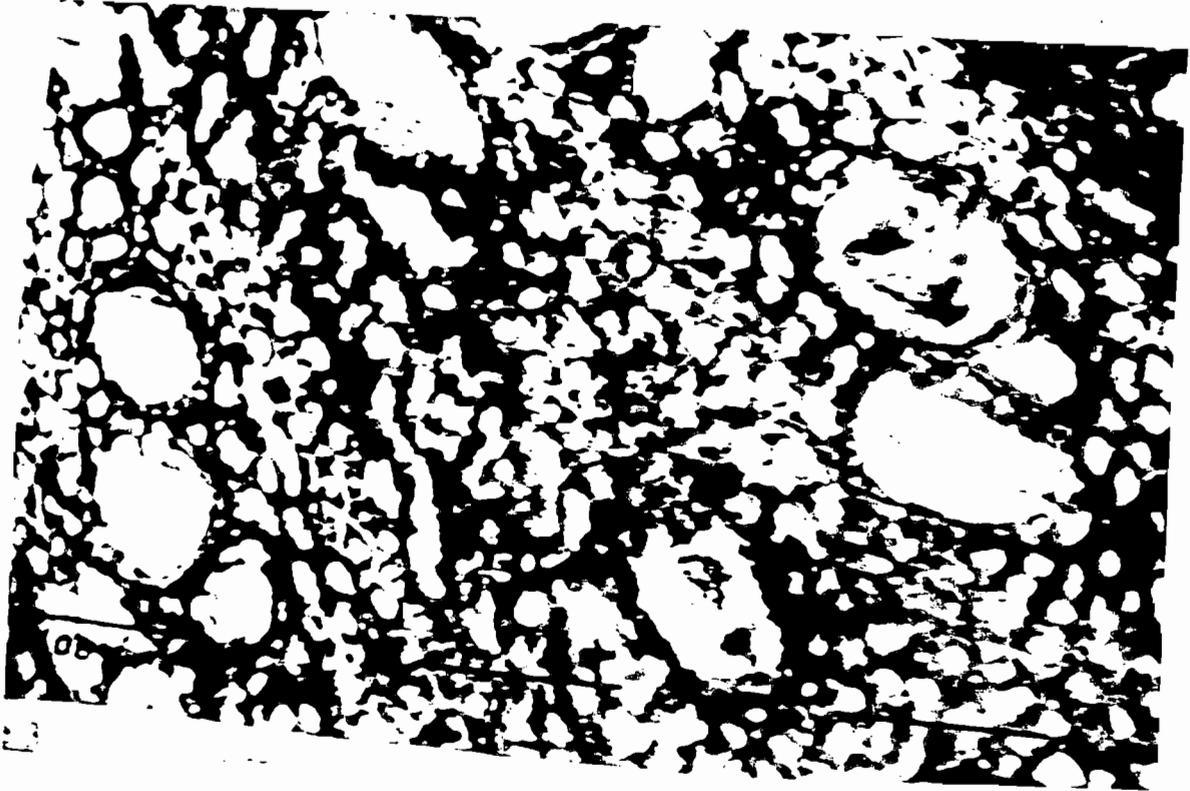


Figure 4 : Coupe transversale de la racine de Vernonia. Cristaux d'oxalate de calcium prismatiques [27]



Figure 5 : Coupe transversale de racine de Vernonia. Cellules polygonales allongées.



Figure 6 : Coupe transversale de racine Vernonia . Cellules rectangulaires à parois épaisse.

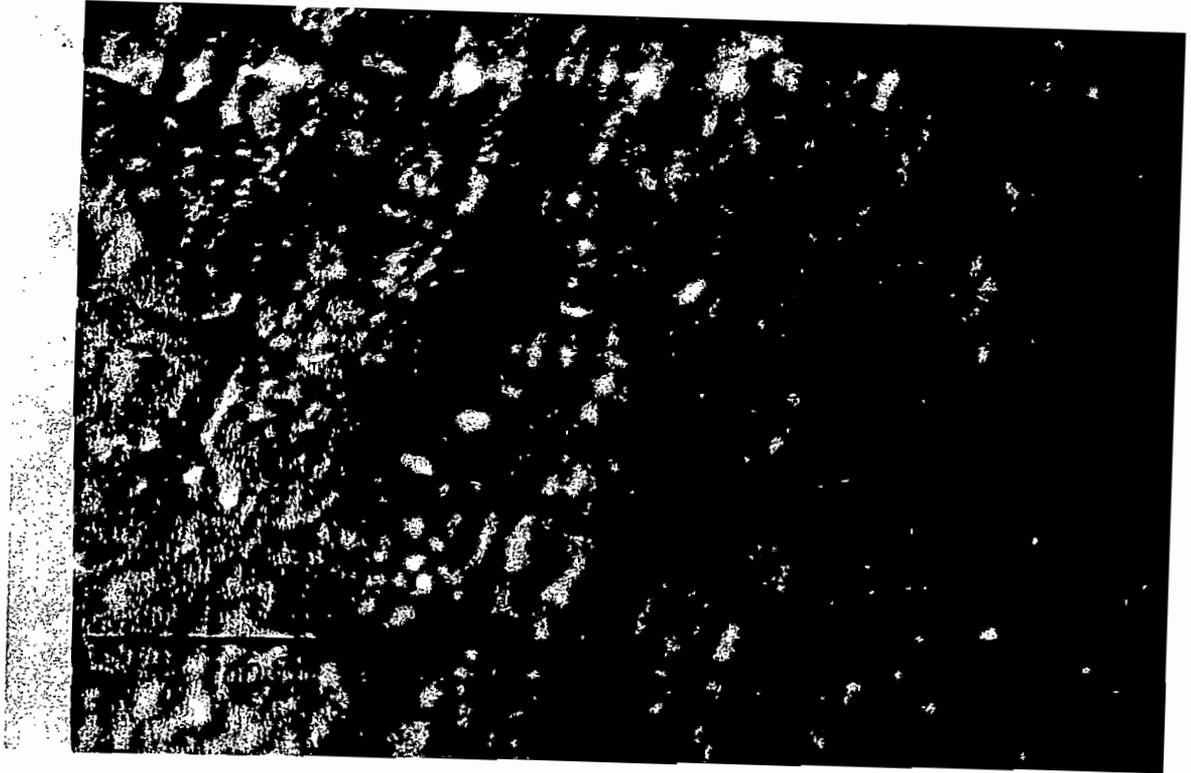


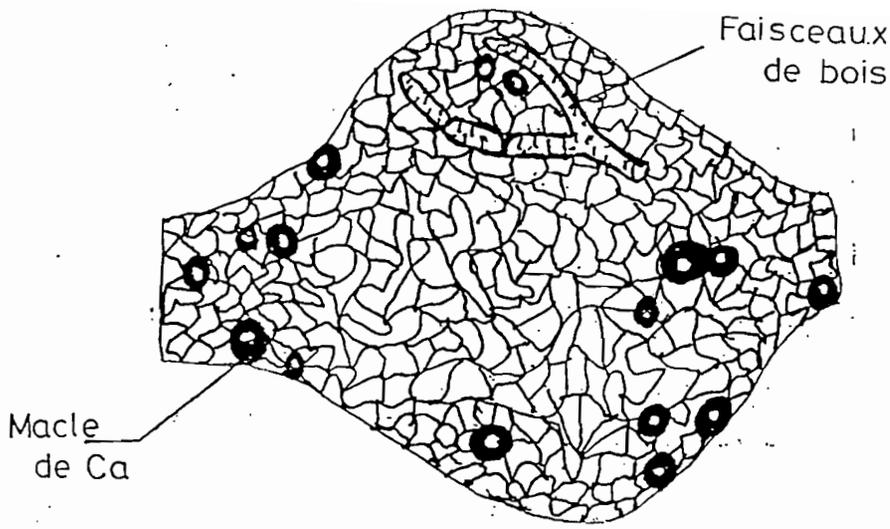
Figure 7 : Coupe transversale de racine de Vernonia. Cellules rectangulaires à parois fine.

3-2. la poudre de racine

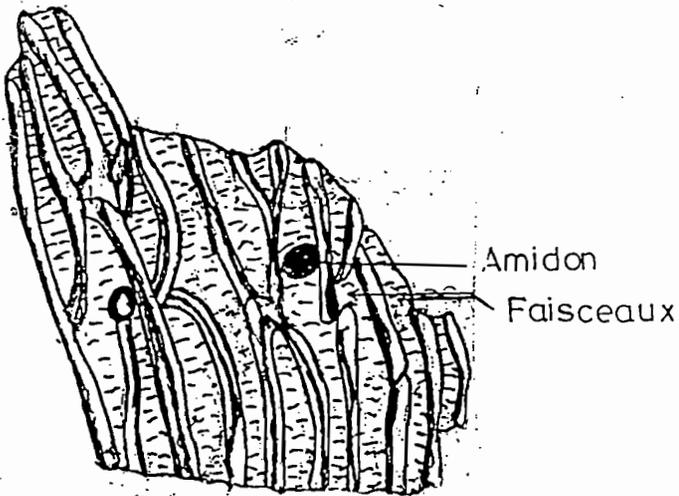
Colorant utilisé : Réactif de Gazet du chatelier [9]

Observations microscopiques

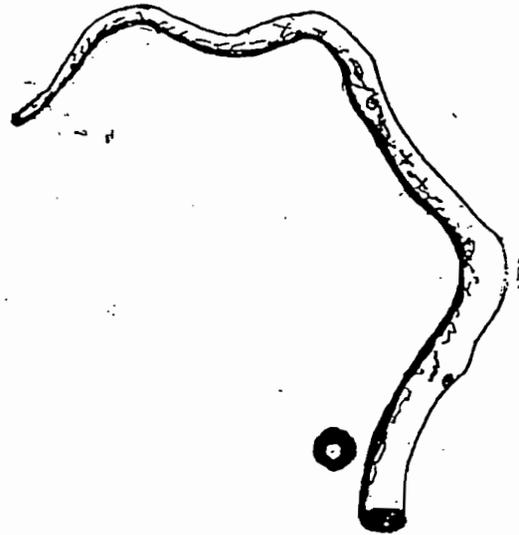
Dans la poudre de racine, on note la présence de cellules parenchymateuses polygonales allongées, des vaisseaux du bois, des poils tecteurs.



Fragments parenchymateux du liber



Les faisceaux de bois



Poils tecteurs

Figure 8 : Eléments de la poudre de racine de Vernonia

CHAPITRE II - CHIMIE

CHIMIE

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature des données sur l'espèce *Kotschyana*.

Aussi, nous donnons dans les tableaux suivants la chimie de quelques autres espèces du genre *Vernonia* (tableau II et III). (12)

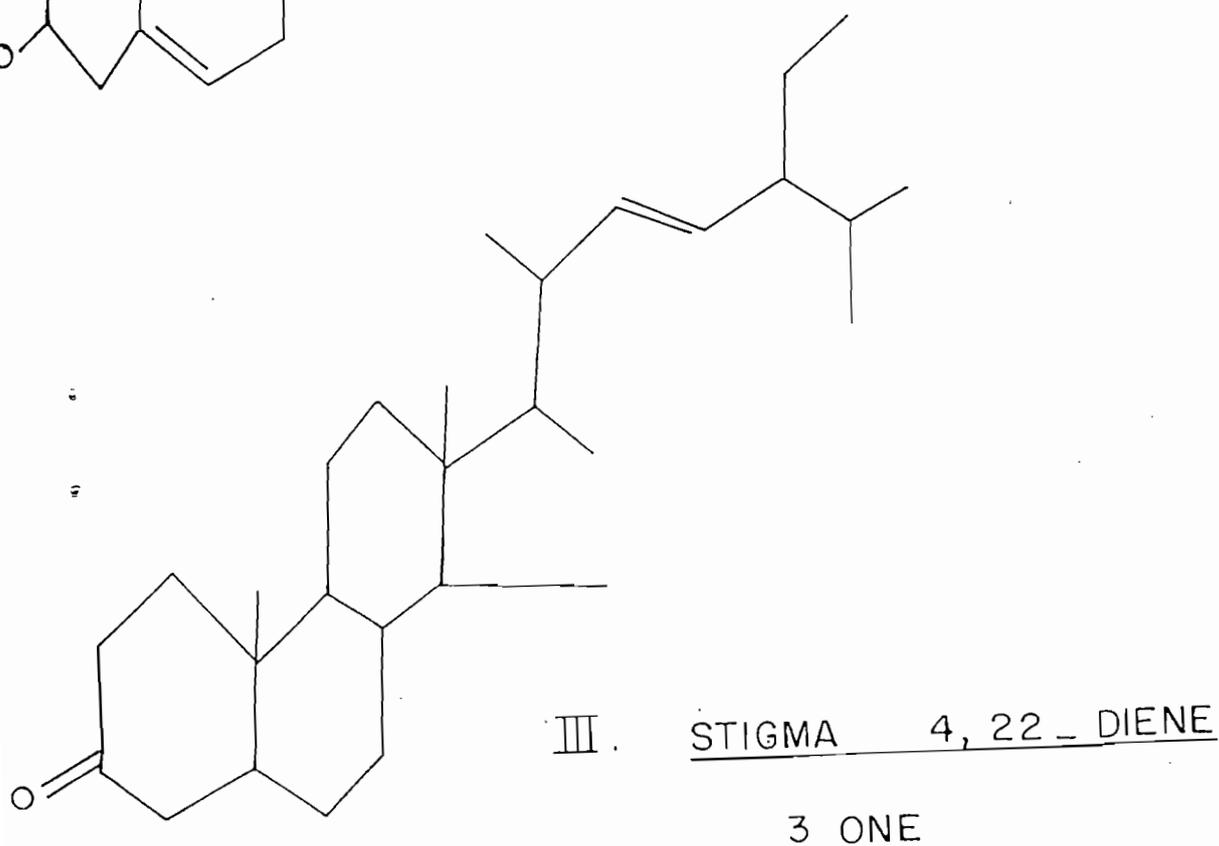
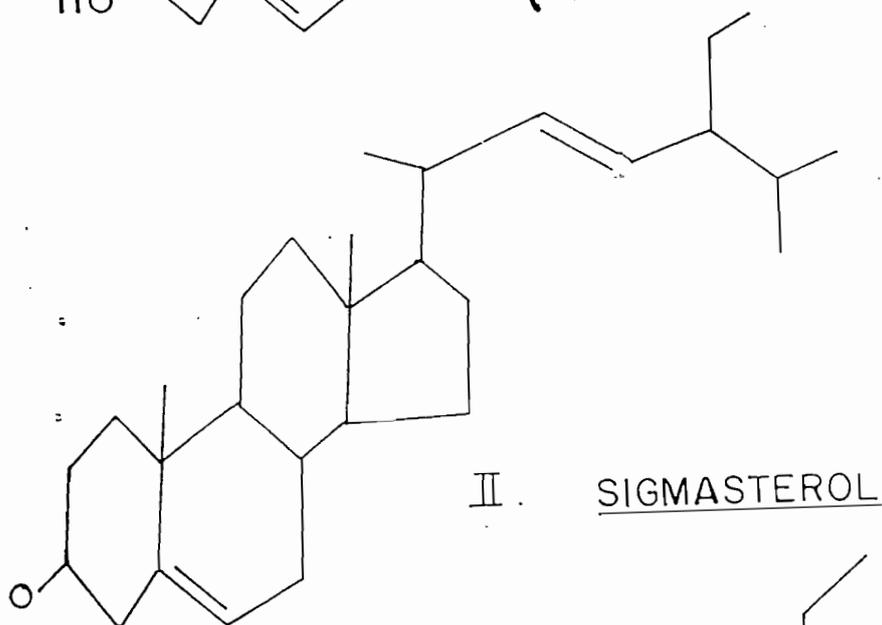
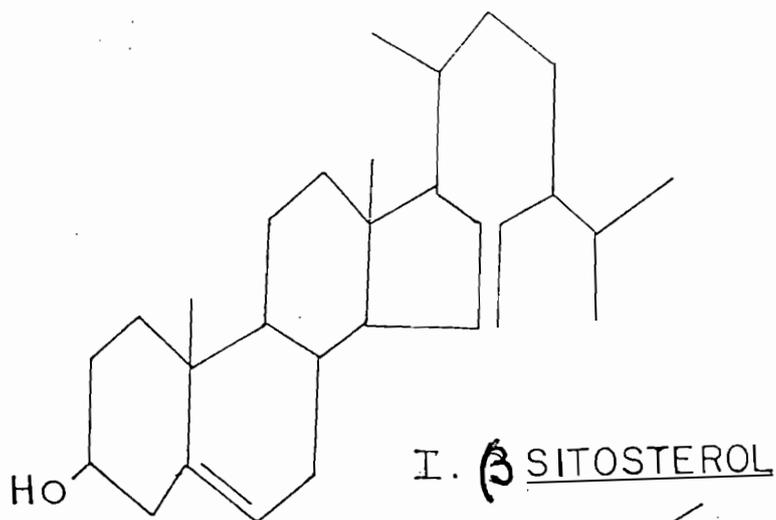
TABLEAU II Composés identifiés chez des espèces du genre *Vernonia*.

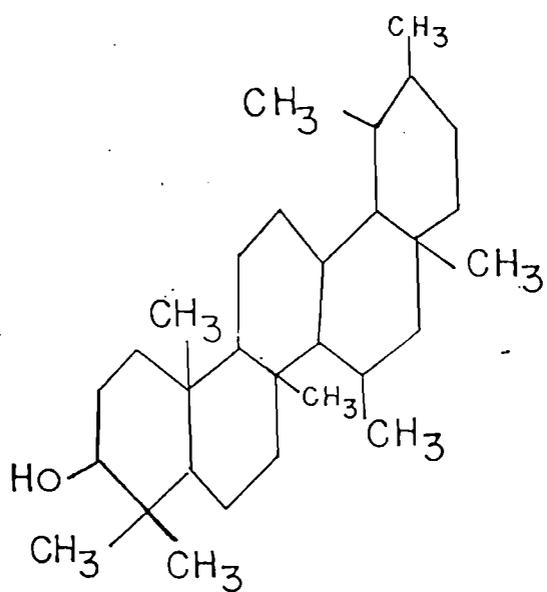
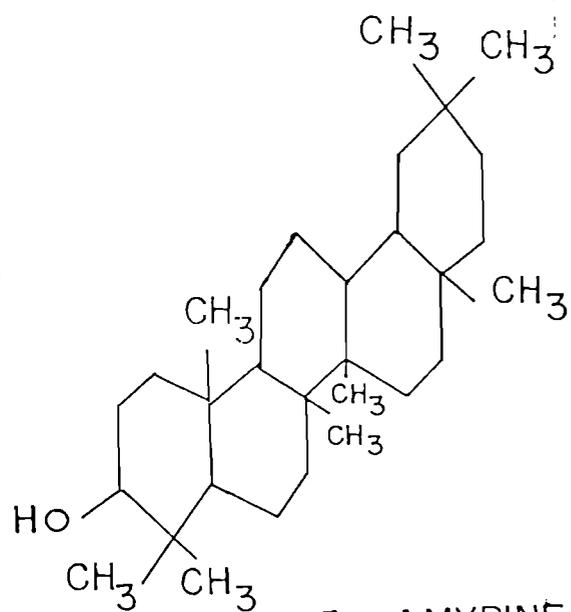
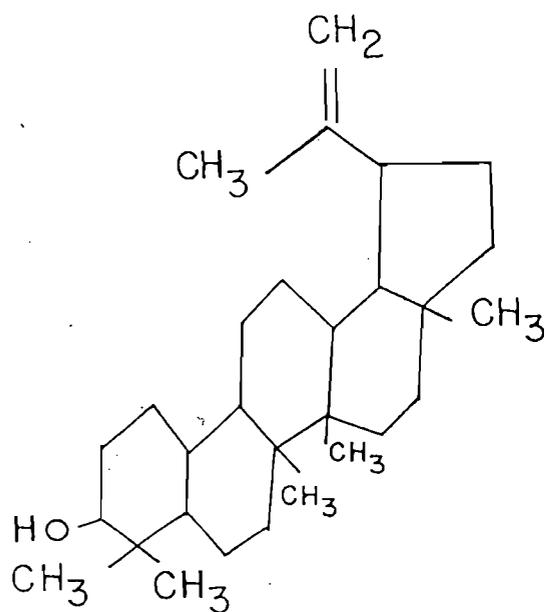
Espèces du genre <i>Vernonia</i>	Composés Isolés	Parties de la plante	Références
<i>Vernonia amygdalina</i>	Vernodaline Vernomygdin Vernolide	Feuilles	[21] ;[4]
	Vernonine	Racines	[8]
<i>Vernonia cinera</i>	Acétate de B amyryne lupéol sitostérol stigmasterol Aspinasterol	Feuilles Racines Inflorescences	[12]
<i>Vernonia cognata</i> L.	Hirsutolide	Feuilles	[29]
<i>Vernonia colorata</i>	Vernolide Hydroxy -Vernolide	Feuilles	[32]
	Vernonine	Ecorces	[12]
<i>Vernonia conferta</i> (L) wild	Confertolide	Racines et feuilles	[4]
<i>Vernonia elaeagnifoha</i>	Sitostérol Stigmasterol	Feuilles et racines	[26]
	Kaempferol	Fleurs	[26]
<i>Vernonia glauca</i> (L) wild	Glaucolide	Feuilles	[4]
<i>Vernonia guineensis</i>	Vernolepine Vernodaline	Feuilles	[33]
<i>Vernonia hymenolepis</i>	Vernolepine	Feuilles	[18]
<i>Vernonia nigrifolia</i>	Vernonine	Racines	[12]
<i>Vernonia mollissima</i>	Sesqui-terpéniques	Feuilles	[21]
<i>Vernonia squamulosa</i>	Sesqui-terpéniques	Feuilles	[21]
<i>Vernonia westiniana</i>	N-alkanes de C ₂₂ à C ₃₃	Feuilles	[26]

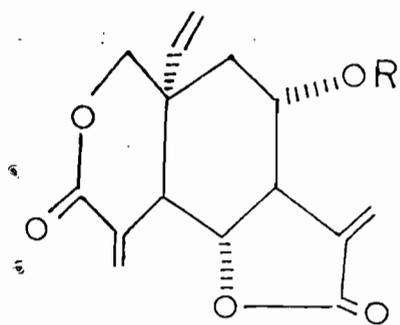
TABLEAU III Composition des huiles extraites de graines d'espèces du genre *Vernonia* [17].

Espèces	Huile %	Insaponifiables dans l'huile %	Composition des glycérides ou acides gras (%)				
			C14	C16	C18	Acide oléique	Acide linoléique
<i>Vernonia cinera</i>	3,8	73	8	23	8	4	22
<i>Vernonia colorata</i>	3,1	45	9	11	6	12	15
<i>Vernonia nigritiana</i>	7,6	18	2	18	8	19	43

**STRUCTURES CHIMIQUES DE QUELQUES
COMPOSES ISOLÉS CHEZ LE GENRE VERNONIA**

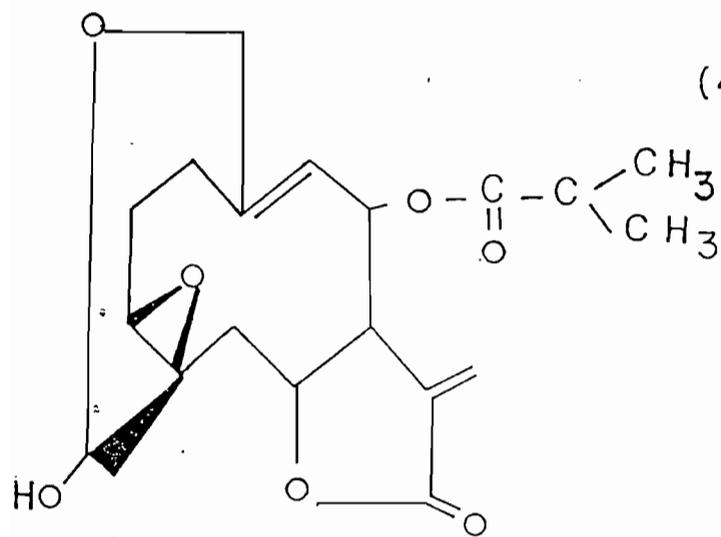
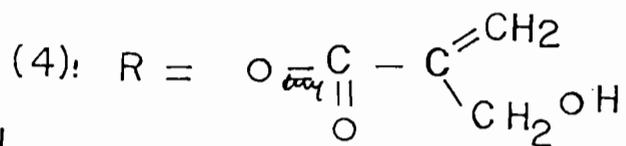
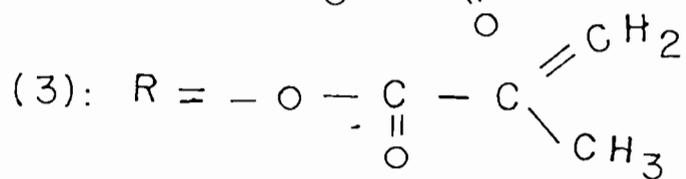
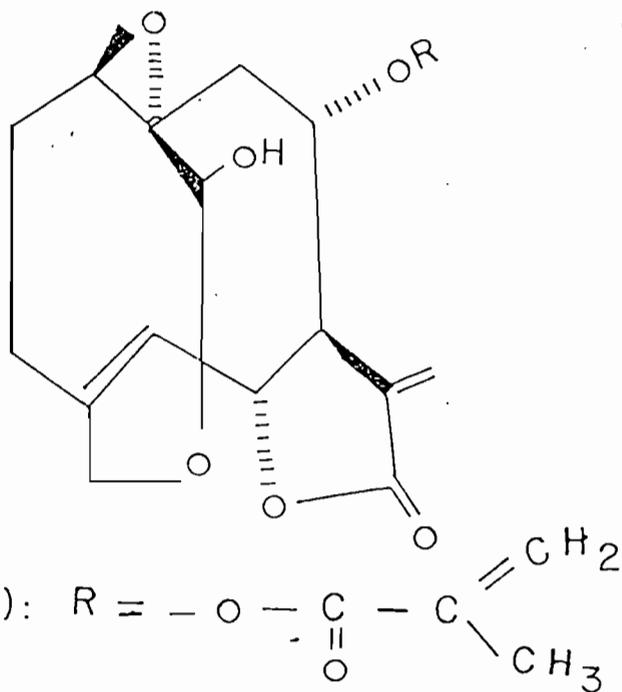


 α . AMYRINE β . AMYRINELUPEOL

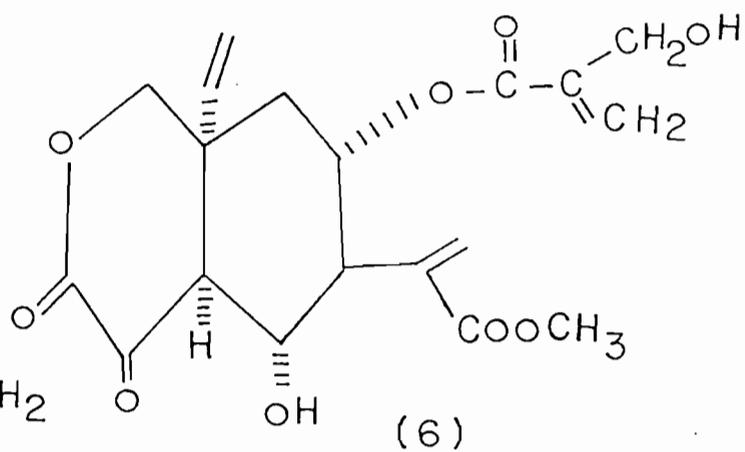


- 1) $R = H$
 2) $R = -C(=O)-C(=CH_2)CH_2OH$

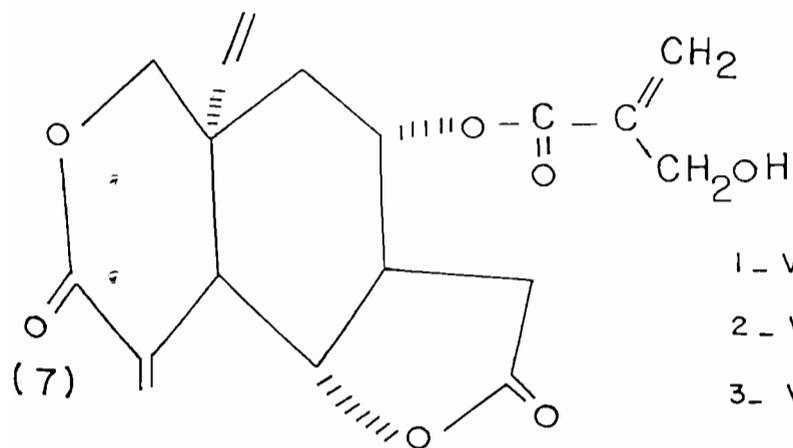
23



(5)



(6)



(7)

1 - Vernolepin

2 - Vernodolin

3 - Vernolide

4 - Hydroxyvernolide

5 - Vernomygdin

6 - Venodanone

7-11, 13 Dihydrovernodalin

CHAPITRE III-PHARMACOLOGIE

PHARMACOLOGIE DE VERNONIA KOTSCHYANA Sch-Bip

L'extrait aqueux de poudre de racines de Vernonia, administré per-os chez le rat entraîne une diminution du volume des sécrétions mais une légère augmentation de l'acidité [27]

TABLEAU N°IV : Effet de l'extrait aqueux de Vernonia kotschyana sur la sécrétion gastrique chez les rats soumis à l'attachement du pylore

Traitement	Dose g/kg	Rats	Volume (ml)	pH	Hcl mg/ml
Témoin		7	3,50 ± 1,99	2,61 ± 1,42	2,80 ± 1,3
Vernonia	0,5	7	3,03 ± 2,18	2,16 ± 1,17	3,05 ± 1,3
Vernonia	1,0	7	2,60 ± 0,81	1,64 ± 0,52	3,03 ± 0,9

L'extrait aqueux de poudre de racine de Vernonia, ne semble pas avoir de pouvoir tampon [27].

TABLEAU N° V : Verification du pouvoir tampon de l'extrait aqueux de Vernonia kotschyana

Extrait de Vernonia mg/ml	pH
1 ml Vernonia (345mg/ml)	6,17
1 ml Vernonia (345 mg/ml) + 1 ml NaOH 0,1 N	8,36
1 ml Vernonia (345mg/ml) + 2 ml NaOH 0,1 N	9,53
1 ml Vernonia (345mg/ml) + 1 ml Hcl 0,1 N	4,00
1 ml Vernonia (345mg/ml) + 2 ml Hcl 0,1 N	2,98

L' extrait aqueux de poudre de racines de Vernonia, administré per-os chez le rat a un pouvoir preventif sur les ulcères gastro-duodénaux [27].

TABLEAU N°VI : Effet préventif de l'extrait aqueux de Vernonia kotschyana en administration 1 heure avant l'éthanol.

Traitement	Dose g/kg	Agent ulcérant	Rats	Indice d'ulcère M ± SD	Réduction %
Témoin		C ₂ H ₅ OH	6	6 ± 0	—
Vernonia	0,5	C ₂ H ₅ OH	6	5,25 ± 1,50	12
Vernonia	1,0	C ₂ H ₅ OH	6	2,50 ± 0,38	58

L'extrait aqueux de poudre de racine de Vernonia, administré per-os aux rats a un pouvoir curatif sur les ulcères gastro-duodénaux [27].

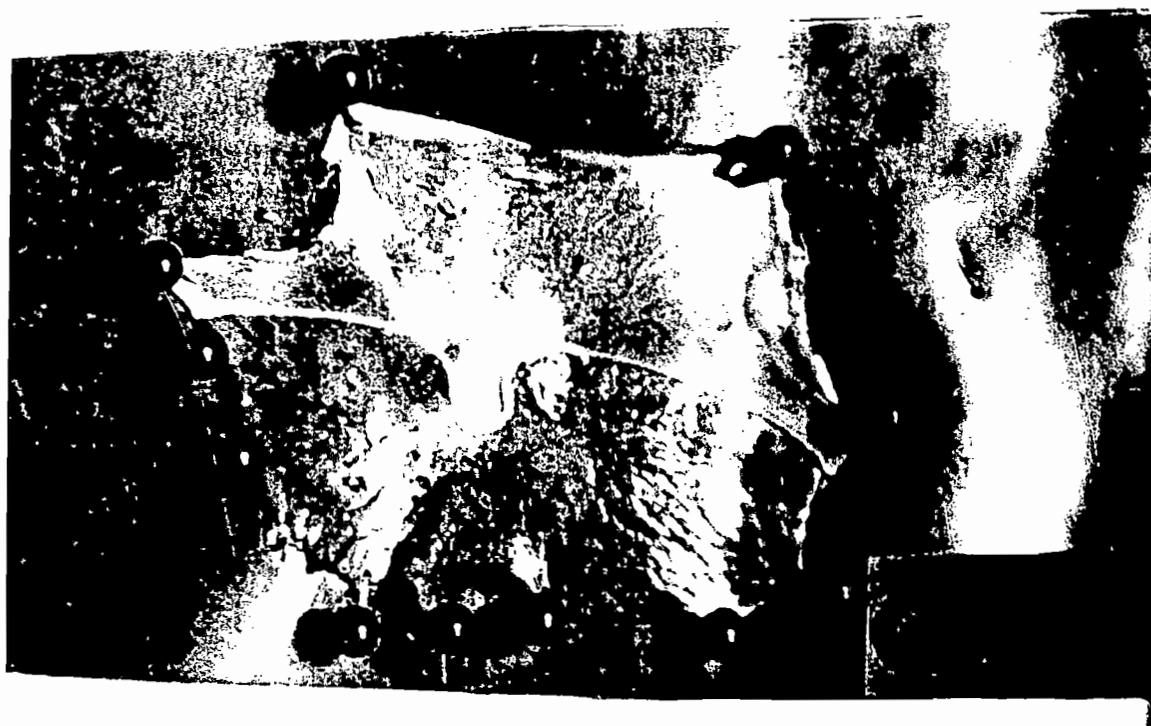
TABLEAU N° VII : Effet curatif de l'extrait aqueux administré 15 mn après l'éthanol.

Agent ulcérigène	Traitement	Dose g/Kg	Rats	Indice d'ulcère M ± SD	Réduction (%)
C ₂ H ₅ OH	Témoin		6	6 ± 0	—
C ₂ H ₅ OH	Vernonia	0,5	6	4,25 ± 1,05	29
C ₂ H ₅ OH	Vernonia	1.0	9	2,60 ± 0,85	57

Les photos qui suivent traduisent mieux l'activité anti-ulcéreuse dose dépendante des extraits aqueux de poudre de racines de Vernonia kotschyana sch bip.



L'estomac du rat témoin montre des lésions larges et une hyperémie causée par l'éthanol à 90 %.



L'estomac du rat traité avec l'extrait aqueux du « GASTROSEDAL » (dose correspondant à 0,5g/kg de drogue sèche), administré après l'éthanol (effet curatif), montre une réduction du nombre et de la gravité des ulcères.



L'estomac du rat traité avec l'extrait aqueux du « GASTROSEDAL » (dose correspondant à 1g/kg de drogue sèche, administré après l'éthanol (effet curatif), montre seulement de petites lésions.

CONCLUSION : Cette étude expérimentale montre que l'extrait aqueux de poudre de racines de *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. (ASTERACEAE) protège la muqueuse gastrique des rats de l'ulcération induite par l'éthanol sans changer ni le volume, ni le P^H , ni l'acidité des sécretions.

CHAPITRE VI- UTILISATIONS EN MEDECINE TRADITIONNELLE

UTILISATIONS EN MEDECINE TRADITIONNELLE

Ulcères gastriques :

Les populations utilisent la poudre de racine de Vernonia kotschyana pour soulager les maux de ventre. La préparation est alors sous une forme de conservation appropriée: les bâtonnets. La poudre de racine est mouillée avec une petite quantité d'eau pour obtenir une pâte consistante, qui est mise en bâtonnets de la taille d'un pouce. Ces bâtonnets sont ensuite séchés.

A chaque crise, le malade casse un petit morceau qu'il croque.

Il n'ya pas de posologie fixe et précise, mais le produit est très efficace, même à petite dose.

Le DMT a défini la posologie de la poudre comme suite :
une cuillerée à café, trois fois par jours, pendant 45 jours.

Autres utilisations :

Vernonia kotschyana Sch. Bip. connaît de nombreuses utilisations thérapeutiques.

Au Kenya, les Massai utilisent le macéré des feuilles écrasées dans l'eau froide en application sur la peau dans les dermatoses causées par les tiques [8]

Au Nigeria, les racines servent à préparer des apéritifs et des toniques digestifs.

Au Sud du Nigeria, elles sont directement mâchées [8]. Les racines fraîches, coupées en tranche et cuites avec du lait et de la farine sont également utilisées pour soigner la gonococcie. Le macéré de ces racines fraîches coupées trempées dans l'eau pendant une durée courte sert à laver les enfants ayant des tâches blanches sur la peau.

Au Mali la poudre de racines coupées et séchées est utilisée dans le traitement des ulcères gastro-duodénaux et des gastrites. Les feuilles sont utilisées par les peulh pour le bétail comme galactogène.

DEUXIEME PARTIE
TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE I : MATERIEL D'ETUDE

MATERIEL D'ETUDE

Les racines de Vernonia kotschyana sur les quelles nous avons travaillé, ont été récoltées à SOTUBA dans le champs expérimental du Département Medecine Traditionnelle. (INRSP). La récolte a été effectuée pendant les mois d'octobre et de janvier.

Après lavage à l'eau pour éliminer les éléments terreux et brossage avec brosse en fer émaillé pour enlever les radicelles et la couche supérieure épidermique, les racines sont exposées sur claies et sous ventilation, à l'ombre à la température ambiante. Les racines sont par la suite pulvérisées par un broyeur tamiseur ERWEKA de type forplex. Les mailles des grilles ont un diamètre de 1 mm.

CHAPITRE II : ETUDES PHYTOCHIMIQUES

Calculez le contenu en grammes de cendres non solubles dans l'acide chlorhydrique pour 100g de substance desséchée à l'air.

3 Cendres sulfuriques

3.1 Principe

Les cendres sulfuriques sont la substance résiduelle non volatilisée recueillie lorsque l'échantillon est brûlé avec de l'acide sulfurique concentré.

La détermination des cendres sulfuriques est une méthode destinée à déterminer la quantité de substances inorganiques.

3.2 Mode opératoire

Déposez 1 à 3g de poudre de racines bien pesée dans un creuset dont la tare a été faite et ajoutez 2 ml d'acide sulfurique.

Chauffez dans un premier temps sur une plaque chauffante jusqu'à ce que l'échantillon soit carbonisé et incinérez soigneusement, environ 800°C, jusqu'à disparition de toutes les particules noires. Laissez refroidir et ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique pour humecter le résidu ; porter sur une plaque chauffante et incinérez comme auparavant. Ajoutez une petite quantité de carbonate d'ammonium et incinérez à poids constant.

Calculez le contenu, en grammes, de cendres sulfuriques par 100g de substance desséchée à l'air.

III - INDICE DE GONFLEMENT [25]

1 - Principe

L'indice de gonflement est le volume, en ml, occupé par le gonflement de 1g de drogue dans l'eau ou autre liquide spécifié.

2 - Mode opératoire

Dans une éprouvette graduée de 25ml, à bouchon rodé, dont la graduation divisée en 0,2 ml occupe une hauteur de 125 ml environ et 16mm environ de diamètre intérieur, introduisez 1g de poudre de racines. Humectez la poudre avec 1ml d'éthanol absolu et ajoutez 25ml d'eau. Bouchez l'éprouvette et agitez énergiquement toutes les 10 minutes pendant 1 heure. Laissez reposer pendant 6 heures à la température ambiante. Mesurez le volume en millilitres occupé par la solution. Effectuez trois essais simultanément.

CHAPITRE II : ETUDES PHYTOCHIMIQUES

CARACTERES PHYSICO-CHIMIQUES

A CARACTERES PHYSICO-CHIMIQUES

Les paramètres évalués sur la drogue sont : l'eau, les cendres, le P^H , l'indice de gonflement, l'indice de mousse.

I. DETERMINATION DE LA TENEUR EN EAU DE LA POUDRE DE RACINES [25]

Deux méthodes ont été utilisées pour déterminer la quantité d'eau contenue dans les drogues végétales ; ce sont : la méthode gravimétrique et la méthode azéotropique

1 La méthode gravimétrique

Elle consiste en la détermination de la perte de poids de la drogue par dessiccation à l'étuve à $100^\circ \pm 3^\circ\text{C}$

1-1 Principe

Il consiste à chauffer une prise d'essai de la poudre de drogue de poids déterminé dans un creuset en platine taré. Le creuset est ensuite pesé après refroidissement dans un dessiccateur renfermant un desséchant (Silice). La différence de poids constitue la quantité d'eau contenue dans la prise d'essai.

1-2 Mode opératoire

Nous avons utilisé cinq (5) creusets en platine numérotés de 1 à 5.

Les prises d'essai : P_1 ; P_2 ; P_3 ; P_4 et P_5 sont mises dans les 5 creusets secs.

Les poids totaux sont évalués P_1' ; P_2' ; P_3' ; P_4' et P_5' .

Les creusets contenant la poudre sont mis à l'étuve à $100^\circ \pm 3^\circ\text{C}$ pendant 24

Après, ils sont encore pesés et les poids P_1'' ; P_2'' ; P_3'' ; P_4'' et P_5'' sont obtenus.

La perte de poids est obtenue en faisant une différence des différents poids ($P_1'-P_1''$; $P_2'-P_2''$; $P_3'-P_3''$; $P_4'-P_4''$; $P_5'-P_5''$). Cette différence de poids est la quantité d'eau contenue dans la poudre. Elle est évaluée pour 100g de poudre.

2. La méthode azéotropique

2-1. Principe

C'est la mesure de la quantité d'eau contenue dans la substance par entraînement en présence d'un solvant non miscible (l'azéotrope).

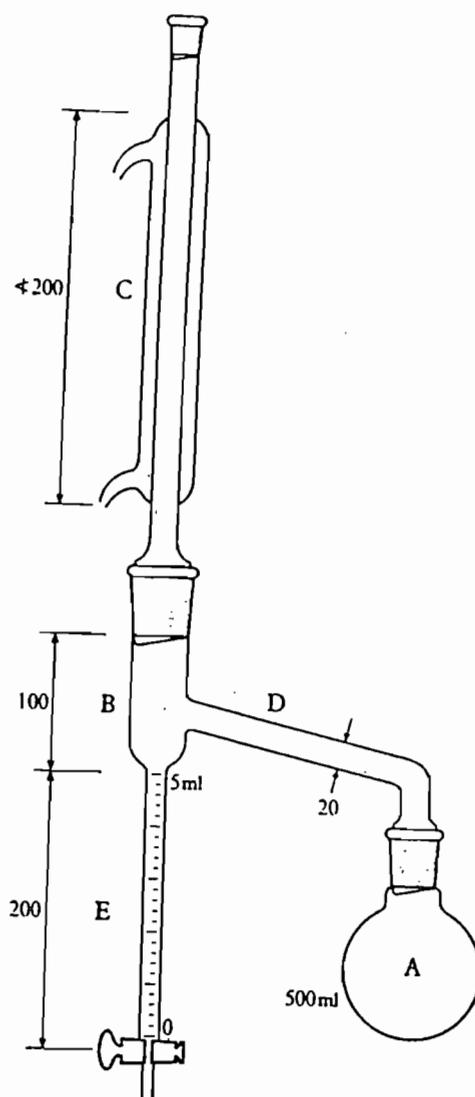


Figure N°9 : Appareil pour la détermination de l'eau par entraînement azéotropique
Dimension en mm

2-2 Mode opératoire

L'appareil est constitué d'un ballon de verre (A) relié par un tube cylindrique de condensation (B) avec un tube collecteur gradué (E). Le réfrigérant (C) est placé sur le tube B. Le tube collecteur (E) est gradué en 0,1ml de telle façon que l'erreur de lecture ne dépasse pas 0,05ml. Comme source de chaleur, on utilise de préférence un chauffage électrique avec un contrôle à rhéostat.

Nettoyer le tube collecteur et le réfrigérant de l'appareil, rincez-le soigneusement à l'eau, puis, séchez-le. Dans un ballon sec, introduisez 200 ml de toluène et 2 ml d'eau distillée environ. Distillez pendant 2 heures, laissez refroidir pendant 1/2h et lisez le volume V_1 d'eau avec une précision de 0,05ml. Introduisez ensuite dans le ballon une prise d'essai de la substance à examiner, pesée au cg près, susceptible de donner 2 à 3ml d'eau environ.. Chauffez doucement le ballon pendant 15 mn en présence de toluène. Lorsque le toluène commence à bouillir, distillez à la vitesse d'environ 2 gouttes par seconde jusqu'à ce que la plus grande partie de l'eau soit entraînée, puis augmentez la vitesse de distillation jusqu'à 4 gouttes par seconde. Lorsque toute l'eau a été entraînée, rincez au toluène l'intérieur du tube réfrigérant. Continuez la distillation pendant 5mn, arrêtez le chauffage et laissez refroidir le tube collecteur, à la température ambiante. Faire tomber les gouttelettes d'eau adhérant encore à la paroi du tube. Lorsque l'eau et le toluène se sont séparés, lisez le volume d'eau V_2 et calculez en pourcentage la teneur en eau de la substance à examiner selon la relation :

$$\frac{100 (V_2 - V_1)}{P}$$

P

- P = poids de la prise d'essai de substance à examiner

- V_1 = volume d'eau à la 1^è distillation

- V_2 = volume d'eau dans les deux distillations

II . DETERMINATION DE LA TENEUR EN CENDRES DE LA POUDRE DE RACINES [25]

1 Cendres totales

1.1 Principe

La détermination des cendres est une méthode pour mesurer la quantité de substances résiduelles non volatilisées, lorsque l'échantillon de drogue est brûlé.

1.2 Mode opératoire

Placez 2 à 4g de poudre de racine dans un creuset approprié dont la tare a été faite préalablement (Pn). Répandez la substance en une couche uniforme et notez-en le (poids P'n). Incinérez la substance en chauffant progressivement, sans dépasser 450°C, jusqu'à disparition complète des particules noires ; laissez refroidir dans un dessiccateur. Humectez le résidu avec 2 ml d'eau. Faites sécher au bain-marie, puis sur une plaque chauffante et incinérez jusqu'à poids constant.

Calculez le contenu en g de cendres par 100g de substance desséchée à l'air.

$$\frac{P'n - P_n}{P'n - P_n} \times 100$$

2 Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique 10 %

2.1 Principe

Les cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique sont le résidu obtenu en faisant bouillir les cendres totales ou les cendres sulfuriques dans de l'acide chlorhydrique à 10 %; La matière insoluble est recueillie sur un filtre, lavée et incinérée. La détermination des cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique est une méthode destinée à mesurer la quantité de Silice, spécialement le sable et la terre silicieuse présent dans la drogue.

2.2 Mode opératoire

Au résidu contenu dans le creuset et obtenu à partir de la détermination des centres totales, ajouter 25ml d'acide chlorhydrique à 10%. Recouvrez avec un verre de montre et faites bouillir à feu doux pendant 5mn, laissez refroidir.

Rincez le verre de montre avec 5ml d'eau chaude et ajoutez l'eau de rinçage au contenu du creuset. Recueillez la matière non soluble sur un papier filtre sans cendres et lavez avec de l'eau chaude jusqu'à ce que le filtrat devienne neutre. transférer le papier filtre contenant la matière insoluble dans le creuset original, faites sécher sur une plaque chauffante et incinérez à poids constant.

IV- INDICE DE MOUSSE [25]

1- Principe

De nombreuses drogues végétales contiennent des saponines. Une décoction aqueuse préparée à partir de ces drogues produira une mousse persistante après agitation. L'indice de mousse est une mesure de la particularité de ces drogues et de leurs extraits à mousser.

2 - Mode opératoire

Dans un flacon conique de 500 ml, contenant 100 ml d'eau bouillante, introduisez 1g de poudre de racine, pesée avec précision et pulvérisée grossièrement au préalable ; maintenez à ébullition modérée pendant 30mn. Après refroidissement, filtrez dans un flacon volumétrique de 100ml et ajoutez de l'eau à travers le filtre de façon à ramener le volume du filtrat à 100 ml.

Introduisez successivement 1,2,3... 10ml de décocté dans une série de 10 tubes à essais de 16 cm de haut et 16 cm de diamètre intérieur et ajustez le volume du liquide dans le sens de la longueur pendant 15 secondes, à raison de deux agitations par seconde en maintenant le tube fermé à l'aide du pouce. Laissez reposer 15 mn et mesurez la hauteur de la mousse. Si celle-ci est inférieure à 1 cm dans tous les tubes, l'indice est moins de 100. La dilution dans le tube où la hauteur de la mousse est égale à 1 cm représente l'indice recherché. Si ce tube est premier ou le second dans la série, il est nécessaire de revoir les dilutions intermédiaires de façon à avoir un résultat plus précis.

Si la hauteur de la mousse est supérieure à 1 cm dans les tubes, il est nécessaire de préparer une nouvelle série de dilution de la décoction et recommencez le processus de détermination.

$$\text{Calcul : indice de mousse} = \frac{1000}{a}$$

a = nombre de ml du décocté de la drogue utilisée pour réaliser la dilution dans le tube

V. pH de l'extrait aqueux

Nous avons déterminé le pH de l'extrait aqueux à l'aide d'un pH mètre. Celui-ci est lue après une heure d'activation de l'électrode dans la substance.

VI. RESULTATS

Contrôle de qualité de la poudre

1 Teneur moyenne en eau de la poudre de racines

TABLEAU XII : Teneur en eau de la poudre par la méthode gravimétrique

Tare creuset Pn (g)	Masse totale avant Etuve Pn'	Masse totale après Etuve Pn''	Masse Poudre (essai) d1	Masse eau d2	% eau Q
13,1913	14,9168	14,7975	1,7255	0,1193	6,91%
12,4783	13,8764	13,7857	1,3981	0,0907	6,48%
12,7927	13,9475	13,8765	1,1548	0,0710	6,14%
12,9159	14,1894	14,1130	1,2735	0,0764	5,99%
24,6672	25,9804	25,9148	1,3132	0,0656	4,99%

$$\begin{aligned}
 \text{Teneur en eau} &= \frac{\text{Somme des pourcentages unitaires des essais}}{\text{Nombre d'essais}} \\
 &= \frac{6,91 + 6,48 + 6,14 + 5,99 + 4,99}{5} \\
 &= \mathbf{6,10\%}
 \end{aligned}$$

TABLEAU XIII : La teneur en eau de la poudre par la méthode azéotropique

Poids de la prise d'essai (P en g)	5
Volume d'eau à la 1 ^o distillation (V1 en ml)	0,9
Volume d'eau à la 2 ^e distillation (V2 en ml)	1,2
% eau de la prise d'essai	$\frac{1,2 - 0,9}{5} \cdot 100$
	6

2 Teneur moyenne en cendres de la poudre de racines

TABLEAU XIV : Taux de cendres totales

Tare Pn (g)	Masse totale avant Calcination Pn'	Masse totale après calcination Pn''	Masse Poudre (essai) d1	Masse cendres totales d2	% cendre Q2
24,2792	25,8686	24,3542	1,5894	0,0750	4,71%
20,6301	21,9303	20,6905	1,3002	0,0604	4,64%
17,2022	18,2786	17,2526	1,0764	0,0504	4,68%
16,9453	18,1315	17,0014	1,1862	0,0561	4,72%
17,6135	18,8078	17,6714	1,1943	0,0579	4,84%

$$\begin{aligned} \text{Taux de cendres totales} &= \frac{\text{Somme des pourcentages unitaires des essais}}{\text{Nombre d'essais}} \\ &= \frac{4,71 + 4,64 + 4,68 + 4,72 + 4,84}{5} \\ &= 4,71\% \end{aligned}$$

TABLEAU XV : Taux de cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique 10%

Tare P(g)	Masse totale avant incinération P'	Masse totale après incinération P''	Masse cendres totales d1	Masse cendre insoluble dans HCl 10% d2	% cendres insolubles dans HCl 10% Q
28,9288g	29,7630	29,0108	0,8342	0,0820	9,82%

$$\begin{aligned} Q &= \frac{d2}{d1} \times 100 & d1 &= P' - P & Q &= \frac{0,0820}{0,8342} \times 100 = 9,82 \\ & & d2 &= P'' - P' & & \end{aligned}$$

TABLEAU XVI : Taux de cendres sulfuriques

Tare P	Masse totale avant calc. P'	Masse totale après calc. P''	Masse totale de l'essai d1	Masse cendre sulfurique d2	% cendres sulfuriques Q
28,9216g	33,3779g	22,2103g	4,4563g	0,2887g	6,47%

$$Q = \frac{d2}{d1} \times 100$$

$$d1 = P' - P$$

$$d2 = P'' - P'$$

$$Q = \frac{0,2887}{4,4563} \times 100 = 6,47$$

Le P^H de l'extrait aqueux, est légèrement acide : 6,25.

Cette acidité peut-être due à la présence d'acides organiques dans l'extrait.

TABLEAU XVII: Récapitulatif contrôle de qualité

	PARAMETRES	VALEURS
1- Teneurs en eau	a- Méthode gravimétrique	6,10 %
	b- Méthode azéotrope	6 %
2- Teneurs en cendres	a- Cendres totales	4,71 %
	b- Cendres insolubles dans HCl 10 %	9,82 %
	c- Cendres sulfuriques	6,47 %
3- Indice de gonflement		50 %
4- Indice de mousse		500
5- P^H de l'extrait aqueux		6,25

TECHNIQUES GENERALES D'ETUDE

B. TECHNIQUES GENERALES D'ETUDE PHYTOCHIMIQUE

I. EXTRACTION DES SAPONOSIDES

Nous avons employé deux méthodes d'extraction :

- 1. Méthode d'extraction à froid**, par percolation dans une ampoule à décanter.
- 2. Extraction liquide -liquide**, en ampoule à décanter. L'extrait aqueux obtenu par percolation , est épuisé successivement par des solvants non miscibles.

II. LES METHODES CHROMATOGRAPHIQUES [20] [31]

1. Chromatographie sur couche mince (ccm)

Définition

La chromatographie sur couche mince est une méthode de séparation physico-chimique faisant intervenir une phase stationnaire ou absorbant et une phase mobile ou éluant.

Elle a été utilisée en technique unidimensionnelle ou bidimensionnelle selon les cas. Elle permet :

- de suivre l'efficacité des extractions avec les différents solvants ;
- la vérification de la pureté des composés isolés ;
- le meilleur choix des solvants d'éluion des colonnes.

Dépôt de solutions à analyser

Les différentes solutions à analyser sont déposées à la ligne de départ sous forme de points distants d'au moins 10 mm les uns des autres et de 10 à 15 mm du bord inférieur et des bords de droite et de gauche.

Les solutions sont déposées en petite quantité à l'aide de micropipettes. Après chaque dépôt, on évapore le solvant avec un courant d'air chaud.

Développement ou élution

L'éluant est constitué d'un ou plusieurs solvants; chaque solvant est caractérisé par son pouvoir d'élution.

Révélation

De nombreux produits sont invisibles à l'oeil nu sur le chromatogramme, ils sont détectés grâce à des révélateurs.

Nous avons utilisé les fluorescences sous lumière ultra-violette à 254 et 366 nm et des réactifs appropriés à chaque type de composés.

2. Chromatographie sur colonne

Elle nous a permis la séparation des composés; la quantité de support utilisé est comprise entre 30 et 100 fois le poids du mélange à chromatographier.

Montage de la colonne

Un tampon de coton est introduit jusqu'au fond de la colonne. Le support est agité vigoureusement avec 2 fois son poids de solvant d'élution puis le mélange est versé dans la colonne.

On laisse le support se tasser, puis le robinet, situé à la partie inférieure de la colonne, est ouvert et le solvant s'écoule jusqu'à ce que sa surface soit ramenée à une hauteur d'environ 2 cm au dessus du support. L'extrait à chromatographier est mélangé avec une quantité minimale de support, puis le solvant est complètement évaporé à l'aide d'un séchoir. Le mélange pulvérulent obtenu est déposé sur la colonne. Il est ensuite recouvert d'une couche de Silice de support d'épaisseur qui lui est égale. Puis on introduit le solvant d'élution par les bords de la colonne à l'aide d'une pipette pour éviter les effets de bord. On introduit également un tampon de coton pour amortir la chute de solvant

Le Le débit est réglé pour obtenir un écoulement goutte à goutte et les fraction sont recueillies dans des flacons.

3. Chromatographie préparative sur plaque

C'est une chromatographie sur couche épaisse de Silice F 254 sur plaque de verre permettant d'obtenir des séparations plus fines des produits. Les produits repérés sont récupérés à l'UV par grattage et élution sur une petite colonne.

Préparation des plaques

Sur un plancher, on aligne côte à côte 5 plaques de verre 20 x 20 cm d'égale épaisseur.

Elle sont dégraissées par un tampon de coton imbibé d'éther éthylique. Ensuite on mélange 30g de Silice avec 90 ml d'eau distillée en agitant énergiquement dans un erlenmeyer pendant 30 secondes jusqu'à obtenir un mélange fluide et homogène que l'on verse immédiatement dans l'étaleur disposé déjà à l'extrémité des plaques avec l'épaisseur de la couche réglée à 0,25 mm.

Ainsi, après avoir retourné le mélange grâce à un levier, l'étaleur est doucement glissé sur les plaques jusqu'à l'autre extrémité. Les plaques de Silice F 254 ainsi obtenues sont laissées 24 heures à l'air libre jusqu'à ce que les couches deviennent sèches. Ces plaques sont ensuite introduites dans une étuve à 110°C pendant 30 minutes pour être activées. Elles sont ainsi prêtes pour leur utilisation.

Dépôts et Développement.

Ils sont réalisés en points à l'aide de micropipettes de 10µl de matière linéaire et élué dans une cuve contenant le solvant approprié.

Elution des produits récupérés.

Après migration, les plaques sont séchées et les bandes correspondantes aux produits séparés sont repérées sous lumière UV. Ces bandes sont prélevées par grattage.

Elles sont ensuite éluées par le méthanol dans une colonne contenant du coton à la base.

4. Supports et solvants utilisés

TABLEAU N° XXII

		Chromatographie sur colonne	Chromatographie sur couche mince
Hétérosides	Supports	Silice G Art 7731	Silice GF 254
	Solvants d'éluion ou de migration	- Chloroforme - Chloroforme méthanol 8-2/V-V - Chloroforme méthanol 5-5/V-V - Méthanol	- Chloroforme éthanol 15-1/V-V - Chloroforme éthanol 15-3/V-V
Génines	Supports	Silice G Art 7731	Silice GF 254
	Solvant d'éluion ou de migration	- Hexane - Chloroforme - Chloroforme méthanol 8-2/V-V - Chloroforme méthanol 5-5/V-V - Méthanol	Hexane chloroforme 2-30/V-V Chloroforme éthanol 15-1/V-V

5. Révélateurs

Les plaques sont observées à l'UV à 254 et 366 nm. Elles sont aussi révélées par des réactifs appropriés.

. Permanganate de potassium :

permanganate de potassium : 1g
eau distillée qsp : 100 ml

. Vanilline sulfurique :

Vanilline : 100 mg
Acide acétique 96% : 1ml
Acide sulfurique 97% : 5ml
Ethanol qsp : 100 ml

Après pulvérisation de ce réactif, les plaques sont chauffées à l'étuve à 100°C pendant 2 minutes.

III. METHODE D'IDENTIFICATION

Nous avons utilisé les méthodes chromatographiques et spectrales.

1. Méthodes chromatographiques

Elles ont permis l'identification des saponosides en utilisant la saponine comme témoin.

2. Méthodes spectrales

Nous n'avons réalisé que les spectres d'absorption dans l'UV sur un spectrophotomètre de marque Jasco Modèle J0087.

EXTRACTION DES SAPONOSIDES

C. EXTRACTION DES SAPONOSIDES

Le caractère de solubilité des composés saponosidiques nous a orienté vers le choix de la macération aqueuse comme méthode d'extraction.

I. PREPARATION DE L'EXTRAIT AQUEUX

Nous avons procédé à une macération de 200gr de poudre de tubercules séchés dans 500ml d' eau distillée dans une ampoule à décanter. Après 12 heures de macération, l'extrait est recueilli dans un flacon.

II. EXTRACTION LIQUIDE -LIQUIDE

La solution aqueuse filtrée est soumise à trois épuisements :

La solution aqueuse est d'abord épuisée 2 fois par 500 ml de benzène ;les phases benzéniques sont réunies et concentrées au rotavapor jusqu'à un volume de 100ml.

La phase aqueuse résiduelle est ensuite épuisée 2 fois par 500 ml de chloroforme. les phases chloroformiques sont réunies et concentrées à faible température jusqu'à un volume de 100ml.

La phase aqueuse résiduelle est enfin épuisée 2 fois par 500ml de n butanol. Les phases butanoliques sont aussi réunies et concentrées jusqu'à un volume de 100ml.

TABLEAU N° XXII : ASPECT DES EXTRAITS OBTENUS

EXTRAIT	COULEUR
Extrait aqueux	Marron foncé
Extrait benzénique	Marron
Extrait chloroformique	Marron clair
Extrait butanolique	marron orangé

III. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM)

Chaque extrait a été soumis à un contrôle par ccm sur plaque de Silice GF 254.

. ccm de l'extrait benzénique

Plaques de Silice GF 254

Solvant de migration : plaque 1 : chloroforme
 plaque 2 : BAW (4-1-5/V-V) phase supérieure

Révélateurs : lumière UV à 254 et 366 nm
 : permanganate de potassium

La révélation de la plaque 1 montre que cette phase renferme des composés qui réagissent faiblement au permanganate de potassium.

. ccm de l'extrait butanolique

Plaques de Silice GF 254

Solvant de migration : plaque 1 : chloroforme
 plaque 2 BAW (4-1-5/V-V) phase supérieure

Révélateurs : lumière UV à 254 et 366 nm
 : permanganate de potassium

Nous observons trois produits de fluorescence violette sur la plaque 1
 RF = 0,13 ; 0,75 ; 0,76

Après révélation au permanganate de potassium, ces produits deviennent jaunes ; ce qui atteste leur nature saponosidique.

Nous observons également deux composés de fluorescence violette sur la plaque 2 mais ces produits ne réagissent pas permanganate de potassium.

RF = 0,15; 0,17

ccm de l'extrait chloroformique

Plaques de Silice GF 254

Solvants de migration : plaque 1 : chloroforme - éthanol
 : plaque 2 : BAW(4-1-5/V-V) phase supérieure

Révélateurs : lumière UV à 254 nm et 366 nm
 : permanganate de potassium

Nous observons plusieurs composés de fluorescence violet sombre sur la plaque 1 qui deviennent jaune intense ou jaune clair après révélation au permanganate de potassium

ccm de l'extrait aqueux

Plaques de Silice GF 254

Solvants de migration : plaque 1 : chloroforme - hexane (30-2/V-V)

plaque 2 : BAW (4-1-5/V-V) phase supérieure

Révélateurs : lumière UV à 254 et 366nm

: permanganate de potassium

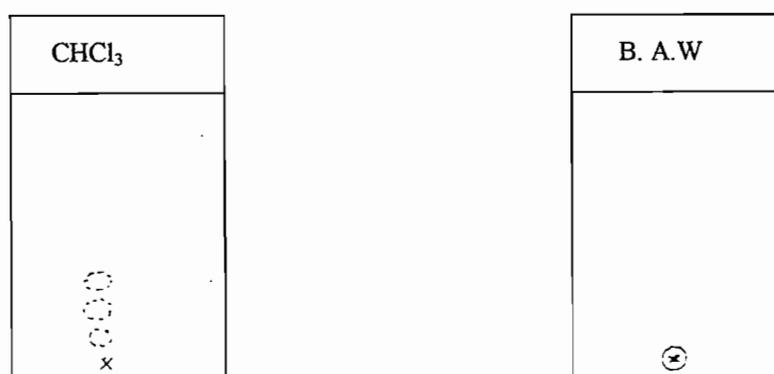
Nous observons plusieurs produits de fluorescence violette sur la plaque 1 qui deviennent jaune intense ou jaune clair après révélation au permanganate de potassium.

Nous observons également deux composés de fluorescence violette sur la plaque 2 mais ces produits ne réagissent pas au permanganate de potassium .

RF = 0,12 ; 0,30

chromatographies sur couche mince des extraits benzénique ; butanolique ; chloroformique et aqueux.

a. Chromatogramme de l' extrait benzénique.



Chromatogramme N°1 : extrait benzénique de *Vernonia kotschyana*

Plaque 1 : solvant CHCl_3

Plaque 2 : solvant BAW(4-1-5)

support : Silice GF 254

dépot : 10 μl

révélation : UV 254 et 366 nm

KMnO_4

b. Chromatogramme de l'extrait butanolique



Chromatogramme N°2 : extrait butanolique de Vernonia kotschyana

Plaque 1 : solvant CHCl_3

Plaque 2 : solvant BAW(4-1-5)

support : Silice GF 254

dépot : 10 μl

révélation : UV 254 et 366 nm

KMnO_4

c. Chromatogramme de l' extrait chloroformique



Chromatogramme N°3 : extrait chloroformique de Vernonia kotschyana

Plaque 1: solvant CHCl_3

Plaque 2 : solvant BAW(4-1-5)

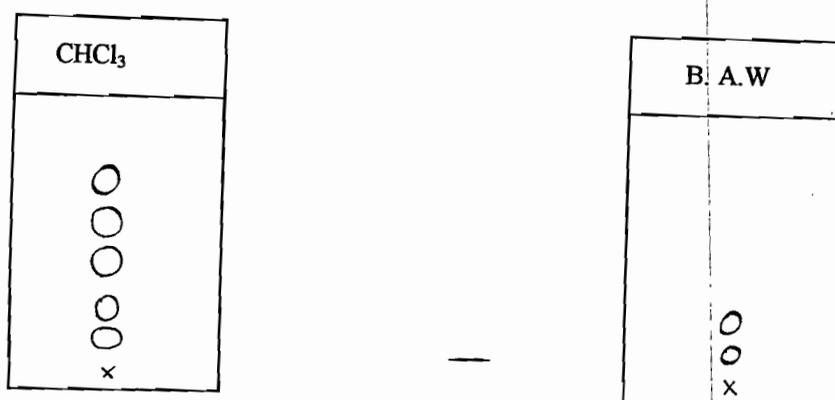
support : Silice GF 254

dépot : 10 μl

révélation : UV 254 et 366 nm

KMnO_4

d. Chromatogramme de l'extrait aqueux



Chromatogramme N°4 : extrait aqueux de Vernonia kotschyana

Plaque 1 : solvant CHCl_3

Plaque 2 : solvant BAW(4-1-5)

support : Silice GF 254

dépot : 10 μl

révélation : UV 254 et 366 nm

KMnO_4

IV. ETUDES DES SAPONOSIDES DE L'EXTRAIT AQUEUX

1. Etude des génines

L'extrait aqueux est divisé en deux parties égales. Une partie est soumise à l'hydrolyse acide par ajout d'acide sulfurique dilué à 10%, chauffage de la solution à 70°C pendant 1 heure puis refroidissement. L'extrait aqueux hydrolysé est filtré et on fait subir au filtrat une extraction par le chloroforme; l'extrait chloroformique contient les génines.

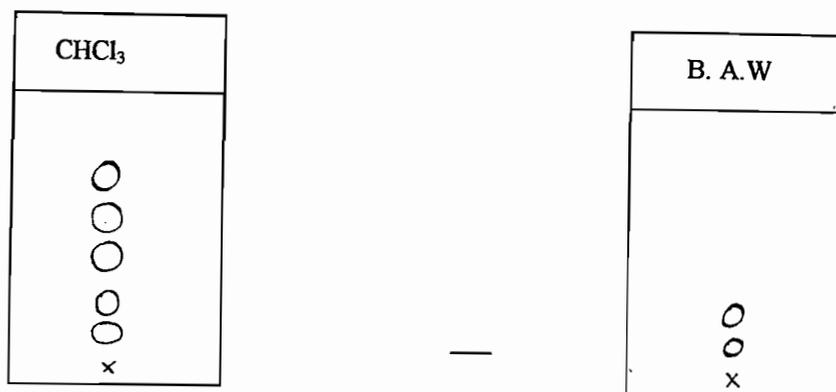
a. Séparation

Nous avons utilisé le fractionnement sur colonne suivi de contrôle par ccm.

b. Chromatographie sur colonne

Nous avons utilisé comme support la Silice G Art 7731

d. Chromatogramme de l'extrait aqueux



Chromatogramme N°4 : extrait aqueux de *Vernonia kotschyana*

Plaque 1 : solvant CHCl_3

Plaque 2 : solvant BAW(4-1-5)

support : Silice GF 254

dépot : 10 μl

révélation : UV 254 et 366 nm
 KMnO_4

IV. ETUDES DES SAPONOSIDES DE L'EXTRAIT AQUEUX

1. Etude des génines

L'extrait aqueux est divisé en deux parties égales. Une partie est soumise à l'hydrolyse acide par ajout d'acide sulfurique dilué à 10%, chauffage de la solution à 70°C pendant 1 heure puis refroidissement. L'extrait aqueux hydrolysé est filtré et on fait subir au filtrat une extraction par le chloroforme; l'extrait chloroformique contient les génines.

a. Séparation

Nous avons utilisé le fractionnement sur colonne suivi de contrôle par ccm.

b. Chromatographie sur colonne

Nous avons utilisé comme support la Silice G Art 7731

Préparation de l'extrait sec

L'extrait chloroformique après hydrolyse est concentré, on a additionné environ 15gr de poudre de Silice et le mélange est trituré sous un courant d'air chaud jusqu'à dessiccation.

Le mélange séché est réduit en poudre fine par tituration dans le mortier.

Montage de la colonne

Confère technique générale d'étude.

Elution de la colonne

La colonne est éluée successivement par le chloroforme pur et les mélanges : chloroforme-méthanol 8-2/V-V, chloroforme -méthanol 5-5/V-V et le méthanol pur. Pour chaque série d'élution, les fractions ont été recueillies dans des flacons de 90ml, l'écoulement se faisant au goutte à goutte.

c. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince des différentes fractions sur plaque de Silice GF 254 a été effectuée dans hexane-chloroforme 2-30/V-V.

Comportement chromatographique

Après séchage de la plaque, nous observons à la lumière UV à 254 nm et 366 nm que les fractions de 7 à 59 contiennent 2 à 3 produits dont un majoritaire fluorescent violet sombre à 254 nm qui, après révélation au permanganate de potassium devient jaune. Les fractions présentant des tâches de migrations identiques après contrôle par ccm, ont été chaque fois réunies dans un même flacon.

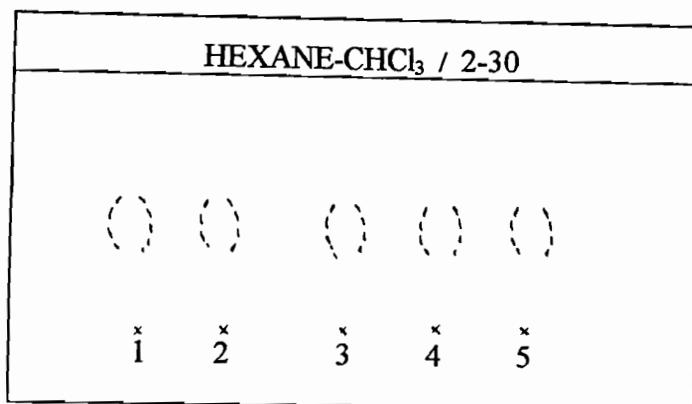
Ainsi les fractions de 7 à 10 ont été réunies et concentrées à faible volume. Nous avons dénommé cette fraction F₁ (chromatogramme n° 6).

Les fractions 13 à 35 ont été réunies concentrées et dénommé fraction F₂ (chromatogramme n° 7).

Les fractions 37 à 43 ont été réunies et dénommées fraction F₃ (chromatogramme n°8).

Les fractions 45 à 59 ont été réunies et dénommé fraction F₄ (chromatogramme n°9).

Les fractions 61 à 80 ont été réunies et dénommé fraction F₅ chromatogramme n°10).

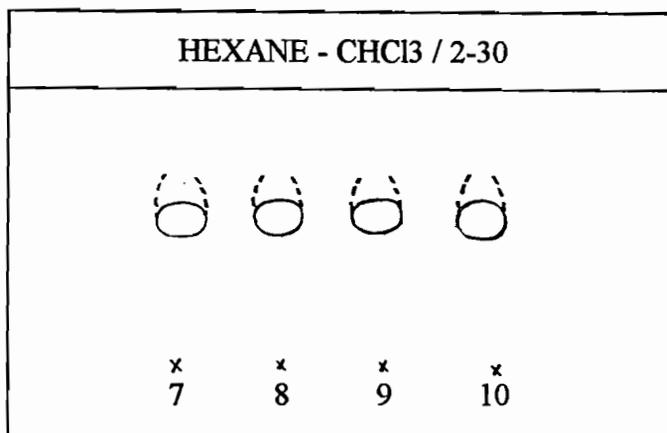
Chromatogramme n°5 : ccm des fractions 1 à 5

Support : plaque de Silice GF 254

solvant de migration : hexane-CHCl₃ 2-30/V-V

Révélateurs : lumière UV à 254 et 366 nm

: permanganate de potassium

Chromatogramme n°6 : ccm des fractions 7 à 10

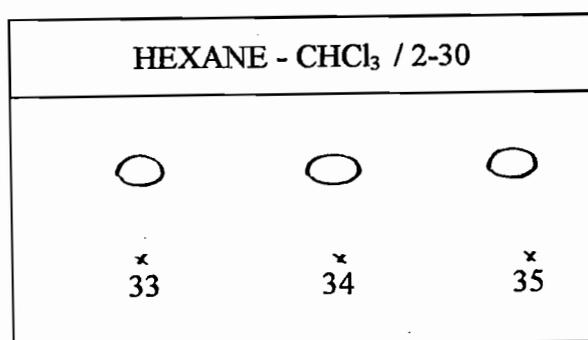
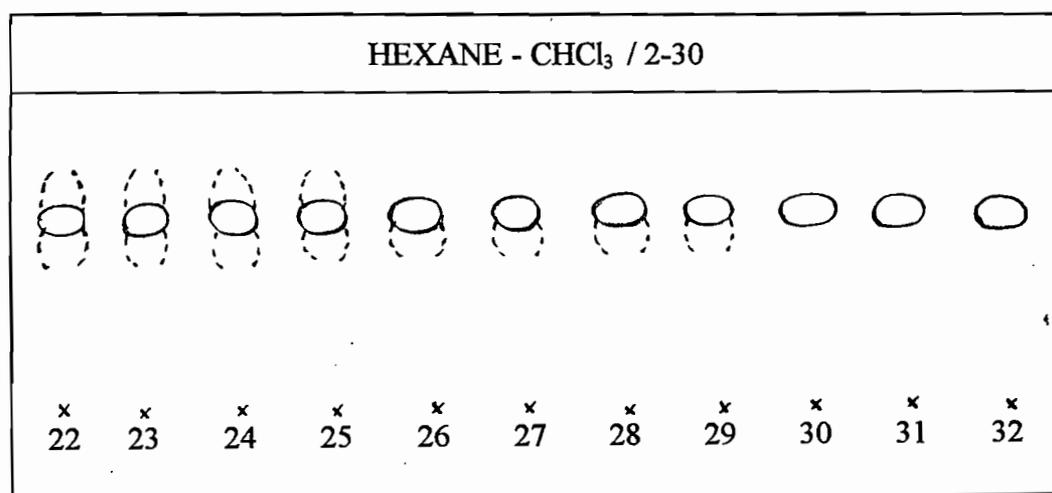
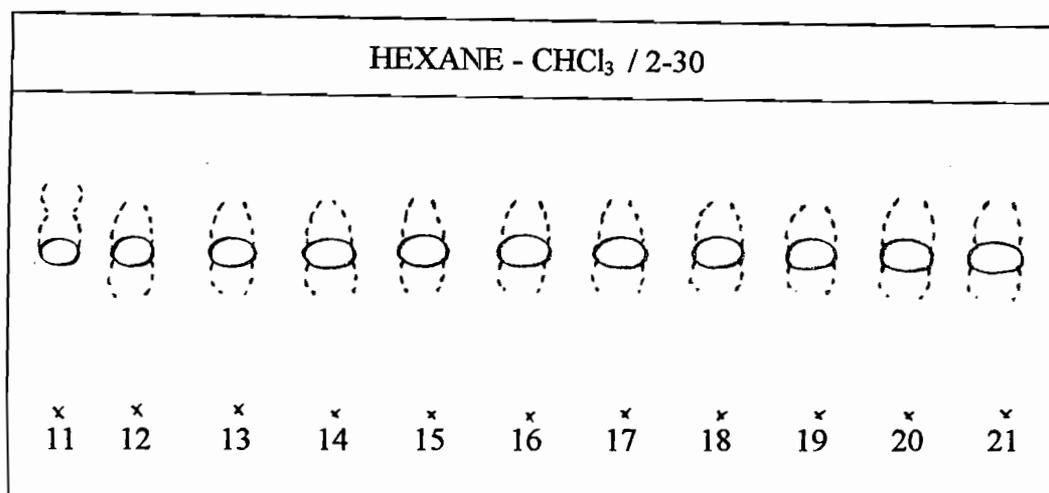
Support : plaque de Silice GF 254

Solvant de migration : hexane CHCl₃ 2-30/V-V

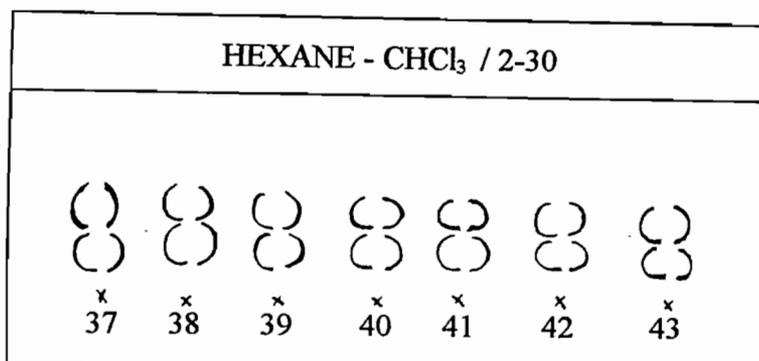
Révélateurs : lumière UV à 254 et 366 nm

: permanganate de potassium

Chromatogramme n°7 : ccm des fractions 13 à 35



Support : plaque de Silice GF 254
 Solvant de migration : hexane CHCl_3 2-30/V-V
 Révélateurs : lumière UV à 254 et 366 nm
 : permanganate de potassium

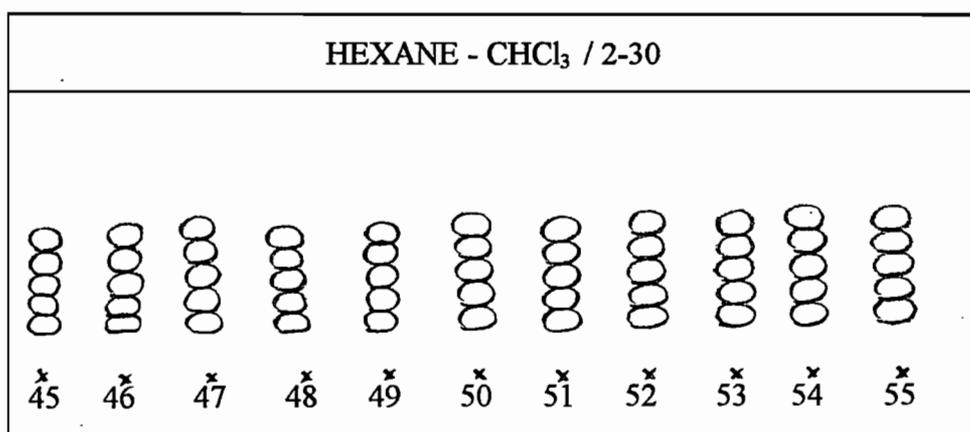
Chromatogramme n°8 : ccm des fractions 37 à 43

Support : plaque de Silice GF 254

Solvant de migration : hexane CHCl₃ 2-30/V-V

Révélateurs : lumière UV à 254 et 366 nm

: permanganate de potassium

Chromatogramme n°9 : ccm des fractions 45 à 59

d. Purification des génines

Après l'élution de la colonne par les mélanges successifs chloroforme-méthanol : 80-20/V-V et le chloroforme-méthanol 50-50/V-V, les ccm de contrôle des différentes fractions sur plaque de Silice GF 254 nous montrent la migration de plusieurs composés. Ces composés, après révélation au permanganate de potassium, sont devenus jaunes mais avec une faible résolution de séparation.

Aussi, il nous est apparu nécessaire de réunir les fractions 37 à 43 en vue de réaliser une purification des constituants sur colonne.

Nous avons appelé ces fractions réunies solution S.

1- Chromatographie sur colonne de Silice G Art 7731

La préparation de la colonne et le dépôt de l'extrait sont effectués comme indiqué dans le chapitre des techniques générales d'étude.

. Elution de la colonne

La colonne est éluée tout au long de l'opération successivement par le mélange de solvants :

Chloroforme- thanol : 75-25/V-V, puis l'éthanol absolu . Avec le mélange chloroforme-éthanol, nous avons obtenu 18 fractions récupérées dans les flacons de 90 ml.

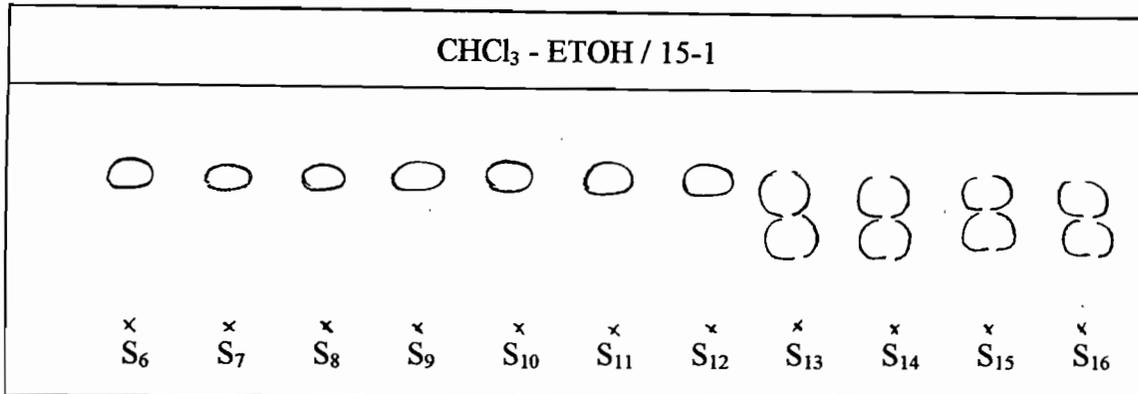
Ces flacons sont numérotés S₆   S₂₃ ; L'élution de la colonne avec l'éthanol nous a permis de recueillir 5 fractions numérotées S₂₄   S₂₈.

. Chromatographie sur couche mince

Les différentes fractions ont été soumises à un contrôle de pureté par ccm.

Leur comportement chromatographique est consigné sur les chromatogrammes N  7 et 8.

Les fractions S₆   S₁₂ renferment un seul produit positif au permanganate de potassium de RF = 0,64 et fluorescent violet à la lumière UV à 366 nm. les fractions S₁₃   S₁₇ renferment plusieurs produits positifs au permanganate de potassium et de fluorescence violette à la lumière UV à 366 nm.

Chromatogramme N°11 : ccm des fractions S₆ à S₁₇.

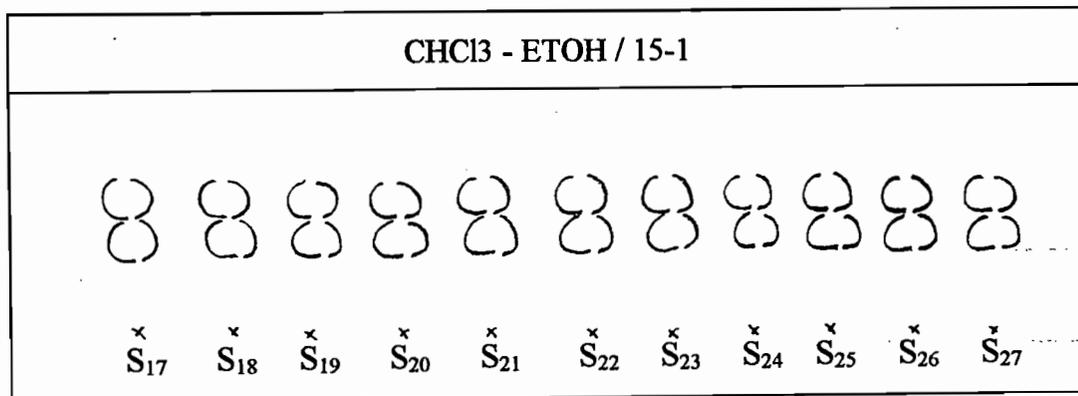
Support : plaque de Silice GF 254

Solvant de migration : chloroforme éthanol /15-1/ V-V

Révélateurs : lumière UV à 366 nm

: permanganate de potassium.

Les fractions S₁₈ à S₂₈ contiennent plusieurs produits qui réagissent également avec la solution de permanganate de potassium .

Chromatogramme N° 12 : ccm des fractions de S₁₈ à S₂₈

Support : plaque de Silice GF 254

Solvant de migration : chloroforme- éthanol /15-1/V-V

Révélateurs : lumière UV à 254 et 366 nm

: permanganate de potassium.

. Chromatographie préparative sur plaque

La purification par chromatographie préparative sur plaque de Silice HF 254 a concerné les constituants des fractions F₁ et F₂ et le constituant de la fraction S₆ à S₁₂.

*** Préparation des plaques de Silice HF 254**

Confère technique générale d'étude

Dépôts et élution.

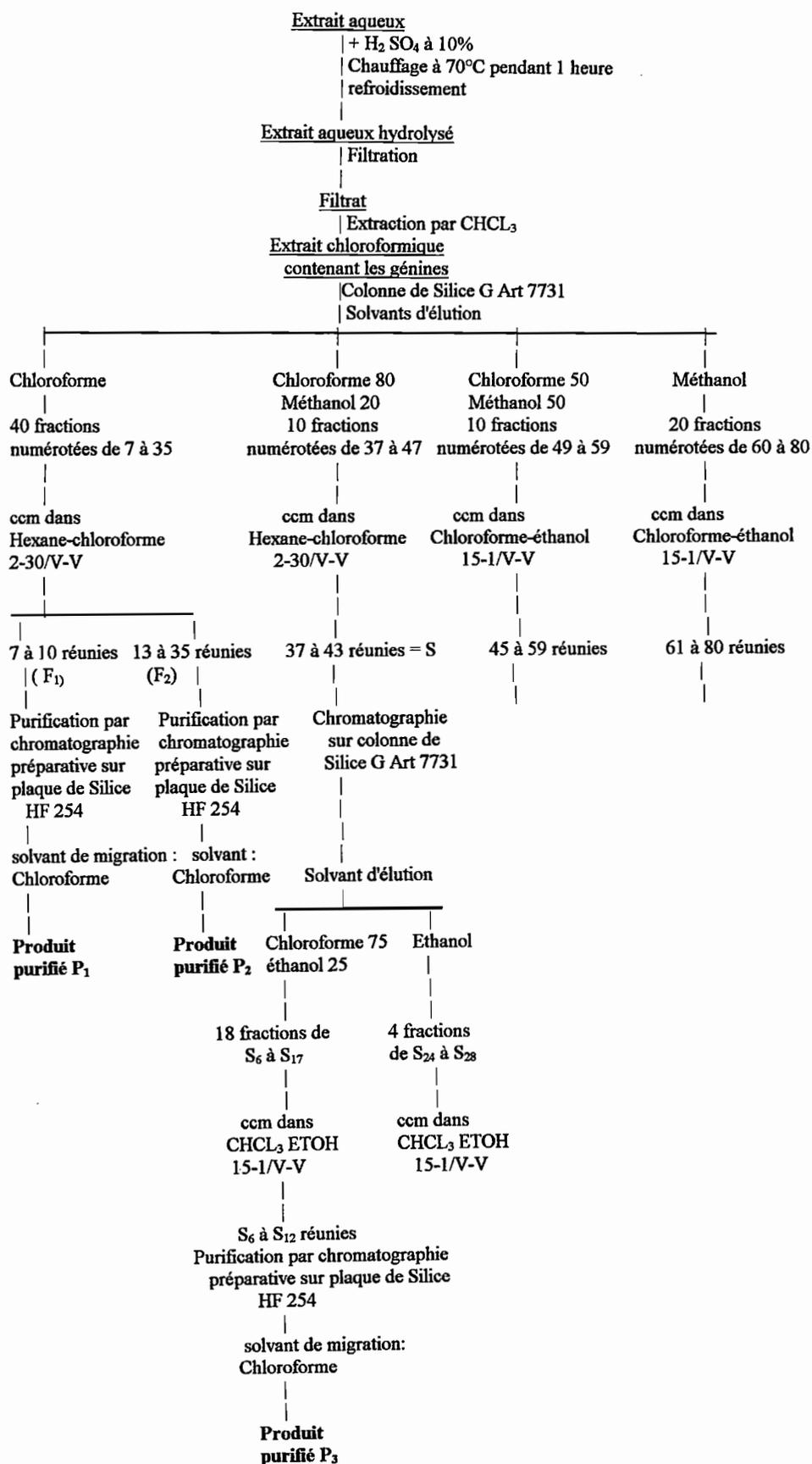
Les dépôts des solutions F₁, F₂ et S₆ à S₁₂ réunies sont effectués en point et sur toute la ligne de douze plaques en raison de quatre plaques par solution en quantité suffisante.

Ces plaques sont éluées par le mélange de solvants chloroforme -éthanol : 15-1/V-V. Les chromatogrammes nous montrent dans chaque cas, une bande majoritaire fluorescente violette à la lumière UV à 254 nm, cette bande à été délimitée et grattée à l'aide d'une lame.

La poudre recueillie est introduite dans une colonne contenant à sa base un morceau de coton.

Elle est éluée par le chloroforme qui entraîne le produit purifié dans un flacon propre.

Les produits purifiés sont notés P₁, P₂ et P₃; ils sont soumis à une ccm de contrôle.

Figure N° 9 : Schéma séparation - purification

e. Identification des produits purifiés

Les produits P_1 , P_2 et P_3 se présentent sous forme de masse jaune translucide, soluble dans le chloroforme. Pour leur identification nous avons utilisé les méthodes chromatographiques et les méthodes spectrales.

1. Méthodes chromatographiques

Ces méthodes sont utilisées pour contrôler la pureté des produits.

Chromatogramme N°13 :ccm de P_1 , P_2 et P_3
sur plaque de Silice GF 254.

CHCl ₃ -ETOH / 9-1	CHCl ₃ -ETOH / 9-1	CHCl ₃ -ETOH / 9-1
Produit : P_1	Produit : P_2	Produit : P_3

Solvant de migration : CHCl₃- ETOH/9-1/V-V

dépot : 10 μ l

révélateur : lumière UV à 254 et 366 nm

: permanganate de potassium

Tableau N° XXV Comportements chromatographiques de P_1 , P_2 et P_3

Produits	RF CHCl ₃ ,Ethanol/9-1	Fluorescence à UV à 366 nm	Couleur après révélation par KMnO ₄
P_1	0,41	Violet sombre	Jaune sombre
P_2	0,90	Violet sombre	Jaune claire
P_3	0,93	Violet sombre	Jaune claire

Seul le composé P_2 est obtenu en quantité relativement importante (10mg). Nous avons réalisé son spectre dans l'ultra-violet.

• Spectre dans l'ultra-violet du composé P₂

Nous avons réalisé le spectre ultra-violet du composé P₂ dissout dans le chloroforme pur.
Nous avons utilisé un appareil de type PERKIN ELMER

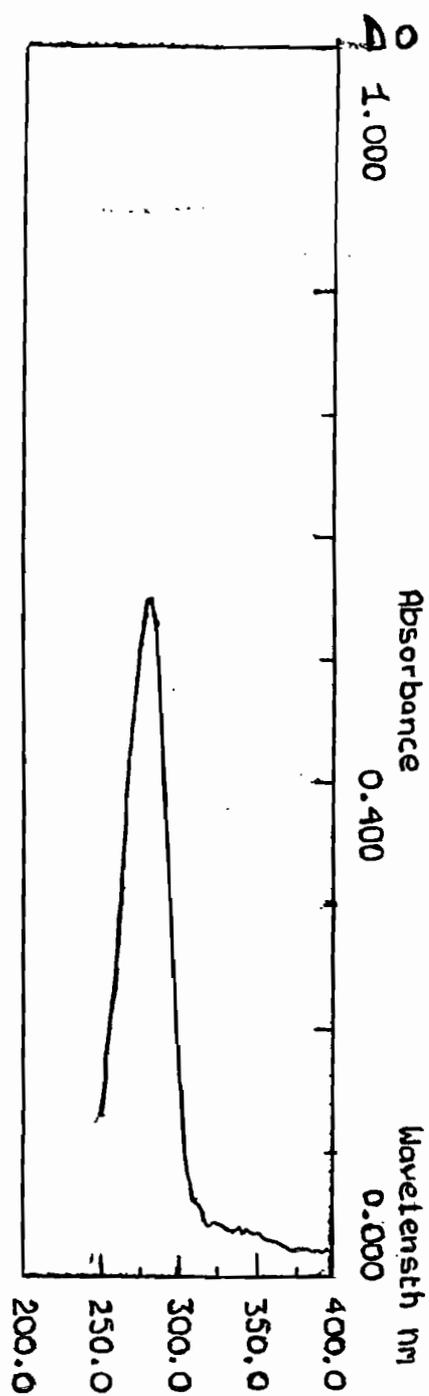


Figure N° 10 : spectre UV du composé P₂ dans le chloroforme.

2. Etude des Hétérosides

Nous avons utilisé l'extrait aqueux concentré avant hydrolyse.

a. Séparation:

Nous avons utilisé le fractionnement sur colonne suivi de contrôle par ccm.

b. Chromatographie sur colonne

Nous avons utilisé comme support la Silice G Art 7731
- préparation de l'extrait sec.

On additionne à l'extrait aqueux concentré 20gr de poudre de Silice et le mélange est trituré sous un courant d'air chaud jusqu'à dessiccation.

Le mélange sec est réduit en poudre fine par trituration dans un mortier puis déposé au sommet de la colonne de Silice G Art 7731 réalisée comme indiquée dans les techniques générales d'études.

- Elution de la colonne.

La colonne est éluée successivement par le chloroforme puis par les mélanges :
Chloroforme-méthanol 8-2/V-V
Chloroforme-méthanol 5-5/V-V et le méthanol.
les fractions ont été recueillies dans des flacons de 90 ml , l'écoulement se faisant au goutte à goutte.

Lors de l'élution de la colonne par le chloroforme nous avons recueilli 30 fractions , avec les mélanges : chloroforme-méthanol 8-2/V-V, nous avons recueilli 12 fractions; chloroforme-méthanol 5-5/V-V ,12 fractions enfin avec le méthanol nous avons recueilli 15 fractions.

c. Chromatographie sur couche mince:

La chromatographie sur couche mince des différentes fractions sur plaque de silicagel a été effectuée dans CHCl_3 -Ethanol 15-1/V-V

Elle nous a permis d'obtenir des spots de migration visibles à la lumière UV à 254 et 366 nm à partir de la fraction 10 , les premières fractions de 1 à 9 n'ayant pas entraîné de composés. (chromatogramme N° 14).

Les fractions présentant des constituants identiques après contrôle par ccm , ont été chaque fois réunies dans un même flacon.

Les fractions de 10 à 14 renferment un seul constituant, nous les avons réunies et dénommées fractions G_1 . (Chromatogramme N°15).

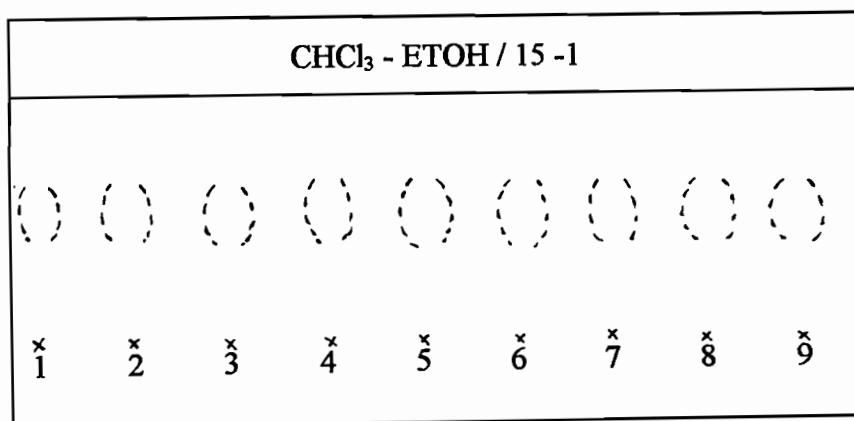
Les fractions 15 à 29 ont été réunies , concentrées et dénommées fraction G_2 . (Chromatogramme N°16).

Les fractions 30 à 41 ont été réunies; ils renferment plusieurs composés. Nous avons appelé le mélange fraction G_3 . (Chromatogramme N°17).

Les fractions 42 à 57 ont été réunies , concentrées et dénommées fraction G_4 . (Chromatogramme N°18).

Les fractions 59 à 69 ont été réunies , concentrées et dénommées fraction G_5 . (Chromatogramme N°19).

Chromatogramme N°14 : ccm des fractions 1 , 9.



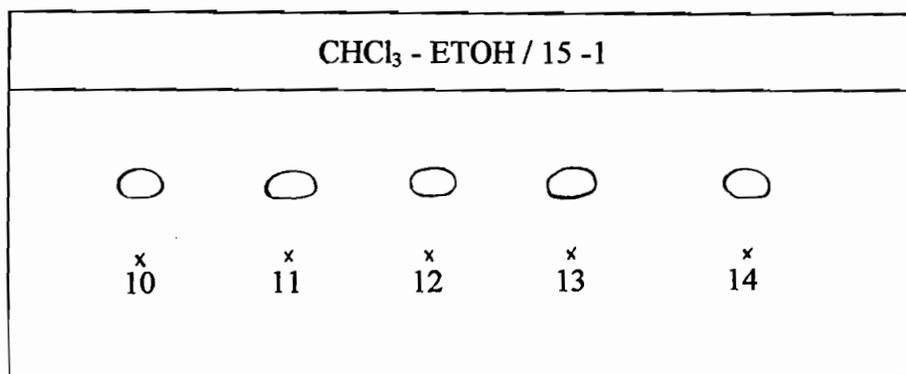
Support : plaque de Silice GF 254.

Solvant de migration : CHCl₃-Ethanol 15-1/V-V

Revèlateurs : lumière UV à 254 et 366 nm

: permanganate de potassium.

Chromatogramme N°15 : ccm des fractions de 10 à 14.



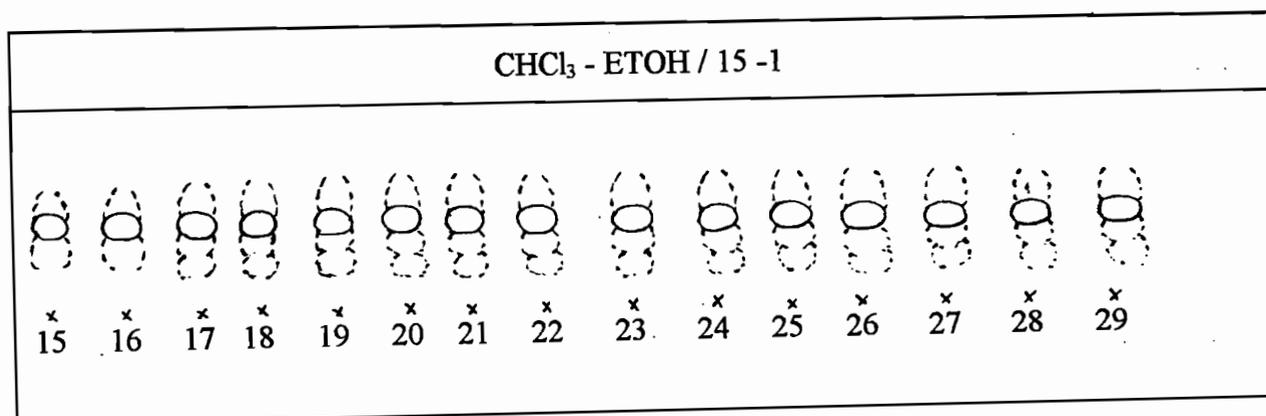
Support : plaque de Silice GF254.

Solvant de migration : CHCl₃-Ethanol 15-1/V-V

Revélateurs : lumière UV à 254 et 366 nm

: permanganate de potassium.

Chromatogramme N°16 : ccm des fractions de 15 à 29.

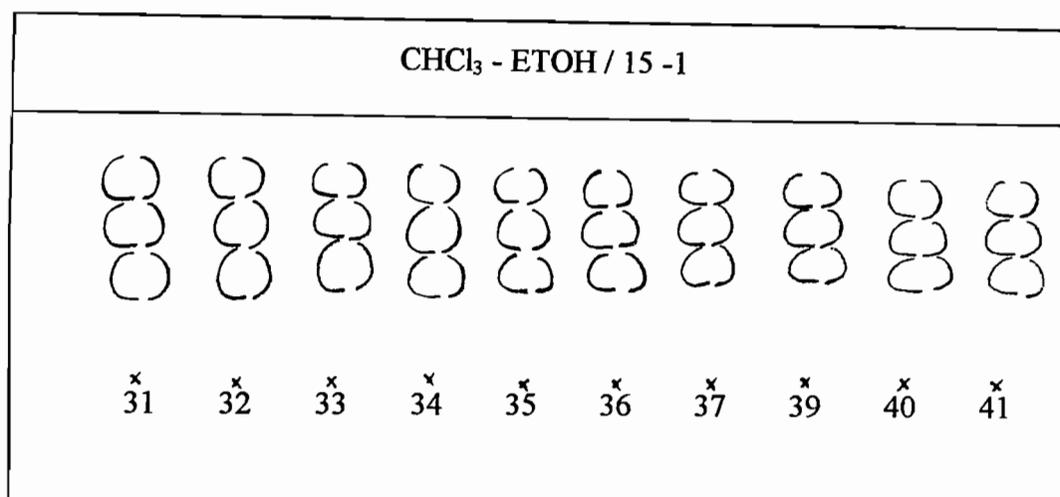


Support : plaque de Silice GF254

solvant de migration : CHCl₃-Ethanol 15-1/V-V.

Revélateurs : lumière UV à 254 et 366 nm

: permanganate de potassium.

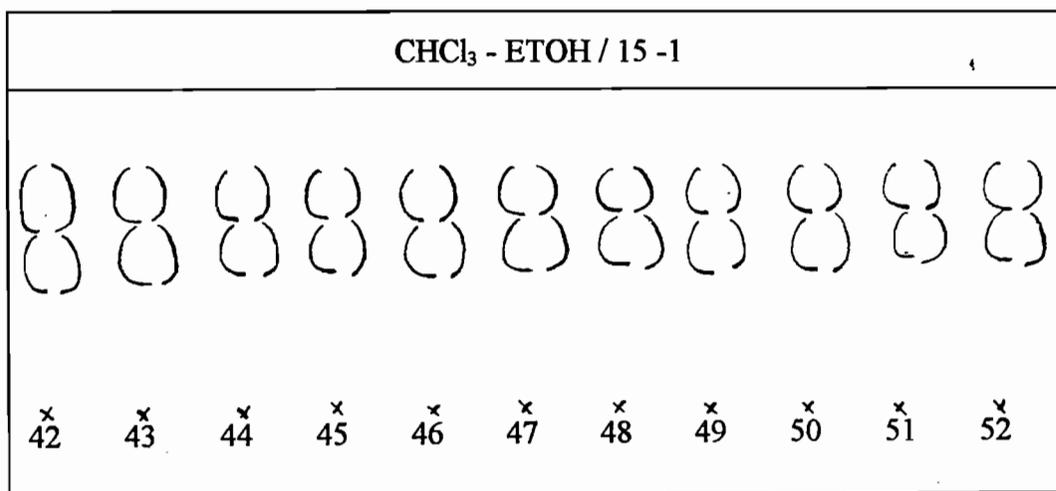
Chromatogramme N°17 : ccm des fractions de 30 à 41.

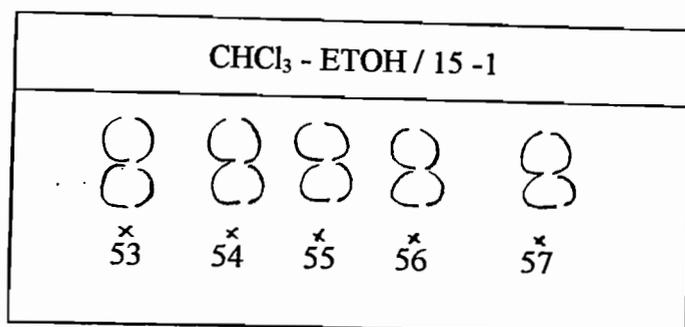
Support : plaque de Silice GF 254

Solvant de migration: CHCl₃-Ethanol 15-1/V-V

Révélateurs: lumière UV à 254 et 366 nm

: permanganate de potassium.

Chromatogramme N°18 : ccm des fractions 42 à 57.



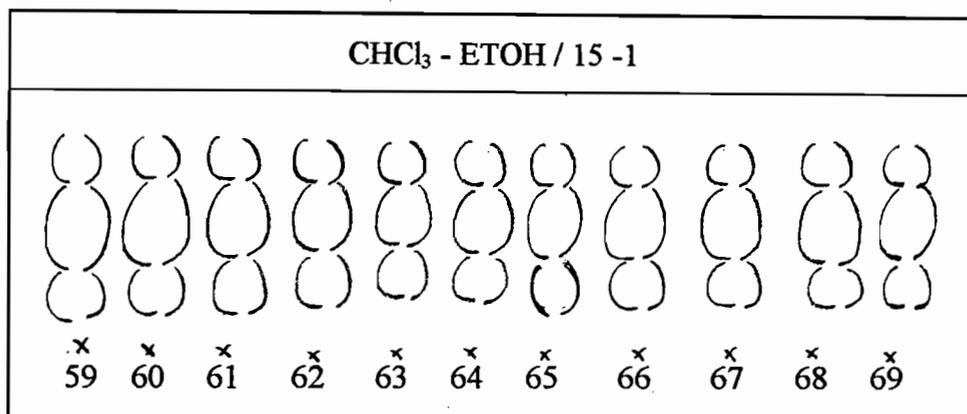
Support : plaque de Silice GF 254.

Solvant de migration : CHCl₃-Ethanol 15-1/V-V

Revéléteurs : lumière UV à 254nm et 366nm

: permanganate de potassium.

Chromatogramme N°19 : ccm des fractions 59 à 69.



Support : plaque de Silice GH 254

Solvant de migration : CHCl₃-Ethanol 15-3/V-V

Revéléteurs : lumière UV à 254 nm et 366 nm

: permanganate de potassium.

d. Purification des Hétérosides saponosidiques

Après l'éluion de la colonne par les mélanges successifs.

Chloroforme-méthanol : 80-20/V-V et chloroforme-méthanol 50-50/V-V , les ccm de contrôle des différentes fractions sur plaque de silicagel nous montrent la migration de plusieurs composés saponosidiques.

Ces composés après révélation au permanganate de potassium sont devenus jaunes mais avec une faible résolution de séparation surtout dans le cas des constituants des fractions 15 à 29. Aussi, il nous est apparu nécessaire de les réunir en vue de réaliser une purification des constituants sur colonne.

La purification par chromatographie préparative sur plaque a concerné les constituants de la fraction G₁(fractions 10 à 14).

.Chromatographie sur colonne de Silice G Art 7731 des fractions 15 à 29

Préparation de la colonne et dépôt de l'extrait.

La préparation de la colonne et le dépôt de l'extrait sont effectués comme indiqué dans le chapitre des techniques générales d'étude.

Elution de la colonne.

La colonne est éluee tout au long de l'opération successivement par le mélange de solvants :

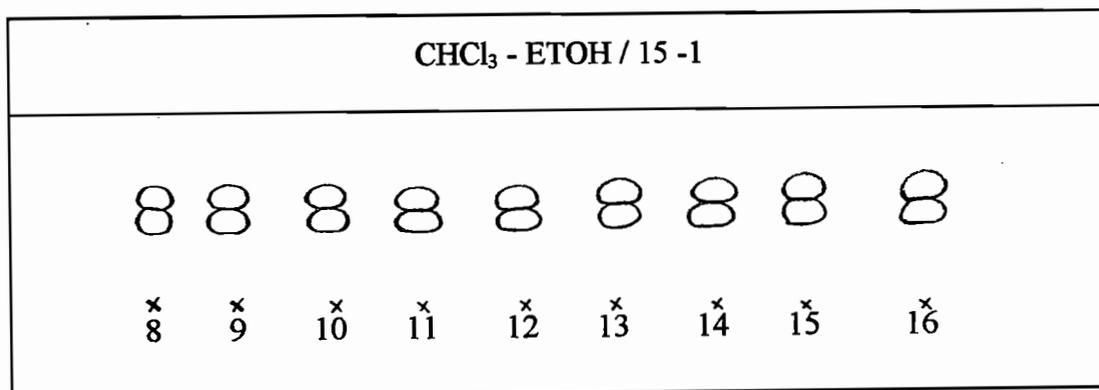
Chloroforme-éthanol 75-25/V-V , puis l'éthanol absolu. Avec le mélange chloroforme-éthanol , nous avons obtenu 15 fractions dans les flacons de 90 ml Ces flacons sont numérotés de A₈ à A₁₉ ; ces fractions ne contiennent pas de composés réagissant au permanganate de potassium.

L'élution de la colonne avec l'éthanol nous a permis de recueillir 7 fractions numérotés de A₂₀ à A₂₇.

Les fractions A₈ à A₁₆ renferment deux produits réagissant au permanganate de potassium de RF = 0,43 fluorescent violet à la lumière UV à 366 nm et RF = 0,45 (chromatogramme N°20).

Les fractions A₁₈ à A₂₇ renferment plusieurs produits réagissant au permanganate de potassium . (chromatogramme N°21)

Chromatogramme N°20: ccm des fractions A₈ à A₁₆



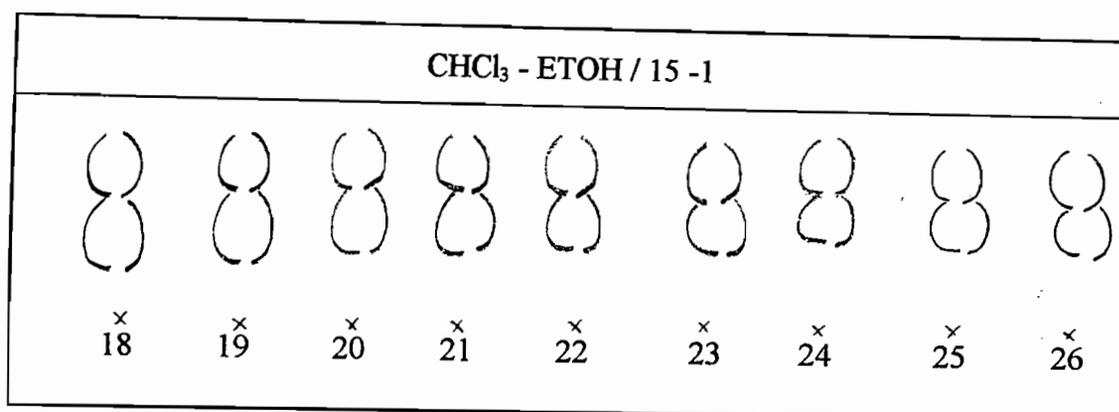
Support : plaque de Silice GF 254

Solvant de migration : CHCl₃-Ethanol 15-1/V-V

Revélateurs : lumière UV à 254 nm et 366 nm

: permanganate de potassium.

Chromatogramme N°21 : ccm des fractions A₁₈ à A₂₇



Support : plaque de Silice GF 254

Solvant de migration : CHCl₃-Ethanol 15-3/V-V

Revêlateurs : lumière UV à 254 nm et 366 nm
: permanganate de potassium.

. Chromatographie préparative sur plaque.

La purification par chromatographie préparative sur plaque de Silice HF 254 a concerné les constituants de la fractions G₁ et les fractions A₈ à A₁₆ obtenue de la colonne précédente.

* Préparation des plaques de Silice HF 254.
confère techniques générales d'étude.

*** Dépôts et élution**

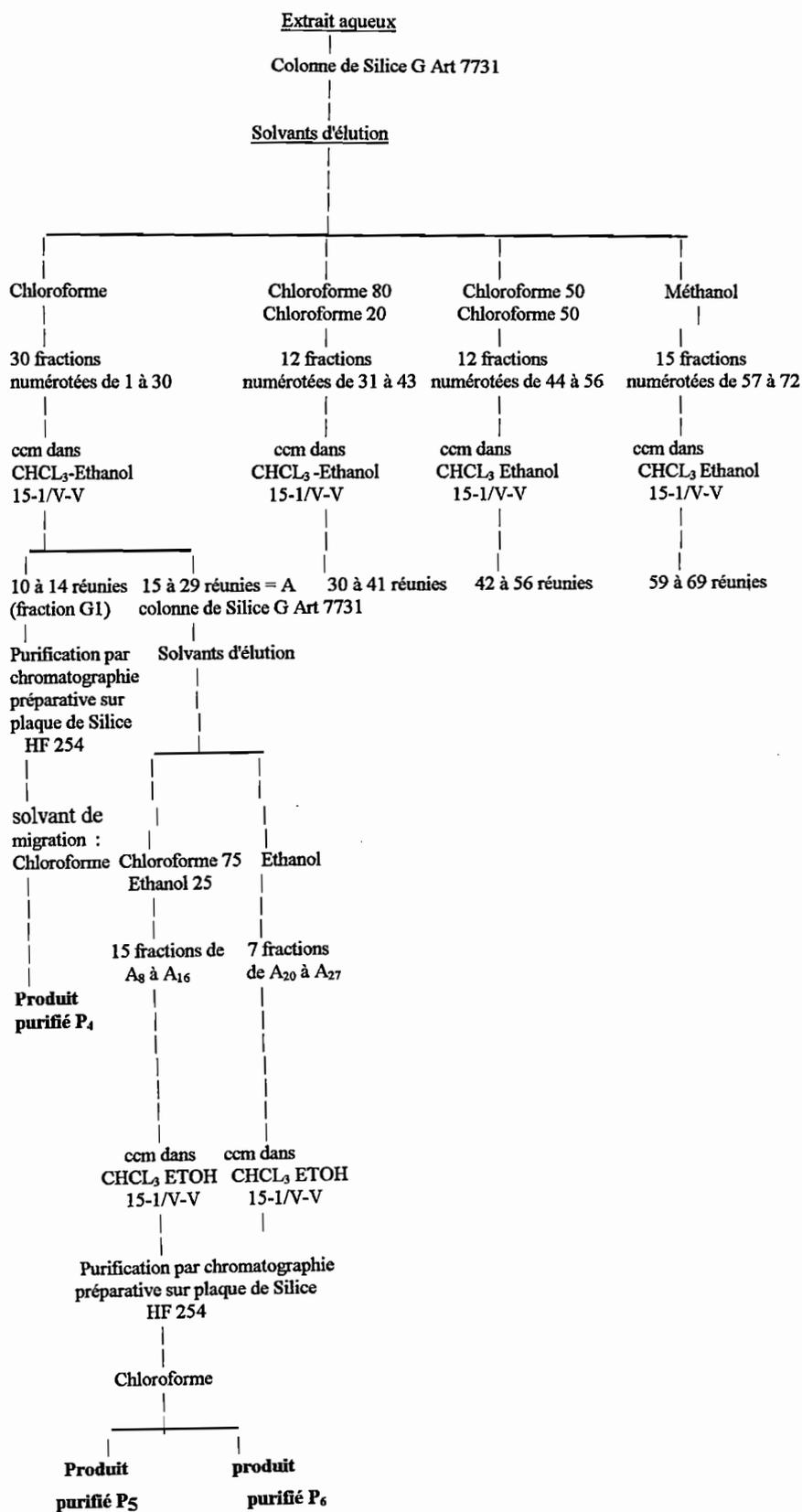
Les dépôts des fractions G₁, et A₈ à A₁₆ ont été effectués en point et sur toute la ligne de douze plaques en raison de six plaques par fraction (G₁ d'une part et A₈ à A₁₆ d'autre part). Ces plaques sont éluées par le mélange de solvant chloroforme-éthanol : 15-3/V-V.

Le chromatogramme nous montre pour la fraction G₁ un produit majoritaire fluorescent violet à la lumière UV à 254 nm dont le pourtour a été délimité et gratté à l'aide d'une lame.

La poudre recueillie dans chaque cas est introduite dans une colonne contenant à sa base un morceau de coton. Elle est ensuite éluée par le chloroforme qui entraîne le produit saponosidique dans un flacon propre.

Nous obtenons un produit purifié noté P₄. Il est soumis à une ccm de contrôle.

Pour les fractions A₈ à A₁₆ réunies nous obtenons deux bandes majoritaires de fluorescence qui sont aussi délimitées et grattées séparément. Nous obtenons, ainsi et de la même manière deux composés purs notés respectivement P₅ et P₆.

Figure N° 11: Schéma séparation - purification

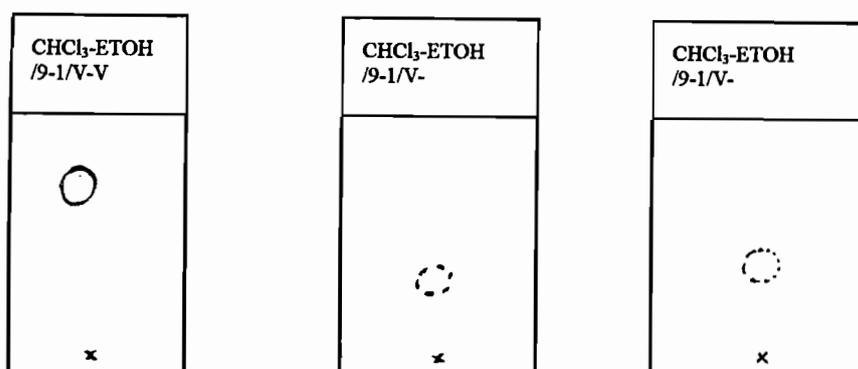
e. Identification des produits purifiés

Les produits P₄, P₅ et P₆ se présentent sous forme de masse jaune translucide, soluble dans le chloroforme. Pour leurs identifications nous avons utilisé les méthodes chromatographiques et spectrales.

. Méthodes chromatographiques

Ces méthodes sont utilisées pour contrôler la pureté des produits obtenus.

Chromatogramme N°22 : ccm de P₄, P₅, P₆ sur plaque de Silice GF 254



Produit : P₄

Produit : P₅

Produit : P₆

Support : plaque de Silice GF 254

Solvant de migration : CHCl₃- ETOH/9-1/V-V

Revélateurs : lumière UV à 254 nm et 366 nm
: permanganate de potassium

TABLEAU N°XXVI : Comportements chromatographiques de P₄, P₅ et P₆

PRODUITS	RF CHCl ₃ -Ethanol / 9-1	FLUORESCENCE A UV A 366 NM	COULEUR APRES REVELATION PAR KMnO ₄
P ₄	0,72	Violet sombre	Jaune claire
P ₅	0,36	Violet sombre	Jaune sombre
P ₆	0,38	Violet sombre	Jaune sombre

Seul le composé P₄ est obtenu en quantité relativement importante (10 mg). Nous avons réalisé son spectre dans l'ultra-violet

. Spectre dans l'ultra-violet du composé P₄

Nous avons réalisé le spectre ultra-violet du composé P₄ dissout dans le chloroforme pur. Nous avons utilisé un appareil de type PERKIN ELMER.

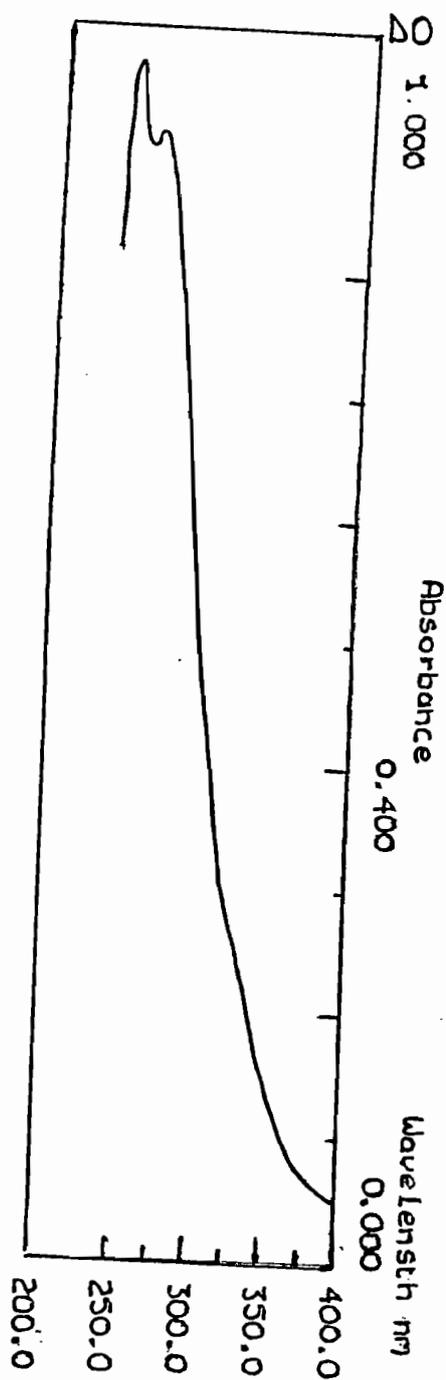
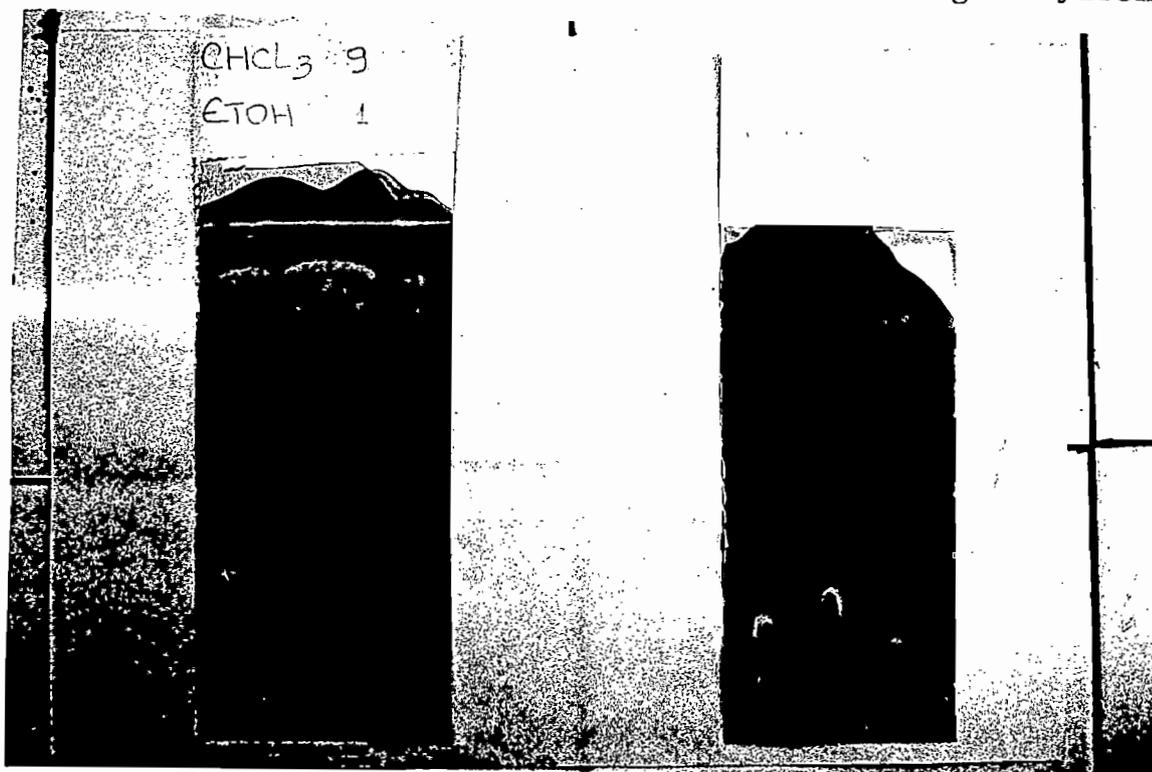
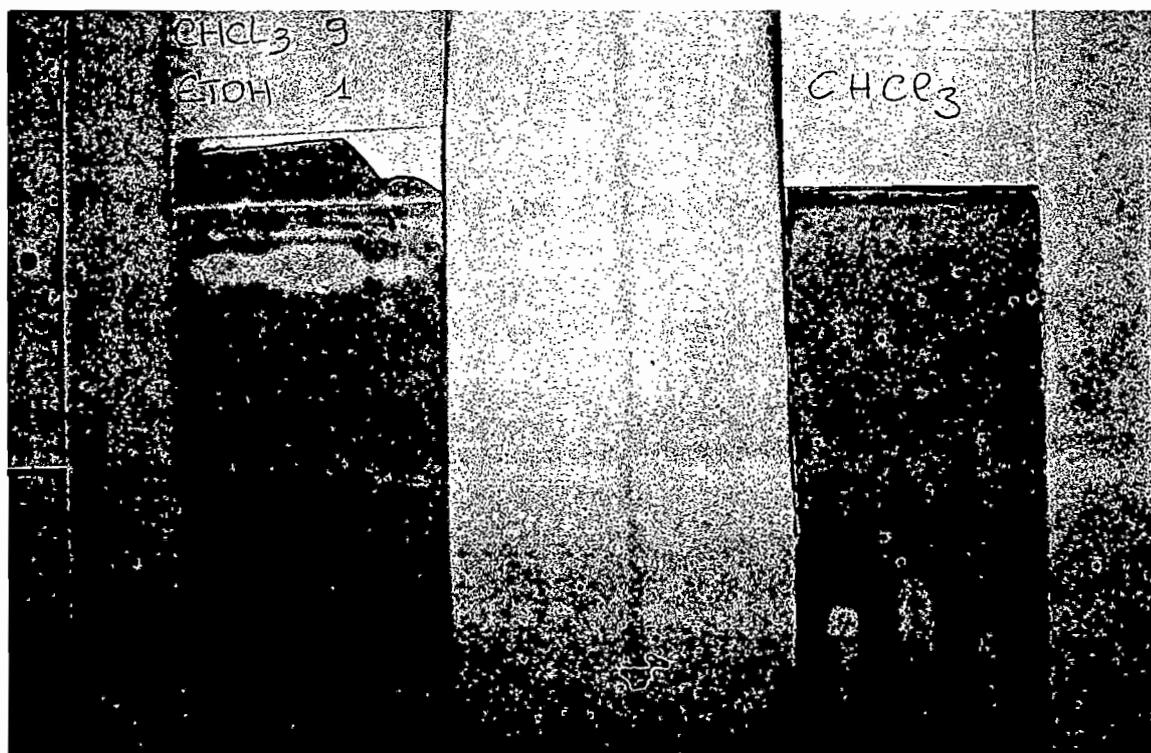


Figure N°11 : spectre UV du composé P₄ dans le chloroforme

Nous avons présenté ci-dessous les photos des chromatogrammes des produits purifiés P₂, P₃ (génines) et P₄ (hétéroside) dans le CHCl₃ pur et dans le mélange CHCl₃-ÉTOH / 9-1.



Chromatogramme des produits purifiés P₂, P₃ et P₄ après révélation au permanganate de potassium. (P₂ et P₃ = génines ; P₄ = hétéroside)



Chromatogramme des produits purifiés P₂, P₃ et P₄ après disparition du permanganate de potassium (P₂ et P₃ = génines ; P₄ = hétéroside)

CHAPITRE III - CONCLUSION

CONCLUSION

A l'issue de ces travaux, il convient d'abord de relever que l'étude phytochimique de Vernonia Kotschyana Sch.Bip. a été réalisé entièrement au laboratoire de phytochimie du Département Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé Publique. Nous nous y sommes familiarisé, au sein d'une équipe de recherche dynamique et accueillante, aux techniques de recherche phytochimique.

Dans la première partie de notre travail nous avons présenté les travaux antérieurs. Ils concernent les études botaniques (caractères organoleptiques, macroscopiques et microscopiques de la drogue) et pharmacologiques (activité préventive et curative sur les ulcères gastro-duodénaux). Nous avons particulièrement insisté sur ces chapitres dans la mesure où le Gastrosédal (poudre de racines de Vernonia kotschyana) est destiné à être un médicament d'avenir pour le Mali et toute la sous région. Nous espérons en être un promoteur efficace et être capable de procéder à l'expertise de la poudre dans les cas de falsification. La connaissance des caractères microscopiques nous y aidera. Il est utile de signaler ici que dans un but de profit, il arrive que le DMT reçoive à l'achat de la poudre de racines additionnée de farine de manioc.

La deuxième partie concerne nos travaux personnels. Ils sont essentiellement orientés sur la maîtrise des techniques de contrôle de qualité de la matière première et sur l'étude des constituants saponosidiques de la drogue. Nous avons appris à déterminer :

- la teneur en eau d'un échantillon végétal sec pour permettre sa conservation.
- les teneurs en cendres pour apprécier la pureté.
- le dosage de principes estimés actifs (ici les saponosides) pour apprécier l'activité thérapeutique.

Nous avons enfin réalisé une étude phytochimique dans le but de proposer une méthode d'extraction des saponosides. Nous avons choisis d'étudier concomitamment les génines et les hétérosides. Nous avons pu ainsi purifier six composés parmi lesquels trois sont des génines (P₁, P₂ et P₃) et trois autres qui peuvent être soit des hétérosides parceque appartenant à la phase aqueuse non hydrolysée soit des génines libres (P₄, P₅ et P₆). La quantité de produits purs obtenus n'a permis que la caractérisation des composés purs P₂ et P₄ par leurs spectres dans ultra-violet.

Notre espoir est que l'amélioration de la technique d'extraction et de séparation permettra au DMT d'obtenir des quantités plus importante de composés purs en vue de leur identification par les méthodes spectrales.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ABDOLOSSEIN R., NAZARIANS L.-1979-

Département of chemistry, National University of Iran even, Théhéran, Iran.
Hirustolide : a sesquiterpene lactom from Vernonia Cognota L (compositae) - Fitoterapia ; 6 (L) : 243.

2. ADJANOHOUNE. J. AND COLL - 1991-

Contribution to ethnobotanical and floristic studies in western NIGERIA.
Traditional medecine and pharmacopoeia - Organisation of African Unity/Scientific technical and research commission ; P : 317.

3. BAMBA D. BALANSARD G., MAILLAR DC., GAYTE-SORBIER A.- 1981

Etude des acides aminés de la feuille de Vernonia colorata (Willd) Drake Plantes médicinales et phytothérapie ; 18 (III) : 154.

4. BARBARAN N. T., HIROSUKEY, TOM J. M.-1973-

Sesquiterpènes lactones chemistry N. M. R and plant -Distribution ; P : 123

5. BERHAUT J. -1976-

Flore du Senégal-Editions Clairafrique-Dakar ; 2: 292-342.

6. BERNADES P.-1988-

Stratégie thérapeutique de l'ulcère duodéal - le concours médical ; P : 27-07

7. BRUNETON J.-1987-

Eléments de phytochimie et de pharmacognosie - technique et Documentation (Lavoisier) ; P : 296 - 314.

8. BURKILL H.M. -1986-

The use ful plants of west tropical Africa ; 2 (I) : 500-515.

9. DEYSSON G -1965-

Elements d'anatomie des plantes vasculaires ; P : 75-80.

10. DIALLO D., KOUMARE A., KOITA N. -1990-

Etude préliminaire d'une plante médicinale au Mali : Vernonia Kotschyana Sch. Bip. - Cahier spécial de l'INRSP ; 1 : 52-56

11. DIALLO H. -1996-

contribution à l'étude d'une préparation à activité anti-ulcère utilisée en médecine traditionnelle : le gastrosédal - Thèse Doc Phcie Bamako ; P : 25-26

12. DIAWARA C.-1988-

Contribution à l'étude botanique phytochimique et galénique d'une préparation de la pharmacopée malienne "Bouayé" ou Vernonia Kotschyana Sch. Bip. (ASTERACEAE) - thèse Doct PHCIE Bamako ; P : 19-20.

13. GANJIAN I., KUBO I., FLUDZINSKI P. -1983-

Insect antifeedant elemanolide Lactones From Vernonia amydalina Phytochemistry; 22:2525-2526

14. GUIGNARD J.L. _ 1986 Abrégé de Botanique; P:13-135**15. KEITA A. -1996** Dossier Technique du Gartrosédal; P: 31-37

16. KEITA I.- 1996 Contribution à l'étude de la toxicité du "Bouayé" : Poudre de tubercule de Vernonia Kotschyana sch.Bip. (Asteraceae) utilisé dans le traitement des ulcères gastro-duodénaux_

Thèse Doctorat en Pharmacie Bamako; P:36-54

17. KERHARO J.- 1974 Pharmacopée Traditionnelle Sénégalaise_ Plantes médicinales et toxiques; 2:645

18. KUPCHAN S.M. , HEMINGWAV, WERNERD, KARIM A.- 1986 Vernodaline and Vernomygdin , two new cytotoxic sesquiterpene lactone from Vernonia amydaline - Del J. Org. Chem; 34 : 3903-3908

19. KUPCHAN S.M.- 1987 Vernolepin a novel sesquiterpene dilactone tumor inhibitor from Vernonia hymenolepis - A Rich J. Org. Chem ; 34 : 2813-2820

20. KURT R. - 1971 chromatographie sur couche mince traduit de l'Allemand par Nguyen. Dan. Tam - revue et augmenté Gauthier-Villars; 2:56

21. LAEKEMAN G. - 1988 Isolation and pharmacological Study of Vernolepin and eugenol Antwerpen: P: 70-78

22. MABRY T. J. ; MARKHAM K. R, THOMAS M.B.- 1970 The systematic identification of flavonoids- springer Verlag : 110

23. MAIGA B. - 1988 Les ulcères gastro-duodénaux à Bamako - Thèse Doct Mèd Bamako : 40

24. MAIGA M.Y., GUINDO S., TRAORE H.A. , DEMBELE M., GUINDO A., KALLE A., PICHARD E. - 1995 Etude épidémiologique des affections oeso-gastro-duodénales au Mali, au moyen de la fibroscopie digestive haute. Les ulcères gastro-duodénaux à Bamako- *Medecine d'Afrique Noire* ; 2: 42

25. PHARMACOPEE AFRICAINE- 1988 Méthodes générales d'analyse. Organisation de l'unité Africaine - Commission scientifique technique et de la recherche; 1(II) : 83-90

26. PLEINARD J.F. - 1979 Saponosides de *Panax ginseng* - plantes médicinales et phytothérapie ; 13 (I) : 5

27. RAGUSA S., SANOGO R., GERMANO M.P. , LANK L2, DE PASQUALE R.- 1992 Caratterizzazione Morfologica DI - Université de Messine- Comité scientifique (INRSP) P: 20-21

28. RAPHAEL J. C.- 1989 Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar. Prévention des hémorragies gastro-duodénales de stress - *Revue des plantes médicinales et toxiques du Sénégal - Plantes médicinales et phytothérapie* ; 13 (I) : 75-80

29. RUSTAIYAN A. , NAZARIANOS L. - 1979 Hirsutolide : a sesquiterpène lactone from *Vernonia Cognata* - *Fitoterapia* ; 6(L) : 243

30. RWANGABO P. C. - 1986 Recherche des substances chimiques susceptibles de justifier l'activité biologique de quelques plantes utilisées en médecine traditionnelle Rwandaise - Ph. D thèse université of ANTWERP : 221-272

31. STAHL E.- 1974 Analyse chromatographique et microscopique de drogue. - Traduction de M. DENAYER- TOURNAY - *Entreprise moderne d'edition* : 30-34

32. TOUBIANA R., GAUDEMAR A. - 1967 Structure du Vernolide novel ester sesquiterpenique isolé de *Vernonia Colorata* - *Tetrahedron letters* ; 4 : 1333-1336

33. TOUBIANA R., MOMPON B., HO. C. M., TOUBIANA M. J. - 1973 Isolement du Vernodaline et du Vernolupine à partir du *Vernonia guineensis* - authenticité du squelette éléméntaire phytochimie ; 14 : 775-778

34. TOURE I. A. K. - 1990 Evaluation de l'efficacité thérapeutique d'une recette traditionnelle améliorée " Le Gastrosédal" dans le traitement des gastrites - thèse Doct Méd Bamako : 10

NOM: SOUMAHORO

PRENOM: AMARA

Titre de la these: Contribution à l'étude phytochimique du "Bouayé" : Vernonia kotschyana Sch.Bip. (Asteraceae) utilisé dans le traitement des ulcères gastro-duodénaux.

Année : 1996 - 1997

Ville de soutenance : Bamako

Pays D'origine : Côte D'Ivoire

Lieu De Depot : BIBLIOTHEQUE Ecole nationale de Médecine et de Pharmacie

Secteur D'Interêt: PHARMACIE (Médecine Traditionnelle)

Resumé: Notre travail a porté sur l'étude phytochimique d'une Asteraceae, Vernonia kotschyana Sch. Bip. plante médicinale utilisée actuellement dans le traitement de l'ulcère gastro- duodéal.

Nous avons contrôlé la qualité de la matière première dont la microscopie révèle la présence de macles de calcium caractéristiques ; les teneurs en eau, en cendres sont strictement dans les normes de la pharmacopée.

L'indice de gonflement, caractéristique des mucilages et l'indice de mousse , de la presence des saponosides , sont très spécifiques.

L'étude des saponosides à partir de l'extrait aqueux a permis , la purification par chromatographie de six produits dont trois génines et trois hétérosides ; ils ont été caractérisés par leur spectre dans l'Ultra-violet comme appartenant au groupe chimique des saponosides.

MOTS - CLES : Vernonia kotschyana Sch. Bip. , phytochimie , poudre de racine , saponosides, extrait aqueux, ulcère gastro-duodéal.