

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI

**Un Peuple-Un But-Une Foi**

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES  
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO



**Faculté de Pharmacie**



Année Universitaire : 2018-2019

Thèse N °.....

**Titre**

**Contribution à la détermination des éléments de contrôle  
de qualité botanique et phytochimique de quatre plantes  
du Mali, sources de colorants utilisés dans les  
formulations médicamenteuses.**

**Thèse**

Présentée et soutenue publiquement le 23/12/2019 devant le jury de la faculté

**Par : Moussa GUINDO**

En vue d'obtenir le Grade de Docteur en PHARMACIE (Diplôme d'Etat)

**Jury**

Président

Pr Boubacar Sidiki CISSÉ

Membres

Pr Ag. Bourema KOURIBA

Dr Madani MARIKO

Directrice

Pr Rokia SANOGO

## Liste des membres de l'administration et du corps enseignant de la faculté de pharmacie Année universitaire : 2017-2018

### ADMINISTRATION

**DOYEN** : M. Boubacar TRAORE, Professeur

**VICE-DOYEN** : M. Ababacar I MAIGA, Professeur

**SECRÉTAIRE PRINCIPAL** : M. Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

**AGENT COMPTABLE** : M. Famalé DIONSAN, Inspecteur des Finances.

### PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologue
2	Mahamadou	CISSE	Biologie
3	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
4	Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
5	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
6	Ousmane	DOUMBIA	Chimie Thérapeutique
7	Boukassoum	HAÏDARA	Législation
8	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
9	Alou A.	KEÏTA	Galénique
10	Mamadou	KONE	Physiologie
11	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
12	Brehima	KOUMARE	Pharmacognosie
13	Abdourahamane S.	MAÏGA	Parasitologie
14	Elimane	MARIKO	Pharmacologie

### **DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES**

#### 1. PROFESSEURS /DIRECTEURS DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Abdoulaye	DABO	Biologie/Parasitologie
4	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique

5	Alassane	DICKO	Santé Publique
6	Abdoulaye	DJMIDE	Parasitologie – Mycologie
7	Amagana	DOLO	Parasitologie – Mycologie
8	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique / Nutrition
9	Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
10	Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

## 2. MAITRES DE CONFÉRENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie – Virologie
2	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
3	Kassoum	KAYENTAO	Santé /Bio-Statistique
4	Bourèma	KOURIBA	Immunologie <b>Chef de DER</b>
5	Ousmane	TOURE	Santé Publique/Santé environnement
6	Issaka	SAGARA	Bio-statistique
7	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Bio-statistique

## 3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie clinique
6	Souleymane	DAMA	Parasitologie Entomologie méd.
7	Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
8	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
9	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie clinique
10	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
11	Yaya	GOÏTA	Biochimie Clinique
12	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie-virologie
13	Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
14	Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
15	Birama Apho	LY	Santé publique

16	Dionkorma	OUOLOGUEM	Biologie cellulaire
17	Almoustapha Issiaka	MAIGA	Bactériologie-Virologie
18	Oumar	SANGARE	Epidémiologie
19	Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire

#### 4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
4	Merepen dit Agnès	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KEÏTA	Santé publique/Santé Environnement
6	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
8	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

#### DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

##### 1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Saïbou	MAÏGA	Législation
3	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie <b>Chef de DER</b>

##### 2. MAITRES DE CONFÉRENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
-	Néant	-	-

##### 3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
6	Mahamane	HAIDARA	Pharmacognosie

7	Hamma Boubacar	MAÏGA	Galénique
8	Moussa	SANOGO	Gestion
9	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

#### 4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
3	Adama	DENOU	Pharmacognosie
4	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
5	Assitan	KALOGA	Législation
6	Ahmed	MAÏGA	Législation
7	Aïchata Ben Adam	MARIKO	Galénique
8	Aboubacar	SANGHO	Législation
9	Bourama	TRAORE	Législation
10	Karim	TRAORE	Sciences pharmaceutiques
11	Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutique
12	Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
13	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière

### DER : SCIENCES DU MÉDICAMENT

#### 1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Ousmane	DOUMBIA	Pharmacie chimique
2	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
3	Ababacar I.	MAÏGA	Toxicologie

#### 2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie <b>Chef de DER</b>

#### 3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
2	Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique

4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
6	Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

#### 4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
3	Blaise	DACKOOU	Chimie analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Chimie analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie analytique

### DER : SCIENCES FONDAMENTALES

#### 1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mouctar	DIALLO	Biologie/ <b>Chef de DER</b>
2	Cheick F.	TRAORE	Biologie/ Entomologie
3	Mahamadou	TRAORE	Génétique

#### 2. MAITRES DE CONFÉRENCES/MAITRES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée

#### 3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mamadou lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
1	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
2	Boureima	KELLY	Physiologie médicale

#### 4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

#### CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Adourahamane	COULIBALY	Anthropologie médicale
4	Souleymane	COULIBALY	Psychologue
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Modibo	DIARRA	Nutrition
7	Moussa I	DIARRA	Biophysique
8	Babacar	DIOP	Chimie
9	Atimé	DJIMDE	Bromatologie
10	Yaya	KANE	Galénique
11	Boubacar	KANTE	Galénique
12	Aboubakary	MAÏGA	Chimie organique
13	Massambou	SACKO	SCMP/SIM
14	Modibo	SANGARE	Anglais
15	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
16	Mme Fatoumata	SOKONA	Hygiène du milieu
17	Fana	TANGARA	Maths
18	Abdel Kader	TRAORE	Pathologies médicales
19	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
20	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

**DEDICACES &  
REMERCIEMENTS**



## DEDICACES

---

Je tiens tout d'abord à remercier **ALLAH** (*Azawajal*), le tout Puissant, le tout Miséricordieux, le très Miséricordieux, et son envoyé le prophète **Mohamed** (*Paix et Salut sur lui*).

### **Je dédie ce présent travail**

#### **A ma Mère : Aminata GUINDO**

*Maman, merci beaucoup pour votre patience, votre attention et votre persévérance à mon égard je ne saurais comment vous remercier après tant d'effort et d'inquiétude pour vos enfants. La réussite de ce travail est aussi due à l'éducation et au courage dont vous avez fait preuve envers moi.*

*Sachez que l'amour que je vous porte est infini. Que Dieu vous donne une longue vie pleine de piété, de bonheur et de santé.*

#### **A mon Père : Saliou GUINDO**

*Papa, je ne pourrais jamais assez-vous remercier pour vos multiples conseils, la confiance que vous avez placée en moi, et l'éducation que vous m'avez inculquée. Merci de m'avoir soutenue, encouragé et guidé tout au long de ma vie. Ce travail est également le vôtre.*

*Je suis fière de portée le même que celui de votre père, et je suis encore plus fière d'être votre fils. Puisse Allah vous donnez une longue vie pleine de piété, de bonheur et de santé.*

#### **A mes Sœurs et à mes Frères :**

*Votre soutien et votre assistance dont j'ai bénéficié tout au long de mes études ont été déterminants. Merci à tous de m'avoir encouragé. Puisse Dieu préserver l'unité et la force de notre famille.*

## REMERCIEMENTS

---

### **Au corps professoral de la Faculté de Pharmacie (FAPH) de Bamako :**

Je saisis cette occasion pour vous exprimer mes sentiments de gratitude. Merci d'avoir pleinement contribué à ma formation. L'enseignement que vous nous avez dispensé avec tant de dévouement restera un précieux souvenir qui nous guidera tout au long de notre vie professionnelle

Veillez mes chers maîtres, agréer l'expression de notre profonde reconnaissance.

### **A mes camarades thésards du laboratoire du DMT**

Ahmadou Pierre Sangaré, Corina Amani, Yacouba Traoré, Fadima Belem, Lamine Diarra, Daouda Diarra, Bina Coulibaly, Abdoulaye Keita, Sidi Mohamed Traoré, Hawa Coulibaly, Hamadoun Touré, Youssouf Koné.

Je n'oublierai jamais ce temps formidable de joie et de partage de connaissances scientifiques entre collègues. Que Dieu nous aide à prospérer tout au long de notre carrière

### **A toute ma promotion**

Merci pour les moments partagés. La fraternité, la solidarité et l'attente qui nous ont permis d'arriver au bout malgré les multiples difficultés. Que Dieu nous assiste au cours de notre carrière.

## MENTION SPECIALE

---

Au Professeur **Rokia SANOGO**, merci Professeure pour votre accueil, votre patience, votre soutien, votre compréhension, votre rigueur dans le travail bien fait et l'enseignement de haute qualité, dont vous avez fait preuve tout au long de ce travail, merci pour tout, merci d'avoir été là pour nous, que Dieu vous accorde une longue vie pleine de santé, de bonheur, de prospérité et surtout de succès dans toutes vos actions et faits de tous les jours.

Au **Docteur Mamadou Lamine Diarra, Docteur Haidara Mahamane, Docteur Amadou Diakité, Docteur Dénou Adama, Docteur Birama Diarra, Docteur Marie Sogoba, Docteur Sekou Doumbia et Docteur Amadou Coumaré**, merci pour tous vos conseils, votre disponibilité et toute l'attention que vous nous avez accordée tout au long de cette thèse. Que Dieu vous bénisse et vous garde longtemps près de nous.

Aux personnels du Département de Médecine Traditionnelle : **tonton Fagnan Sanogo, tante Nandi, Mme Koné Korotoumou, N'Golo Ballo, tonton Ouologuème et tonton Adama Camara**, merci pour votre aide et votre sympathie tout au long de ce travail. Ce travail laborieux m'a permis de contribuer aux réflexions contemporaines de la science (Pharmacie) et d'ouvrir les yeux aux prodiges du monde intellectuel.

**HOMMAGES AUX  
MEMBRES DU JURY**

**A notre Maître et Président du Jury : Professeur Boubacar Sidiki CISSÉ**

- ✓ **Professeur honoraire de toxicologie à la FAPH de l'USTTB**
- ✓ **Ancien recteur de l'Université du Mali**
- ✓ **Correspondant Membre Etranger de l'Académie de Pharmacie de France**
- ✓ **Membre Associé de l'Académie National des Science et Techniques du Sénégal**
- ✓ **Ex-directeur du Centre d'infectiologie Charles Mérieux**
- ✓ **Secrétaire perpétuel de l'Académie des Sciences du Mali**

Cher Maître ;

Vous nous faites un grand honneur en acceptant la présidence de notre jury de thèse.

Nous avons été impressionnés par la promptitude et la modestie avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail malgré vos multiples sollicitations.

Votre dévouement, votre rigueur scientifique font de vous un maître exemplaire de renommée internationale et de surcroît, apprécié de tous.

Veillez accepter cher maître, nos sentiments d'estime et de profond respect.

**A notre Maître et membre de jury : Professeur Bourema KOURIBA**

- ✓ **Maître de Conférences Agrégé d'Immunologie à la FAPH**
- ✓ **Chef du Département des Sciences Biologiques et Médicales de la FAPH**
- ✓ **Chef de l'Unité d'Immunologie Cellulaire et moléculaire du MRTC/DEAP**
- ✓ **Directeur de la recherche et de l'enseignement du Centre d'infectiologie Charles Mérieux**
- ✓ **Lauréat du caducée de la recherche du SYNAPPO en 2014**
- ✓ **Président de la Société Malienne d'Immunologie**

Cher Maître ;

Au-delà de votre engagement dans la recherche scientifique, de vos qualités pédagogiques, de votre dévouement pour le travail bien fait, de votre disponibilité constante, vous êtes la preuve que le partage de la bonne humeur, du respect mutuel et de la générosité est gage du rehaussement de la culture de l'excellence.

Veillez accepter cher Maître, le témoignage de notre profond respect, de notre sincère gratitude et de nos remerciements les mieux exprimés.

**A notre Maître et membre de jury : Docteur Madani MARIKO**

- ✓ **Docteur en pharmacie**
- ✓ **Maitre assistants (CAMES) en Chimie analytique bromatologie**
- ✓ **Titulaire d'un PhD en Chimie Analytique**
- ✓ **Titulaire d'un Master en Chimie Physique**

Cher Maître ;

C'est un réel privilège pour nous de vous compter parmi les membres de ce jury.

Votre simplicité, votre modestie, votre sens de l'honneur, votre amour pour le travail bien fait font de vous une référence.

Veillez agréer cher Maître, l'expression de notre profonde gratitude et de notre sincère reconnaissance.

**A Notre Cher Directrice de Thèse : Professeur Rokia SANOGO**

- ✓ **Première femme professeur agrégée en Pharmacie au Mali**
- ✓ **Professeur titulaire et enseignante chercheure de Pharmacognosie à la Faculté de Pharmacie de Bamako**
- ✓ **Présidente du comité scientifique interne et membre du comité scientifique et technique de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP)**
- ✓ **Chef du Département de Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP)**
- ✓ **Lauréate du tableau d'honneur de l'Ordre National des Pharmaciens (CNOF) du Mali et lauréate du Caducée de la Recherche du SYNAPPO en 2009.**
- ✓ **Lauréate du prix Scientifique Kwamé Nkrumah de l'Union Africaine pour les femmes scientifiques (niveau régional, Edition 2016)**
- ✓ **Membre titulaire de l'Académie des Sciences du Mali**

Vous nous avez fait un grand honneur en nous acceptant dans votre service et cela, avec la plus grande amabilité qui soit.

Votre simplicité, votre générosité, et votre culture scientifique font de vous une femme remarquable.

Nous garderons de vous l'image d'une femme de sciences patiente et dévouée, toujours à l'écoute de ses étudiants.

Veillez agréer Professeure Sanogo, l'assurance de notre profonde reconnaissance.



## Abréviations

---

**Aco-Met-Af-H<sub>2</sub>O** : système d'éluant obtenu grâce à un mélange d'Acide Acétique, de Méthyléthylcétone, d'Acide formique, et Eau suivant une proportion de 50 : 30 : 10 : 10.

**B.A.W** : système d'éluant obtenu grâce à un mélange de Butanol, d'acide acétique, et d'eau suivant une proportion de 60 : 20 : 20

***B. orellana*** : *Bixa orellana* L.

***B. vulgaris*** : *Beta vulgaris* L.

**CCM** : Chromatographie sur couche mince

**cm** : Centimètre

**CRMT** : Centre Régional de Médecine Traditionnelle

**D&C** : Drugs and cosmetics

**DJA** : Dose journalière admissible.

**DL50** : Dose létale 50

**DMT** : Département de médecine traditionnelle

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**EDTA** : Éthylènediaminetétraacétique

**EFSA** : European Food Safety Authority (Autorité européenne de sécurité des aliments).

**FD&C**: Food drugs and cosmetics

**FDA** : Food and Drug Administration

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer (III)

**g** : gramme

**g/mol** : gramme par mole

***H. sabdariffa*** : *Hibiscus sabdariffa* L.

**HDL** : High density lipoprotein

***I. tinctoria*** : *Indigofera tinctoria* L.

**INRSP** : l'Institut National de Recherche en Santé Publique

**IV** : Intraveineuse

**Kg** : Kilogramme

**m** : Mètre

**mg** : Milligramme

**ml** : Millilitre

**mm** : Millimètre.

**MTA** : Médicaments traditionnels améliorés

**nm** : Nanomètre

**ppm** : Partie par million

**Rf** : Rapport frontal

**TDAH** : Trouble du déficit d'attention avec ou sans hyperactivité.

**TGA** : Therapeutic Goods Administration

**UE** : Union européenne

**µg** : Microgramme

**µl** : Microlitre

**UV** : Ultraviolet.

---

<b>Tableau I :</b> Caractères macroscopiques des échantillons provenant des plantes étudiées.....	67
<b>Tableau II :</b> caractères organoleptiques des poudres des échantillons provenant des plantes étudiées.....	67
<b>Tableau III :</b> Résultats de la séparation par CCM des différents extraits dans le système de solvant : Acide Acétique – Méthyléthylcétone – Acide formique – Eau (50 : 30 : 10 : 10) ; après observation à la lumière naturelle, sous UV à 254 et 366 nm, et après révélation au FeCl <sub>3</sub> .....	84
<b>Tableau IV :</b> Résultats de la séparation par CCM des différents extraits dans le système de solvant : Butanol – Acide acétique – Eau (60 : 20 : 20) ; après observation à la lumière naturelle, sous UV à 254 et 366 nm, et après révélation au DPPH.....	85

---

<b>Figure 1</b> : Formule chimique développée de la curcumine.....	9
<b>Figure 2</b> : Structures de base des Chlorophylles a et b.....	10
<b>Figure 3</b> : Formule développée de la crocine (R= gentiobiose).....	11
<b>Figure 4</b> : Formules développées de la $\beta$ (A), $\alpha$ (B), $\gamma$ (C), et $\delta$ -carotène (D).....	12
<b>Figure 5</b> : Formule développée de la capsanthine (A) et de la capsorubine (B).....	12
<b>Figure 6</b> : Formule développée du lycopène.....	13
<b>Figure 7</b> : Formule développée de la lutéine.....	14
<b>Figure 8</b> : Formule développée de la bixine et de la norbixine.....	14
<b>Figure 9</b> : Formule développée de la bétanine.....	15
<b>Figure 10</b> : Structure chimique de base des anthocyanes.....	15
<b>Figure 11</b> : Formule développée du carmin d'indigo.....	16
<b>Figure 12</b> : Formule développée de la tartrazine.....	18
<b>Figure 13</b> : Formule développée du Jaune orange Sunset.....	19
<b>Figure 14</b> : Formule développée de l'amarante rouge.....	20
<b>Figure 15</b> : Formule développée de la xanthène.....	21
<b>Figure 16</b> : Formule développée de l'érythrosine.....	22
<b>Figure 17</b> : Formule développée de la quinophtalone.....	23
<b>Figure 18</b> : Formule développée du jaune de quinoléine.....	23
<b>Figure 19</b> : Formule développée du triphénylméthane.....	24
<b>Figure 20</b> : Formule développée du bleu brillant FCF.....	25
<b>Figure 21</b> : Vue photographique du Département Médecine Traditionnelle (DMT).....	27
<b>Figure 22</b> : Vue photographique du rotavapor.....	32
<b>Figure 23</b> : Vue photographique de <i>Bixa orellana</i> .....	35

<b>Figure 24</b> : Vue photographique des feuilles de <i>Bixa orellana</i> .....	36
<b>Figure 25</b> : Vue photographique d'une fleur <i>Bixa orellana</i> .....	37
<b>Figure 26</b> : Vue photographique des fruits de <i>Bixa orellana</i> .....	37
<b>Figure 27</b> : Vue photographique des graines de <i>Bixa orellana</i> .....	38
<b>Figure 28</b> : Carte de répartition de <i>Bixa orellana</i> (planté) en Afrique.....	39
<b>Figure 29</b> : Formules développées de la bixine et de la norbixine (Formes cis et trans).....	40
<b>Figure 30</b> : Vue photographique des rameaux feuillés de <i>Indigofera tinctoria</i> .....	45
<b>Figure 31</b> : Vue photographique des fruits de <i>I. tinctoria</i> .....	46
<b>Figure 32</b> : Carte de répartition géographique de <i>Indigofera tinctoria</i> en Afrique.....	47
<b>Figure 33</b> : Formule développée de l'indigotine.....	47
<b>Figure 34</b> : Vue photographique illustrant des comprimés de Valium® colorés par l'indigotine.....	48
<b>Figure 35</b> : Vue photographique des racines de <i>Beta vulgaris</i> .....	52
<b>Figure 36</b> : Vue photographique des tiges feuillées de <i>Beta vulgaris</i> .....	53
<b>Figure 37</b> : Vue photographique des fruits de <i>B. vulgaris</i> .....	53
<b>Figure 38</b> : Carte de la répartition géographique de <i>B. vulgaris</i> (planté) en Afrique.....	54
<b>Figure 39</b> : Formule chimique de base des bétalaïnes.....	55
<b>Figure 40</b> : Vue photographique d'une boîte de SUPRADYN BOOST®.....	56
<b>Figure 41</b> : Vue photographie des tiges feuillées de <i>Hibiscus sabdariffa</i> .....	60
<b>Figure 42</b> : Vue photographique d'une fleur de <i>Hibiscus sabdariffa</i> .....	61
<b>Figure 43</b> : Vue photographique de deux Calices de <i>Hibiscus sabdariffa</i> .....	61
<b>Figure 44</b> : Carte de la répartition géographique de <i>Hibiscus sabdariffa</i> (planté) en Afrique.....	62
<b>Figure 45</b> : Formule développée de la delphinidine 3-sambubioside.....	63

<b>Figure 46</b> : Vue photographique d'une plaquette de STREPSILS FRAISE SANS SUCRE.....	64
<b>Figure 47</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un fragment d'épiderme avec Stomates.....	68
<b>Figure 48</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'une fibre.....	69
<b>Figure 49</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème spiralé à ponctué.....	69
<b>Figure 50</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème spiralé.....	70
<b>Figure 51</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème ponctué.....	70
<b>Figure 52</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un poil sécréteur unicellulaire.....	71
<b>Figure 53</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un parenchyme.....	71
<b>Figure 54</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème spiralé.....	72
<b>Figure 55</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un fragment d'épiderme.....	72
<b>Figure 56</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un parenchyme.....	73
<b>Figure 57</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'une fibre contenant un xylème spiralé à ponctué.....	73
<b>Figure 58</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un poils sécréteur unicellulaire.....	74
<b>Figure 59</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'une fibre.....	74
<b>Figure 60</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un phloème.....	75
<b>Figure 61</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un poils sécréteur unicellulaire.....	75
<b>Figure 62</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème ponctué.....	76
<b>Figure 63</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème spiralé.....	76
<b>Figure 64</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème spiralé à ponctué.....	77
<b>Figure 65</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un fragment de poil tecteur.....	77
<b>Figure 66</b> : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un parenchyme.....	77

<b>Figure 67</b> : Image d'une de nos plaques chromatographiques, prise à la lumière naturelle, après séparation des extraits dans le système de solvant : Acide Acétique – Méthyléthylcétone – Acide formique – Eau (50 : 30 : 10 : 10).....	78
<b>Figure 68</b> : Image d'une de nos plaques chromatographiques, prise à la lumière naturelle, après séparation des extraits dans le système de solvant : Butanol – Acide acétique – Eau (60 : 20 : 20).....	79
<b>Figure 69</b> : Image d'une de nos plaques chromatographiques, prise sous éclairage UV à 254nm, après séparation des extraits dans le système de solvant : Butanol – Acide acétique – Eau (60 : 20 : 20).....	80
<b>Figure 70</b> : Image d'une de nos plaques chromatographiques, prise sous éclairage UV à 366nm, après séparation des extraits dans le système de solvant : Butanol – Acide acétique – Eau (60 : 20 : 20).....	81
<b>Figure 71</b> : Image d'une de nos plaques chromatographiques révélée par le FeCl <sub>3</sub> après séparation des extraits dans le système de solvant : Acide Acétique – Méthyléthylcétone – Acide formique – Eau (50 : 30 : 10 : 10).....	82
<b>Figure 72</b> Image d'une de nos plaques chromatographiques révélée par le DPPH après séparation des extraits dans le système de solvant : Butanol – Acide acétique – Eau (60 : 20 : 20).....	83

---

<b>1. INTRODUCTION</b> .....	1
<b>2. OBJECTIFS</b> .....	4
<b>3. GÉNÉRALITÉS</b> .....	5
<b>3.1 Historique des colorants</b> .....	5
<b>3.2 Colorants utilisés dans les médicaments</b> .....	6
3.2.1 Listes et Réglementations.....	6
3.2.2 Grandes classes de colorants.....	7
<b>3.3 Toxicité des colorants synthétiques</b> .....	17
3.3.1 Colorants azoïques.....	18
3.3.2 Xanthènes.....	21
3.3.3 Quinophtalones.....	22
3.3.4 Dérivés du triarylméthane.....	24
<b>4. MATÉRIELS ET MÉTHODES</b> .....	26
<b>4.1 Cadre d'étude</b> .....	26
<b>4.2 Type et période d'étude</b> .....	28
<b>4.3 Méthodes d'étude</b> .....	28
4.3.1 Méthode botanique.....	28
4.3.2 Méthode phytochimique.....	30
<b>5. RÉSULTATS</b> .....	34
<b>5.1 Monographie des quatre plantes</b> .....	34
5.1.1 <i>Bixa orellana</i> L. ....	34
5.1.2 <i>Indigofera tinctoria</i> L. ....	44
5.1.3 <i>Beta vulgaris</i> L. ....	51
5.1.4 <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. ....	59
<b>5.2 Contrôle de qualité botanique</b> .....	67
<b>5.3 Résultats de l'analyse phytochimique</b> .....	78
<b>6. DISCUSSION</b> .....	88
<b>7. CONCLUSION &amp; RECOMMANDATIONS</b> .....	91
<b>7.1 Conclusion</b> .....	91
<b>7.2 Recommandations</b> .....	92
<b>8. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	93



# 1. Introduction

---

Les colorants sont des substances naturelles ou synthétiques, qui, mises en contact avec un support, dans des conditions appropriées, se fixent sur ce dernier de façon durable en lui communiquant une certaine couleur [1].

Les colorants synthétiques sont obtenus par synthèse chimique et les colorants naturels proviennent de sources animales, minérales et végétales.

Il existe plusieurs classes de colorants selon leurs structures chimiques, leurs colorations et leurs domaines d'utilisations.

Ils sont aujourd'hui très largement utilisés et jouent un rôle essentiel dans de nombreux domaines tel que : la teinturerie, l'alimentation, la chimie, la biologie et la santé.

Dans le domaine pharmaceutique, l'ajouts de colorants à la formulation d'un médicament a pour but :

- ✓ d'augmenter l'attractivité du produit, et donc son acceptabilité, surtout chez les enfants ;
- ✓ de rendre une préparation plus uniforme lorsqu'un ingrédient de la formulation a lui-même un aspect variable d'un lot à l'autre [2] ;
- ✓ de permettre aux patients qui utilisent plusieurs produits, en particulier ceux qui ont des difficultés pour lire, de reconnaître et de différencier plus aisément les médicaments prescrits ; à noter aussi que l'utilisation de différentes couleurs pour différentes compositions (en principes actifs) du même médicament peut aussi aider à éliminer les erreurs ;
- ✓ de juger de la bonne conservation d'un médicament, car un changement de coloration au cours du stockage peut généralement attester d'une possible altération du principe actif [3],
- ✓ servir de code marketing et potentiellement, augmenter l'efficacité du médicament à travers un effet placebo : par exemple les colorants jaunes ou oranges sont associés le

plus souvent aux fortifiants, les teintes pastels aux sédatifs, le bleu à un effet relaxant, et le rouge aux effets stimulants [3] ;

- ✓ certains colorants ou pigments insolubles présentent l'avantage supplémentaire, lorsqu'ils sont utilisés dans des enrobages de comprimés ou des enveloppes de gélulines, de fournir une opacité utile, ce qui peut contribuer à la stabilité des matières actives photosensibles dans la formulation des comprimés ou des capsules [4] ;
- ✓ une combinaison couleur - forme - logo en relief ou imprimé, pourrait dans certains cas, aider à prévenir la contrefaçon [2, 5].

La grande majorité des colorants entrant dans la composition des médicaments est obtenu par synthèse chimique. A cause d'une certaine toxicité, l'usage de ces colorants est soumis à de nombreuses réglementations. De nombreuses études menées au cours de ces dernières années ont confirmé un risque potentiel pour la santé humaine [6]. Certains de ces colorants auraient entre autres des propriétés cancérogènes, tératogènes, génotoxiques, allergisantes [7]. Cette toxicité limite leur exploitation par l'industrie pharmaceutique. C'est pour ces raisons que des colorants naturels sont constamment recherchés comme une alternative.

Notre étude a pour but d'effectuer une revue des colorants naturels et d'analyser quatre plantes renfermant des colorants utilisés par l'industrie pharmaceutique.

Ce travail s'inscrivant dans une perspective de valorisation de nos ressources naturelles, il est motivé par la volonté de mettre en lumière le potentiel que dispose les plantes colorantes, notamment dans le domaine pharmaceutique.

## 2. OBJECTIFS

---

### 2.1 Objectif général

Identifier quelques éléments de contrôle de qualité botanique et phytochimique de quatre plantes du Mali, sources de colorants utilisés dans les formulations médicamenteuses.

### 2.2 Objectifs spécifiques

- Rédiger la Monographie des quatre plantes sélectionnées : *Bixa orellana*, *Indigofera tinctoria*, *Beta vulgaris*, et *Hibiscus sabdariffa*.
- Décrire quelques caractéristiques des organes cibles des quatre plantes (*Bixa orellana*, *Indigofera tinctoria*, *Beta vulgaris*, et *Hibiscus sabdariffa*) sources potentielles de colorants.
- Décrire les caractères organoleptiques de ces organes utilisés.
- Déterminer les éléments d'identification botanique de ces organes à l'échelle microscopique pour leur contrôle.
- Séparer les différents composés phytochimiques que renferment les parties de ces quatre plantes utilisées, par chromatographie sur couche mince.

## 3. GÉNÉRALITÉS

---

### 3.1 Historique des colorants

Les premières utilisations de colorants remontent à la préhistoire. A cette époque, les Hommes utilisaient dans les grottes, des pigments minéraux tel que l'ocre, l'oxyde de manganèse ou l'oxyde de fer (encore utilisé aujourd'hui pour colorer des médicaments) pour représenter à travers des dessins, le monde dans lequel ils vivaient [8, 9]. Dès 1500 ans avant notre ère, Les égyptiens réalisaient des teintures à partir de colorants naturels d'origine végétale ou animale. Toutefois, l'usage de ces colorants était restreint, et restait réservé aux plus riches du fait de l'extraction difficile, longue et coûteuse. Les racines de la garance des teinturiers (pour le rouge), les feuilles de plantes à indigo tel que le pastel des teinturiers (pour le bleu), le carthame des teinturiers appelé aussi safran des teinturiers (pour le jaune) ou encore le kermès, une espèce de cochenille (utilisé aussi dans les médicaments), étaient parmi les colorants naturels les plus employés [9].

Dans le temps, les pilules, dont les premières sont apparues dans L'Egypte ancienne sous forme de petite boule ronde contenant des ingrédients médicinaux mélangés à de l'argile ou du pain, étaient généralement blanches, sans additifs colorants pour la plupart. Les médicaments "en vente libre" n'étaient disponibles que sous forme de comprimés dans des teintes fantomatiques de pastel blanc ou pâteux ; de même, les médicaments sur ordonnance étaient des pilules incolores enfermées dans des flacons oranges et transparents, les formes liquides étaient également ternes pour la plupart [10].

Jusqu'au milieu du XIXe siècle, les colorants utilisés dans les médicaments, produits cosmétiques, ou aliments, étaient uniquement d'origine animale, végétale ou minérale [5]. Ce n'est qu'en 1856, que William Henry Perkin (un chimiste anglais) fut la découverte du tout premier colorant artificiel, la mauvéine (ou pourpre aniline), obtenu par oxydation d'un dérivé du pétrole : l'allyltoluidine [11]. Deux ans plus tard, François-Emmanuel Derguini, un chimiste français, fut la découverte de la fuchsine (rouge magenta), et déposa officiellement le 8 avril 1859 un brevet [12]. En 1880, Adolf von Baeyer (chimiste allemand) fut la synthèse chimique de l'indigo, qui jusque-là, était obtenu à partir de sources végétales.

En 1882, Le jaune de quinoléine, aujourd'hui connu comme étant le E104, est devenu le premier colorant alimentaire à être synthétisé. Avec les progrès de la chimie, et les découvertes qui s'enchaînaient sans cesse, on comptait vers les années 1900, environ 695 colorants alimentaires utilisés à travers le monde entier [6]. L'emploi de ces colorants dans la formulation des médicaments n'a réellement débuté que dans les années 60 pour ensuite s'accélérer au milieu des années 70, lorsque la nouvelle technologie des gélules "soft gel" a rendu possible la prise de comprimés colorés pour la première fois. Actuellement, grâce aux nombreuses avancées technologiques, la plupart des médicaments commercialisés sont colorés. Les gélules par exemple peuvent aujourd'hui être teintées selon l'une des 80000 combinaisons de couleurs possibles [10].

## 3.2 Colorants utilisables dans les médicaments

### 3.2.1 Listes et réglementations

Du fait de la législation qui diffère souvent d'un pays à l'autre et des changements fréquents de la réglementation, il est souvent difficile d'établir une liste unique et mise à jour de colorants à usage pharmaceutique. Les colorants appartenant à l'une des catégories les plus importantes d'excipients pharmaceutiques pouvant affecter la santé humaine, les législations régissant leur emplois dans les médicaments ont été créés afin d'ériger une liste dans laquelle sont répertoriés ceux jugés acceptables par les autorités et de mettre en place des mesures comme les normes de pureté ou encore les doses journalières admissibles, visant à protéger la santé des consommateurs, sans pour autant entraver le développement des industries pharmaceutiques et les échanges de médicaments au sein de la Communauté [7]. La direction de la pharmacie et du médicament (DPM) au Mali ; la Food and Drug Administration (FDA) aux États-Unis ; ainsi que la Therapeutic Goods Administration (TGA) en Australie, sont quelques autorités chargées (sur leur territoire) de définir et maintenir les listes et spécifications relatives aux colorants utilisables dans les médicaments [5, 13].

En règle générale, ce sont des colorants utilisés dans les aliments qui sont répertoriés dans ces listes. Cependant, dans de nombreuses régions du globe, les réglementations établissent souvent une distinction entre les colorants pouvant être utilisés dans les produits pharmaceutiques et ceux utilisables dans les denrées alimentaires. Il n'est pas rare de voir que des colorants acceptés dans certains pays comme excipient, soient interdits dans un autre.

Par exemple le jaune de quinoléine (D&C Yellow n°10 aux États-Unis ; E104 en Europe) est autorisé dans les médicaments et dans les aliments au sein de l'Union Européenne, approuvé dans les produits cosmétiques et médicamenteux aux États-Unis, mais proscrit au Japon, aussi bien dans les denrées alimentaires que dans les médicaments [5]. A noter aussi que les autorisations et limites d'utilisations des colorants dans les médicaments peuvent aussi varier en fonction du pays. Comme c'est le cas avec le bleu brillant CFC (D&C Bleu n°4), la tartrazine (FD&C Jaune n°5), et le ponceau SX (FD&C Rouge n°4), tous autorisés dans les médicaments à usage systémique et local au Canada mais utilisables uniquement dans les médicaments à usage externe aux Etats Unis [14, 15].

### **3.2.2 Les grandes classes de colorants**

Les colorants peuvent être classés suivant divers paramètres : solubilité (les insolubles sont des pigments, les solubles sont tout simplement appelés colorants), nature (organique ou inorganique), structure chimique (indigoïdes, xanthènes, anthocyanes, etc.), applications (externe ou interne), couleur, etc. Mais le plus souvent, la classification des colorants se fait en fonction de l'origine. On distingue : les colorants naturels, obtenus à partir d'une source animale, minérale ou végétale ; les colorants synthétiques, entièrement fabriqués à travers des réactions chimiques.

#### **3.2.2.1 Les colorants naturels**

Ce sont des substances qui, contrairement aux colorants de synthèse, ne contiennent aucun produit à base de pétrole [16]. Bien qu'ils aient l'avantage d'être généralement sans danger pour la santé humaine, leur usage comme colorant a souvent été limité par leur faible stabilité, et leurs coûts de production assez élevés [17]. Cependant, au cours de ces dernières années, un nombre croissant de colorants naturels ont été commercialisés, en partie à cause des préoccupations des consommateurs concernant les colorants synthétiques [10], mais également grâce à des techniques ou approches permettant dans certains cas, d'améliorer leur stabilité.

#### **A. Colorants d'origine minérale**

Les colorants d'origine minérale, sont surtout employés dans les lotions et préparations externes [16]. Ces colorants inorganiques se caractérisent généralement par leur stabilité à la lumière et pour certains, par leur opacité. La gamme de couleurs obtenue avec ces substances est inférieure à celle des colorants organiques.

Aujourd'hui, l'oxydes de fer jaune et rouge (E172) sont les principaux colorants d'origine minérale utilisés dans les médicaments. Le dioxyde de titane (E170), un autre colorant minéral fréquemment utilisé dans les médicaments, est généralement employé pour colorer et opacifier les enveloppes en gélatine des gélules [7].

## B. Colorants d'origine animale

Ils sont beaucoup moins nombreux par rapport aux autres types de colorants naturels (colorants d'origine végétale ou minérale). Généralement, ces colorants sont obtenus à partir d'insectes séchés comme c'est le cas avec l'acide carminique, un colorant rouge anthraquinonique (E120) extrait à partir de la femelle du cochenille (*Dactylopius coccus*), un insecte qui vit sur les cactus du Pérou et des Iles Canaries. C'est d'ailleurs le seul colorant naturel d'origine animale autorisé dans les médicaments, que ce soit en Europe [2], aux Etats Unis [15], au Canada [14], ou même en Australie [13].

L'acide carminique et sa laque d'aluminium ou de calcium (appelé carmin) sont relativement stables à la lumière, à la chaleur et à l'oxydation. La couleur affichée vire à l'orange en milieu acide (pH inférieur à 5) et au rouge bleuâtre à un pH avoisinant 8. Son administration en quantité accrue, peut provoquer des réactions allergiques, une hyperactivité chez les enfants et des tumeurs de la peau chez les personnes sensibles [7].

## C. Colorants d'origine végétale

Parmi les colorants naturels utilisés par l'industrie pharmaceutique, ceux d'origine végétale sont les plus nombreux, et généralement les plus utilisés. Ils sont, pour la plupart utilisables dans les médicaments à usage systémique ou topique. Les principaux colorants naturels d'origine végétale utilisés dans les médicaments sont :

- **La curcumine : E100**

La curcumine est un pigment jaune polyphénolique. Elle est extraite à partir des rhizomes séchés de *Curcuma longa* L., une plante originaire du sous-continent indien. Elle est soluble dans l'huile et dans l'éthanol, extrêmement stable à la chaleur et peut généralement être utilisée dans des produits présentant des degrés d'acidité variés. Elle est par contre insoluble dans l'eau, présente une faible stabilité à la lumière et semble être sensible à l'anhydride sulfureux à des niveaux supérieurs à 100ppm [18, 19].

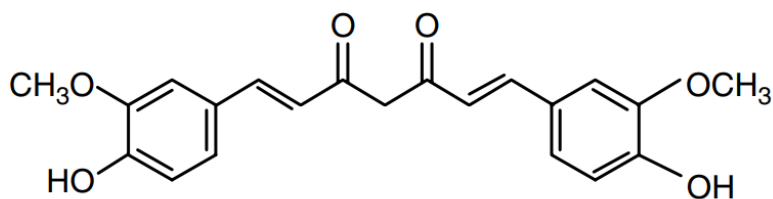


Figure 1: Formule chimique développée de la curcumine [20]

Une des approches proposées pour réduire l'instabilité de la curcumine, est la formation de complexe avec des polysaccharides (ramifiés ou cycliques hydrophiles), ou encore avec des protéines dispersibles dans l'eau. Cette méthode constitue un bon moyen pour remédier à la photo-labilité des curcuminoïdes [21].

#### ▪ La chlorophylle et ses dérivés : E140 et E141

La chlorophylle est un pigment vert tétrapyrrolique chélatant, avec à son centre un atome de magnésium. Elle est soluble dans les huiles végétales, insoluble dans l'eau en raison de sa nature non polaire, sensible à la chaleur, aux agents oxydants, et l'intensité de sa couleur peut varier en fonction du pH, [16, 21]. Certains légumes à feuilles vert-foncées comme les épinards (*Spinacia oleracea*), le persil (*Petroselinum crispum*) ou le cresson (*Nasturtium officinale*), constituent de très bonnes sources naturelles de chlorophylle, mais sont relativement peu exploités par la production industrielle, qui utilise majoritairement des algues (par exemple le genre *Dunaliella* en Australie), des aiguilles de pin (Genre *Pinus*), de la luzerne (*Medicago sativa*), ou encore des excréments de *Bombyx mori*, un insecte connu également sous le nom de ver à soie [18]. En fonction de la substitution du cycle tétra pyrrolique, on distingue deux principales formes de chlorophylle : la chlorophylle a qui est bleu-verdâtre, et la chlorophylle b qui est jaune-verdâtre [40]. Quatre autres formes minoritaires existent : Chlorophylle c1, Chlorophylle c2, Chlorophylle d, et Chlorophylle f [22]. Les principales raisons qui limitent l'emploi de chlorophylles naturelles comme colorants sont :

- d'abord, les caroténoïdes, les phospholipides et d'autres substances liposolubles sont Co-extraits avec la chlorophylle, rendant indispensables les étapes de purification supplémentaire, ce qui a tendance à augmenter le coût total de l'opération.



- de plus, les enzymes végétales et les conditions d'extraction utilisées peuvent facilement favoriser leur transformation en des produits de dégradation vert brunâtre peu attrayants tels que les phéophytines et les phéophorbides.

C'est pour surmonter certaines de ces limitations que des dérivés obtenus par saponification de la chlorophylle, chélatant le plus souvent du cuivre, solubles dans l'eau, et ayant reçu le nom de chlorophylline (E141(i)), ont été produits [18]. L'usage de certaines formes galéniques comme les capsules ou dispersions ; l'ajout d'émulsifiants, ou encore d'agents antioxydants tel que le tocophérol (vitamine E), sont quelques méthodes utilisables pour réduire l'instabilité de la chlorophylle.

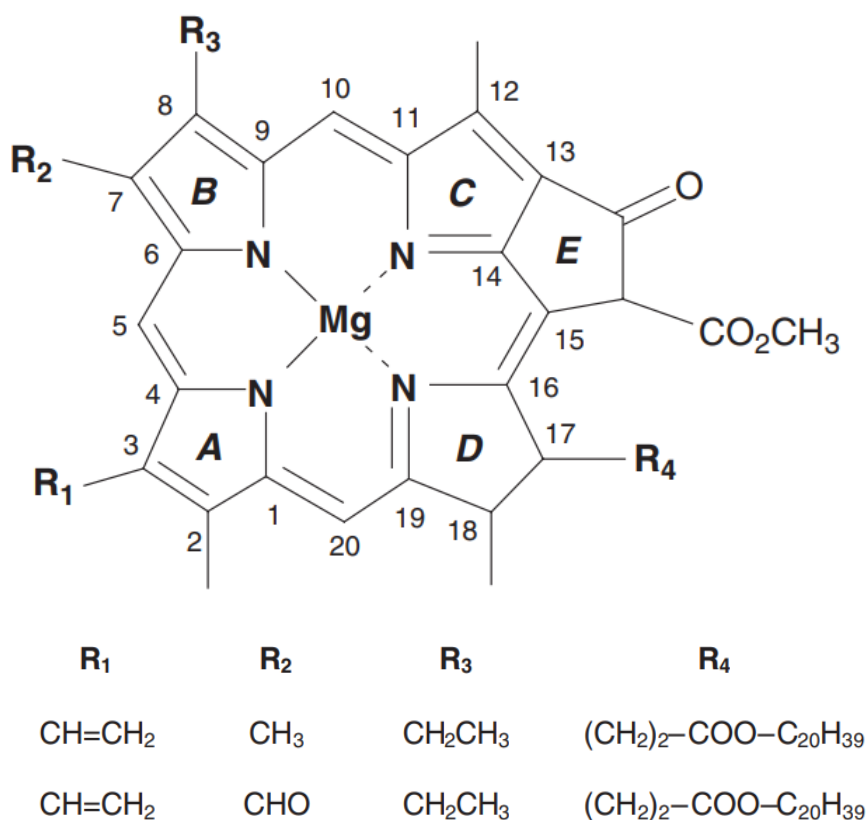


Figure 2 : Structures de base des Chlorophylles a et b [40]

#### ▪ La crocine

La crocine (C<sub>44</sub>H<sub>64</sub>O<sub>24</sub>) est un hétéroside diesterique hydrosoluble jaune appartenant à la famille des caroténoïdes. Elle est extraite à partir des styles et stigmates séchés de *Crocus sativa* L. (aussi connue sous le nom de safran) [17].

Elle est constituée par un acide dicarboxylique rouge (la crocétine) lié à chaque extrémité par un diholoside, le gentiobiose (formé à partir de 2 unités de D-glucose liées par une liaison osidique). Elle affiche une assez bonne stabilité à la lumière, et résiste à l'oxydation, aux changements de pH ainsi qu'aux attaques microbiennes [18].

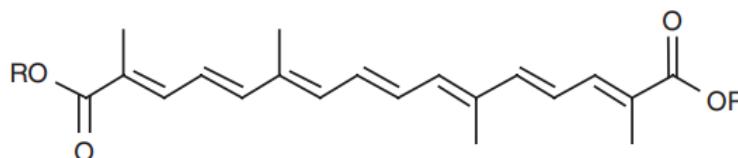


Figure 3 : Formule développée de la crocine (R= gentiobiose) [18].

### ▪ Le $\beta$ -Carotène

Le  $\beta$ - carotène est un pigment jaune appartenant à la famille des caroténoïdes. Il est connu pour ses propriétés antioxydantes, son innocuité, et son activité pro vitaminique A [16, 18]. Il est peu soluble dans l'eau, instable à la chaleur, à la lumière, aux changements de pH, sensible à la présence d'oxygène et d'ions métallique. L'ajout d'antioxydants tels que l'acide ascorbique ou les tocophérols et l'utilisation de séquestrant de métaux tels que l'EDTA ou l'acide citrique, sont quelques méthodes pouvant contribuer à réduire son instabilité [21].

En fonction de son origine, le  $\beta$ -carotène peut porter les numéro E suivants [23] :

- E160a(i), correspondant au  $\beta$ -carotène synthétique (renfermant de faibles proportions d'autres caroténoïdes) ;
- E160a(ii) désignant le  $\beta$ -carotène mélangé avec de faibles proportions d' $\alpha$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ -carotène, obtenu par extraction à partir de végétaux comme les carottes (*Daucus carota*), l'huile de palme (*Elaeis guineensis*), ou la patate douce (*Ipomoea batatas*) ;
- E160a(iii), s'obtenue par fermentation de *Blakeslea trispora*, un champignon contenant majoritairement du  $\beta$ -carotène trans avec des proportions variables d'isomères cis et de faibles quantités de  $\gamma$ -carotène ;
- et le E160a(iv) qui correspond au  $\beta$ -carotène extrait à partir d'une algue appartenant au genre *Dunaliella* (*Dunaliella salina* ou *Dunaliella bardawil*) qui contient des  $\beta$ -carotènes trans et cis, et de faibles proportions d' $\alpha$ -carotène et de xanthophylles.

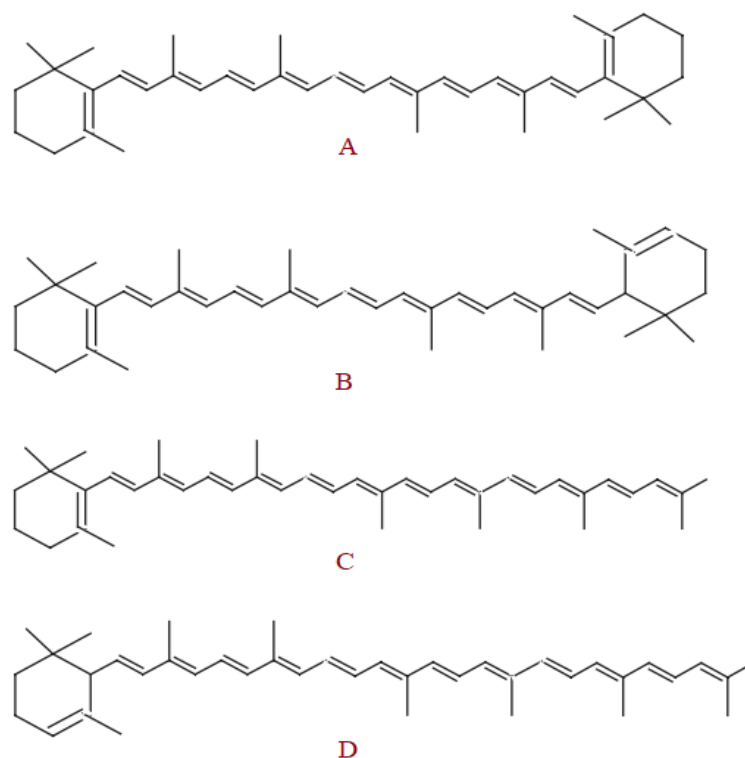


Figure 4 : Formules développées de la  $\beta$  (A),  $\alpha$  (B),  $\gamma$  (C), et  $\delta$ -carotène (D) [18].

#### ▪ La capsanthine et la capsorubine

La Capsanthine ( $C_{40}H_{56}O_3$ ) et la capsorubine ( $C_{40}H_{56}O_4$ ) sont deux colorants naturels de couleur rouge appartenant à la famille des caroténoïdes, et plus précisément au sous-groupe des xanthophylles. L'oléorésine de paprika, un extrait liposoluble obtenu à partir des fruits rouges de *Capsicum annuum* (poivron rouge) qui reste jusqu'à nos jours la source naturelle la plus connue et la plus exploitée [18].

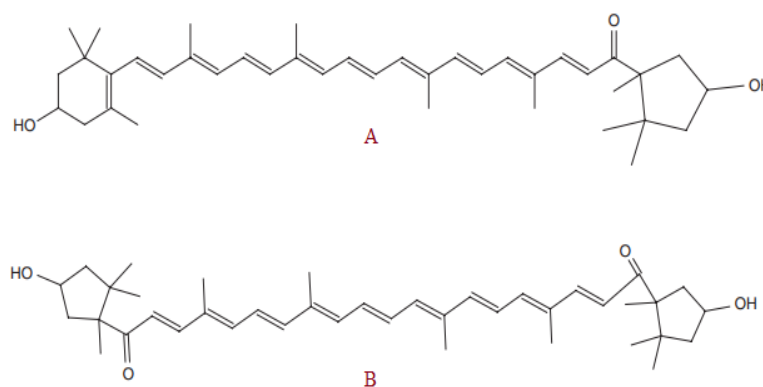


Figure 5 : Formule développée de la capsanthine (A) et de la capsorubine (B) [18].

### ▪ Le lycopène

Le lycopène (C<sub>40</sub>H<sub>5</sub>) est un pigment rouge liposoluble de la famille des caroténoïdes, plus précisément des carotènes. Fréquemment dégradé par oxydation, le lycopène est par contre très stable sur une large plage de températures et de pH [17].

En fonction de son origine, il existe 3 types de numéro E attribuable au lycopène, il s'agit du E160d(i) attribuer au lycopène de synthèse ; le E160d(ii) désignant le lycopène issu de la tomate (*Solanum lycopersicum*) ; et E160d(iii) désignant le lycopène tiré de *Blakeslea trispora*, un champignon zygomycète [24].

La pastèque (*Citrullus lanatus*), la papaye (*Carica papaya*), le pamplemousse rose (*Citrus paradisi*) ou encore la goyave rose (*Psidium guajava*) sont aussi des végétaux renfermant une quantité appréciable de lycopène, même si la tomate rouge reste largement au-dessus [25].

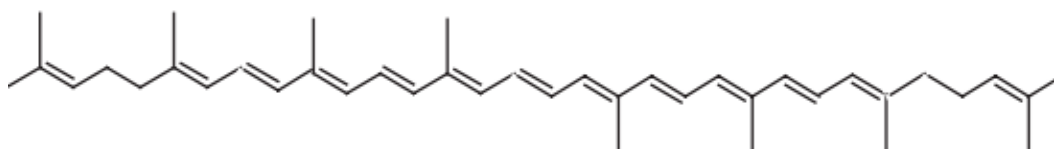


Figure 6 : Formule développée du lycopène [18].

### ▪ La lutéine

La lutéine (C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O<sub>2</sub>) est un colorant jaune soluble dans les solvants organiques apolaires (tel que l'hexane), elle appartient à la famille des caroténoïdes et à la sous-classe des xanthophylles. En Australie tout comme au sein de l'Union Européenne, la lutéine fait partie des matières colorantes utilisables dans les formulations pharmaceutiques. Parmi les principales sources de lutéine, on a la rose d'inde *Tagetes erecta*, connue également sous le nom de *Tagetes patula* L. [26]. Ses fleurs sont très commercialisées car elles renferment une forte teneur en caroténoïde (la lutéine représente 78 à 80% de ces caroténoïdes). Le maïs (*Zea mays*) ; le Potiron (*Cucurbita maxima*) le brocoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), et le chou de Bruxelles (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*) sont aussi de bonnes sources de lutéine [18].

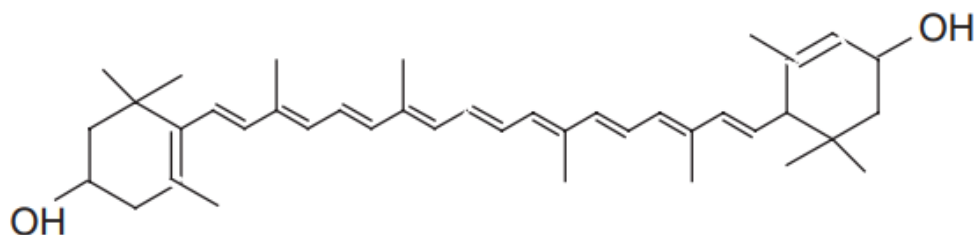


Figure 7 : Formule développée de la lutéine [18].

#### ▪ La bixine et la norbixine

La bixine (E160b(i)) et la norbixine (E160b(ii)) sont des colorants rouge-orangé, appartenant à la classe des apocaroténoïdes, qui sont des composés chimiques différents des caroténoïdes par la perte d'un fragment à l'une ou l'autre des extrémités de la chaîne carbonée suite à une réaction d'oxydation. Elles sont extraites à partir des graines du *Bixa orellana*.

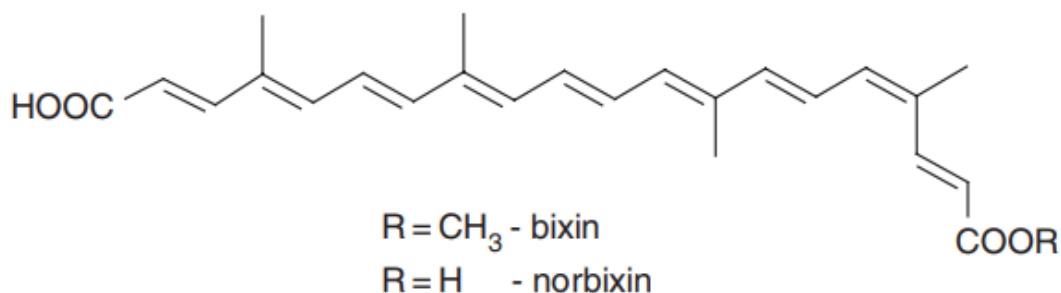


Figure 8 : Formule développée de la bixine et de la norbixine [18].

#### ▪ La bétanine

La bétanine ou “rouge de betterave” est un pigment rouge hydrosoluble doué d'une activité antiradicalaire marquée, elle appartient à la famille des bétalaïnes [16]. C'est un hétéroside de glucose (bétanidine 5-O-glucose), dont l'aglycone est la bétanidine [27].

Extraite généralement à partir de la betterave rouge (*Beta vulgaris* L.), la bétanine est aussi présente dans les fruits d'*Opuntia undulata*, d'*Opuntia ficus-indica* et d'*Opuntia stricta*. Sa stabilité thermique dépend du pH, et sa stabilité maximale est atteinte à un pH avoisinant 5 [25].

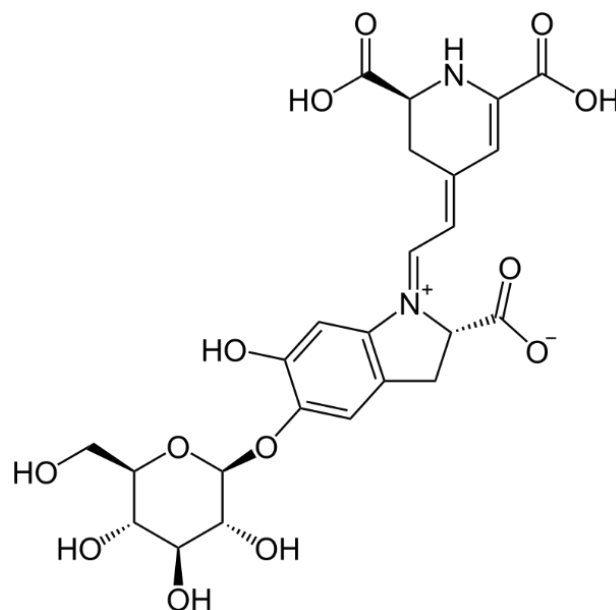


Figure 9 : Formule développée de la bétanine [27].

#### ▪ Les anthocyanes : E163

Les anthocyanes sont des colorants naturels hydrosolubles appartenant à la famille des flavonoïdes, qui sont connus pour leur forte activité antiradicalaire. Elles font partie des pigments naturels les plus répandus du règne végétal.

On les retrouve par exemple dans les myrtilles (*Vaccinium myrtillus*), les baies du sureau (*Sambucus nigra*), les calices de la roselle (*Hibiscus sabdariffa*), le cassis (*Ribes nigrum*), le raisin (*Vitis vinifera*), le maïs pourpre (une variété de *Zea mays* L), et dans le chou rouge (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) [25].

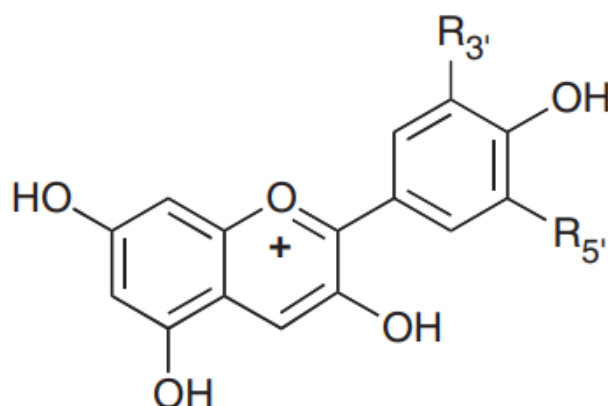


Figure 10 : Structure chimique de base des anthocyanes [18].

### ▪ Le carmin d'indigo

Le carmin d'indigo (E132) ou sulfate sodique d'indigotine, est un sel organique bleu à bleu foncé, appartenant à la famille des indigoïdes. C'est un dérivé sulfoné obtenu par chauffage de la pâte d'indigo naturel (d'origine végétal) ou synthétique en présence d'acide sulfurique [28]. Les principales sources d'indigo naturel sont : le Pastel des teinturiers ou guède (*Isatis tinctoria* L.) ; l'Indigotier (*Indigofera tinctoria* L.) ; la Renouée des teinturiers (*Persicaria tinctoria* = *Polygonum tinctorium*) ; la Liane-indigo appelé aussi Yoruba indigo (*Philenoptera cyanescens* = *Lonchocarpus cyanescens*) ; et l'Indigo d'Assam (*Strobilanthes cusia*, = *Strobilanthes flaccidifolius*).

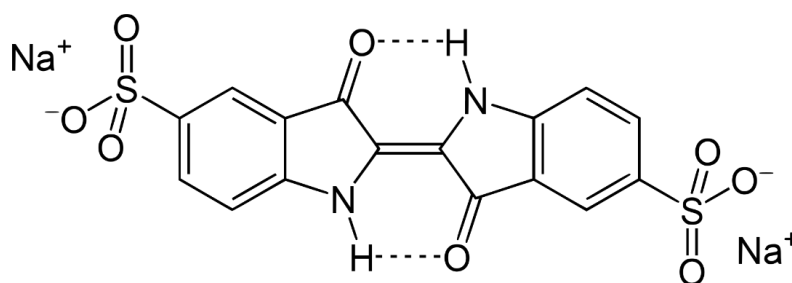


Figure 11 : Formule développée du carmin d'indigo [29].

Le carmin d'indigo possède de nombreuses applications liées à son pouvoir tinctorial : indicateur de pH, colorant pour les fils de sutures et les gants chirurgicaux [4], etc. Il est instable en présence de certains sucres (dextrose, mannitol, saccharose, lactose, et sorbitol), à la lumière, à la chaleur, à un pH d'environ 7–8 ; et fortement instable en présence du dioxyde de soufre, d'acides ou de bases. L'encapsulation améliore généralement sa stabilité face à la lumière, à la chaleur, et au changement de pH [21].

### 3.2.2.2 Les colorants synthétiques

Une quantité importante de colorants est utilisée par l'industrie pharmaceutique, et les colorants de synthèse sont de loin ceux que l'on retrouve le plus souvent dans les médicaments. Il en existe deux sortes :

- les colorants artificiels dont l'équivalent en termes de structure chimique n'existe pas dans la nature. C'est la classe de colorants la plus utilisée, et sans doute la plus dangereuse ;

- les colorants de synthèse identiques aux colorants naturels : ce sont des imitations de colorants naturels. En théorie ces colorants devraient sans danger pour la santé car les métabolites issus de leur dégradation dans l'organisme sont similaires à ceux des colorants naturels imité. Mais en pratique, ces produits étant fabriqués en utilisant des solvants chimiques souvent toxiques ; ils peuvent devenir un danger potentiel, surtout si les produits résiduels de synthèse ne sont pas efficacement éliminés.

En fonction de leur structure chimique, les colorants artificiels peuvent être scindés en plusieurs groupes, dont les quatre principaux sont : les colorants azoïques, les xanthènes, les quinophtalones, et les dérivés du triarylméthane [7].

### 3.3 Toxicité des colorants synthétiques

La plupart des excipients sont utilisés à faible concentration dans les médicaments et les effets indésirables liés à leurs présences sont donc rares. Cependant, ces derniers peuvent parfois déclencher des effets secondaires dus à une intolérance de l'organisme qui entraîne des réactions anaphylactiques et des idiosyncrasies, ou même des allergies pouvant entraîner une hypersensibilité immédiate ou tardive. En clinique, ces réactions sont couramment attribuées par erreur au principe actif du médicament [10].

Depuis un certain nombre d'années, la sécurité des colorants synthétiques suscite de plus en plus d'inquiétudes, et la question est de savoir si les colorants naturels pourraient remplacer les colorants synthétiques, et cette question a été soulevée à plusieurs reprises. Les résultats des récentes recherches, établissent clairement que les colorants synthétiques affectent le comportement des enfants. Par ailleurs, une étude a démontré que la réduction de colorants azoïques (colorants artificiels très souvent utilisées dans les médicaments) par la microflore intestinale provoque la formation d'amines aromatiques. Les produits intermédiaires et finaux de leur dégradation se sont révélés cancérigènes et mutagènes [5].

De plus, par le passé, on a souvent assisté au retrait pour des raisons de toxicité, d'un bon nombre de colorants. C'est le cas par exemple du Rouge 2G (E128) retiré de la liste européenne en 2007 [5] ; de la chrysoïne S (E103) ou Chrysoïne résorcinol interdite depuis 1977 en Europe, et depuis 1988 aux Etats Unis [30] et de l'Orange GNN (E111) interdit en Europe depuis 1978. Ce dernier est d'ailleurs un isomère du jaune orangé S [31], un colorant azoïque encore utilisé dans la formulation des médicaments en Europe [2], au Canada [14], aux USA [15], et en Australie [13].



### 3.3.1 Colorants azoïques

Les colorants azoïques sont des composés synthétiques caractérisés par la présence de liaison(s) azoïque ( $-N = N-$ ) ou groupe azo, qui s'attache de chaque côté à un atome de carbone  $sp^2$ . En général, le groupe azo lie deux cycliques aromatiques.

La plupart des colorants azoïques importants sur le plan commercial contiennent un seul groupe azoïque et sont donc appelés colorants ou pigments monoazoïques, cependant, il existe aussi des colorants azoïques qui contiennent plus d'une liaison azoïque : deux (disazo), trois (trisazo), etc. [32]. Parmi les colorants azoïques les plus utilisés dans les médicaments, on a :

- **La tartrazine:** E102, FD&C Yellow No.5, C.I. 19140

C'est un composé jaune dérivée du goudron de houille, et très soluble dans l'eau. Il est stable en milieu acide, en présence de lumière ; résiste bien à la chaleur ; avec une stabilité modérée en milieu basique ; et moyennement stable en présence d'agents oxydants ou réducteurs [2].

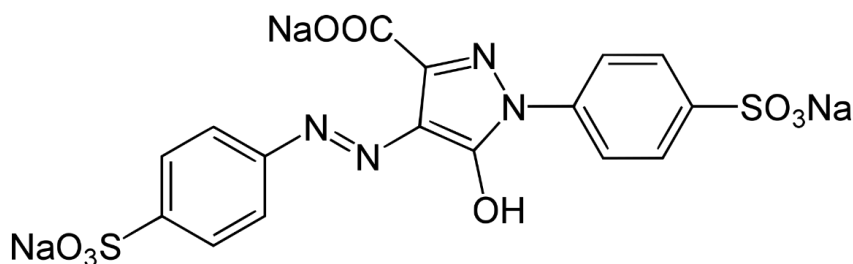


Figure 12 : Formule développée de la tartrazine [33].

La tartrazine est connue pour être potentiellement dangereuse chez les individus présentant une intolérance à l'aspirine. Elle induirait chez ces derniers : un bronchospasme aigue (sachant qu'environ 2 à 20% des asthmatiques sont sensibles à l'aspirine), l'urticaire non immunologique, une éosinophilie et un angiœdème. De plus les patients présentant un purpura vasculaire allergique récurrent peuvent aussi manifester des exacerbations après une exposition à la tartrazine [10].

En Europe, les médicaments contenant de la tartrazine doivent porter obligatoirement un avertissement concernant d'éventuelles réactions allergiques ; de même, aux États-Unis des exigences spécifiques en matière d'étiquetage sont en vigueur pour les médicaments sur ordonnance contenant de la tartrazine [2].

Outre les réactions allergiques, l'hyperactivité a également été mise en évidence. En effet des études menées sur le sujet, estiment que l'exposition à de faibles niveaux dudit colorant pourrait entraîner une détérioration rapide du comportement des enfants [5]. Des rapports publiés indiquent que la tartrazine après administration, à la capacité de se lier et de former des complexes avec l'albumine présente dans le sérum humain et bovin, limitant (potentiellement) ainsi leur fonction physiologique. On soupçonne également qu'une consommation chronique de ce composé pourrait augmenter le risque de cirrhose biliaire primitive chez la femme ménopausée [34].

▪ **Jaune orange S:** E110, Sunset Yellow FCF, FD & C Yellow No.6, C.I. 15985

Le jaune orangé S ou jaune orangé Sunset est un colorant pétrochimique monoazoïque, connue pour sa bonne résistance à la chaleur et sa stabilité en milieu acide. Il est moyennement stable en milieu basique, en présence de lumière ou d'agents oxydants ou réducteurs [2]. Sa couleur a tendance à déteindre en présence d'acide ascorbique et de Dioxyde de soufre [6].

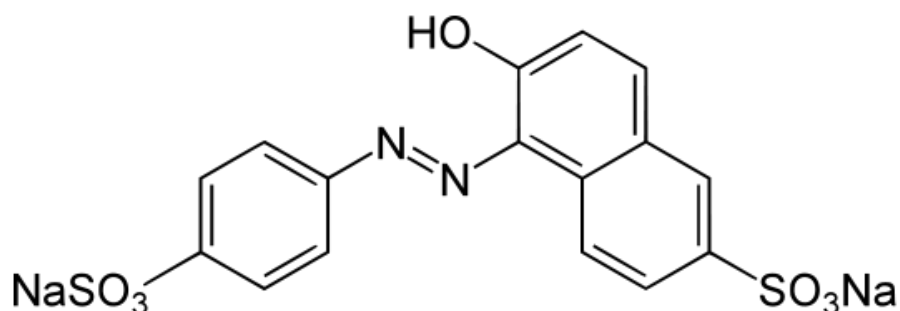


Figure 13 : Formule développée du Jaune orange Sunset [35].

Le jaune orangé S peut provoquer : une éosinophilie ; de l'urticaire en particulier chez les personnes intolérantes à l'aspirine [5, 7], un angioœdème ou œdème de Quincke ; des troubles gastro-intestinaux tel que la diarrhée, l'indigestion, les douleurs abdominales, et les vomissements [7, 16]. Il a également été associé à une hyperactivité chez les enfants [16] et à une exacerbation chez les patients présentant un purpura vasculaire allergique récurrent [10]. Les résultats de certaines études ont montré que le jaune orangé S réduisait la taille des testicules (chez les rongeurs), faussait le profil lipidique et formerait des complexes avec l'albumine sérique humaine et bovine [34]. Par ailleurs, la poudre de jaune orangé Sunset contient aussi de faibles quantités (sous formes de traces, d'impuretés) d'un autre colorant azoïque, le Sudan I (dont il est le dérivé sulfonaté). Ce composé est mutagène et cancérigène,

raison pour laquelle, son usage au sein de l'Union Européenne a été proscrit depuis 1995 [35].

- **Amarante:** E123, C.I. 16185, FD & C Red No.2,

L'amarante est un composé anionique rougeâtre appartenant à la famille des colorants azoïques. Elle présente une bonne stabilité en milieu acide, à la lumière, et à la chaleur. Par contre, sa couleur a tendance à s'estomper lorsqu'elle est exposée au dioxyde de soufre (SO<sub>2</sub>) ou à l'acide ascorbique [6].

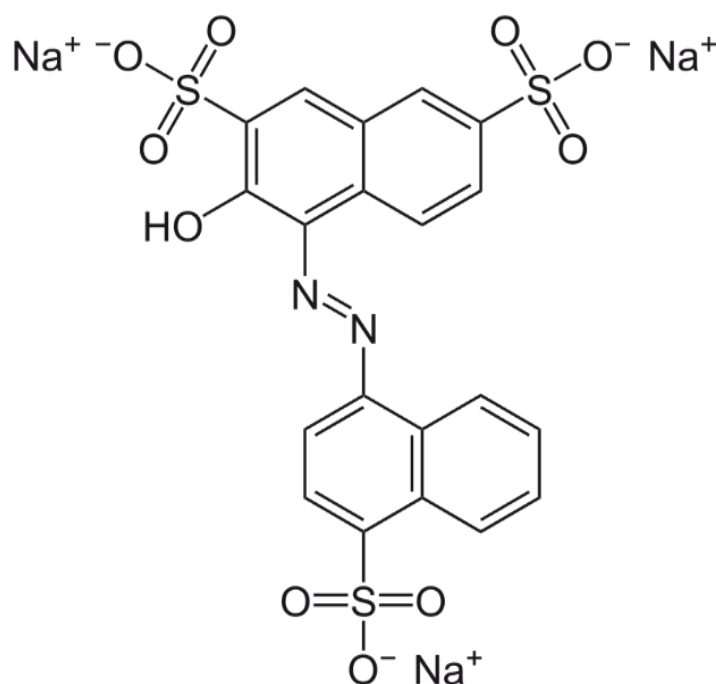


Figure 14 : Formule développée de l'amarante rouge [36].

Son utilisation comme colorant dans les médicaments est approuvée en Australie et au Canada mais proscrite aux États-Unis où la FDA l'a retiré de sa liste depuis 1976, pour des raisons de cancérogénicité [36]. Cette utilisation est très réglementée en Europe où les médicaments contenant de l'amarante, doivent porter un avertissement sur l'étiquette concernant d'éventuelles réactions allergiques [2].

L'amarante provoquerait : des anomalies congénitales, l'asthme, l'urticaire, l'eczéma, l'hyperactivité (surtout chez les enfants déjà touchés), la rhinite, et des réactions allergiques similaires à l'éruption d'ortie chez les asthmatiques et chez les individus sensibles à l'aspirine [6, 7].

Des essais visant à évaluer un potentiel effet cytotoxique, génotoxique, et cytostatique, de la tartrazine, de l'érythrosine, et de l'amarante sur les cellules du sang périphérique humain (*in vitro*) ont révélé que ces colorants sont potentiellement toxiques pour les lymphocytes humains et que l'amarante, à des concentrations élevées possédait des propriétés génotoxique, cytostatique et cytotoxique [37].

### 3.3.2 Xanthènes

Les xanthènes sont des composés organiques tricycliques constitués d'un cycle de pyrane entouré de deux cycles benzéniques. Ces colorants ont tendance à être fluorescents, brillant et varient du jaune au rouge-bleuté. Ils se dissolvent bien dans des solvants comme le benzène, l'éther diéthylique ou le chloroforme, par contre, ils sont faiblement solubles dans l'éthanol et insolubles dans l'eau. Beaucoup d'entre elles peuvent être préparées par condensation des dérivés de l'anhydride phtalique sur les dérivés de la résorcine ou du 3-aminophénol. Il est aussi possible de les synthétiser par hydrogénation catalytique de la xanthone (utilisant le zinc comme catalyseur), et une simple oxydation dans ce cas, suffirait à réobtenir la xanthone [38].

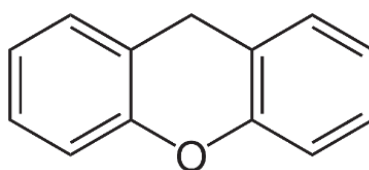


Figure 15 : Formule développée de la xanthène [38].

L'éosine YS ; la phloxine B ; la Dibromofluorescéine, la Diiodofluorescéine [13, 14, 15] ; et la plus connue de toutes, l'érythrosine, sont quelques dérivés du xanthènes utilisables comme colorant dans les médicaments.

- **Erythrosine** : E127, FD & C Red No.3, C.I. 45430, Acid Red 51.

Bien connue pour son utilisation fréquente dans les formulations pharmaceutiques orales [5], l'érythrosine est un composé tétra-iodé à base de goudron de houille (dérivés carbonés de couleur marron à noire, correspondant à une qualité spécifique de charbon). Elle appartient à la famille des xanthènes. C'est un colorant artificiel rouge, chimiquement proche de la fluorescéine, et que l'on utilise pour colorer : les préparations microscopiques, les aliments et les médicaments [39]. L'érythrosine résiste bien à la chaleur. Elle est insoluble en milieu

acide, faiblement stable à la lumière, modérément stable face à des agents oxydants, et très instable en présence d'agent réducteurs [2].

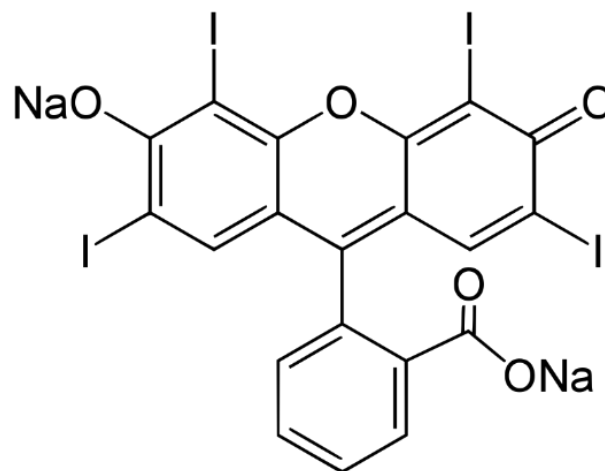


Figure 16 : Formule développée de l'érythrosine [39].

A forte concentration, l'érythrosine présente des risques d'irritation des yeux, du tube digestif, et des voies respiratoires [7]. Elle serait à l'origine de nombreuses réactions dermatologiques, tel que la photosensibilité, la desquamation et l'érythrodermie [10]. D'ailleurs, la FDA retira en 1990, l'autorisation d'avoir recours à l'érythrosine, en tant que matière colorante dans les médicaments et produits cosmétiques à usage externe [5]. Elle fut également retirée de la composition de nombreux médicaments oraux, en raison des préoccupations liées à sa cancérogénicité [10]. En effet des études portant sur ce sujet, ont démontrée que l'érythrosine, administré à forte dose, induirait l'apparition d'une tumeur thyroïdienne. Il a été signalé que l'érythrosine pourrait inhiber l'absorption des neurotransmetteurs [25], et qu'elle aurait également un effet potentiellement toxique sur la spermatogénèse [5]. Aussi, fait intéressant, l'érythrosine a fait l'objet d'une demande de brevet comme co-agent létal pour un insecticide phototoxique en 1984 [40].

### 3.3.3 Quinophtalones

Les quinophtalones sont des substances colorantes dont la structure de base est une association naphthalène-quinone [5]. Le composé d'origine a été découvert en 1882 par Jacobsen, qui avait condensé le 2-méthylquinoléine (quinaldine) avec de l'anhydride phtalique [41]. Le jaune de quinoléine, un des colorants les plus industrialisé du moment, est le seul dérivé de la quinophtalone à être autorisé dans les médicaments aux Etats Unis [13], au Canada [14], en Australie [13], et au sein de l'Union Européenne [2].

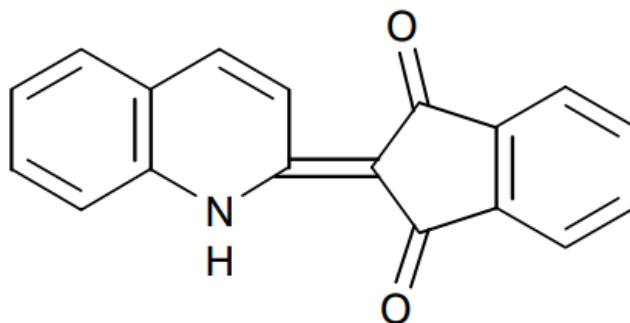


Figure 17 : Formule développée de la quinophthalone [41]

▪ **Jaune de quinoléine** : E104, Quinoline Yellow, C.I.47005, D&C Yellow n°10

Le jaune de quinoléine est un composé organique aromatique hétérocyclique préparé par sulfonation du (quinolyl-2)-2-indane-dione-1,3 ou d'un mélange constitué de deux tiers environ de (quinolyl-2)-2-indane-dione-1,3 et d'un tiers de [(méthylquinolyl-6)-2]-2-indane-dione-1,3 [28]. Il est soluble dans les solvants organiques apolaires, et insoluble dans l'eau [4] ; stable en milieu acide, à la lumière et à la chaleur [6].

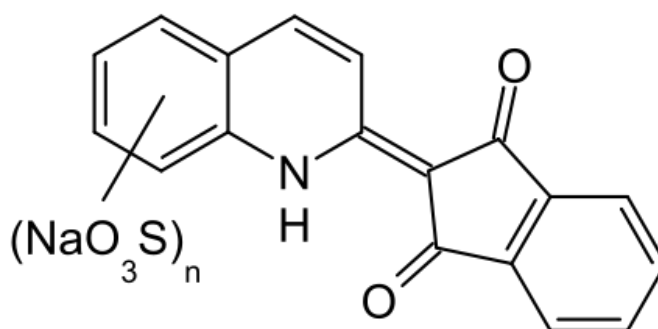


Figure 18 : Formule développée du jaune de quinoléine [42].

L'érythrosine serait à l'origine de nombreuses réactions allergiques (l'urticaire, rhinite, ou l'asthme), surtout lorsqu'il est mélangé avec d'autres colorants synthétiques.

En 2007, l'Université de Southampton mena une étude visant à déterminer si le mélange d'un certains nombres de colorants alimentaire (dont le jaune de quinoléine) et le benzoate de sodium (un conservateur très utilisé), dans une boisson, pouvait provoquer une hyperactivité chez les enfants de trois ans et de huit à neuf ans. Les résultats de cette étude ont montré, que certains mélanges de colorants testés avaient un effet faible mais statistiquement significatif sur l'activité et l'attention des enfants. Ces résultats furent

examinés par l’Autorité Européenne de Sécurité des Aliments ‘‘EFSA’’ (structure chargée en Europe d’évaluer la sécurité des aliments, médicaments et produits cosmétiques), qui procéda par la suite à une diminution de la DJA de certains de ces colorants, dont le jaune de quinoléine. Des essais *in vivo* et *in vitro* sur des modèles cellulaires ont montré que le jaune quinoléine est potentiellement mutagène.

Une étude faite sur des rats en rapport à la probable toxicité du jaune de quinoléine sur leur reproduction arriva à la conclusion qu’une réévaluation de sa DJA serait nécessaire [5]. Le jaune de quinoléine serait aussi enclin à induire des symptômes d’allergie chez des individus allergiques à l’aspirine [7].

### 3.3.4 Dérivés du triarylméthane

Les dérivés du triarylméthane constituent une famille de composés organiques synthétiques très fortement colorés dont la caractéristique principale est la présence du triphénylméthane. On les utilise fréquemment comme colorant dans les médicaments et dans les denrées alimentaires, mais aussi comme indicateur de pH (pour la plupart) car ils ont cette faculté à réagir de manière réversible avec les acides et les bases [43].

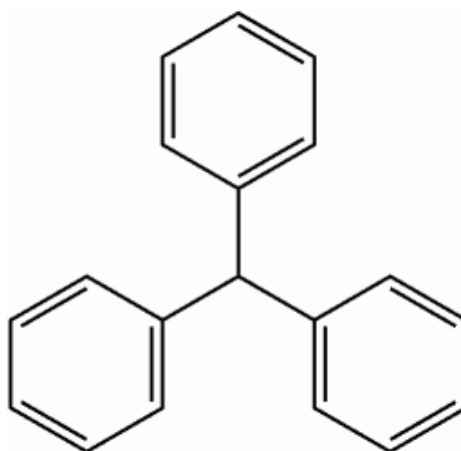


Figure 19 : Formule développée du triphénylméthane [43].

Entre l’Europe, les USA, le Canada, et l’Australie, on compte seulement 4 dérivés du triarylméthane à être autorisés pour la coloration des médicaments. Le Bleu brillant CFC est le seul autorisé sur les 4 territoires mentionnés. Les trois autres sont : le vert solide CFC approuvé aux USA, au Canada, et en Australie ; le bleu patenté V utilisable en Europe et en Australie ; et le vert brillant BS autorisé aussi en Europe et en Australie [2, 13, 14, 15].

- **Bleu brillant CFC** : E133 ; Brilliant Blue FCF ; FD&C Blue n°1 ; C.I 42090.

Le bleu brillant CFC est un colorant artificiel, dérivé du goudron de houille (comme la plupart des colorants synthétiques), appartenant à la famille des triarylméthane. On l'utilise généralement dans la préparation de bains de bouche à usage pharmaceutique, et dans certains produits cosmétiques comme les savons, et shampoings [16]. Le bleu brillant FCF est très stable en milieu acide ; il est aussi stable à la chaleur et aux changements de pH ; moyennement stable en milieu basique, en présence d'agents oxydants ou de lumière ; et faiblement stable en présence d'agents réducteurs [4].

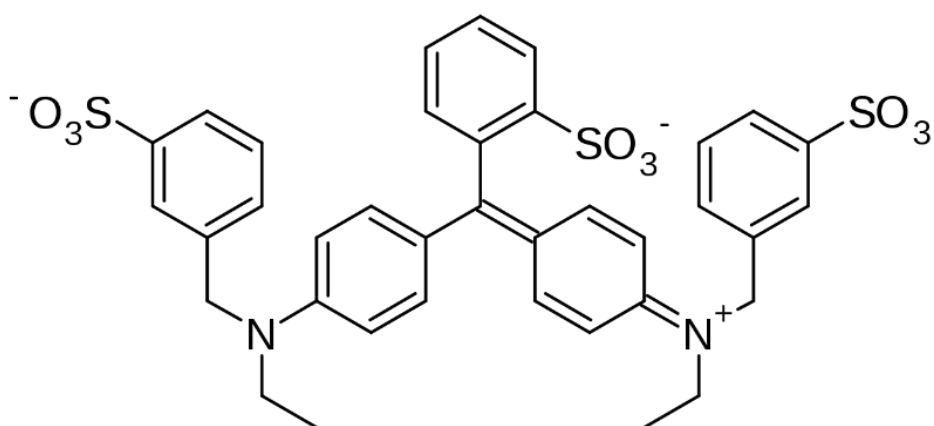


Figure 20 : Formule développée du bleu brillant FCF [44].

Du fait de sa faible absorption gastro-intestinale, il est excrété dans les matières fécales, sous forme inchangé [34]. Une étude évaluant les effets génotoxiques et cytotoxiques du bleu brillant CFC et du jaune orangé (colorant azoïque) sur des cultures de cellules lymphocytaires a conclu que les deux colorants possédaient un potentiel cytotoxique et génotoxique [45]. Une autre visant à déterminer le devenir de deux dérivés du triarylméthane, à savoir le bleu brillant CFC et le bleu patenté V, après une diffusion *in vitro* pendant 24h affirme que l'exposition aux produits à usage cutané contenant l'un ou l'autre présentait un risque minimal d'absorption par la peau humaine intacte, mais ce risque augmentait considérablement lorsque la peau était rasée. De plus, les deux colorants ont montré l'aptitude à pouvoir pénétrer le sang à travers la muqueuse linguale [46]. Le bleu brillant CFC provoquerait aussi des irritations de la peau [5], et des réactions allergiques chez les patients asthmatiques [7].



## 4. MATERIELS ET METHODES

---

### 4.1 Cadre d'étude

Les travaux que nous avons menés, ont été effectués au sein du Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP). Le DMT est la structure technique du Ministère de la Santé chargée de la valorisation des ressources de la Médecine Traditionnelle. Il se situe du côté de la rive gauche du fleuve Niger, au niveau de la zone industrielle, en commune I (à Bamako). Il a pour objectifs de :

- recenser les thérapeutes traditionnels de santé ;
- renforcer la capacité des thérapeutes traditionnels de santé et des agents de santé dans le domaine de la médecine traditionnelle ;
- promouvoir la collaboration entre médecine traditionnelle et médecine conventionnelle ;
- établir des cartes de zones de peuplement naturel de plantes médicinales ;
- recenser les plantes médicinales ;
- réaliser des herbiers de plantes médicinales maliennes ;
- déterminer la qualité, l'efficacité et la sécurité d'emploi des Médicaments Traditionnels Améliorés (MTA) ;
- réaliser les analyses précliniques et cliniques sur les phytomédicaments ;
- mettre au point et produire des médicaments traditionnels améliorés efficaces et abordables.

Le DMT se compose de trois services :

- un service d'ethnobotanique et matières premières (SEMP), chargé de la conception de l'herbier et droguiers, de l'élaboration et de l'entretien du jardin botanique (1 hectare à Bamako et 20 hectares à Siby) ;
- un service des sciences pharmaceutiques (SSP) qui réalise des études phytochimiques, pharmacologiques, toxicologiques, et galéniques sur des plantes utilisées en médecine traditionnelle. Elle s'occupe aussi de la production des MTA en vente au Mali et du contrôle de qualité (matière première et produit fini) ;
- un service des sciences médicales (SSM) composé d'un centre de dispensation des MTA, d'un laboratoire d'analyse biologique, et comptant en tout 4 médecins. Ce service assure des consultations et participe à l'évaluation de l'évidence ethnométrique.



Figure 21 : Vue photographique du Département Médecine Traditionnelle (DMT)

Par ailleurs, le Centre Régional de Médecine Traditionnelle (CRMT) en 5<sup>ème</sup> Région à Bandiagara est rattaché au DMT.

L'équipe de recherche du DMT est composée d'enseignants – chercheurs et de chercheurs dans les différentes disciplines (Pharmacognosie, Phytochimie, Toxicologie, Pharmacologie, Santé publique, Agroforesterie, etc.) et une quinzaine de personnel d'appui. L'équipe du DMT est renforcée par des maitres assistants et assistants en pharmacognosie ; en botanique, et des Pharmaciens bénévoles dont un PhD en biologie moléculaire et des anciens thésards du département.

A ce jour, les résultats de recherches du DMT ont permis de mettre au point sept (07) Médicaments Traditionnel Amélioré (MTA) qui figurent sur la Liste Nationale des Médicaments Essentiels (LNME) du Mali et ont obtenu une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) du Ministère de la santé. Il s'agit de :

- Balembo® sirop, flacon de 100 ml (enfant et adulte) : Antitussif.
- Gastrosédal® poudre, sachet de 225 g : Antiulcéreux.
- Hépatisane® poudre, sachet de 10 g : Hépatoprotecteur

- Laxa-cassia® poudre, sachet de 5 g : Laxatif,
- Malarial® poudre, sachet de 10g : Antipaludique.
- Dysentéral® poudre, sachet de 10g : Antiamibien et,
- Psorospermine® 1% pommade, pot de 100 g : Antimycosique.

Des travaux sont en cours pour la réalisation d'autres MTA, notamment dans la prise en charge des affections hépatiques, du paludisme, du diabète, de la drépanocytose et de l'hypertension artérielle. Par ailleurs, le DMT est un centre collaborateur de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) en matière de valorisation des ressources de la Médecine traditionnelle. Le Département est aujourd'hui un centre d'excellence de l'Organisation Ouest Africaine de la Santé (OOAS) de l'espace CEDEAO.

## 4.2 Type et période d'étude

Nous avons effectué une étude prospective qui s'est déroulée du 4 au 25 février 2019.

## 4.3 Méthodes d'étude

### 4.3.1 Méthode botanique

#### A. Inventaire

Pour réaliser cette étude, de nombreuses recherches ont été effectuées sur divers moteurs de recherches (Google scholar et Google Books en particulier) et une multitude de mots clés ont été utilisés afin d'obtenir des résultats pertinents. Ceci nous a permis de recueillir un certain nombre d'informations, notamment à travers des livres ; des articles de revues ou de journaux scientifiques ; des encyclopédies en ligne ; etc...

Et grâce à cette documentation, nous avons réussi à recenser plus d'une vingtaine de plantes colorantes exploitables (ou déjà exploitées) par l'industrie pharmaceutique. Parmi ces nombreuses plantes, quatre ont été sélectionnées pour la partie expérimentale, il s'agit de : *Bixa orellana*, *Indigofera tinctoria*, *Beta vulgaris*, et *Hibiscus sabdariffa*. Le choix fut porté sur ces plantes, car on les retrouve assez facilement sur le territoire malien, planté ou à l'état sauvage ; et chacune d'entre elles possède une famille bien spécifique de colorants naturels : *B. orellana* renferme des apocaroténoïdes, *I. tinctoria* des indigoïdes, *B. vulgaris* des bétalaïnes, et *H. sabdariffa* des Anthocyanes.

## B. Matériel végétal

Les travaux rapportés ci-dessous ont portés sur : les racines de *Beta vulgaris*, les graines de *Bixa orellana*, les calices de *Hibiscus sabdariffa* et les rameaux feuillés de *Indigofera tinctoria*. Tous ont été obtenus au Marché de Médine (Bamako), séché au DMT pendant une à deux semaines à température ambiante et à l'abri du soleil, ensuite pulvériser au Mortier puis tamiser afin d'obtenir des poudres fines.

## C. Contrôle de qualité botanique

### ❖ Examen macroscopique

Cet examen a porté sur l'observation des caractères macroscopiques tel que la taille, la forme, et l'aspect général de notre matériel végétal.

### ❖ Examen organoleptique

Cet examen porta sur les caractères organoleptiques (odeur, goût, couleur) des poudres de notre matériel végétal.

### ❖ Examen microscopique

#### ▪ Matériel

- Microscope électrique ;
- Lame et lamelle ;
- Réactif de Gazet du Chatelier ;
- Creuset & spatule ;
- Poudre : de la graine de *Bixa orellana*, des feuilles de *Indigofera tinctoria*, des calices de *Hibiscus sabdariffa*, et de la racine de *Beta vulgaris*.

#### ▪ Mode opératoire

À une petite quantité de poudre fine de chaque échantillon fut ajoutées quelques gouttes d'un réactif universel appelé réactif de Gazet, puis le tout fut mélanger jusqu'à homogénéisation. Une à deux gouttes du mélange obtenu à partir de chaque échantillon a été déposée sur une lame avant d'être recouverte par une lamelle.

Nous avons ensuite procédé à l'observation des échantillons au microscope optique avec l'objectif 40 et les éléments observés ont été photographiés à l'aide d'un Smartphone.

### 4.3.2 Méthode phytochimique :

Nous avons utilisé la chromatographie sur couche mince.

#### A. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Utilisée à l'origine pour séparer des espèces chimiques végétales colorées contenues dans un mélange [47], la chromatographie sur couche mince aussi connu sous les noms de chromatographie planaire, ou TLC pour Thin layer chromatography (en anglais) est une technique chromatographique couramment utilisée pour séparer des composants dans un but d'analyse (CCM analytique) ou de purification (CCM préparative), permettant non seulement de quantifier, mais aussi d'identifier les différents groupes chimiques séparés en fonction de leur affinité pour la phase mobile.

Nous avons choisi pour l'extraction de nos échantillons, l'eau et l'éthanol, deux solvants relativement peu toxiques (dans une certaine mesure pour l'éthanol) et facilement éliminable. Comme processus d'extraction, nous avons eu recours à la macération, car elle constitue une bonne alternative aux méthodes utilisant une source de chaleur, comme la décoction ou l'infusion par exemple, sachant que les colorants que nous étudions sont (à des degrés variables) thermolabiles.

#### ❖ Principe

Un faible volume d'extrait est déposé sur une plaque chromatographique (la phase stationnaire) dont la partie inférieure est immergée dans un solvant appelé phase mobile ou éluant, qui, monte par capillarité le long de la plaque et entraîne les composés de l'extrait à des vitesses et sur des distances variables selon l'affinité que présente les différentes espèces chimiques pour le solvant. La phase stationnaire utilisée pour cette méthode est une plaque mince (environ 0,25 mm d'épaisseur) et uniforme constitué de gel de silice, d'alumine ou de cellulose, appliquée sur une plaque de verre, une feuille d'aluminium ou de plastique.

#### ❖ Matériels

- Pulvérisateur, coton & compresses ;
- Balance analytique de précision type SARTORIUS ;
- Eprouvettes ;
- Spatule ;

- Pipettes ;
- Rotavapor, ballon de concentration, et bain marie ;
- Plaques chromatographiques en gel de silice 60 F<sub>254</sub> (Merk) appliquée sur des feuilles d'aluminium ;
- Cuve de migration en verre avec couvercle ;
- Lampe UV type DESAGA ;
- Crayon à papier et règle graduée ;
- Micropipette de 10 µl,
- Séchoir électrique de type Solis

❖ **Solvants**

- Méthanol
- Ethanol
- Eau distillée

❖ **Système d'éluant**

- Acétate d'éthyle – Méthyléthylcétone – Acide formique – Eau (50 : 30 : 10 : 10)
- B.A.W : Butanol – Acide acétique – Eau (65 : 20 : 20).

❖ **Révéléteur**

- FeCl<sub>3</sub> à 10% (dans de l'eau distillée).
- DPPH

❖ **Mode opératoire**

✓ **Préparation des Extraits**

Dans une première éprouvette, nous avons ajouté à 5g de la poudre de notre échantillon, 50ml d'éthanol et dans une deuxième nous avons ajouté à 5 autre gramme de l'échantillon, 50ml d'eau distillé.

Les deux mélanges ont été macérés pendant 24 heures à température ambiante, puis filtrés à l'aide de coton et de compresses. Les filtrats furent ensuite évaporés à sec au rotavapor afin d'éliminer les solvants volatiles et concentrer ainsi nos extraits.

Les résidus obtenus par ce processus ont été récupérés par le méthanol, puis mis dans les flacons : 1 pour l'extrait éthanolique, et 2 pour l'extrait aqueux. Le même procédé fut répété pour chaque échantillon.



Figure 22 : Vue photographique du rotavapor

✓ **Dépôt des extraits**

10  $\mu$ L de chaque extrait fut prélevé à l'aide de micropipettes, puis déposés sur les plaques chromatographiques. Une distance d'environ 1,5 cm a été laissée entre chaque dépôt, et entre les dépôts sur les extrémités de la zone de migration et les bords de la plaque. L'ordre de dépôt, de gauche vers la droite fut le suivant : extrait éthanolique puis aqueux de *H. sabdariffa* ; extrait éthanolique puis aqueux de *B. vulgaris* ; extrait éthanolique puis aqueux de *I. tinctoria* ; extrait éthanolique, puis aqueux de *B. orellana*.

✓ **Migration des extraits sur les plaques**

Les plaques préparées ont été séchées, identifiées au crayon puis introduites dans les cuves de migration (en verre) contenant la phase mobile (éluant). Les systèmes de solvants suivants ont été utilisés :

- Acétate d'éthyle – Méthyléthylcétone – Acide formique – Eau (50 : 30 : 10 : 10) ;
- B.A.W : n-Butanol – Acide acétique – Eau (60 : 20 : 20).

Après migration, les plaques ont été séchées, puis observées sous UV à 254 et 366 nm.

### ✓ Révélation

Les plaques ont été révélées avec une solution de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>), pour caractériser les composés polyphénoliques ; et avec une solution de DPPH afin de mettre en évidence d'éventuelles activités antiradicalaires. Les taches aperçus ont été encerclées en trait plein à 254 nm, en pointillé à 366 nm et en crochet après révélation.

### ✓ Calcul des rapports frontaux

Nous avons calculé le rapport frontal (Rf) des taches colorées (ou spots) apparues sur chaque plaque après observation sous une lampe UV (254 et 366nm), grâce à la formule suivante :

$$Rf = dx / ds$$

Avec :

*dx* représentant la distance parcourue par la substance ;

*ds* la distance totale parcourue par l'éluant.



## 5. RESULTATS

---

### 5.1 Monographie des quatre plantes

#### 5.1.1 *Bixa orellana* L.

N° herbier au DMT = 2931/DMT

Nombre de chromosomes :  $2n = 16$  [48].

##### 5.1.1.1 Systémique [49].

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Spermatophyta* (Spermatophytes)

Sous Embranchement : *Angiospermophyta* (Angiospermes)

Classe : *Eudicotyledoneae* (Eudicotylédones)

Ordre : *Malvales*

Famille : *Bixaceae* (Bixacées)

Genre : *Bixa* (Roucou)

Espèce : *Bixa orellana*

##### Synonymes [50].

- *Bixa americana* Poir.
- *Bixa katangensis* Delpierre
- *Bixa odorata* Ruiz & Pav. ex G.Don
- *Bixa orellana* var. *leiocarpa* (Kuntze) Standl. & L.O.Williams
- *Bixa orellana* f. *leiocarpa* (Kuntze) J.F.Macbr.
- *Bixa orellana* var. *orellana*
- *Bixa purpurea* Sweet
- *Bixa upatensis* Ram.Goyena
- *Orellana americana* (Poir.) Kuntze
- *Orellana americana* var. *leiocarpa* Kuntze

## Quelques noms vernaculaires

- ✓ Djafarana (Bambara)
- ✓ Rocouyer, rocou, roucou (français).
- ✓ Annatto, lipstick tree (Anglais).
- ✓ Anato, urucuzeiro, urucu, açafirão do Brasil (Portugais).
- ✓ Achiote (espagnol)
- ✓ Orlean (Allemand)
- ✓ Mzingifuri (Suédois)

### 5.1.1.2 Description botanique [48]



Figure 23 : Vue photographique de *Bixa orellana* (prise par M. Guindo le 18/02/19 au DMT).

*Bixa orellana* est un arbuste sempervirent pouvant atteindre 6 à 8 m de haut. Le tronc mesurant jusqu'à 10 cm de diamètre porte des écorces pourvues dans leur partie interne de sève orange. Quant à la partie externe, elle est dure, lisse, de couleur marron clair à foncé, quelquefois fissurée et lenticellée. Les rameaux sont verdâtres, annelés au niveau des nœuds et densément couverts d'écailles.

De couleur rouille lorsque jeunes, ils deviennent par la suite brun foncé. Les Feuilles sont disposées en spirale, elles sont simples et entières avec un limbe ovale d'une dimension d'environ 5–25 cm × 3,6–16 cm, superficiellement cordé à tronqué à la base, longuement acuminé à l'apex, vert foncé au-dessus, grisâtre ou vert brunâtre au-dessous, à écailles lorsque jeune mais glabrescent, 5-nervé à partir de la base. Les stipules rapidement caduques, laissent des cicatrices en fer à cheval, le pétiole est cylindrique et épaissi aux deux extrémités, sa taille en longueur varie entre 1 et 13 cm.



Figure 24 : Vue photographique des feuilles de *Bixa orellana* [51].

L'inflorescence est une panicule ou un corymbe terminal, à 8–50 fleurs. Ces fleurs bisexuées, régulières et odorantes sont constituées de :

- pédicelle de 0,5–1 cm de long, à écailles, épaissi à l'apex et pourvu de 5–6 glandes de grandes tailles ;
- Sépales libres, obovales et caducs, au nombre de 4 ou 5, mesurant entre 10 à 12 mm de long ;
- Pétales (4–)5–7, d'environ 1,5–3 cm × 1–2 cm, libres et obovales, teintés de rose, de blanc ou de violet ;
- Ovaire supère, 1-loculaire, avec un style de 12–15 mm de long, épaissi vers le haut ;
- De nombreuses étamines, libres à anthères mauves.



Figure 25 : Vue photographique d'une fleur *Bixa orellana* [51].

Le Fruit est une capsule globuleuse ou largement ovoïde à allongée, de 2 – 4,5 cm × 2 – 4 cm, plus ou moins densément recouverte de longues soies, verte, brun verdâtre ou rouge à maturité, à 2 valves, contenant de nombreuses graines.



Figure 26 : Vue photographique des fruits de *Bixa orellana* [51].

La plantule à une germination épigée ; les cotylédons minces, ovales, nervurés ; l'hypocotyle relativement long. Les graines sont obovoïdes et anguleuses, elles mesurent 4 à 5 mm de long, les téguments sont charnus, rouge-orangé vif, et à petit arille blanchâtre autour de l'apex du long funicule.



Figure 27 : Vue photographique des graines de *Bixa orellana* [52].

### 5.1.1.3 Répartition géographique [48]

*Bixa orellana* est originaire d'Amérique tropicale, où depuis l'antiquité la teinture rouge extraite de ses graines est investie non seulement d'un pouvoir symbolique (représentant la vie éternelle, le soleil, le feu et le sang, la majesté et le pouvoir) mais sert également à colorer et à aromatiser la nourriture. Etant prisé dans le monde entier, il est à l'heure actuelle planté et naturalisé dans presque tous les pays tropicaux. En Afrique tropicale, il est cultivé commercialement au Kenya (où il s'est naturalisé très localement), et à petite échelle dans tous les autres pays.

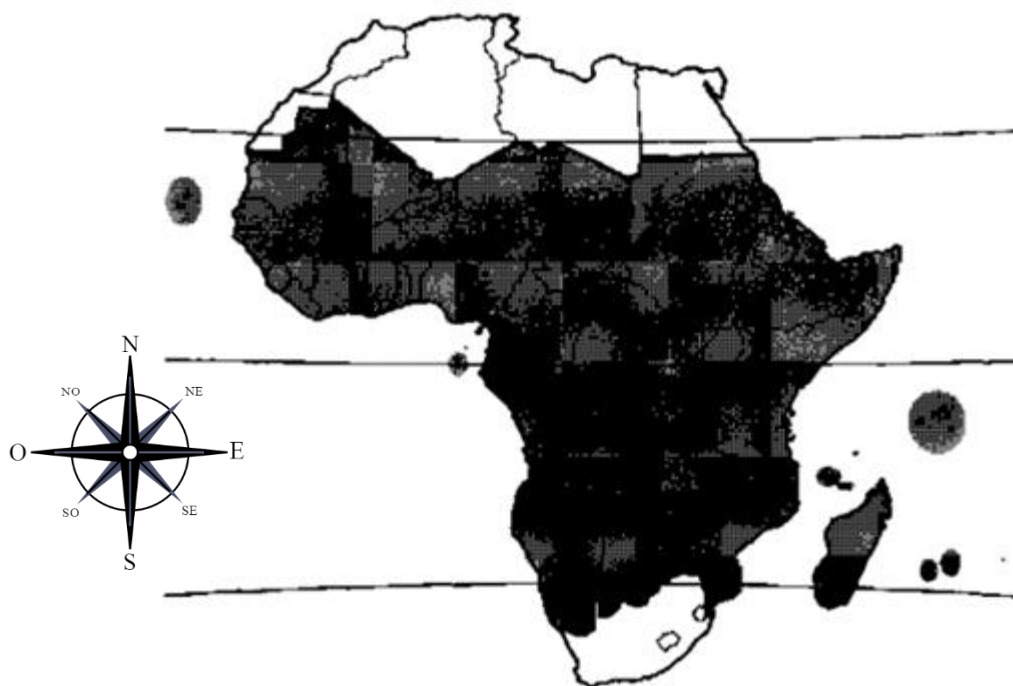


Figure 28 : Carte de répartition de *Bixa orellana* (planté) en Afrique [48].

#### 5.1.1.4 Les principaux colorants :

Le colorant obtenu à partir des graines, ou plus précisément des téguments de la graine de *Bixa orellana* est appelé rocou. Les deux principaux pigments qu'il renferme sont :

- la bixine ( $C_{25}H_{30}O_4$ ), ester monométhylé d'un caroténoïde dicarboxylique, généralement plus abondante dans le rocou, elle est lipophile et extractible avec des huiles végétales ;
- la norbixine ( $C_{24}H_{26}O_4$ ), dérivé carboxylé hydrophile, obtenu par saponification de la bixine.

La bixine et la norbixine sont des apocaroténoïde chimiquement proches du lycopène et du safran, ils existent en temps normale sous une forme cis (plus rouges), mais de petites quantités de formes trans plus stables (mais moins souvent commercialisé) se forment à la chaleur.

La proportion de bixine par rapport à la norbixine peut souvent varier dans le rocou, et cela offre une très grande variété d'applications et une gamme de couleurs allant de l'orange (norbixine) au rouge (bixine).

Le rocou contient également de petites quantités d'autres caroténoïdes ainsi que des produits issus de la dégradation de la bixine. À des températures élevées (supérieurs 70° C), la bixine subie une chaîne de réaction pouvant conduire à plusieurs produits de dégradation, dont un composé jaune à 17 carbones connu sous le nom de pigment de McKeown [53].

L'ajout d'opacifiants (comme la cire d'abeille et les gommages naturelles), d'antioxydants (comme le palmitate d'ascorbyle à 10%), et l'usage d'eau déminéralisée ou du sirop de glucose déminéralisé avec 0,5% d'acide ascorbique, sont entre autres quelques approches utilisables pour réduire la décoloration due à la dégradation (liée au manque de stabilité) de la bixine [21].

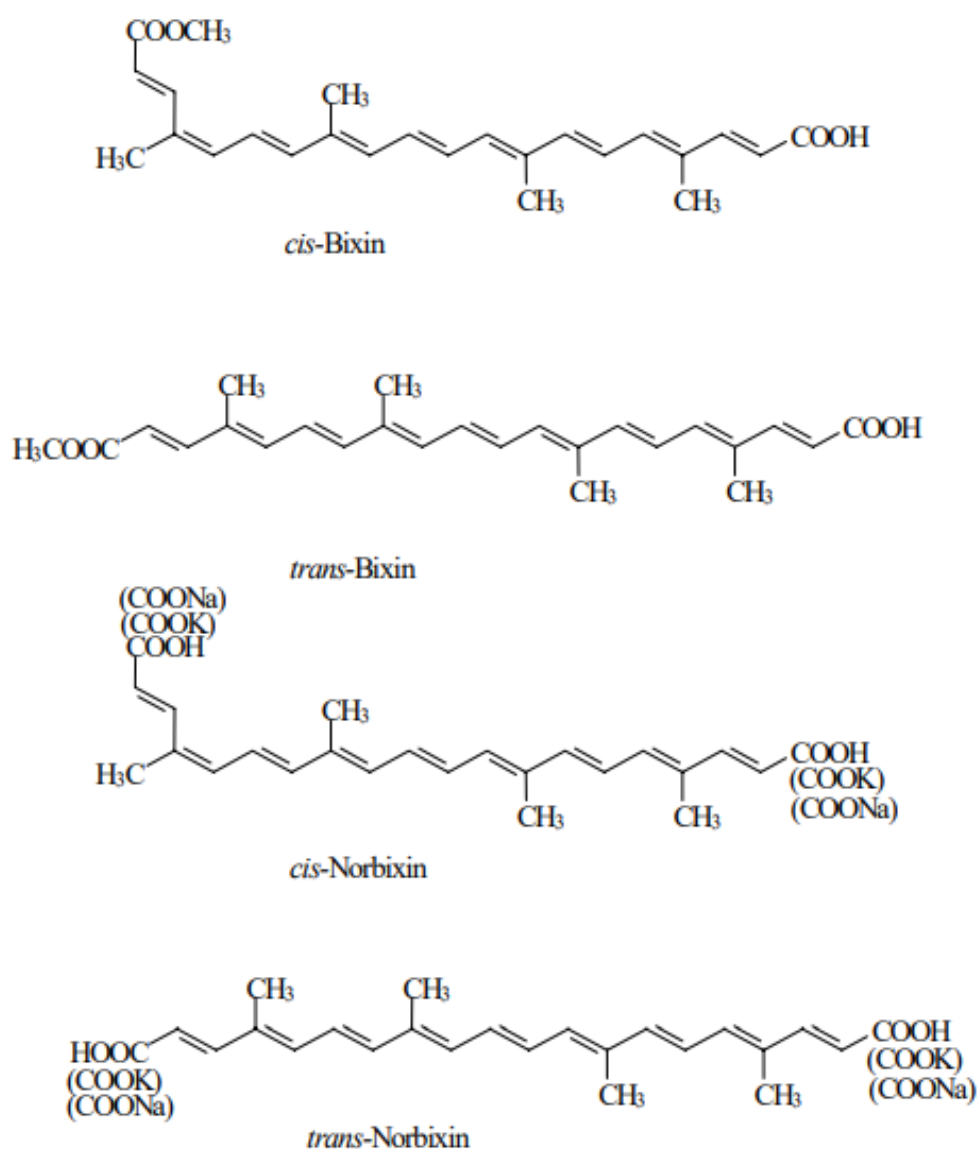


Figure 29 : Formules développées de la bixine et de la norbixine (Formes cis et trans) [53].

### 5.1.1.5 Utilisations

#### ❖ Comme colorant

Le rocou est depuis plus de 200 ans, utilisé en Europe et en Amérique du Nord en tant que colorant alimentaire rouge-orangé ou jaunâtre, certaines références faites sur son utilisation comme colorant dans le fromage en Angleterre datent des années 1796 [53]. De nos jours encore, les extraits de rocou ont une importance économique significative dans le monde entier et c'est l'un des colorants naturels les plus utilisés de l'industrie alimentaire, représentant environ 90 % des colorants (naturels) utilisés au Brésil, et environ 70 % dans l'industrie alimentaire mondiale [54].

Ce colorant si populaire dans l'industrie alimentaire est également utilisable dans le secteur pharmaceutique. Appelé Annato dans la plupart des pays anglophones et connu étant le E160b en Europe, le rocou fait actuellement partie des listes : australienne [13], canadienne [14], européennes, et américaine (USA) [15], de colorants utilisables dans la formulation des médicaments.

**Exemple de médicaments colorés par le rocou** : Transulose® ; Melaxose®.

Dans les produits citer comme exemples, c'est la portion liposoluble du rocou qui est utilisé (bixine).

#### ❖ Comme plante médicinale

Les graines de *B. orellana* sont traditionnellement utilisées contre la fièvre, la dysenterie, les maladies rénales et l'intoxication par le manioc. Au Congo (RDC), on applique une pâte faite à base de fruits et de graines du roucou pour traiter la démangeaison, et le décocté de la feuille sert de gargarisme en cas d'amygdalite, ou versée dans le bain pour soigner les douleurs musculaires (pratique également observée aux Seychelles et à l'île Maurice). Au Gabon, la décoction des feuilles est absorbée afin de stopper les vomissements. Les feuilles sont aussi utilisées en Ethiopie pour panser les plaies, et à l'île Maurice contre les céphalées. Au Mexique et au Paraguay, les graines et le jus servent à traiter les affections buccales [26]. En Colombie le roucou fait partie des plantes utilisées par les guérisseurs pour soigner les infections, d'ailleurs, le pouvoir antibiotique de la plante a pu être confirmé *in vitro* sur des souches d'*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*. Elle serait également active sur *Candida albicans*, et son pouvoir serait analogue à celui de la gentamycine et la nystatine [55].



### 5.1.1.6 Données pharmacologiques

Le TRAMIL, un programme de recherche appliquée à l'usage populaire des plantes médicinales dans les Caraïbes a menée des travaux sur les propriétés pharmacologiques de *Bixa orellana*, et d'après ces travaux : Les extraits éthanoliques des fruits et de feuilles auraient une activité antibactérienne *in vitro* sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ; l'extrait aqueux de la graine aurait *in vitro* une activité anti-inflammatoire par inhibition de la prostaglandine synthétase, et le même extrait sur un iléon isolé de cobaye a inhibé la motilité induite par l'histamine et des stimulations électriques.

L'évaluation de l'effet des extraits aqueux et éthanolique de la graine sur des modèles expérimentaux de cultures de cellules immunocompétentes, splénocytes, et fibroblastes humains, aurait indiqué une légère stimulation de la prolifération des splénocytes avec l'extrait aqueux, et un effet immunostimulant significatif dose dépendant avec l'extrait éthanolique [56].

Des chercheurs indiens, ont découvert que l'extrait méthanolique des feuilles de *Bixa orellana*, bloquaient en partie la sécrétion de l'amylase pancréatique, diminuant ainsi la digestion des glucides et donc finalement leur absorption digestive. Des chercheurs Péruviens ont confirmé les propriétés antiulcéreuses au niveau gastrique des feuilles du rocouyer. L'administration par voie buccale de l'extrait hydroalcoolique des feuilles aurait induit chez l'animal, une diminution de l'acidité gastrique et une augmentation de la vitesse de cicatrisation de l'ulcère [55]

### 5.1.1.7 Données toxicologiques [56]

L'extrait aqueux brut lyophilisé des graines de *B. orellana*, administré par voie intrapéritonéale à des rats femelles aurait provoqué une diminution de l'activité motrice, une augmentation de la diurèse et des indices de diarrhée. Des extraits aqueux et éthanolique de la graine testés sur le modèle de croissance tumorale de lymphome humain et de fibroblastes humains ont indiqués une légère toxicité.

L'extrait aqueux lyophilisé et l'infusion lyophilisée de pétioles, en application topique à des lapins pendant 72 heures, n'ont pas induit de changements évidents sur la peau. L'extrait huileux de la graine écrasée par voie topique sur 3 lapines New Zealand, selon le modèle proposé par Draize, n'a provoqué ni œdème, ni érythème durant les 72 heures d'observation ;

et l'application topique sur la peau rasée de rats Wistar (5 mâles et 5 femelles), n'a provoqué aucun signe de toxicité durant les 14 jours d'observation, l'étude histopathologique n'a montré aucune lésion. La racine par voie intrapéritonéale sur des souris mâles a montré une DL50 = 700 mg/kg. L'huile de graine séchée par voie orale a eu des effets allergéniques chez des adultes, avec manifestations d'urticaire chronique et œdème angioneurotique. L'administration massive de graines a provoqué une pancréatotoxicité et une hépatotoxicité avec hyperglycémie et une apparente augmentation du niveau d'insuline sur des chiens, la toxicité a diminué après administration de riboflavine.

## 5.1.2 *Indigofera tinctoria* L.

N° herbar au DMT : 0791/DMT

Nombre de chromosomes :  $2n = 16$  [57].

### 5.1.2.1 Systématique [58]

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Spermatophyta*

Sous-Embranchement : *Angiospermophyta*

Classe : *Eudicotyledoneae*

Ordre : *Fabales*

Famille : *Fabaceae*

Genre : *Indigofera*

Espèce : *Indigofera tinctoria*

### Synonymes [59]

- *Indigofera sumatrana* Gaertn. (1791) ;
- *Anila tinctoria* (L.) Kuntze ;
- *Anila tinctoria* var. *normalis* Kuntze ;
- *Indigofera anil* var. *orthocarpa* DC. ;
- *Indigofera bergii* Vatke ;
- *Indigofera cinerascens* DC. ;
- *Indigofera houer* Forssk. ;
- *Indigofera indica* Lam. ;
- *Indigofera oligophylla* Baker ;
- *Indigofera orthocarpa* (DC.) O. Berg & C.F. Schmidt ;
- *Indigofera tinctoria* Blanco ;
- *Indigofera tinctoria* subsp. *tinctoria* ;
- *Indigofera tinctoria* var. *tinctoria* ;
- *Indigofera tinctoria* var. *torulosa* Baker f. ;

- *Indigofera tullearensis* Drake

### Noms vernaculaires

- ✓ Gala boulou (Bambara) ;
- ✓ Indigotier tinctorial, indigotier des Indes (Français) ;
- ✓ Indian indigo, Common indigo (Anglais);
- ✓ Anileira dos tintureiros, anileira da India (Portugais) ;
- ✓ Mnili, mnyuka (Suédois)

### 5.1.2.2 Description botanique [57]

L'indigotier est une plante herbacée annuelle à pérenne pouvant atteindre 2 m de haut. Sa tige érigée, est abondamment ramifiée, et couverte de poils bifides apprimés blanchâtres.



Figure 30 : Vue photographique des rameaux feuillés de *Indigofera tinctoria* [60].

Les feuilles sont composées, imparipennées et disposées en spirale. Le pétiole mesure jusqu'à 2 cm de long, et le rachis jusqu'à 7 cm. Les pétiolules d'environ 1 mm de long portent des folioles elliptiques à obovales, généralement glabres au-dessus, à poils clairsemés au-dessous. Les stipelles (jusqu'à 0,5 mm de long) et stipules (1,5 - 3 mm de long) sont étroitement triangulaires.

L'inflorescence est une grappe axillaire sessile, pouvant atteindre jusqu'à 6 cm de long mais généralement bien plus courte. Elle porte de nombreuses fleurs bisexuées et papilionacées.

Les bractées étroitement triangulaires d'environ 1 mm de long sont plus ou moins persistantes. Le pédicelle mesure 1 à 1,5 mm de long et le calice environ 1 mm. La corolle (environ 4 mm) est formé d'étendard ovale d'environ 4 mm × 3,5 mm, blanchâtre avec des veines rougeâtres, ailes à onglet très court, rosées, carène pourvue d'éperons latéraux, rose à rouge. Les étamines, au nombre de 10, mesurent 4 à 5 mm de long, avec une étamine supérieure libre, et 9 autres réunies en un tube. L'ovaire est supère, 1-loculaire.

Le fruit est une gousse linéaire de 20–35 mm de long et d'environ 2 mm de largeur et d'épaisseur, droite ou légèrement courbée, arrondie en section transversale, brune à maturité, renfermant 7–12 graines avec un léger étranglement entre les graines.



Figure 31 : Vue photographique des fruits de *I. tinctoria* (prise par M. Guindo le 12/02/19 au DMT).

Les graines courtement oblongues, d'environ 2 mm × 1,5 mm, rhombiques en section transversale. La plantule à une germination épigée ; les cotylédons sont épais, et subsistent que peu de temps.

### 5.1.2.3 Répartition géographique : [26]

*Indigofera tinctoria* est une plante assez répandue à travers le globe, on la retrouve à l'état sauvage ou naturalisé un peu partout dans le monde, en particulier dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées chaudes : en Asie souvent à l'état sauvage ou

naturalisé (cas de la chine par exemple), en Amérique tropical où il a été introduit puis naturalisé, et en Afrique où il semble pousser à l'état sauvage à certains endroits.

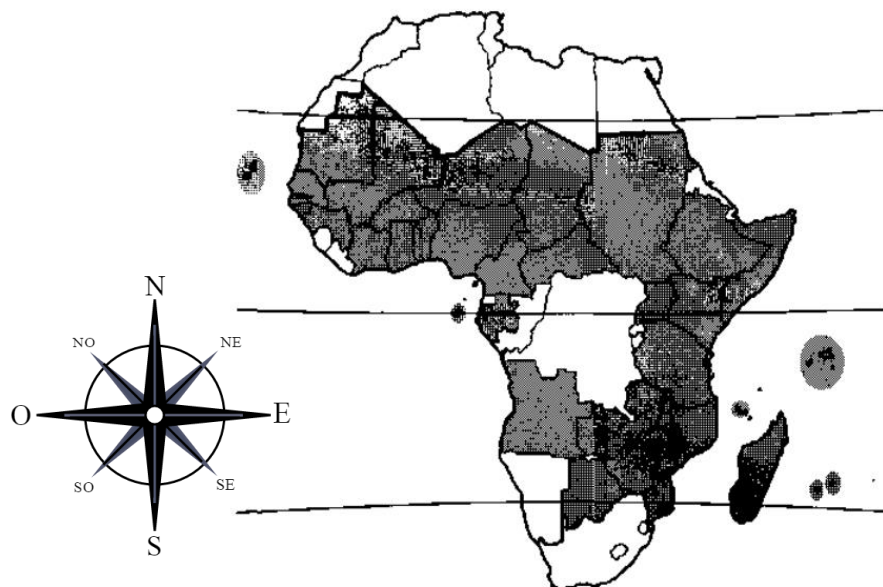


Figure 32 : Carte de répartition géographique de *Indigofera tinctoria* en Afrique [26].

#### 5.1.2.4 Les principaux colorants

*Indigofera tinctoria* ne contient pas en réalité des colorants, mais plutôt des précurseurs. En effet, Les rameaux feuillés de *I. tinctoria* renferment un glucoside incolore, l'indican, qui suite à un trempage dans l'eau se transforme par hydrolyse enzymatique en indoxyle et en glucose. Le groupement de deux molécules d'indoxyle en présence d'oxygène permet la formation d'indigoïdes avec comme colorant principal l'indigotine ou bleu indigo, et comme colorant minoritaire (à des proportions variables), de l'indirubine (substance colorante rouge). Durant le processus de formation de l'indigo, peuvent aussi se formé des composés isomères moins importants comme : l'isoindirubine (rouge) et l'isoindigo (brun) [26].

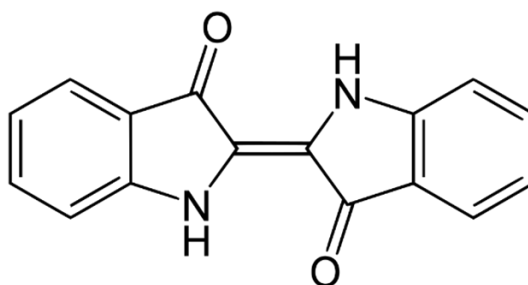


Figure 33 : Formule développée de l'indigotine [62]

L'indigotine est soluble dans le chloroforme, le nitrobenzène, l'acide sulfurique concentré et très soluble dans le Diméthylsulfoxyde, par contre il est insoluble dans l'éthanol, dans l'éther, ou dans l'eau [62].

### 5.1.2.5 Utilisations

#### ❖ Comme colorant

En raison de sa couleur bleue très attrayante, de sa grande tenue à la lumière et de la large gamme de couleurs que l'on obtient en le combinant avec d'autres teintures naturelles, l'indigo a été qualifié de "reine des teintures". Actuellement encore, l'indigo reste la teinture végétale la plus importante en Afrique occidentale, après avoir tenu par le passé, une place importante dans de nombreuses civilisations [26].

Dans le domaine pharmaceutique, c'est le dérivé sulfoné de l'indigo qui est le plus souvent employé. Ce dérivé appelé carmin d'indigo, parfois bleu de Saxe, E132, ou tout simplement indigotine est obtenu suite à un traitement thermique en présence d'acide sulfurique [29]. Son utilisation comme colorant dans les médicaments est approuvée en Europe, en Australie [13], au Canada [14] et aux Etats-Unis [15]. On l'utilise également pour colorer des fils de suture [2], ou comme principe actif dans les médicaments à usage diagnostiques [63].

#### Exemple de médicaments contenant de l'indigotine (E132) :

- Comme excipient (colorant) : CARBOSYLANE<sup>®</sup>, CARBOSYMAG<sup>®</sup>, VALIUM<sup>®</sup>
- Comme principe actif à visé diagnostique : CARMYNE<sup>®</sup>



Figure 34 : Vue photographique illustrant des comprimés de Valium<sup>®</sup> colorés par l'indigotine.

### ❖ Comme plante médicinale [26]

En médecine traditionnelle, les extraits de feuilles de *I. tinctoria*, parfois additionnés de miel ou de lait, sont souvent utilisés pour traiter l'épilepsie, les troubles nerveux, l'asthme, la bronchite, la fièvre, les maladies de l'estomac, du foie, des reins et de la rate, comme prophylactique de la rage, et en pommade pour les maladies de la peau, les blessures, les plaies, les ulcères et les hémorroïdes. Un extrait de feuilles est également employé pour traiter les brûlures et les plaies sur les bovins et les chevaux.

En Inde, on emploie une teinture préparée avec les graines pour tuer les poux. Au Cameroun, on applique une préparation de racines pour soulager les maux de dents, et en Tanzanie on l'emploie comme remède contre la syphilis, la blennorragie et les calculs rénaux. En Inde, on applique une pâte aqueuse de racines sur les blessures infestées de vers, et on emploie une infusion de racines comme antidote contre les morsures de serpents et pour traiter les piqûres d'insectes et de scorpions.

### 5.1.2.6 Données pharmacologiques

L'efficacité de l'emploi traditionnel de *Indigofera tinctoria* contre les hépatites a été confirmé par les résultats de certaines recherches. L'indigotone, fraction bioactive obtenue par fractionnement d'un extrait à l'éther de pétrole des parties aériennes de *Indigofera tinctoria*, aurait montré une action hépato protectrice significative dose-dépendante contre des lésions hépatiques causées par du tétrachlorure de carbone chez des rats et des souris. Des extraits méthanoliques de la plante entière ont montré une action anti-VIH sur des cultures de cellules [26]. Une étude portant sur les effets des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *Indigofera tinctoria* sur les macrophages péritonéaux et lymphocytes de rats Wistar affirme que les deux extraits ont induits une amélioration de la réponse immunitaire innée et adaptative [64]. Des extraits méthanolique de feuilles de *I. tinctoria* auraient montré contre une variété de bactéries cliniquement isolées à proximité de certains hôpitaux indiens, une activité antibactérienne encore plus marquée que celle du linézolide standard [65]. Les propriétés analgésiques périphériques de l'extrait éthanolique des feuilles furent démontrés sur des souris [66]. La fraction chloroformique d'un extrait alcoolique de *I. tinctoria* (plante entière, sauf la racine) a induit chez des hamsters dyslipidémiques une diminution significative des triglycérides plasmatiques, du cholestérol total, du glycérol, des acides gras libres et une augmentation du Cholestérol HDL [67].



Et L'extrait à l'éthanol montra une activité antioxydante à la fois *in vivo* et *in vitro*, et s'est avéré utile pour contrôler l'état épileptique induit par le lithium et la pilocarpine chez un rat albinos [68].

### 5.1.2.7 Données toxicologiques

Selon une étude visant à évaluer la génotoxicité d'une solution d'indigo obtenu à partir des feuilles de *Indigofera tinctoria*, l'indigo naturel utiliser aux concentrations testées ne présente ni cytotoxicité, ni génotoxicité et serai exempt de tout reproche de cancérogénicité [72]. D'autres expériences faites avec de l'indigo synthétique purifié et de l'indigo naturel ont révélé que les produits commerciaux synthétiques contrairement à l'indigo naturel, présentaient une activité mutagénique lié probablement à la présence d'un ou plusieurs contaminants [73]. Une autre étude portant sur les dommages pouvant être causé sur l'ADN par des indigoïdes tel que l'indigotine ou la 6-bromo-indigotine affirme qu'ils pourraient à des concentrations plus élevées devenir génotoxique [74]. Cependant cette dernière ne spécifie pas la source exacte des indigoïdes utilisés pour les tests (extrait de plantes à indigo ou obtenus par synthèse). Malgré la faible toxicité apparente qu'il affiche, l'indigo, mal utilisé pourrait s'avérer dangereux pour la santé humaine. En effet, l'usage traditionnelle de l'indigo pour traiter des maux, n'est pas dénuée de risque et pourrait être responsable d'accidents graves voire mortels. C'est le cas malheureusement d'un enfant de 3 ans, au Maroc, qui décéda peu de temps après son admission aux urgences, suite à l'administration par la mère pour des fins thérapeutiques, d'une quantité indéterminée d'indigo [75].

### 5.1.3 *Beta vulgaris* L.

N° Herbier au DMT : néant

Nombre de chromosomes :  $2n = 18$  [76].

#### 5.1.3.1 Systématique [77]

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Spermatophyta* (Spermatophytes)

Sous Embranchement : *Angiospermophyta* (Angiospermes)

Classe : *Eudicotyledoneae* (Eudicotylédones)

Ordre : *Caryophyllales* (Caryophyllales)

Famille : *Amaranthaceae* (Amaranthacées)

Genre : *Beta*

Espèce : *Beta vulgaris* L.

#### Synonymes [78]

Plus de 70 synonymes, dont :

- *Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*,
- *Beta alba* DC. ;
- *Beta altissima* Steud. ;
- *Beta atriplicifolia* Rouy ;
- *Beta bengalensis* Roxb ;
- *Beta decumbens* Moench
- *Beta esculenta* Salisb.
- *Beta hortensis* Mill.
- *Beta hybrida* Andrz.
- *Beta incarnata* Steud.
- *Beta lutea* Steud.
- *Beta marina* Crantz
- *Beta orientalis* Roth

- *Beta rapa* Dumort.
- *Beta stricta* K.Koch

### Noms vernaculaires

- ✓ Betravou (Bambara).
- ✓ Betterave potagère, betterave rouge, bette-épinard, poirée à couper, poirée à carde, bette à carde, côte de blette (Français)
- ✓ Garden beet, beetroot, spinach beet, leaf beet, Swiss chard (Anglais)
- ✓ Betteraba de mesa, betteraba vermelha, acelga (Portugais)

### 5.1.3.2 Description botanique [76]

La betterave est une plante herbacée habituellement bisannuelle, robuste, et érigée ; dont la racine principale est longue, trapue, et conique, les racines latérales forment un système racinaire dense et étendu dans les 25 premiers centimètres du sol. Chez la betterave potagère (betterave rouge), l'hypocotyle et la partie supérieure de la racine principale forment un organe spectaculairement renflé, globuleux, aplati, cylindrique ou conique, les racines adventives se présentent sur deux lignes opposées dans la partie inférieure. La racine renflée est formée de couches alternées de tissu conducteur en général fortement coloré et de tissu de réserve légèrement coloré.



Figure 35 : Vue photographique des racines de *Beta vulgaris* [79].

Les Feuilles de la rosette basale ont un long pétiole, les caulinaires alternes et à pétioles courts, souvent ovales et cordées, de 20 – 40 cm de long, aux bords ondulés sauf dans la bette-épinard. Les tissus des feuilles sont cloqués entre les veines, presque glabre, vert, vert

foncé ou rouge, et souvent brillant. Chez la bette à carde, le pétiole et la nervure médiane sont gonflés.



Figure 36 : Vue photographique des tiges feuillées de *Beta vulgaris* [77].

L'inflorescence est un épi branchu, long et paniculé, atteignant 150 cm de long. Les fleurs sont sessiles, bisexuées et groupées d'ordinaire par 2–3(–5). Elles sont verdâtres, sustentées par de minuscules bractées. Le périanthe à 5 parties, s'épaissit vers la base lorsque les fruits mûrissent. On compte 5 étamines ; un ovaire 1-loculaire, entouré par un disque, avec 2–3 stigmates.



Figure 37 : Vue photographique des fruits de *B. vulgaris* [80].

Le Fruit est une nucule, enfermée dans les parties basales du périanthe épaissies et liégeuses, de 3–7 mm de diamètre, 1–6 fruits adhérents en glomérules. La graine est réniforme, brune, de 1,5–3 mm de diamètre.

### 5.1.3.3 Répartition géographique [76].

On trouve des formes sauvages de *Beta vulgaris* le long des côtes de la Méditerranée, s'étendant vers l'Est jusqu'à l'Indonésie, et vers l'Ouest le long des côtes de l'Atlantique jusqu'aux Iles Canaries et au Sud de la Norvège. Cultivée pour ses feuilles, *Beta vulgaris* a été mise en culture autour de la Méditerranée orientale ou au Moyen-Orient et elle est mentionnée pour la première fois dans la littérature en Mésopotamie au IXe siècle avant J.-C. Des recettes pour les racines de betterave datent du IIIe siècle après J.-C., mais les vraies betteraves potagères n'apparaissent en Europe qu'au XVIe siècle. Aujourd'hui, les betteraves sont cultivées dans le monde entier pour leurs racines (betterave potagère), leurs pétioles (bette à carder), ou leurs feuilles (poirée à couper ou betterave-épinard).

La betterave potagère est dans le monde la forme la plus importante et peut se trouver dans tous les pays africains, plutôt dans les parties les plus fraîches de l'Afrique de l'Est et australe que dans les basses terres, et surtout en tant que légume commercial relativement secondaire autour des grandes agglomérations. Dans la plupart des pays africains, les betteraves à feuilles et à cardes sont bien plus importantes que la betterave potagère, qui est consommée principalement par les Européens. Deux autres formes cultivées de *Beta vulgaris*, la betterave fourragère et la betterave à sucre ont une importance négligeable en Afrique tropicale.

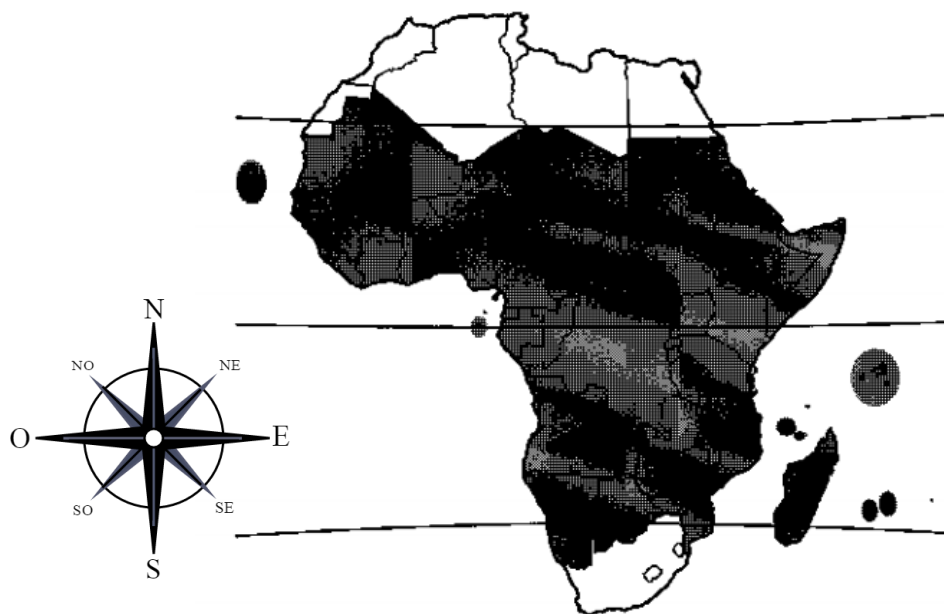


Figure 38 : Carte de la répartition géographique de *B. vulgaris* (plantée) en Afrique [81].

### 5.1.3.4 Les principaux colorants :

La coloration rouge si caractéristique de la betterave potagère est due à la présence de bétalaïnes. Appelées à l'origine "caryophyllinenroth" puis "rübenroth" ensuite "chromoalcaloïdes", et finalement nommées "bétalaïnes" par Mabry & Dreiding, ce sont des dérivés de l'acide bétalamique [82], que l'on retrouve sous forme de sels internes dans les vacuoles des cellules végétales [20]. On distingue deux sous-groupes de bétalaïnes [83]:

- Celui des bétacyanines essentiellement constitué de pigments de couleur rouge à violet, tel que la bétanine ou l'isobétanine ;
- Et celui des bétaxanthines, comprenant des pigments de couleur jaune à orange dont l'indicaxanthine (un des principaux pigments colorés de la betterave).

Bien qu'elles aient quelques points de similarité avec les anthocyanes comme l'hydrosolubilité, leur présence dans les vacuoles, ou la couleur rouge [16], les bétalaïnes constituent une famille de pigments naturel bien distinct de ces derniers.

D'ailleurs fait intéressant, ces deux groupes de pigments n'ont jamais été trouvés ensemble au sein d'une même plante [84]. Contrairement aux anthocyanes, tous des pigments appartenant à la famille des bétalaïnes possèdent au moins un atome d'azote, et ne change pas de façon réversible de coloration en fonction pH [17].

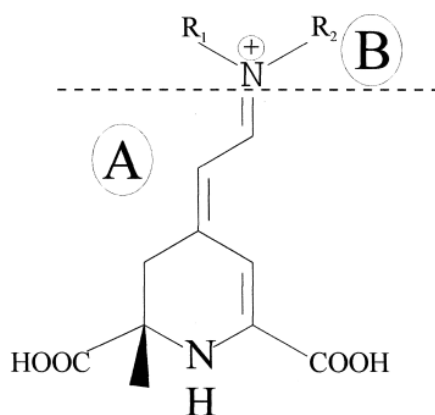


Figure 39 : Formule chimique de base des bétalaïnes [82].

(A) : Fragment d'acide bétalamique, présent dans toutes les molécules de bétalaïne.

(B) : Partie de la molécule permettant de déterminer le type de bétalaïne (bétacyanines ou bétaxanthines), en fonction de l'identité des résidus R1 et R2.

### 5.1.3.5 Utilisations

#### ❖ Comme colorant

Le principal facteur ayant longtemps limité l'utilisation de bétalaïnes comme colorant est sans doute la faible stabilité affichée, surtout à des températures élevées. Cependant, il existe de nos jours quelques approches utilisables pour les surmonter [21] :

- Formation de complexe bétalaïne-EDTA,
- Co-pigmentation avec les flavanols,
- Ajout d'éléments stabilisants tels que l'acide citrique, l'acide ascorbique ou isoascorbique,

Actuellement, la bétanine, une bétalaïne appartenant à la sous-classe des bétacyanines, entre dans la composition (en tant que colorant) de nombreux produits alimentaires, cosmétiques ou même pharmaceutiques. Elle est listée en Europe et en Australie parmi les colorants autorisés pour une utilisation dans la formulation des médicaments. Comme médicament colorer avec de la bétanine (rouge de betterave, E162) peuvent être cités : SUPRADYN BOOST<sup>®</sup> comprimés effervescents, BEROCCA SANS SUCRE<sup>®</sup> comprimés effervescents.



Figure 40 : Vue photographique d'une boîte de SUPRADYN BOOST<sup>®</sup>

### ❖ Comme plante médicinale

Les racines et les feuilles sont parfois utilisées comme médicaments contre des infections et tumeurs, et la bette à carde sert souvent d'agent hypoglycémique chez les diabétiques [81].

#### 5.1.3.6 Données pharmacologiques [85]

Lors d'une expérience clinique contrôlée, 20 patients asthéniques âgés de 50 à 64ans, avec plus de 30 jours d'évolution ont consommé du jus de racine de *B. vulgaris* à raison de 120 ml/jour. Au bout de 9 jours une amélioration subjective significative a été mise en évidence comparativement aux résultats obtenus avec 12 patients asthéniques ayant reçu du sirop. Les valeurs en : hémocrite, hémoglobine, urée, créatinine, acide urique, cholestérol, érythroscdimentation, calcul de leucocytes polymorphonucléaires, monocytes et réticulocytes ; glycémie, et triglycérides sont restées équivalentes aux valeurs de base.

Le jus frais de la racine crue de *B. vulgaris* aurait montré un effet antimutagénique *in vitro* sur un modèle de ségrégation mitotique induite par le mébendazole sur *Aspergillus nidulans*. Il aurait aussi induit une augmentation des motilités intestinale et utérine sur le modèle d'organe isolé sur iléon de cochon d'Inde et sur l'utérus de rat femelle, effet attribué au potassium contenu dans le jus.

L'extrait hydroalcoolique (50%) de la racine séchée à raison de 1667 mg/ml *in vitro* aurait montré une activité antifongique contre *Aspergillus niger* et *Trichophyton mentagrophytes* sur plaque d'agar-agar. L'extrait administré à des souris aurait induit une accélération du transit intestinal et l'aurait protégé partiellement contre l'infection expérimentale *in vivo* provoquée par le virus de l'*influenza*. La racine de la variété *rubra* sur des modèles de carcinome de Walher et sarcome de Jensen aurait diminué la croissance des tumeurs.

La bétanidine (aglycone de la bétanine), après avoir été injectée à un rat, aurait provoqué une augmentation passagère de la tension et de la fréquence cardiaque. L'adénine contenue dans la racine aurait une action antianémique (1,5 g/jour), l'alantoïne une activité immunostimulante ; la glutamine une activité stimulante du métabolisme et antiasthénique. La choline, la bétaine ainsi que d'autres pigments contenus dans le jus de betterave auraient une activité stimulante de la respiration cellulaire. La Bétaine aurait aussi un effet emménagogue et abortif, et serait également un facteur lipotrope (qui se fixe naturellement sur les graisses et engendre leur dégradation dans le foie puis leur élimination).



### 5.1.3.7 Données toxicologiques [85]

Des travaux portant sur l'aspect toxicologique de *Beta vulgaris*, menés par le TRAMIL, un Programme de recherche appliquée à l'usage populaire des plantes médicinales dans la Caraïbe, révèle que :

- Le jus frais de racine (120 ml/jour) administré par voie orale, à des patients âgés de 50 à 64 ans, suggère une bonne tolérance systémique.
- L'extrait hydroalcoolique (70%) de la racine par voie orale sur des rats femelles, n'a pas montré d'effets abortifs ni d'embryotoxicité.
- La racine fraîche dans la diète de rats des deux sexes pendant 14 jours n'a pas provoqué d'effet toxique évident.
- La racine bouillie (502 g/personne) administrée par voie orale à des adultes, a montré une faible activité antithyroïdienne, dans une étude où la captation de l'iode par la thyroïde a été mesurée.
- Les parties aériennes de la plante consommées par des vaches provoquent un effet anticonceptionnel et (ou) interceptif ; des données expérimentales ont montré une activité mutagénique sur des modèles de micro-organismes pour cette partie de la plante, mais elles ne se réfèrent pas à la racine.

### 5.1.4 *Hibiscus sabdariffa*

N° Herbier au DMT : 2525/DMT

Nombre de chromosomes :  $2n = 72$  [86].

#### 5.1.4.1 Systématique

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Spermatophyta* (Spermatophytes)

Sous Embranchement : *Angiospermophyta* (Angiospermes)

Classe : *Eudicotyledoneae* (Eudicotylédones)

Ordre : *Malvales*

Famille : *Malvaceae*

Genre : *Hibiscus*

Espèce : *Hibiscus sabdariffa* L.

#### Synonymes [87]

- *Abelmoschus cruentus* (Bertol.) Walp.
- *Furcaria sabdariffa* Ulbr.
- *Hibiscus acetosus* Noronha
- *Hibiscus cruentus* Bertol.
- *Hibiscus fraternus* L.
- *Hibiscus gossypifolius* Mill.
- *Hibiscus palmatilobus* Baill.
- *Hibiscus sanguineus* Griff.
- *Sabdariffa rubra* Kostel.
- *Hibiscus subdariffa* Rottb.

#### Noms vernaculaires

- ✓ Da bilenni (Bambara) ;
- ✓ Roselle, oseille de Guinée, bissap, thé rose d'Abyssinie, groseille pays (Français) ;

- ✓ Roselle, Jamaican sorrel, Indian sorrel, bissap, karkadeh (anglais) ;
- ✓ Vinagreira, azeda de Guiné, azedinha, caruru azedo, quiabeiro azedo (Portugais) ;
- ✓ Ufuta, ufuta dume (Suédois).

#### 5.1.4.2 Description botanique [86].



Figure 41 : Vue photographique des tiges feuillées de *Hibiscus sabdariffa* [88]

La roselle est une grande plante herbacée annuelle atteignant 4,5 m de haut. Elle possède une tige glabre à légèrement pubescente, parfois garnie de quelques aiguillons, verte ou rougeâtre. Ses Feuilles sont simples et alternes ; les stipules étroitement lancéolées à linéaires, atteignant 1,5 cm de long ; le pétiole de 0,5–12 cm de long ; et le limbe faiblement à profondément 3–5(–7) -palmatilobé, parfois non divisé, atteignant 15 cm × 15 cm, à bord denté, glabre ou légèrement pubescent, parfois garni de quelques aiguillons sur la nervure médiane, qui, est pourvu d'un nectaire bien visible à la base. La plantule a une germination épigée ; les cotylédons arrondis, atteignant 2,5 cm × 3 cm, et foliacés.

Le Fruit est une capsule ovoïde atteignant 2,5 cm de long, presque glabre à pubescente-apprimée, enfermée dans le calice et contenant de nombreuses graines brun foncé réniformes, atteignant 7 mm de long.

Les fleurs, solitaires à l'aisselle des feuilles, sont bisexuées, régulières, 5-mères ; le pédicelle atteignant 2 cm de long, articulé. Les segments de l'épicalice au nombre de 8–12, sont unis à la base, subulés à triangulaires, la partie libre mesure 0,5 à 2 cm de long.



Figure 42 : Vue photographique d'une fleur de *Hibiscus sabdariffa* [88].

Le calice campanulé, atteignant 5,5 cm de long devient charnu chez le fruit, les lobes presque glabres à poilus hispides, sont pourvus d'un nectaire à l'extérieur. Les pétales libres, obovales, atteignant 5 cm × 3,5 cm, jaune pâle ou rose pâle, au centre souvent rouge-violet foncé. Les nombreuses étamines généralement roses sont réunies en une colonne pouvant atteindre 2 cm de long ; ovaire supère, 5-loculaire, style à 5 branches.



Figure 43 : Vue photographique de deux Calices de *Hibiscus sabdariffa* [88].

### 5.1.4.3 Répartition géographique [86].

*Hibiscus sabdariffa* serait selon les dires, originaire d'Afrique, où il pourrait avoir été domestiqué au Soudan il y a environ 6000 ans, d'abord pour ses graines et ensuite pour la production de feuilles et de calices. Au XVII<sup>e</sup> siècle, des types légumiers furent introduits en Inde et aux Amériques. C'est en Asie, où la culture est signalée depuis le début du XX<sup>e</sup> siècle, que la sélection pour la production de fibres a eu lieu (Inde, Sri Lanka, Thaïlande, Malaisie et Java). La roselle est présente de nos jours dans toutes les régions tropicales, surtout en Afrique, où elle est très commune, en particulier dans les savanes des zones occidentales et centrales. On la rencontre souvent comme plante échappée des cultures. Mais des spécimens d'apparence vraiment sauvage de *Hibiscus sabdariffa* ont été récoltés, comme c'est le cas au Ghana, au Niger, au Nigeria et en Angola.

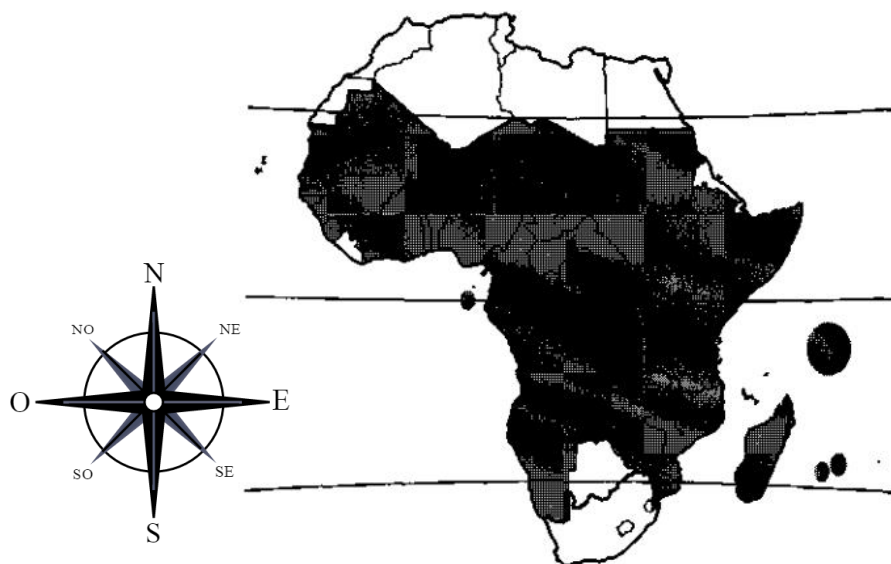


Figure 44 : Carte de la répartition géographique de *Hibiscus sabdariffa* (planté) en Afrique [81]

### 3.1.4.3 Les principaux colorants

Les pigments responsables de la coloration rouge des calices de *H. sabdariffa* sont les anthocyanes. Les anthocyanes sont des pigments naturels vacuolaires hydrosolubles appartenant à la classe des flavonoïdes [16]. Elles font partie des pigments naturels les plus répandue dans le règne végétal, et certaines plantes comme la roselle (*H. sabdariffa*), en renferme une forte quantité (jusqu'à 1,5g/ kg de calices secs) [89].

Quatre anthocyanosides formés à partir de deux types d'anthocyanidols, la Cyanidine et la Delphinidine ont été identifiés dans les calices (rouges) de *H. sabdariffa*, il s'agit de [89] :

- La Delphinidine 3-sambubioside ou hibiscine, anthocyane majoritaire, responsable de la couleur rouge-violette des calices (représente 70 % de la teneur totale en anthocyanes) ;
- La Cyanidine 3-sambubioside ou gossypicyanine ;
- La Delphinidine 3-glucoside ;
- La Cyanidine 3-glucoside.

L'aglycone de l'anthocyane majoritaire de la roselle est donc la delphinidine, qui, tout comme la cyanidine est l'une des six principales anthocyanidols que l'on rencontre chez les plantes, les quatre autres étant : la malvidine (pourpre foncé), la péonidine (rouge), la pétunidine (pourpre) et la pélargonidine (rouge-orange) [17].

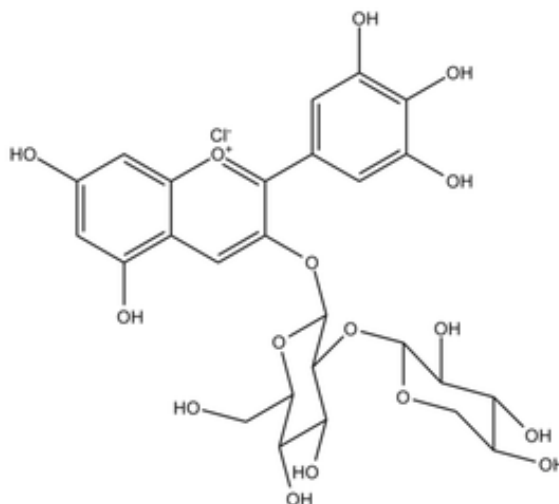


Figure 45 : Formule développée de la delphinidine 3-sambubioside [90].

La delphinidine (E163b) et la cyanidine (E163a) font partie des listes australienne, canadienne, et européenne de matières colorantes autorisées pour une utilisation dans les formulations pharmaceutiques.

### 5.1.4.5 Utilisations

#### ❖ Comme colorant

Les extraits de calices de *Hibiscus sabdariffa* sous forme de concentré ou de poudre séchée sont utilisés comme colorant naturel dans les industries alimentaires et pharmaceutiques.

Cependant leur emploi a souvent été assez limité et pose encore problème, du fait de l'instabilité des pigments lors de la conservation du produit [89].

En effet, la couleur affichée par les anthocyanes est souvent sujette à des variations liées à leur instabilité structurelle. Elle est influencée par la présence d'enzymes, de lumière, de composés complexant (tels que les métaux, les acides phénoliques), et par les variations de pH. Les approches qui pourraient permettre de pallier, ou du moins réduire ces instabilités seraient :

- d'éviter l'exposition à la lumière et si possible réfrigérer les préparations contenant des anthocyanes [21].
- d'avoir recours à des réactions d'acylation ou encore de complexation avec des catéchines (phénol), ces réactions permettraient d'augmenter la stabilité structurelle des anthocyanes [21].
- de plus il a été également constaté que les anthocyanes, stockés sous forme de poudres avec de la dextrine (un glucide amorphe), restaient stables à la température ambiante, même après 12 semaines ; les échantillons en poudre étaient aussi moins sujets à la dégradation par rapport à ceux qui ont été mis en solution [25].

**Exemple de médicament coloré par le E163 (anthocyanes) : STREPSILS FRAISE SANS SUCRE®**



Figure 46 : Vue photographique d'une plaquette de STREPSILS FRAISE SANS SUCRE®

### ❖ Comme plante médicinale

La tisane d'oseille est utilisée contre l'hypertension artérielle. Au Sénégal, le jus des feuilles s'emploie pour traiter la conjonctivite. On utilise souvent aussi des extraits pour soigner les rhumes, les maux de dents, les infections des voies urinaires et la gueule de bois.

Les feuilles sont appliquées en cataplasme sur les plaies et ulcères pour favoriser la guérison. La décoction des racines sert également de laxatif [81].

#### 5.1.4.6 Données pharmacologiques

La roselle possède des propriétés antispasmodiques, vermifuges et bactéricides. Les effets antihypertensif et cardioprotecteur de la tisane des calices de *H. sabdariffa* ont été démontrés à travers diverses expérimentations sur des animaux, ainsi que par certains essais cliniques. Un composé phénolique, l'acide protocatéchuïque, isolé à partir des fleurs de roselle, a montré une activité antioxydante, antitumorale et hépato protectrice. Des extraits de roselle ont également montré des propriétés antipyrétiques et anodines dans des expérimentations sur des souris. L'huile des graines présente une activité antibactérienne et antifongique [81].

La delphinidine possède des activités antimutagènes, anti-angiogéniques, et antioxydantes. L'acide malique, un des principaux acides organique de *H. sabdariffa*, présenterait des propriétés immunostimulantes. Il assurerait le maintien de la santé bucco-dentaire et serait capable de réduire les risques d'intoxication par les métaux. Les tocophérols qu'il contient sont consommés comme source exogène d'antioxydants pour réduire le stress oxydatif et prévenir plusieurs maladies chroniques [91].

#### 5.1.4.7 Données toxicologiques

Malgré sa popularité et son utilisation fréquente, surtout en Afrique, on dispose à nos jours de peu d'informations toxicologiques sur la roselle. Mais la plupart des études antérieures portant sur le sujet s'accordent sur le fait que sa consommation, même quotidienne, à des doses raisonnables demeure sans danger pour la santé humaine.

Lors d'une expérience portant sur des rats, l'extrait aqueux des calices de *H. sabdariffa* administré par voie orale à raison de 5g/ kg n'a induit aucune toxicité. L'extrait administré à des doses de 50, 100 et 200 mg / kg / jour pendant 270 jours n'a provoqué ni toxicité, ni anomalie de comportement chez l'animal [92].



Cependant, l'utilisation prolongée à raison de 15 doses de 250 mg / kg de l'extrait hydro-méthanolique pourrait provoquer des lésions hépatiques chez le rat [93]. De plus, lors d'une expérience portant sur des rats albinos, l'administration orale pendant 90 jours d'extraits aqueux et alcoolique de calices secs de *H. sabdariffa* à une dose de 2 000 mg/ kg a provoqué une perte de poids importante accompagnée de diarrhée, puis de la mort des animaux [94].

## 5.2. Contrôle de qualité botanique

### 5.2.1 Caractères macroscopiques

**Tableau I** : Caractères macroscopiques des échantillons provenant des plantes étudiées

Espèces	Description des caractères macroscopiques
<i>Bixa orellana</i>	Graines sèches obovoïdes de quelques millimètres de long, de couleur noir recouverte par un tégument rouge (rouge-orangé pour certaines graines).
<i>Indigofera tinctoria</i>	Feuilles sèches atrophiées, obovales, de quelques millimètres de long. Certaines feuilles étaient vertes, mais la plupart d'entre elles affichaient une couleur bleu grisâtre,
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Les calices secs de quelques centimètres de long affichant un mélange de rouge vif- rouge violacé - rouge brun, avaient des formes irrégulières légèrement torsadés.
<i>Beta vulgaris</i>	Racines rouges charnues, obovoïdes à sphériques au niveau de la zone renflée, intensément coloré dans sa partie interne.

### 5.2.2 Caractères organoleptiques

**Tableau II** : caractères organoleptiques des poudres des échantillons provenant des plantes étudiées

Espèce	Description des caractères organoleptiques de la poudre		
	Couleur	Saveur	Odeur
<i>Bixa orellana</i>	Jaune-orangé	Goût de terre, légèrement poivré	Assez caractéristique
<i>Indigofera tinctoria</i>	Verte	Gout assez fade, légèrement amère	Odeur particulière, mais peu caractéristique
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Mélange de rouge vif - rouge brun	Fort goût acide, assez amère	Odeur caractéristique
<i>Beta vulgaris</i>	Rouge violacée	Goût terreux et sucré	Assez caractéristique

### 5.2.3 Caractères microscopiques

La microscopie nous a permis d'identifier quelques éléments plus ou moins caractéristiques :

- ***Bixa orellana***

L'examen au microscope de la poudre de graines de *B. orellana* n'a montré qu'un champ pratiquement vide avec quelques particules orangés, aucun élément caractéristique n'a été identifié.

- ***Indigofera tinctoria***

Les éléments observés sont illustrés par les figures 47 à 53 :

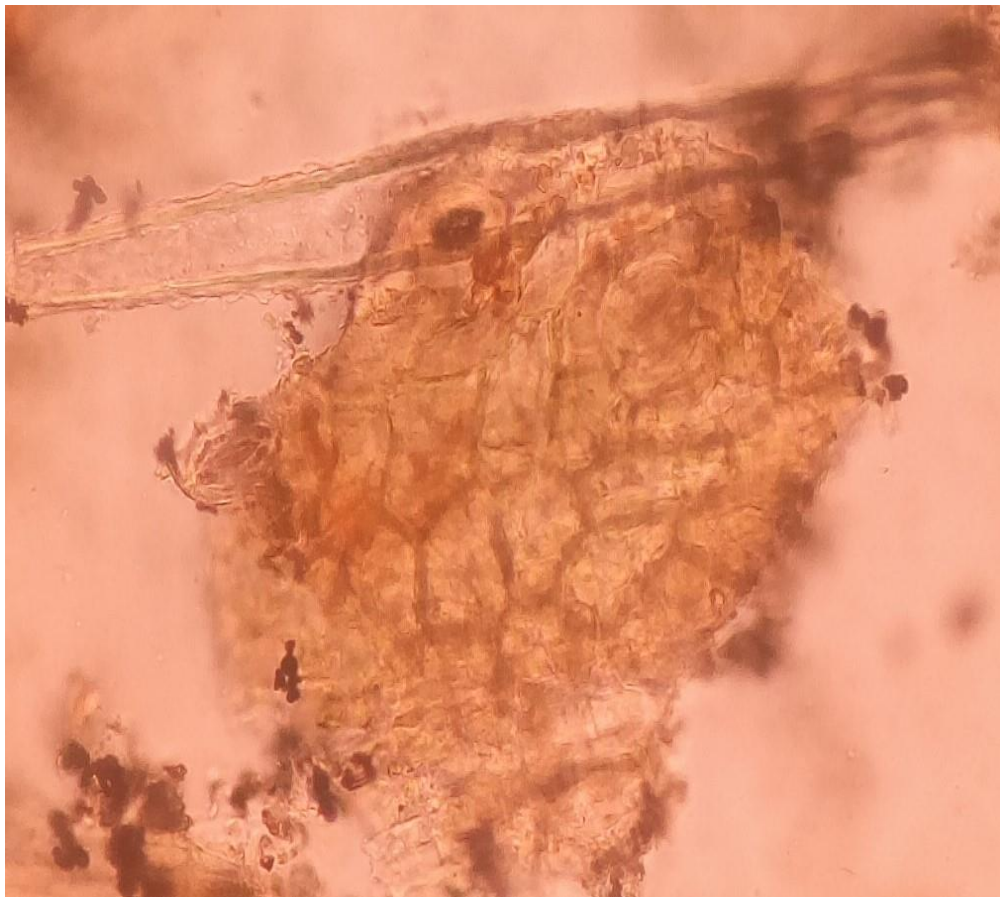


Figure 47 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un fragment d'épiderme avec Stomates.



Figure 48 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'une fibre

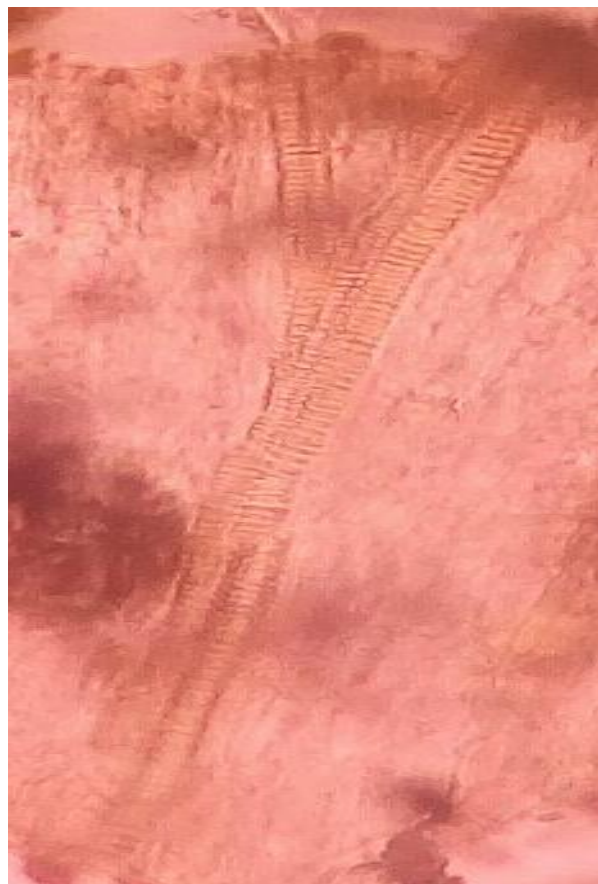


Figure 49 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème spiralé à ponctué

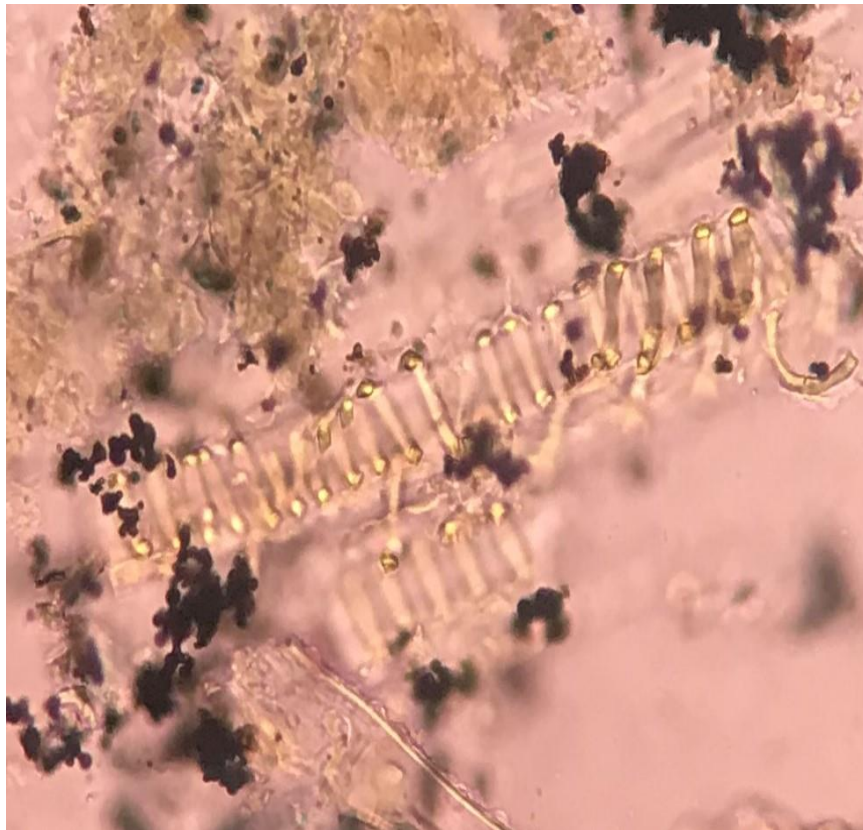


Figure 50 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème spiralé



Figure 51 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème ponctué.

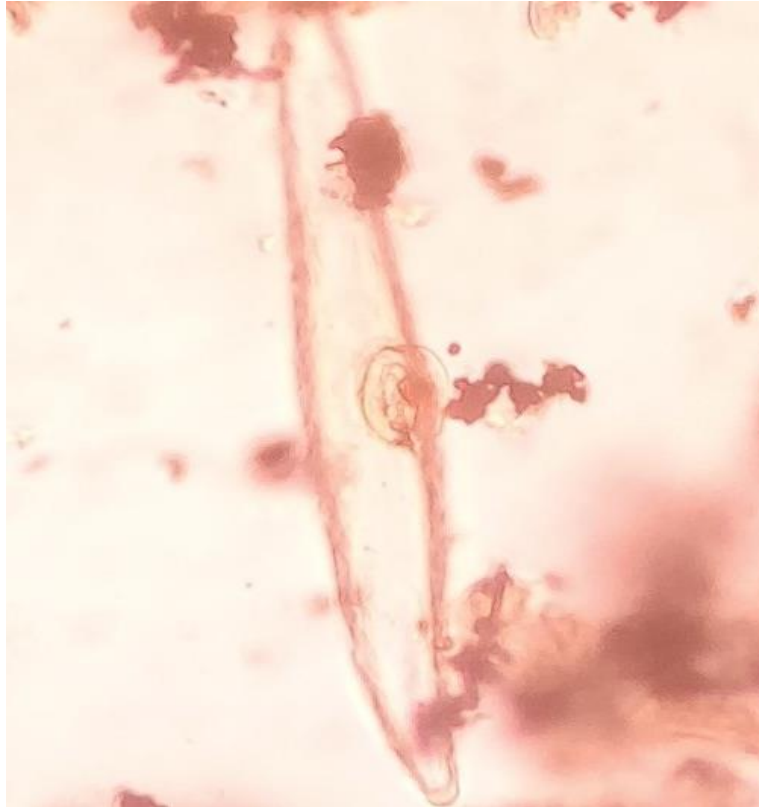


Figure 52 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un poil sécréteur unicellulaire

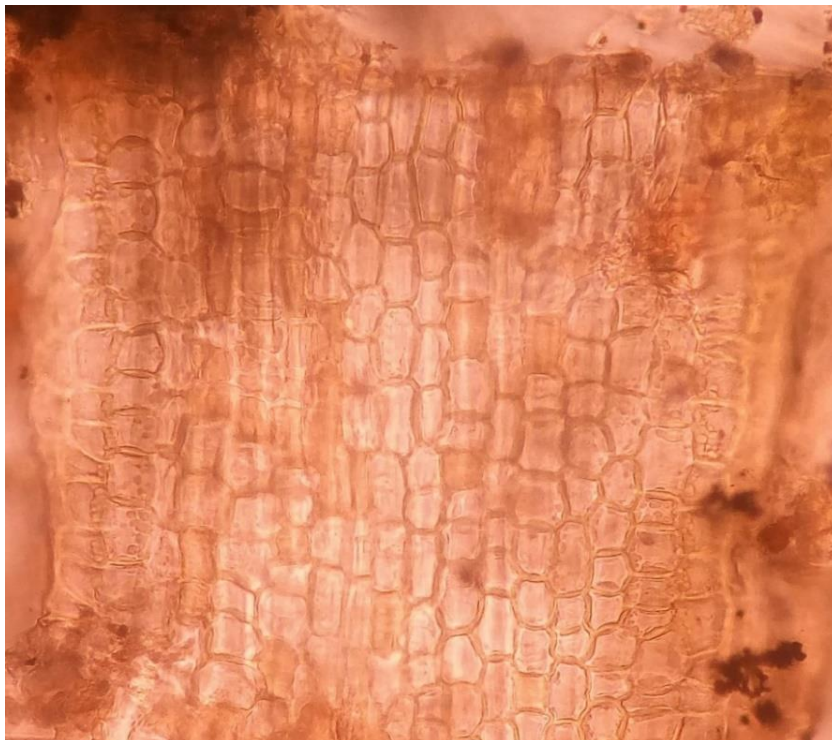


Figure 53 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un parenchyme

- *Hibiscus sabdariffa*

Les éléments observés sont illustrés par les figures 52 à 56 :

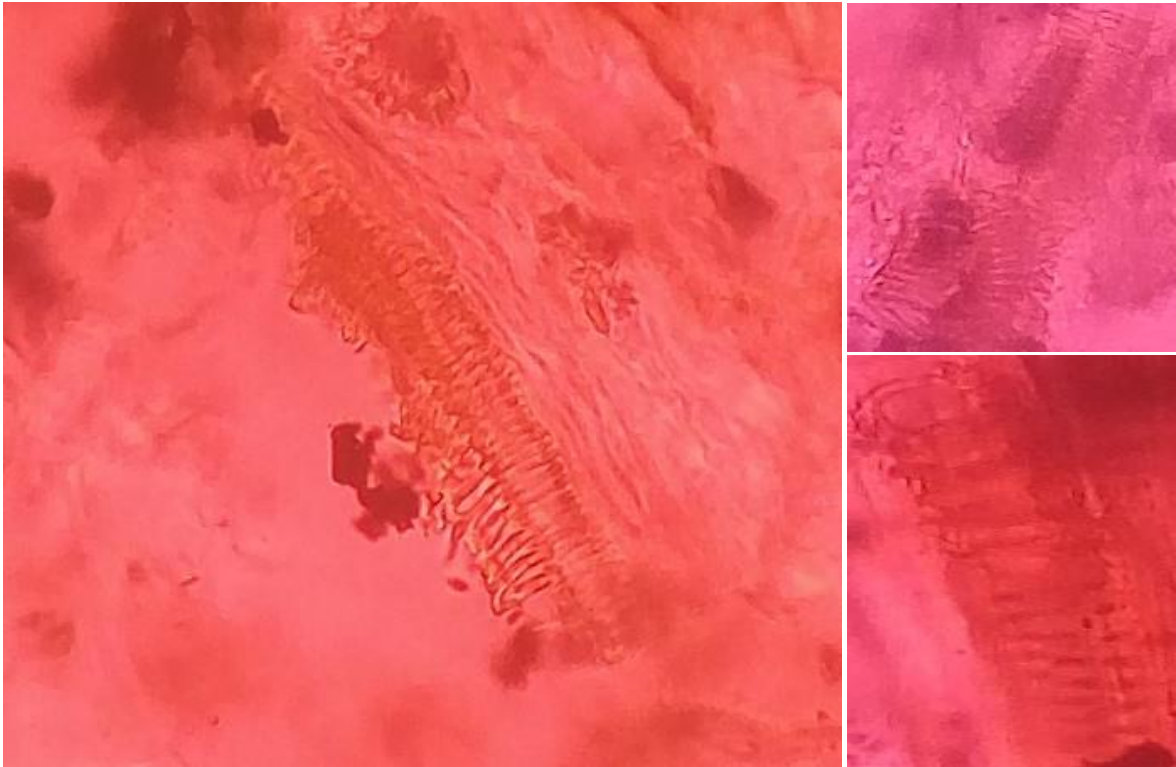


Figure 54 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème spiralé.

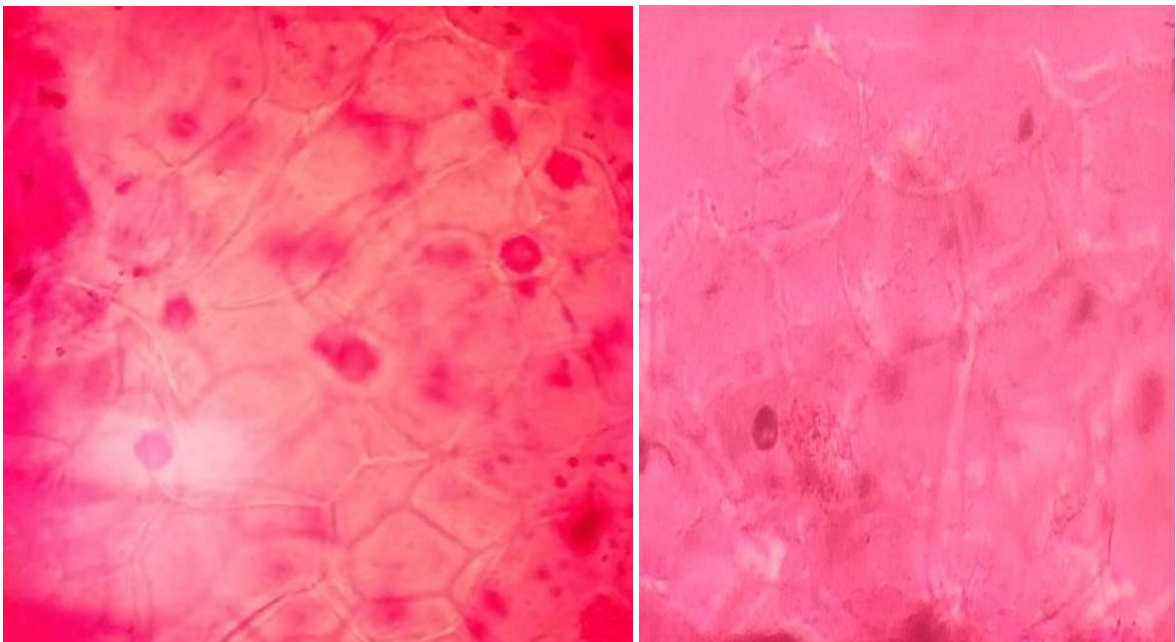


Figure 55 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un fragment d'épiderme.

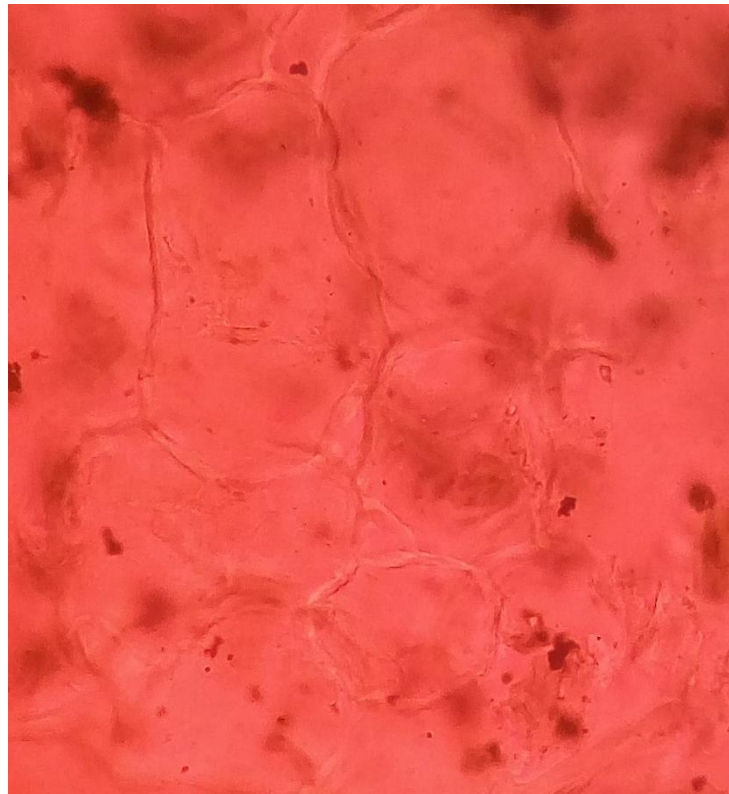


Figure 56 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un parenchyme.

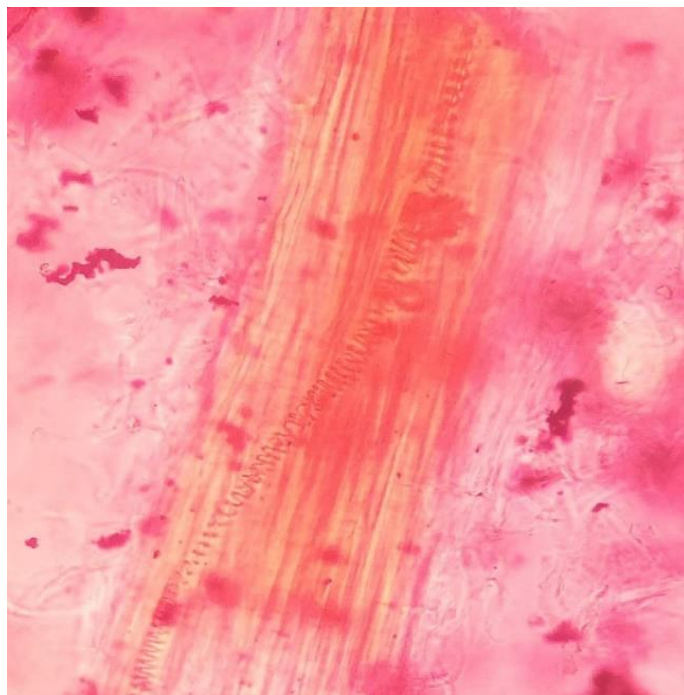


Figure 57 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'une fibre contenant un xylème spiralé à ponctué.





Figure 58 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un poils sécréteur unicellulaire.

▪ ***Beta vulgaris***

Les éléments observés sont illustrés par les figures 57 à 64 :

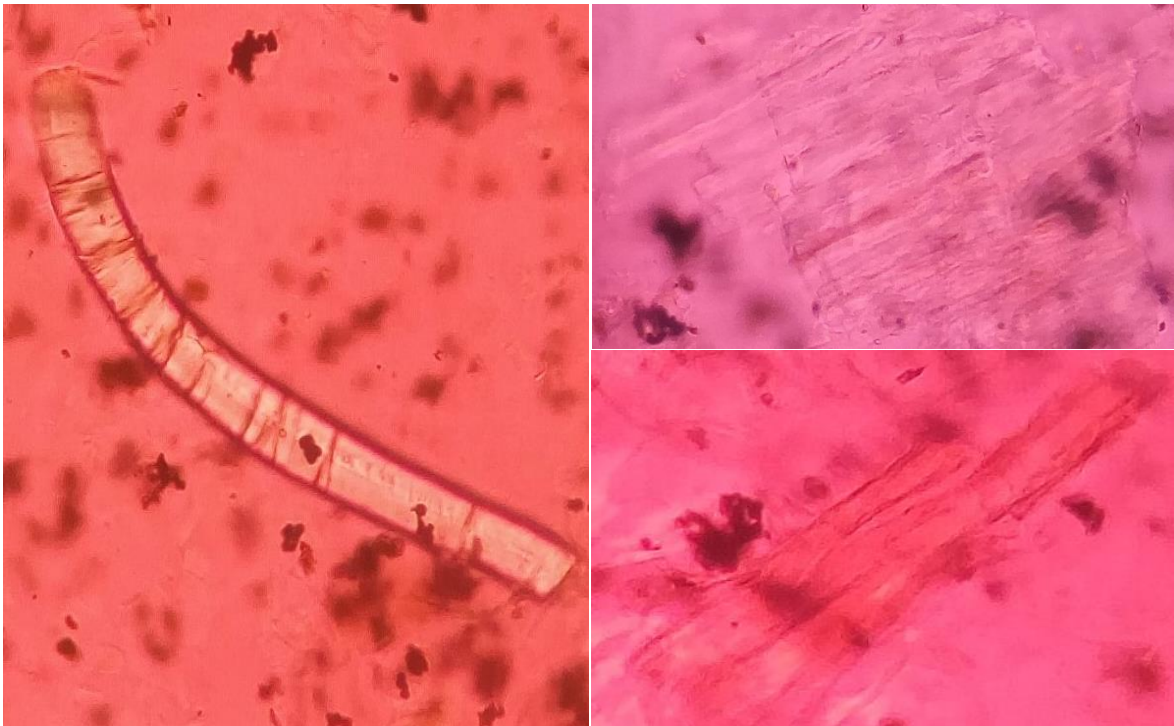


Figure 59 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'une fibre.

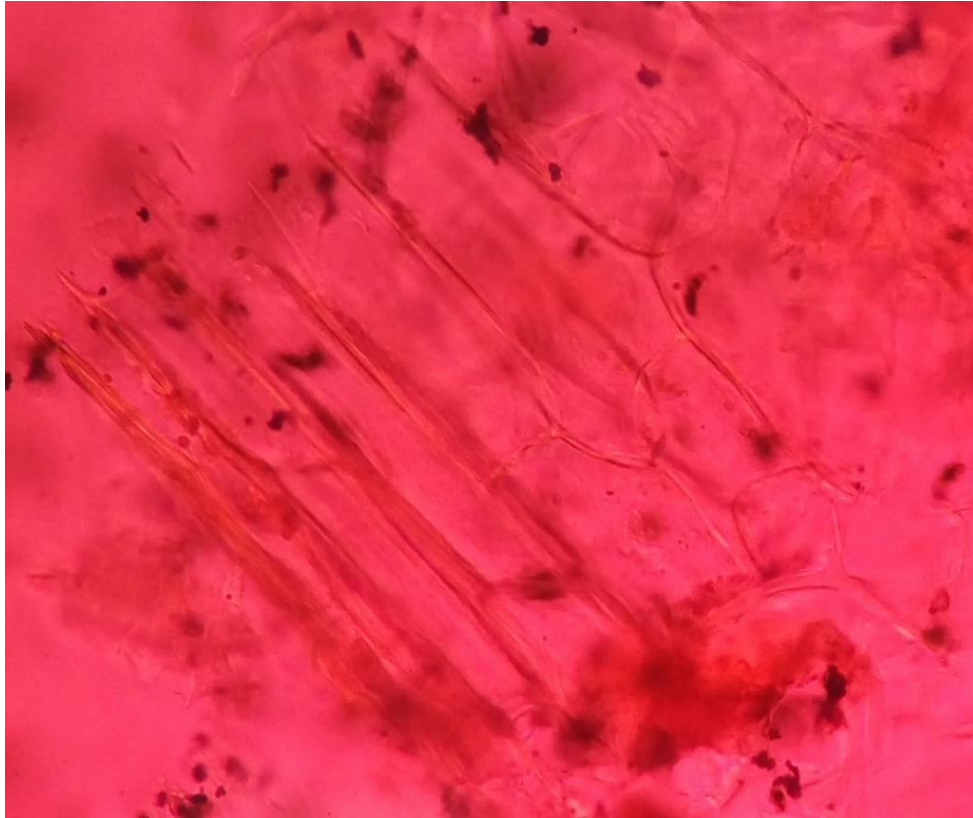


Figure 60 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un phloème



Figure 61 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un poils sécréteur unicellulaire

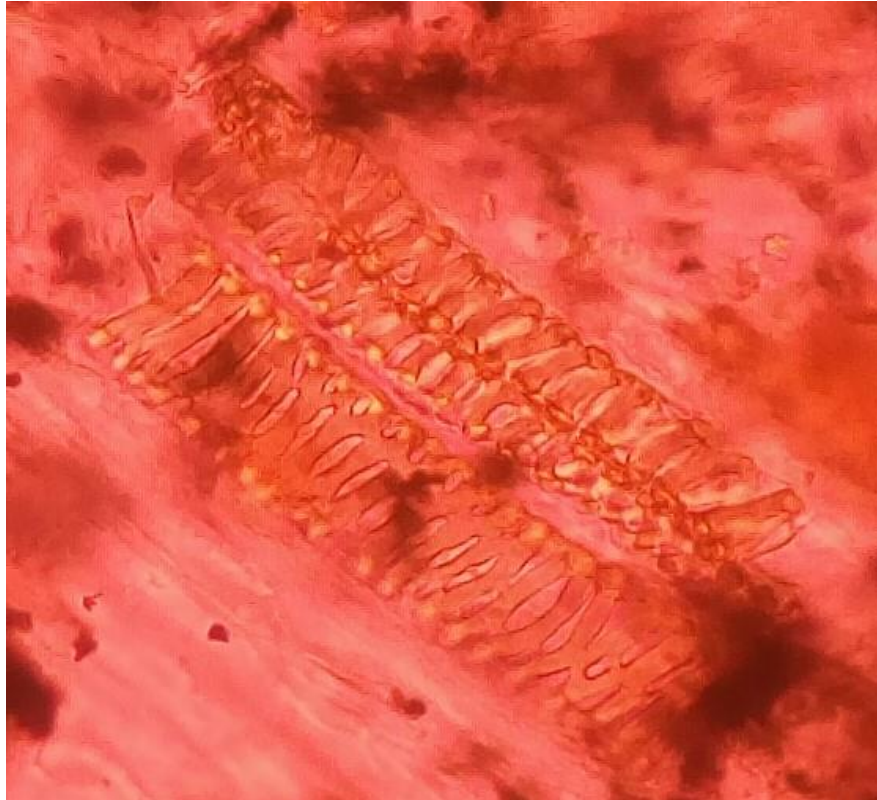


Figure 62 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème ponctué

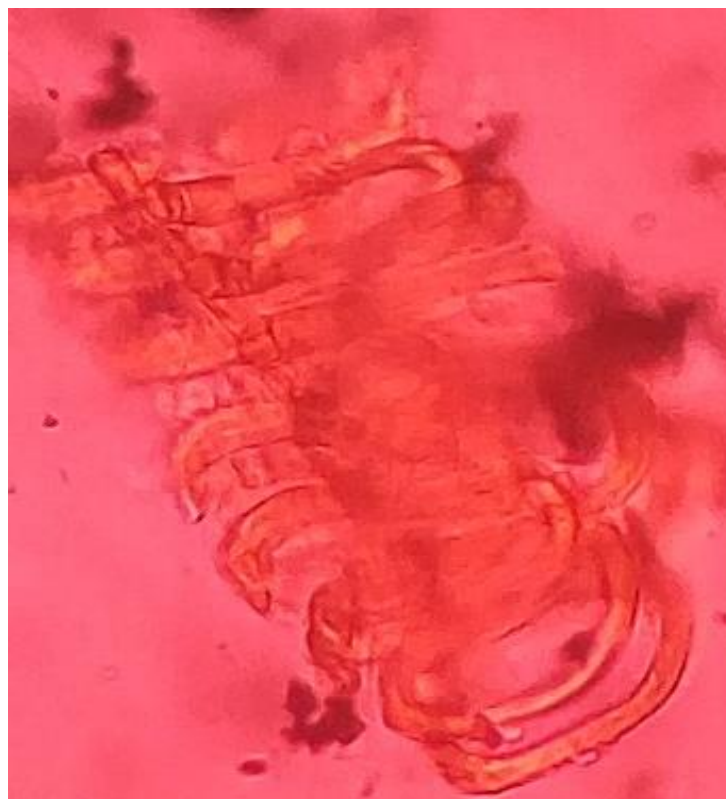


Figure 63 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème spiralé

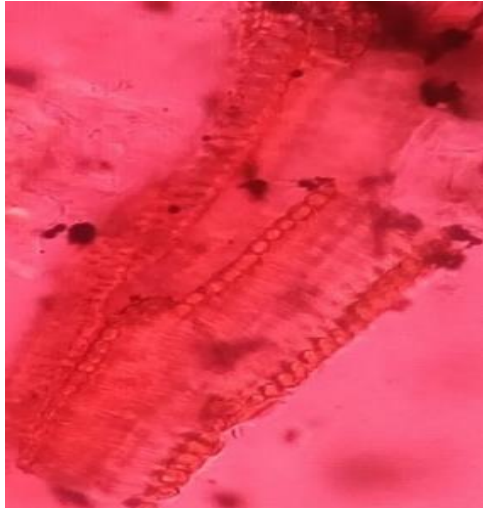


Figure 64 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un xylème spiralé à ponctué



Figure 65 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un fragment de poil tecteur

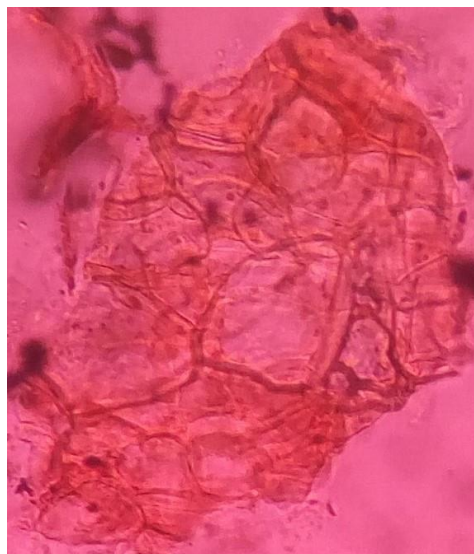


Figure 66 : Vue microscopique (à l'objectif 40) d'un parenchyme

### 5.3 Résultats de l'analyse phytochimique

Les résultats de la séparation par CCM des différents extraits étudiés avec le mélange Acide Acétique - Méthyléthylcétone - Acide formique – Eau (50 : 30 : 10 : 10), et le mélange Butanol -Acide acétique – Eau (60 : 20 : 20), ont été groupés puis consignés dans les Tableaux 3 et 4. Les figures 67 à 72 illustrent en image ces résultats.

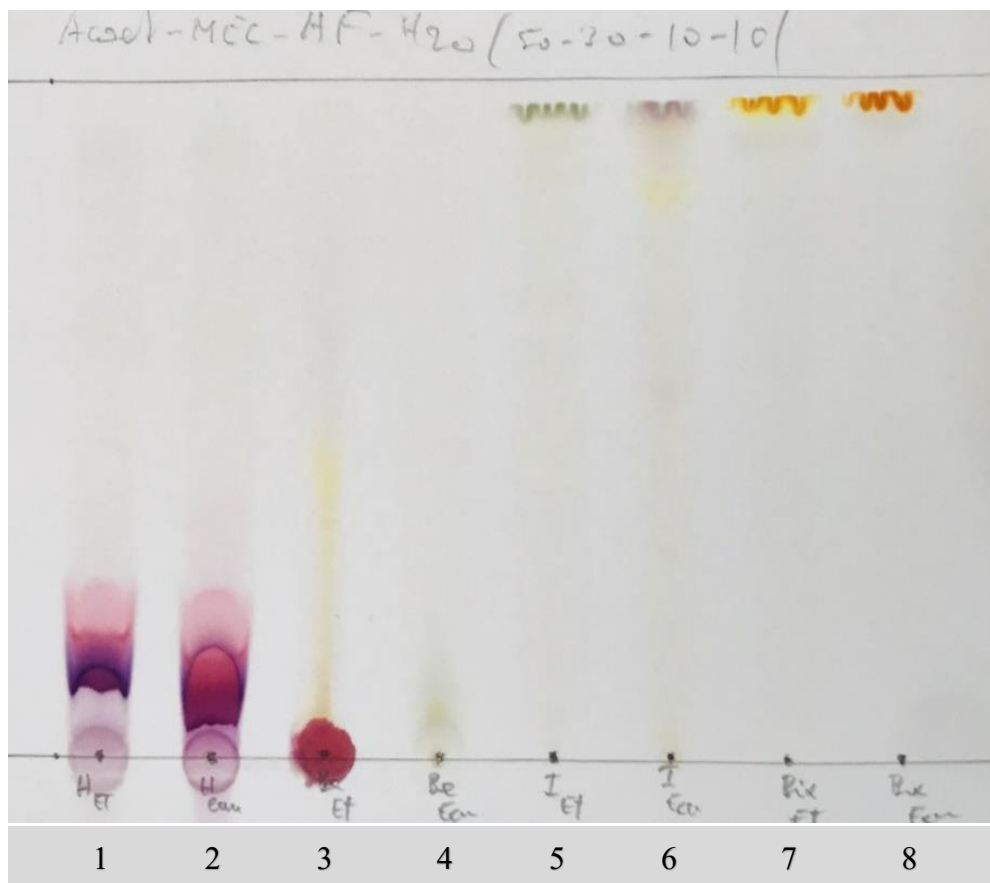


Figure 67 : Image d'une de nos plaques chromatographiques, prise à la lumière naturelle, après séparation des extraits dans le système de solvant : Acide Acétique – Méthyléthylcétone – Acide formique – Eau (50 : 30 : 10 : 10).

Avec :

- |   |  |
|---|--|
| 1 : Extraits éthanolique de <i>Hibiscus sabdariffa</i>  | 2 : Extraits aqueux de <i>Hibiscus sabdariffa</i>  |
| 3 : Extraits éthanolique de <i>Beta vulgaris</i>        | 4 : Extraits aqueux de <i>Beta vulgaris</i>        |
| 5 : Extraits éthanolique de <i>Indigofera tinctoria</i> | 6 : Extraits aqueux de <i>Indigofera tinctoria</i> |
| 7 : Extraits éthanolique de <i>Bixa orellana</i>        | 8 : Extraits aqueux de <i>Bixa orellana</i>        |

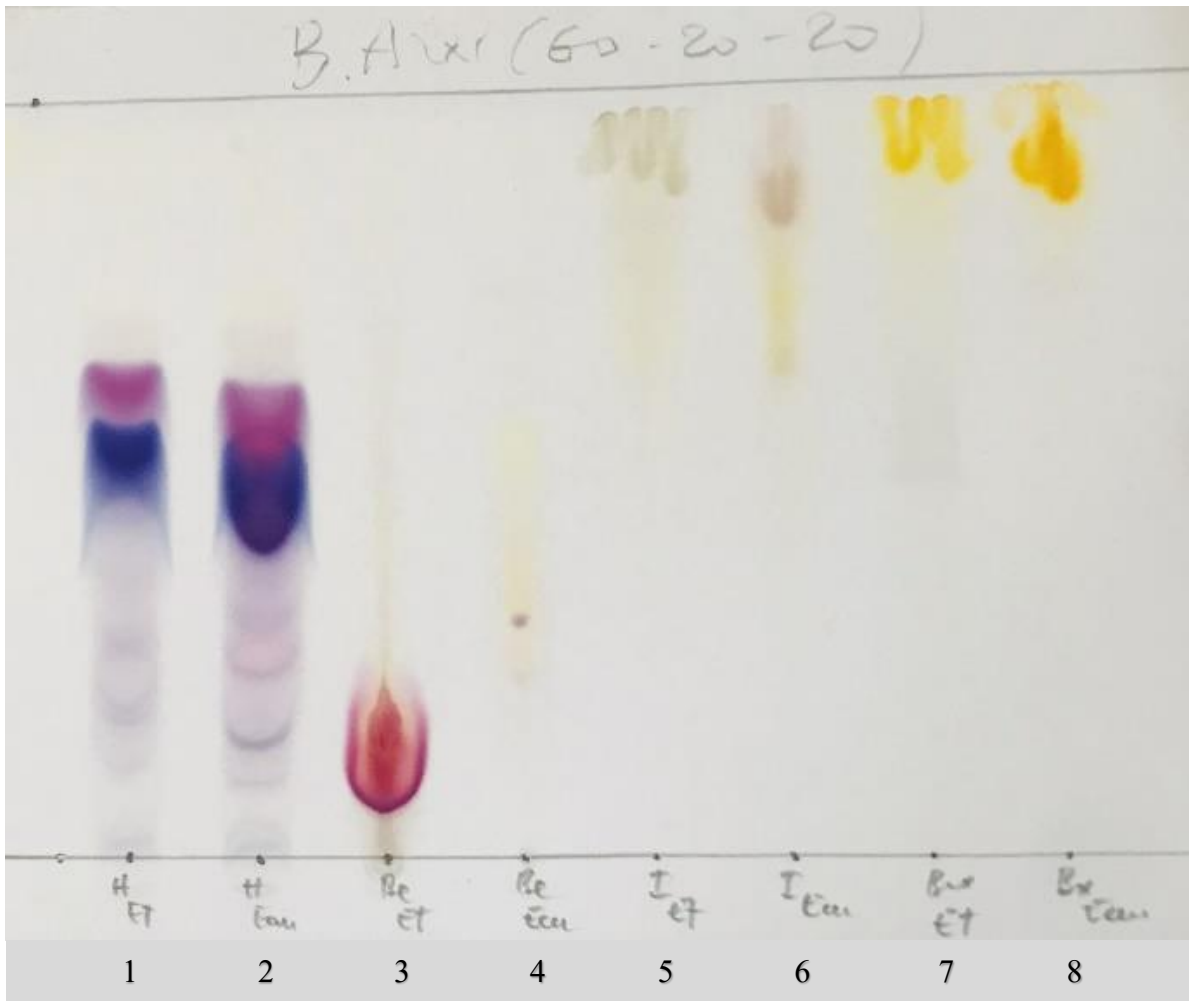


Figure 68 : Image d'une de nos plaques chromatographiques, prise à la lumière naturelle, après séparation des extraits dans le système de solvant : Butanol – Acide acétique – Eau (60 : 20 : 20).

Avec :

- |   |  |
|---|--|
| 1 : Extraits éthanologique de <i>Hibiscus sabdariffa</i>  | 2 : Extraits aqueux de <i>Hibiscus sabdariffa</i>  |
| 3 : Extraits éthanologique de <i>Beta vulgaris</i>        | 4 : Extraits aqueux de <i>Beta vulgaris</i>        |
| 5 : Extraits éthanologique de <i>Indigofera tinctoria</i> | 6 : Extraits aqueux de <i>Indigofera tinctoria</i> |
| 7 : Extraits éthanologique de <i>Bixa orellana</i>        | 8 : Extraits aqueux de <i>Bixa orellana</i>        |

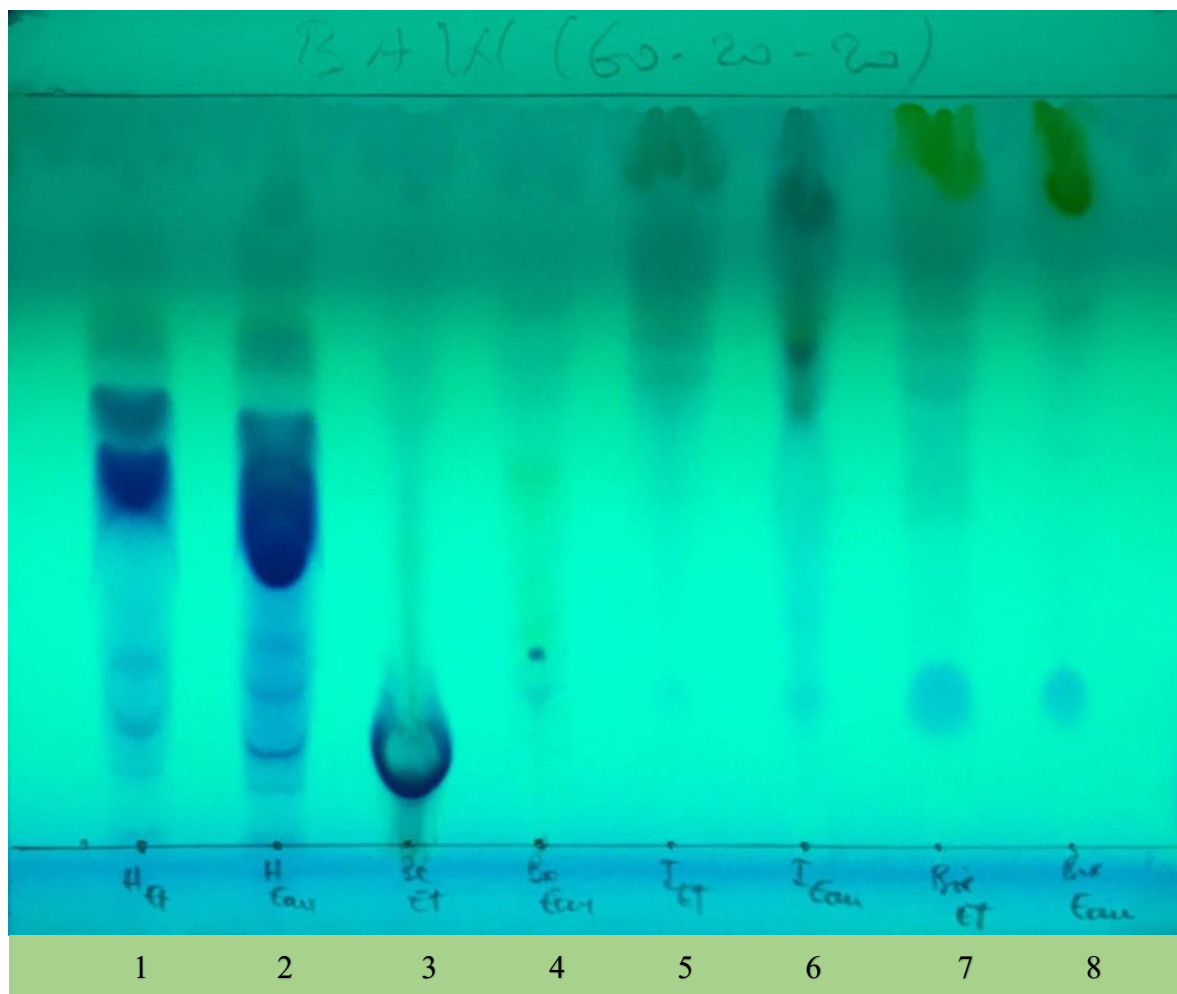


Figure 69 : Image d'une de nos plaques chromatographiques, prise sous éclairage UV à 254nm, après séparation des extraits dans le système de solvant : Butanol – Acide acétique – Eau (60 : 20 : 20).

Avec :

- |   |  |
|---|--|
| 1 : Extraits éthanolique de <i>Hibiscus sabdariffa</i>  | 2 : Extraits aqueux de <i>Hibiscus sabdariffa</i>  |
| 3 : Extraits éthanolique de <i>Beta vulgaris</i>        | 4 : Extraits aqueux de <i>Beta vulgaris</i>        |
| 5 : Extraits éthanolique de <i>Indigofera tinctoria</i> | 6 : Extraits aqueux de <i>Indigofera tinctoria</i> |
| 7 : Extraits éthanolique de <i>Bixa orellana</i>        | 8 : Extraits aqueux de <i>Bixa orellana</i>        |

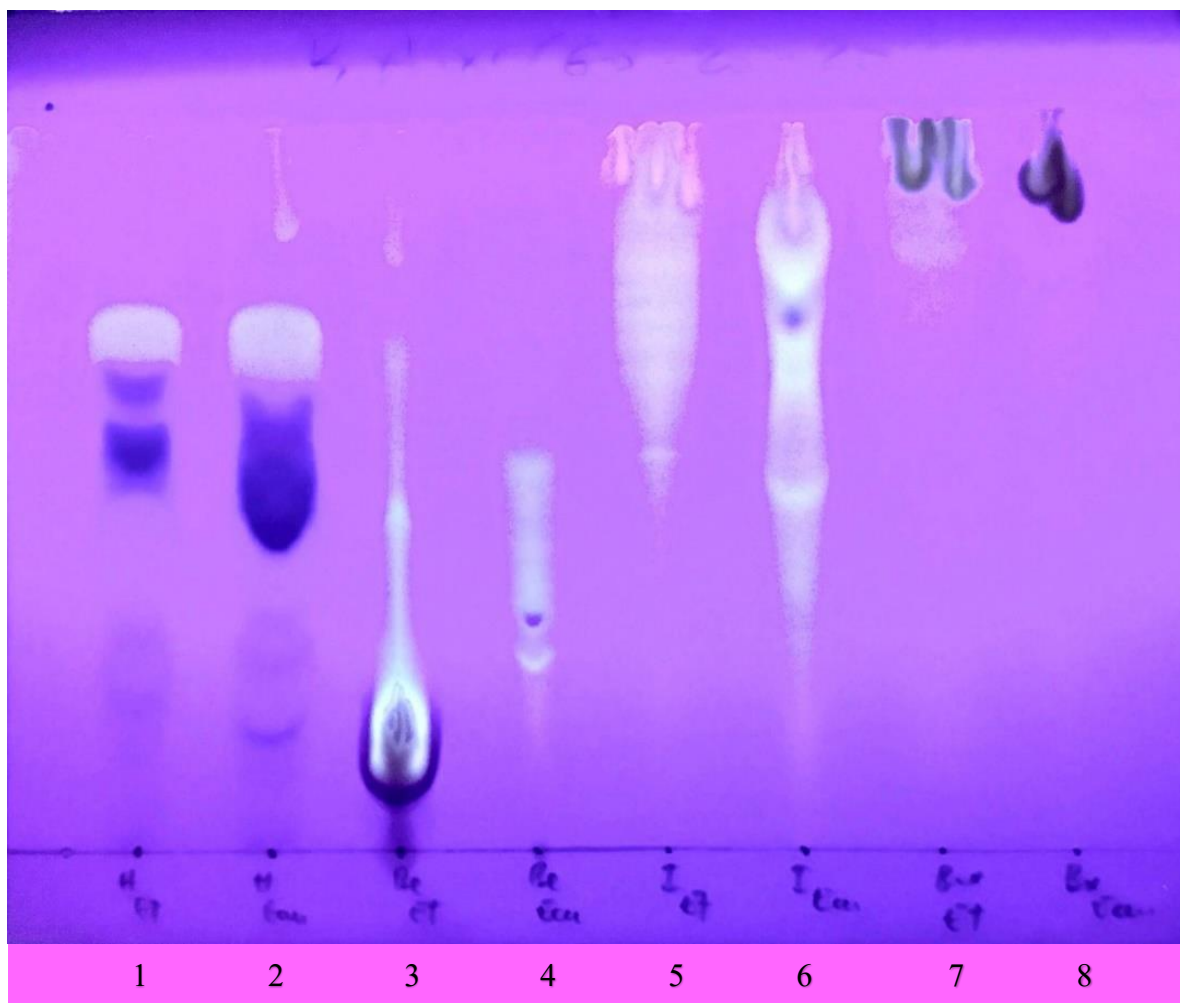


Figure 70 : Image d'une de nos plaques chromatographiques, prise sous éclairage UV à 366nm, après séparation des extraits dans le système de solvant : Butanol – Acide acétique – Eau (60 : 20 : 20).

Avec :

- |   |  |
|---|--|
| 1 : Extraits éthanolique de <i>Hibiscus sabdariffa</i>  | 2 : Extraits aqueux de <i>Hibiscus sabdariffa</i>  |
| 3 : Extraits éthanolique de <i>Beta vulgaris</i>        | 4 : Extraits aqueux de <i>Beta vulgaris</i>        |
| 5 : Extraits éthanolique de <i>Indigofera tinctoria</i> | 6 : Extraits aqueux de <i>Indigofera tinctoria</i> |
| 7 : Extraits éthanolique de <i>Bixa orellana</i>        | 8 : Extraits aqueux de <i>Bixa orellana</i>        |



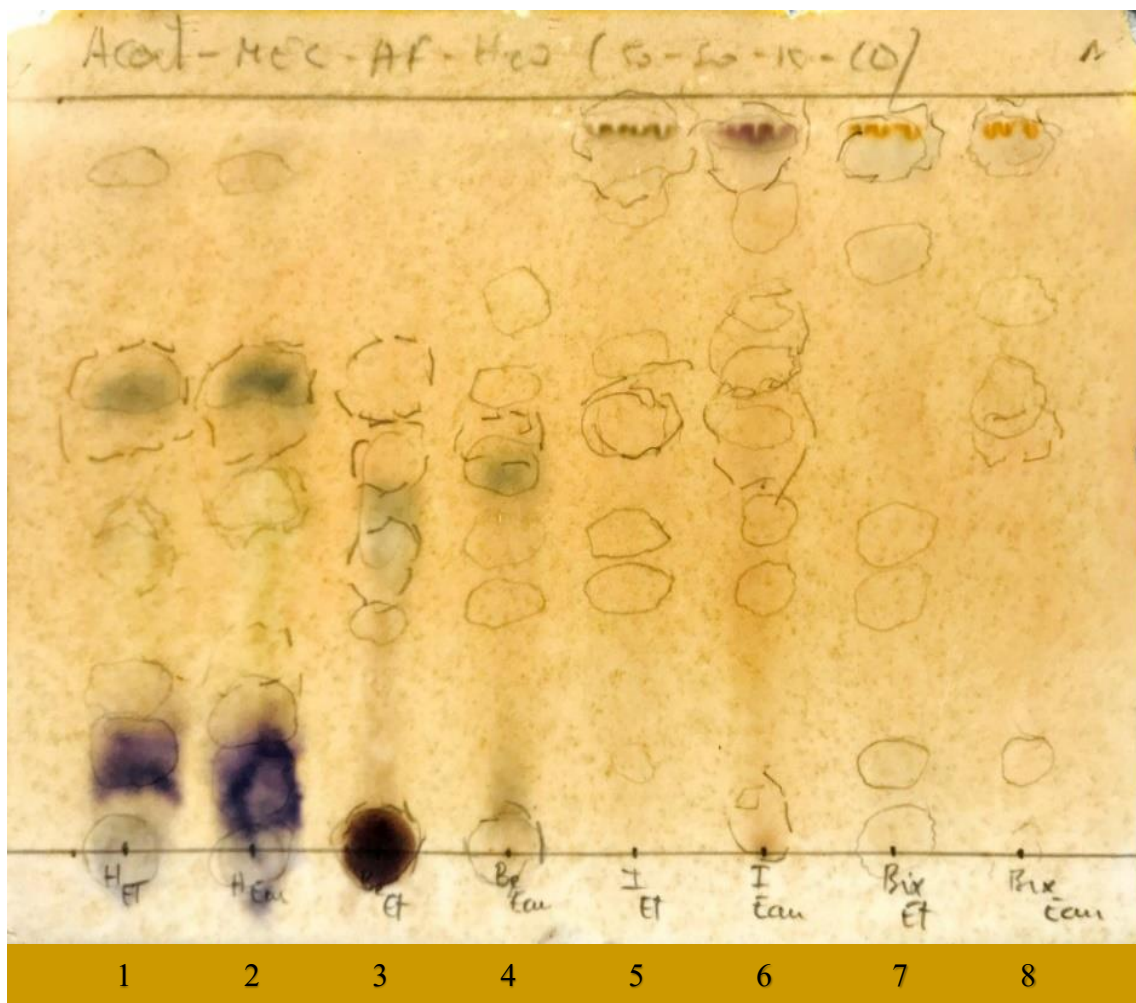


Figure 71 : Image d'une de nos plaques chromatographiques révélée par le  $\text{FeCl}_3$  après séparation des extraits dans le système de solvant : Acide Acétique – Méthyléthylcétone – Acide formique – Eau (50 : 30 : 10 : 10).

Avec :

- |   |  |
|---|--|
| 1 : Extraits éthanologique de <i>Hibiscus sabdariffa</i>  | 2 : Extraits aqueux de <i>Hibiscus sabdariffa</i>  |
| 3 : Extraits éthanologique de <i>Beta vulgaris</i>        | 4 : Extraits aqueux de <i>Beta vulgaris</i>        |
| 5 : Extraits éthanologique de <i>Indigofera tinctoria</i> | 6 : Extraits aqueux de <i>Indigofera tinctoria</i> |
| 7 : Extraits éthanologique de <i>Bixa orellana</i>        | 8 : Extraits aqueux de <i>Bixa orellana</i> .      |

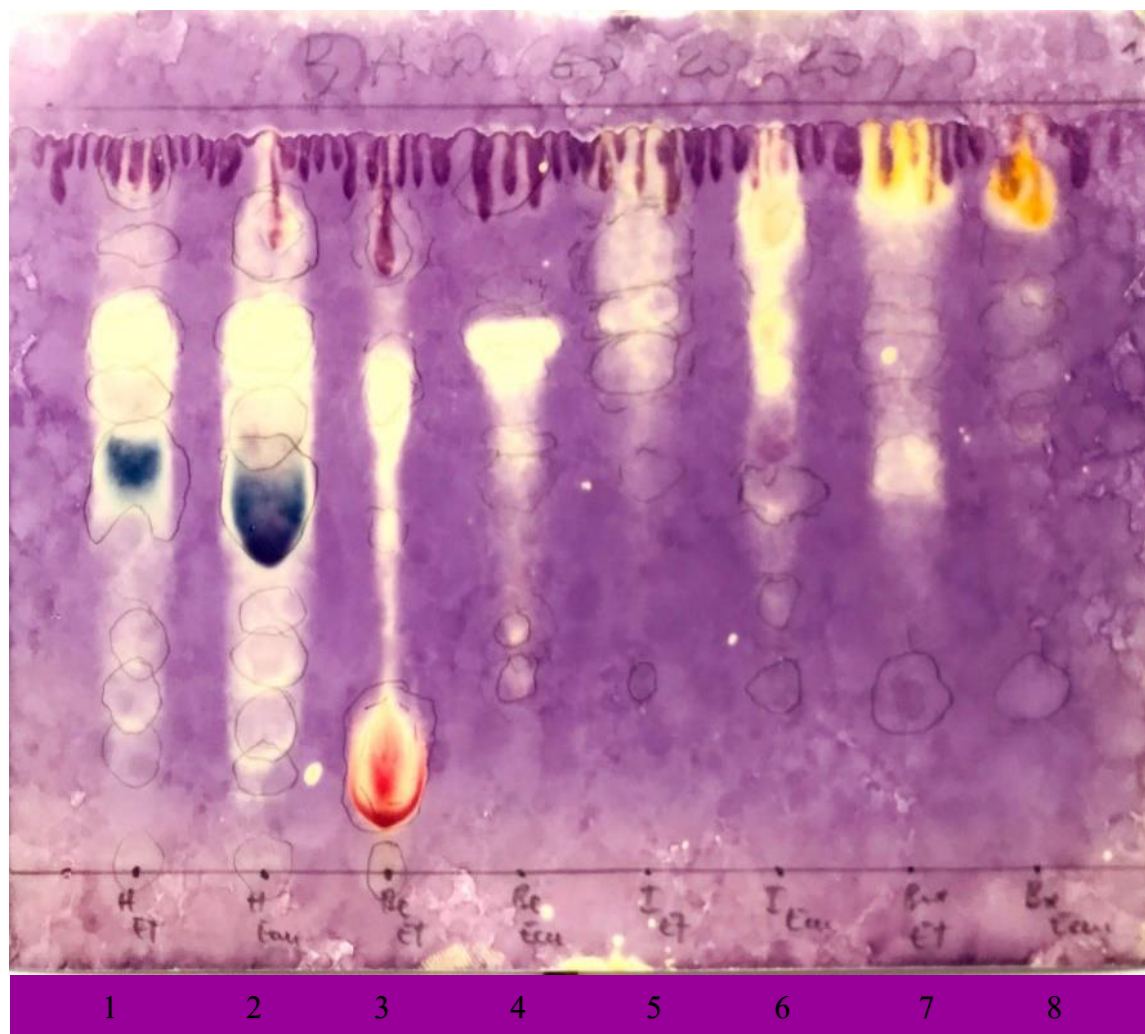


Figure 72 : Image d'une de nos plaques chromatographiques révélée par le DPPH après séparation des extraits dans le système de solvant : Butanol – Acide acétique – Eau (60 : 20 : 20).

Avec :

- |   |  |
|---|--|
| 1 : Extraits éthanologique de <i>Hibiscus sabdariffa</i>  | 2 : Extraits aqueux de <i>Hibiscus sabdariffa</i>  |
| 3 : Extraits éthanologique de <i>Beta vulgaris</i>        | 4 : Extraits aqueux de <i>Beta vulgaris</i>        |
| 5 : Extraits éthanologique de <i>Indigofera tinctoria</i> | 6 : Extraits aqueux de <i>Indigofera tinctoria</i> |
| 7 : Extraits éthanologique de <i>Bixa orellana</i>        | 8 : Extraits aqueux de <i>Bixa orellana</i>        |

**Tableau III** : Résultats de la séparation par CCM des différents extraits dans le système de solvant : Acide Acétique – Méthyléthylcétone – Acide formique – Eau (50 : 30 : 10 : 10) ; après observation à la lumière naturelle, sous UV à 254 et 366 nm, et après révélation au FeCl<sub>3</sub>.

Extraits	Rf	Lumière naturelle	254 nm	366 nm	FeCl <sub>3</sub>
<b>Extrait éthanolique</b> <i>H. sabdariffa</i>	0,01	Violet	Visible	Visible	Violet
	0,16	Violet-foncé	Visible	Visible	Violet foncé
	0,22	Rose	Visible	Visible	-
	0,45	-	Visible	-	-
	0,65	-	Visible	Fluorescent	Verdâtre
<b>Extrait aqueux</b> <i>H. sabdariffa</i>	0,01	Violet	Visible	Visible	Violet
	0,11	Rouge et Violet	Visible	Visible	Violet foncé
	0,2	Rose	Visible	Visible	-
	0,46	-	Visible	-	-
	0,51	-	Visible	Fluorescent	-
	0,66	-	Visible	Fluorescent	Brun verdâtre
	0,91	-	-	Fluorescent	-
<b>Extrait éthanolique</b> <i>Beta vulgaris</i>	0,02	Rouge	Visible	Visible	Marron
	0,41	Trainé Jaune	-	Fluorescent	-
	0,57	-	Visible	Fluorescent	Verdâtre
	0,66	-	-	Fluorescent	-
	0,91	-	-	Fluorescent	-
<b>Extrait aqueux</b> <i>Beta vulgaris</i>	0,01	Ivoire	-	Fluorescent	-
	0,53	-	Visible	-	Verdâtre
	0,60	-	Visible	Fluorescent	-
	0,91	-	Visible	Fluorescent	-
<b>Extrait éthanolique</b> <i>Bixa orellana</i>	0,01	-	Visible	Fluorescent	-
	0,35	-	Visible	-	-
	0,47	-	Visible	-	-
	0,81	-	Visible	-	-
	0,95	Trainé jaune orangé	Visible	Trainé fluo	-

<b>Extrait aqueux</b> <i>Bixa orellana</i>	0,12	-	-	Fluorescent	-
	0,35	-	Visible	-	-
	0,61	-	-	Fluorescent	-
	0,97	Trainé orange		Trainé fluo	-
<b>Extrait éthanolique</b> <i>Indigofera tinctoria</i>	0,28	-	Visible	-	-
	0,36	-	Visible	-	-
	0,46	-	Visible	-	-
	0,61	-	Visible	Fluorescent	-
	0,70	-	Visible	Fluorescent	-
	0,93	Trainé verte	Visible	Trainé fluo	-
<b>Extrait aqueux</b> <i>Indigofera tinctoria</i>	0,02	Ivoire	Visible	Fluorescent	-
	0,36	-	Visible	Fluorescent	-
	0,45	-	Visible	Fluorescent	-
	0,58	-	Visible	Fluorescent	-
	0,71	-	Visible	Fluorescent	-
	0,85	Jaune	Visible	Fluorescent	-
	0,96	Trainé violette	Visible	Trainé fluo	-

**Tableau IV** : Résultats de la séparation par CCM des différents extraits dans le système de solvant : Butanol – Acide acétique – Eau (60 : 20 : 20) ; après observation à la lumière naturelle, sous UV à 254 et 366 nm, et après révélation au DPPH.

Extraits	Rf	Lumière naturelle	254 nm	366 nm	DPPH
<b>Extrait éthanolique</b> <b>Hibiscus sabdariffa</b>	0,01	Violet grisâtre	Visible	-	-
	0,12	Violet grisâtre	Visible	-	-
	0,21	Violet claire	Visible	Tache fluo	Tache jaune
	0,3	Violet claire	Visible	-	Tache jaune
	0,41	Violet claire	Visible	-	Tache jaune
	0,5	Bleu	Visible	Tache fluo	Tache jaune
	0,58	Rose	Visible	Tache fluo	Tache jaune
	0,66	-	Visible	Fluorescent	Tache jaune

<b>Extrait aqueux</b> <i>Hibiscus sabdariffa</i>	0,01	Violet grisâtre	Visible	-	-
	0,1	Violet claire	Visible	-	Tache jaune
	0,17	Violet claire	Visible	-	Tache jaune
	0,22	Violet claire	Visible	Tache fluo	Tache jaune
	0,3	Violet claire	Visible	Tache fluo	Tache jaune
	0,48	Bleu	Visible	Tache fluo	Tache jaune
	0,55	Rose	Visible	Tache fluo	Tache jaune
	0,66	-	Visible	Fluorescent	Tache jaune
	0,77	-	Visible	-	Tache jaune
	0,87	-	Visible	Fluorescent	Tache jaune
<b>Extrait éthanolique</b> <i>Beta vulgaris</i>	0,01	-	Visible	Tache bleue	-
	0,16	Jaune et rouge	Visible	Tache fluo	Tache jaune
	0,41	Trainé jaune poussin	-	Fluorescent	Tache jaune
	0,61	Trainé jaune poussin	Visible	Fluorescent	Tache jaune
	0,81	-	-	Fluorescent	Tache jaune
<b>Extrait aqueux</b> <i>Beta vulgaris</i>	0,21	-	Visible	Fluorescent	-
	0,26	-	Visible	Tache fluo	-
	0,33	Jaune	-	Fluorescent	Tache jaune
	0,65	Jaune	Visible	Fluorescent	Tache jaune
	0,73	-	Visible	-	Tache jaune
<b>Extrait éthanolique</b> <i>Indigofera tinctoria</i>	0,67	-	-	Fluorescent	Tache jaune
	0,81	Ivoire	Visible	Fluorescent	Tache jaune
	0,93	Trainé vert olive	Visible	Trainé fluo	Tache jaune
<b>Extrait aqueux</b> <i>Indigofera tinctoria</i>	0,21	-	Visible	Fluorescent	-
	0,43	-	-	Fluorescent	-
	0,61	-	Visible	Fluorescent	Tache jaune
	0,72	Jaune	Visible	-	Tache jaune
	0,76	Jaune	-	Fluorescent	Tache jaune
	0,87	Trainé marron	Visible	Fluorescent	Tache jaune
	0,95	Trainé marron	Visible	Trainé fluo	Tache jaune

<b>Extrait éthanolique</b> <i>Bixa orellana</i>	0,2	-	Visible	-	-
	0,51	-	Visible	-	Tache jaune
	0,67	-	Visible	-	Tache jaune
	0,81	-	Visible	Fluorescent	Tache jaune
	0,91	Trainé jaune	Visible	Trainé fluo	Tache jaune
<b>Extrait aqueux</b> <i>Bixa orellana</i>	0,2	-	Visible	-	-
	0,91	Trainé jaune orangé	Visible	Fluorescent	Tache jaune

## 6. DISCUSSION

---

Notre étude portant sur des colorants d'origine végétale exploitables par l'industrie pharmaceutique a d'abord commencé par une revue documentaire qui nous a permis de recenser quelques plantes riches en colorants parmi lesquelles, quatre ont été choisies pour la partie expérimentale : *B. orellana*, *I. tinctoria*, *H. sabdariffa* et *B. vulgaris*.

*Bixa orellana* semble être par rapport aux trois autres plantes (*I. tinctoria*, *H. sabdariffa*, et *B. vulgaris*), la plus intéressante pour une exploitation industrielle à grande échelle. Les colorants de *B. orellana* sont peu toxiques. Ils offrent une grande variété d'applications et de couleurs (rouge, orange, jaune), en plus d'être utilisables à la fois dans les formulations hydrophiles ou même hydrophobes [26]. Le carmin d'indigo obtenu avec *I. tinctoria* est très peu soluble, faiblement compatible avec les solutions de saccharose et d'acide citrique ; incompatible avec le glucose, le lactose, les agents oxydants, l'acide ascorbique, la gélatine, ainsi que les solutions de bicarbonate sodique saturées [2], ce qui rend son usage extrêmement difficile dans certaines formulation liquides, notamment dans les sirops. Les colorants de *H. sabdariffa* et de *B. vulgaris* ont une toxicité quasi nulle, mais leur exploitation dans la formulation des médicaments est fortement limitée par leur manque de stabilité (surtout les anthocyanes de *H. sabdariffa*). De plus les colorants de *B. vulgaris* sont essentiellement concentrés dans la partie tubéreuse des racines, signifiant que la plante doit obligatoirement être déracinée avant son utilisation.

Le contrôle de qualité de nos quatre plantes a été effectué à travers des examens botaniques (macroscopique, organoleptique, microscopique) et physico-chimiques (CCM). Malgré quelques difficultés rencontrées au cours de notre étude (absence par exemple du dithionite de sodium, un réactif permettant d'extraire chimiquement l'indigo), nos résultats demeurent pertinents et valables.

Les examens macroscopiques et organoleptiques des échantillons ont permis de statuer la conformité de notre matériel végétal par rapport aux descriptions faites dans la littérature. A travers la microscopie, nous avons pu identifier de nombreux éléments botaniques dont certains déjà rapportés par de précédentes investigations [95, 96, 97]. Parenchymes, fibres, poils sécréteurs, et xylèmes, sont les éléments qui ont été observés avec trois des quatre échantillons : *I. tinctoria*, *B. vulgaris*, *H. sabdariffa*. Avec *B. vulgaris* a été observé en plus des élément cités, la présence de fragments de phloèmes et de poils tecteurs. Des fragments

d'épiderme ont été observés avec les échantillons de *I. tinctoria* et de *H. sabdariffa*. Par contre, aucun élément caractéristique n'a été identifié avec l'échantillon provenant de *B. orellana*.

La technique de séparation des constituants chimiques par chromatographie sur couche mince nous a permis de mettre en évidence la présence d'un certain nombre de colorants (ou familles de colorants). Le milieu de migration B.A.W s'est finalement montré plus efficace par rapport au milieu Aco-Met-Af-H<sub>2</sub>O, pour séparer les différents types de colorants contenus dans les extraits.

Après migration, les extraits éthanoliques et aqueux de *H. sabdariffa*, ont donné de nombreuses taches dont certaines sont visibles uniquement sous un éclair UV, mais les plus intéressantes étaient déjà visibles à la lumière naturelle. Trois à quatre nuances de couleurs ont été observées, il s'agit de la couleur rouge (dans le système d'éluant Aco-Met-Af-H<sub>2</sub>O), des couleurs rose et violette observées dans les deux systèmes d'éluant, et de la couleur bleu (observée uniquement dans le système B.A.W). La couleur violette qui était par ailleurs la plus dominante, semble être dû à la présence dans les extraits, de la génine d'un o-hétéroside communément appelé hibiscine, et cette génine n'est autre que la delphinidine, un anthocyanidol violet à rouge violacé [17]. Quant aux taches rouges et roses, elles sont liées à la présence dans les extraits d'un autre anthocyanidol, la cyanidine, présente minoritairement par rapport à l'hibiscine (qui représente 70% des anthocyanes de *H. sabdariffa*), sous forme d'hétéroside (la gossypicyanine) dans les calices de *H. sabdariffa* [89]. De plus la révélation avec le FeCl<sub>3</sub> et le DPPH a montrée sur toutes ces zones, des taches jaunes synonymes de la présence de composés phénoliques à activité antiradicalaire (voir figure 71), confirmant un peu plus notre hypothèse.

L'extrait aqueux de *B. vulgaris* qui était rouge brique – rouge brunâtre lors du dépôt, a donné après migration dans le système de solvant B.A.W, une coloration jaune à peine visible à la lumière naturelle, et un petit point violet situé dans la trainé jaune (voir figure 68). L'extrait éthanolique était plus coloré, avec une sorte de demi-cercle pourpre contenant une tache rougeâtre entourée de jaune. Les couleurs rouge et pourpre (rouge-violacé) obtenus avec cet extrait ainsi que le point violet observé avec l'extrait aqueux sont dues à la présence de bétacyanines, colorants majoritaires de la racine de *B. vulgaris*. La couleur jaune aperçue est quant à elle très certainement liée à la présence de bétaxanthines, une classe de colorants appartenant tout comme les bétacyanines, à la famille des bétalaïnes [17]. Et la révélation au



DPPH a confirmé, comme rapportée dans la littérature [98], l'activité antioxydante des bétalaïnes.

Avec les extraits éthanoliques et aqueux de *I. tinctoria* et de *B. orellana*, on a observé de multiples taches sous UV (254 et 366nm) surtout avec les deux extraits de *I. tinctoria*, même si à la lumière naturelle, la séparation était beaucoup moins flagrante. A la lumière naturelle, on apercevait un seul spot coloré avec les quatre extraits (deux de *B. orellana* et deux de *I. tinctoria*) qui ont migré dans le système d'éluant Aco-Met-Af-H<sub>2</sub>O, et quelques taches en plus avec les deux extraits de *I. tinctoria* avec le système B.A.W. Ces spots, jaunes avec les deux extraits de *B. orellana* qui ont migré dans le système d'éluant B.A.W, jaune orangé et orangé avec les extraits éthanoliques et aqueux de *B. orellana* dans le système d'éluant Aco-Met-Af-H<sub>2</sub>O ; sont très probablement la conséquence d'un mélange de différents colorants suivant des proportions qui ont varié en fonction du solvant d'extraction, du système d'éluant et de la résistance affichée par la bixine lorsqu'elle a été exposée à la chaleur pendant l'évaporation à sec avec le rotavapor. Les colorants en question sont : la bixine, pigment principal de la graine de *B. orellana*, responsable notamment de sa coloration rouge, la norbixine un dérivé jaune-orangé de la bixine, le pigment de McKeown, un composé jaune qui peut apparaître suite à une dégradation thermique de la bixine [53]. La révélation avec le DPPH, a également montré au niveau des spots jaunes et orangés, la présence de substances à activité antiradicalaire, confirmant la présence de bixine, connu aussi pour ses propriétés antioxydantes [54]. Concernant les spots aperçus avec les extraits de *I. tinctoria*, il serait difficile de tirer une conclusion, car les feuilles ne contiennent que le précurseur de l'indigo, en occurrence l'indican, un o-hétéroside d'indoxyle, habituellement incolore [99].

## 7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

---

### 7.1 Conclusion

Au terme de notre étude, nous avons identifié quelques éléments de contrôle de qualité botanique et phytochimique des plantes tinctoriales sélectionnées. Avec *Indigofera tinctoria*, *Hibiscus sabdariffa*, et *Beta vulgaris*, nous avons identifié à l'échelle microscopique des constituants tissulaires dont certains déjà rapportés par de précédentes investigations, nous avons également mise en évidence un certain nombre de colorants renfermés dans les graines de *Bixa orellana* (bixine, norbixine, et éventuellement le pigment de McKeown), les calices de *Hibiscus sabdariffa* (delphinidine, cyanidine), et les racines de *Beta vulgaris* (bétacyanines et bétaxanthines).

Nos résultats couplés à ceux de la littérature montrent que les plantes que nous avons choisies pour notre étude peuvent effectivement être utilisées par l'industrie pharmaceutique dans les formulations médicamenteuses.

En perspectives, les résultats de nos travaux pourraient être valorisés par des investigations supplémentaires, avec des méthodes plus performantes. Il serait intéressant de réaliser plus d'études sur ces plantes, notamment sur les moyens employables pour augmenter la stabilité des colorants qu'elles renferment.

## 7.2 Recommandations

- Au Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Renforcer le DMT en matérielles (réactifs notamment) et financières afin de lui permettre de jouer pleinement son rôle dans la recherche biomédicale.

- Au Département de Médecine Traditionnelle

Poursuivre les investigations sur nos plantes tinctoriales locales.

- Au Ministère de l'administration territoriale et des collectivités

Encourager les communautés rurales à poursuivre la culture de plantes tinctoriales qui présentent beaucoup d'avantages par rapport aux colorants synthétiques.

## 8. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

1. Larousse É. Définitions : colorant - Dictionnaire de français Larousse [Internet]. [cité 20 oct 2019]. Disponible sur:  
<https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/colorant/17308>
2. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Pharmaceutical Press; 2009. 888 p.
3. Val. Xxenola [Internet]. Le blog des préparateurs en pharmacie de toulon. [cité 16 mars 2019]. Disponible sur: <http://xxenola.over-blog.com/article-4689774.html>
4. Allam KV, Kumar GP. Colorants—the cosmetics for the pharmaceutical dosage forms. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2011;3(Suppl 3):9.
5. Pérez-Ibarbia L, Majdanski T, Schubert S, Windhab N, Schubert US. Safety and regulatory review of dyes commonly used as excipients in pharmaceutical and nutraceutical applications. *Eur J Pharm Sci.* 2016;93:264–273.
6. Dikshit R, Tallapragada P. Comparative study of natural and artificial flavoring agents and dyes. In: *Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes.* Elsevier; 2018. p. 83–111.
7. Šuleková M, Smrčová M, Hudák A, Heželová M, Fedorová M. Organic colouring agents in the pharmaceutical industry. *Folia Vet.* 2017;61(3):32–46.
8. Universalis E. COLORANTS [Internet]. Encyclopædia Universalis. [cité 2 août 2019]. Disponible sur: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/colorants/>
9. Les Colorants et les Pigments [Internet]. Superprof Ressources. 2017 [cité 2 août 2019]. Disponible sur: <https://www.superprof.fr/ressources/scolaire/physique-chimie/premiere-s/familles-chimiques/colorants-pigments.html>
10. Khanal DP. Helping Ingredients (excipient) in Pharmaceutical formulation: Coloring Agents—use and health concern. *J Manmohan Meml Inst Health Sci.* 2011;1(1):40–48.

11. Histoire des colorants - Les colorants alimentaires [Internet]. [cité 2 août 2019]. Disponible sur: [http://tpecolorants1s1.free.fr/index.php?title=Histoire\\_des\\_colorants](http://tpecolorants1s1.free.fr/index.php?title=Histoire_des_colorants)
12. Fuchsine. In: Wikipédia [Internet]. 2018 [cité 2 août 2019]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Fuchsine&oldid=150577497>
13. Administration AGD of HTG. Colourings used in medicines for topical and oral use [Internet]. Therapeutic Goods Administration (TGA). 2018 [cité 14 juin 2019]. Disponible sur: <https://www.tga.gov.au/publication/colourings-used-medicines-topical-and-oral-use>
14. Justice M de la. Lois codifiées Règlements codifiés [Internet]. 2019 [cité 28 juin 2019]. Disponible sur: [https://laws-lois.justice.gc.ca/fra/reglements/C.R.C.%2C\\_ch.\\_870/page-103.html#docCont](https://laws-lois.justice.gc.ca/fra/reglements/C.R.C.%2C_ch._870/page-103.html#docCont)
15. Nutrition C for FS and A. FDA list of dye. FDA [Internet]. 16 mars 2019 [cité 25 mai 2019]; Disponible sur: <http://www.fda.gov/industry/color-additive-inventories/summary-color-additives-use-united-states-foods-drugs-cosmetics-and-medical-devices>
16. Ramesh M, Muthuraman A. Flavoring and coloring agents: Health risks and potential problems. In: Natural and artificial flavoring agents and food dyes. Elsevier; 2018. p. 1–28.
17. Rymbai H, Sharma RR, Srivastav M. Bio-colorants and its implications in health and food industry—a review. *Int J PharmTech Res.* 2011;3(4):2228–2244.
18. Bechtold T, Mussak R. *Handbook of Natural Colorants.* John Wiley & Sons; 2009. 445 p.
19. Curcumine. In: Wikipédia [Internet]. 2018 [cité 6 juill 2019]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Curcumine&oldid=151866220>
20. Damodaran S, Parkin KL, Fennema OR. *Fennema's Food Chemistry, Fourth Edition.* Taylor & Francis; 2007. 1160 p.

21. Patil A, Bhide S, Bookwala M, Soneta B, Shankar V, Almotairy A, et al. Stability of organoleptic agents in pharmaceuticals and cosmetics. *AAPS PharmSciTech*. 2018;19(1):36–47.
22. Chlorophylle. In: Wikipédia [Internet]. 2019 [cité 3 août 2019]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Chlorophylle&oldid=160961620>
23. *bêta*-Carotène. In: Wikipédia [Internet]. 2018 [cité 8 juill 2019]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=B%C3%AAta-Carot%C3%A8ne&oldid=152931283>
24. Lycopène. In: Wikipédia [Internet]. 2019 [cité 7 juill 2019]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Lycop%C3%A8ne&oldid=159418403>
25. Shamina A, Shiva KN, Parthasarathy VA. Food colours of plant origin. *CAB Rev*. 2007;2:087.
26. Jansen PCM, Cardon D. Ressources végétales de l’Afrique tropicale: colorants et tanins. Fondation PROTA; 2005. 237 p.
27. Bétanine. In: Wikipédia [Internet]. 2019 [cité 20 juin 2019]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=B%C3%A9tanine&oldid=156844545>
28. Commission Regulation (EU) No 231/2012 of 9 March 2012 laying down specifications for food additives listed in Annexes II and III to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council Text with EEA relevance [Internet]. OJ L, 32012R0231 mars 22, 2012. Disponible sur: <http://data.europa.eu/eli/reg/2012/231/oj/eng>
29. Carmin d’indigo. In: Wikipédia [Internet]. 2018 [cité 15 juin 2019]. Disponible sur: [https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Carmin\\_d%27indigo&oldid=148538340](https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Carmin_d%27indigo&oldid=148538340)
30. Chrysoïne resorcinol. In: Wikipedia [Internet]. 2017 [cité 10 juill 2019]. Disponible sur: [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Chrysoïne\\_resorcinol&oldid=788361212](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Chrysoïne_resorcinol&oldid=788361212)
31. Orange GGN. In: Wikipédia [Internet]. 2018 [cité 10 juill 2019]. Disponible sur: [https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Orange\\_GGN&oldid=150737009](https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Orange_GGN&oldid=150737009)

32. Christie R. *Colour Chemistry*. Royal Society of Chemistry; 2014. 360 p.
33. Tartrazine. In: Wikipédia [Internet]. 2019 [cité 31 juill 2019]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Tartrazine&oldid=161204289>
34. Amchova P, Kotolova H, Ruda-Kucerova J. Health safety issues of synthetic food colorants. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2015;73(3):914–922.
35. Jaune orangé S. In: Wikipédia [Internet]. 2018 [cité 4 juill 2019]. Disponible sur: [https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Jaune\\_orang%C3%A9\\_S&oldid=148542022](https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Jaune_orang%C3%A9_S&oldid=148542022)
36. Amarante (colorant). In: Wikipédia [Internet]. 2018 [cité 4 juill 2019]. Disponible sur: [https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Amarante\\_\(colorant\)&oldid=148545712](https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Amarante_(colorant)&oldid=148545712)
37. Mpountoukas P, Pantazaki A, Kostareli E, Christodoulou P, Kareli D, Poliliou S, et al. Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. *Food Chem Toxicol*. 1 oct 2010;48(10):2934-44.
38. Xanthène. In: Wikipédia [Internet]. 2018 [cité 30 juin 2019]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Xanth%C3%A8ne&oldid=148543412>
39. Érythrosine. In: Wikipédia [Internet]. 2018 [cité 30 juin 2019]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=%C3%89rythrosine&oldid=148543651>
40. Colorant E127 - Erythrosine [Internet]. [cité 30 juin 2019]. Disponible sur: <http://www.additifs-alimentaires.net/E127.php>
41. Shore J, Colourists S of D and. *Colorants and Auxiliaries: Auxiliaries*. Society of Dyers and Colourists; 2002. 1408 p.
42. Jaune de quinoléine. In: Wikipédia [Internet]. 2018 [cité 31 juill 2019]. Disponible sur: [https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Jaune\\_de\\_quinol%C3%A9ine&oldid=148548861](https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Jaune_de_quinol%C3%A9ine&oldid=148548861)

43. Triphénylméthane. In: Wikipédia [Internet]. 2019 [cité 31 juill 2019]. Disponible sur:  
<https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Triph%C3%A9nylm%C3%A9thane&oldid=161204599>
44. Bleu brillant FCF. In: Wikipédia [Internet]. 2019 [cité 31 juill 2019]. Disponible sur:  
[https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Bleu\\_brillant\\_FCF&oldid=161199585](https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Bleu_brillant_FCF&oldid=161199585)
45. Kus E, Eroglu HE. Genotoxic and cytotoxic effects of sunset yellow and brilliant blue, colorant food additives, on human blood lymphocytes. *Pak J Pharm Sci.* 2015;28(1).
46. Lucová M, Hojerová J, Pažoureková S, Klimová Z. Absorption of triphenylmethane dyes Brilliant Blue and Patent Blue through intact skin, shaven skin and lingual mucosa from daily life products. *Food Chem Toxicol.* 1 févr 2013;52:19-27.
47. Cours de Physique-chimie - Le principe de chromatographie sur couche mince - Maxicours.com [Internet]. Maxicours. [cité 20 mars 2019]. Disponible sur:  
<http://www.maxicours.com/se/fiche/0/4/20304.html>
48. Bixa orellana (PROTA) — PlantUse [Internet]. [cité 17 mars 2019]. Disponible sur:  
[https://uses.plantnet-project.org/fr/Bixa\\_orellana\\_\(PROTA\)](https://uses.plantnet-project.org/fr/Bixa_orellana_(PROTA))
49. Sysbio [Internet]. [cité 17 mars 2019]. Disponible sur: <http://sysbio.univ-lille1.fr/fiche/bixa-orellana>
50. Bixa orellana L. —The Plant List [Internet]. [cité 17 mars 2019]. Disponible sur:  
<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-22274>
51. West African Plants - A Photo Guide - Bixa orellana L. [Internet]. [cité 15 juin 2019]. Disponible sur:  
[http://www.westafricanplants.senckenberg.de/root/index.php?page\\_id=14&id=199](http://www.westafricanplants.senckenberg.de/root/index.php?page_id=14&id=199)
52. Datei:Bixa orellana (Roucou 2).jpg. In: Wikipedia [Internet]. [cité 15 juin 2019]. Disponible sur: [https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Bixa\\_orellana\\_\(Roucou\\_2\).jpg](https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Bixa_orellana_(Roucou_2).jpg)
53. Smith J. Annatto extracts-chemical and technical assessment. *Chem Tech Assess Man.* 2006;1–21.



54. Cardarelli CR, Benassi M de T, Mercadante AZ. Characterization of different annatto extracts based on antioxidant and colour properties. *LWT - Food Sci Technol.* 1 nov 2008;41(9):1689-93.
55. Le Roucouyer, le roucou, colorant alimentaire et cosmétique, plante médicinale [Internet]. [cité 15 juin 2019]. Disponible sur: <https://www.phytomania.com/roucou.htm>
56. Bixa orellana | TRAMIL [Internet]. [cité 17 mars 2019]. Disponible sur: <http://www.tramil.net/fr/plant/bixa-orellana>
57. *Indigofera tinctoria* (PROTA) — PlantUse Français [Internet]. [cité 16 juin 2019]. Disponible sur: [https://uses.plantnet-project.org/fr/Indigofera\\_tinctoria\\_\(PROTA\)](https://uses.plantnet-project.org/fr/Indigofera_tinctoria_(PROTA))
58. Sysbio, Base de données de systématique - *Indigofera tinctoria* (Indigotier, Indigo des teinturiers, Indigo des Indes) [Internet]. [cité 17 juin 2019]. Disponible sur: <http://sysbio.univ-lille1.fr/fiche/indigofera-tinctoria>
59. *Indigofera tinctoria* L. — The Plant List [Internet]. [cité 2 août 2019]. Disponible sur: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/ild-4249>
60. West African Plants - A Photo Guide - *Indigofera tinctoria* L. [Internet]. [cité 16 juin 2019]. Disponible sur: [http://www.westafricanplants.senckenberg.de/root/index.php?page\\_id=14&id=896](http://www.westafricanplants.senckenberg.de/root/index.php?page_id=14&id=896)
61. *Indigofera tinctoria* Images - Useful Tropical Plants [Internet]. [cité 16 juin 2019]. Disponible sur: <http://tropical.theferns.info/image.php?id=Indigofera+tinctoria#plantimages/6/e/6ef0324f24682ff11682f248fc08aa9ede1c228c.jpg>
62. Indigo (teinture). In: Wikipédia [Internet]. 2019 [cité 16 juin 2019]. Disponible sur: [https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Indigo\\_\(teinture\)&oldid=156294413](https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Indigo_(teinture)&oldid=156294413)
63. Haute Autorité de Santé - CARMYNE (indigotine ou carmin d'indigo) [Internet]. [cité 16 juin 2019]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c\\_1742498/fr/carmyne-indigotine-ou-carmin-d-indigo](https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_1742498/fr/carmyne-indigotine-ou-carmin-d-indigo)

64. Boothapandi M, Ramanibai R. Immunomodulatory activity of *Indigofera tinctoria* leaf extract on in vitro macrophage responses and lymphocyte proliferation. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2016;8:58–63.
65. Vijayan M, Jacob K, Govindaraj Y. Antibacterial activity and mutagenicity of leaves of *Indigofera tinctoria* Linn. *J Exp Integr Med.* 2012;2(3):263–269.
66. Kumar AS, Gandhimathi R, Lakshmi SM, Nair R, Kumar CA. Evaluation of the antinociceptive properties from *Indigofera tinctoria* leaves extracts. *J Pharm Sci Res.* 2009;1(2):31.
67. Puri A, Khaliq T, Rajendran SM, Bhatia G, Chandra R, Narender T. Antidyslipidemic Activity of *Indigofera tinctoria*. *J Herb Pharmacother.* 1 janv 2007;7(1):57-64.
68. Asuntha G, Prasannaraju Y, Prasad K. Effect of Ethanol Extract of *Indigofera tinctoria* Linn (Fabaceae) on Lithium/Pilocarpine-Induced Status Epilepticus and Oxidative Stress in Wistar Rats. *Trop J Pharm Res [Internet].* 1 janv 2010 [cité 27 juin 2019];9(2). Disponible sur: <https://www.ajol.info/index.php/tjpr/article/view/53702>
69. Dominici L, Cerbone B, Villarini M, Fatigoni C, Moretti M. In vitro testing for genotoxicity of indigo naturalis assessed by micronucleus test. *Nat Prod Commun.* 2010;5(7):1934578X1000500711.
70. Jongen WMF, Alink GM. Enzyme-mediated mutagenicity in *Salmonella typhimurium* of contaminants of synthetic indigo products. *Food Chem Toxicol.* 1 janv 1982;20(6):917-20.
71. Karsli-Ceppioglu S, Yurdun T. In vitro testing for genotoxicity of indigoid dyes by comet assay. *Clin Exp Health Sci.* 2012;2(3):108.
72. Labib S, Berdai MA, Bendadi A, Achour S, Harandou M. [Fatal poisoning due to *Indigofera*]. *Arch Pediatr Organe Off Soc Francaise Pediatr.* janv 2012;19(1):59-61.
73. *Beta vulgaris* (PROTA) — PlantUse Français [Internet]. [cité 17 juin 2019]. Disponible sur: [https://uses.plantnet-project.org/fr/Beta\\_vulgaris\\_\(PROTA\)](https://uses.plantnet-project.org/fr/Beta_vulgaris_(PROTA))

74. Sysbio, Base de données de systématique - *Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* (Bette commune, Bette-épinard, Betterave, Betterave commune) [Internet]. [cité 17 juin 2019]. Disponible sur: <http://sysbio.univ-lille1.fr/fiche/beta-vulgaris-ssp-vulgaris>
75. *Beta vulgaris* L. — The Plant List [Internet]. [cité 17 juin 2019]. Disponible sur: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2675613>
76. Compagnon P. La betterave [Internet]. La Gazette Bio. 2018 [cité 17 juin 2019]. Disponible sur: <https://www.lagazettebio.fr/la-betterave/>
77. *Beta vulgaris*, fruit image [Internet]. [cité 2 oct 2019]. Disponible sur: [https://www.discoverlife.org/mp/20p?see=I\\_HLV642&res=640](https://www.discoverlife.org/mp/20p?see=I_HLV642&res=640)
78. Grubben GJH. Légumes. PROTA; 2004. 739 p.
79. Delgado-Vargas F, Jiménez AR, Paredes-López O. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1 mai 2000;40(3):173-289.
80. Bétalaïne. In: Wikipédia [Internet]. 2019 [cité 18 juin 2019]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=B%C3%A9tala%C3%AFne&oldid=159691677>
81. Stintzing FC, Carle R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends Food Sci Technol*. 2004;15(1):19–38.
82. *Beta vulgaris* | TRAMIL [Internet]. [cité 18 mars 2019]. Disponible sur: <http://www.tramil.net/fr/plant/beta-vulgaris>
83. *Hibiscus sabdariffa* (PROTA) — PlantUse Français [Internet]. [cité 20 juin 2019]. Disponible sur: [https://uses.plantnet-project.org/fr/Hibiscus\\_sabdariffa\\_\(PROTA\)](https://uses.plantnet-project.org/fr/Hibiscus_sabdariffa_(PROTA))
84. *Hibiscus sabdariffa* L. — The Plant List [Internet]. [cité 20 juin 2019]. Disponible sur: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2850461>
85. West African Plants - A Photo Guide - *Hibiscus sabdariffa* L. [Internet]. [cité 20 juin 2019]. Disponible sur: [http://www.westafricanplants.senckenberg.de/root/index.php?page\\_id=14&id=818#](http://www.westafricanplants.senckenberg.de/root/index.php?page_id=14&id=818#)

86. Cisse M, Dornier M, Sakho M, Ndiaye A, Reynes M, Sock O. Le bissap (*Hibiscus sabdariffa* L.): composition et principales utilisations. *Fruits*. 2009;64(3):179–193.
87. Delphinidin 3-sambubioside - polyphénols [Internet]. [cité 24 juin 2019]. Disponible sur: <http://polyphenols.com/delphinidin-products/delphinidin-3-sambubioside-article153-182.html>
88. Jabeur I, Pereira E, Barros L, Calhelha RC, Soković M, Oliveira MBPP, et al. *Hibiscus sabdariffa* L. as a source of nutrients, bioactive compounds and colouring agents. *Food Res Int*. 1 oct 2017;100:717-23.
89. Sireeratawong S, Itharat A, Khonsung P, Lertprasertsuke N, Jaijoy K. Toxicity Studies of the Water Extract from the Calyces of *Hibiscus Sabdariffa* L. in Rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 16 mai 2013;10(4):122-7.
90. Akindahunsi AA, Olaleye MT. Toxicological investigation of aqueous-methanolic extract of the calyces of *Hibiscus sabdariffa* L. *J Ethnopharmacol*. 2003;89(1):161–164.
91. Fakeye TO, Pal A, Bawankule DU, Yadav NP, Khanuja SPS. Toxic effects of oral administration of extracts of dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* Linn. (Malvaceae) [Internet]. *Phytotherapy Research*. 2009 [cité 25 juin 2019]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.2644>
92. Mishra NK, Kumar A, Singh R, Tripathi M. PHARMACOGNOSTICAL EVALUATION OF LEAF OF NILI (*INDIGOFERA TINCTORIA* L.). *Eur J Biomed Pharm Sci*. 2015;2(6):220-5.
93. Ahmad A, Ansari S, Ahamad J, Naquvi K. Pharmacognostic specifications of roots of *Beta vulgaris* cultivated in India. *Asian J Biomed Pharm Sci*. 1 janv 2013;03:5-10.
94. Özdoğan FP, Orhan N, Ergun F. Studies on the Conformity of *Hibiscus sabdariffa* L. Samples from Turkish Market to European Pharmacopeia. *Fabad J Pharm Sci*. 1 mars 2011;36:25-32.

95. Khan MI. Plant betalains: Safety, antioxidant activity, clinical efficacy, and bioavailability. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2016;15(2):316-30.
96. Indican. In: Wikipédia [Internet]. 2018 [cité 21 juill 2019]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Indican&oldid=148533390>

## Résumé

L'ajout de colorants aux formulations médicamenteuses recèle de nombreux avantages : améliore l'aspect du médicament, fait partie des moyens permettant de lutter contre la contrefaçon, offre un point de différenciation entre divers médicaments chez les personnes ayant des difficultés pour lire, etc. Les colorants naturels, en particulier ceux provenant de sources végétales, possèdent l'avantage supplémentaire d'être très peu toxique, raison pour laquelle ils constituent aujourd'hui une réelle alternative potentielle aux colorants synthétiques dangereux.

Le but de ce travail est de contribuer à l'identification des éléments de contrôle de qualité botanique et phytochimique de quatre plantes du Mali, sources de colorants utilisables dans la formulation des médicaments. Un inventaire a d'abord été réalisé, plus d'une vingtaine de plantes ont été recensées, et finalement quatre ont été sélectionnées : *Indigofera tinctoria*, *Bixa orellana*, *Hibiscus sabdariffa*, et *Beta vulgaris*.

Un examen botanique a été effectué sur les parties des plantes renfermant la plus grande concentration en colorants (ou précurseurs), et la séparation par chromatographie sur couche mince couplé à la révélation par le FeCl<sub>3</sub> et le DPPH de ces mêmes parties, ont permis de caractériser différents colorants ou familles de colorants.

Les constituants tissulaires identifiés au microscope sont : Parenchymes, fibres, poils sécréteurs, et xylèmes, tous observés avec les échantillons de *I. tinctoria*, de *B. vulgaris*, et de *H. sabdariffa*. Des fragments de phloèmes et des poils tecteurs ont aussi été observés avec l'échantillon de *B. vulgaris*. Des fragments d'épiderme ont également été observés avec les échantillons de *I. tinctoria* et de *H. sabdariffa*. Par contre, aucun élément caractéristique n'a été identifié avec l'échantillon de *B. orellana*. La caractérisation par CCM nous a permis de mettre en évidence la présence de cyanidine et de delphinidine dans les calices de *H. sabdariffa*, de bixine et de norbixine dans le tégument des graines de *B. orellana*, de bétacyanines et de bétaxanthines dans les racines de *B. vulgaris*.

Nos résultats, en plus de ceux déjà publiés dans la littérature, montrent que les plantes que nous avons étudiées contiennent effectivement des colorants exploitables par l'industrie pharmaceutique.

**Mots clés :** Excipients, colorants naturels, colorants synthétiques, *Indigofera tinctoria*, *Bixa orellana*, *Hibiscus sabdariffa*, *Beta vulgaris*, rocou, indigo, anthocyanes, bétalaïnes, Mali.

## Abstract

The addition of dyes to drugs formulations has many advantages: improves the appearance of the drug, it's part of the means usable to fight counterfeiting, provides a point of differentiation between various drugs in people with difficulties to read, etc. Natural dyes, especially those derived from vegetable sources, have the additional advantage of being very low in toxicity, which is why they now constitute a real potential alternative to dangerous synthetic dyes.

The purpose of this work is to contribute to the identification of the botanical and phytochemical quality control elements of four plants from Mali, sources of dyes that can be used in drugs formulation. An inventory was first made, more than twenty plants were identified, and finally four were selected: *Indigofera tinctoria*, *Bixa orellana*, *Hibiscus sabdariffa*, and *Beta vulgaris*.

A botanical examination was carried out on the parts of the plants containing the highest concentration of dyes (or precursors), and the separation by thin layer chromatography coupled with the revelation by FeCl<sub>3</sub> and DPPH of these same parts, made it possible to characterize different dyes or families of dyes.

The microscopically identified tissue components are: Parenchyma, fibers, secretory hairs, and xylem, all observed with *I. tinctoria*, *B. vulgaris*, and *H. sabdariffa*. Phloem fragments and leaf hairs were also observed with the *B. vulgaris* sample. Epidermal fragments were also observed with the samples of *I. tinctoria* and *H. sabdariffa*. On the other hand, no characteristic element was identified with the *B. orellana*'s sample. Characterization by TLC allowed us to highlight the presence of cyanidin and delphinidin in the calyxes of *H. sabdariffa*, bixin and norbixin in the seed coat of *B. orellana* seeds, betacyanins and betaxanthines in the roots of *B. vulgaris*.

Our results, in addition to those already published in the literature, show that the plants we studied actually contain dyes usable by the pharmaceutical industry.

**Key words** : Excipients, natural dyes, synthetic dyes, *Indigofera tinctoria*, *Bixa orellana*, *Hibiscus sabdariffa*, *Beta vulgaris*, annatto, indigo, anthocyanins, betalaines, Mali.

**Fiche signalétique**

<b>Nom</b>	GUINDO
<b>Prénoms</b>	Moussa
<b>Titre Etude</b>	Contribution à la détermination des éléments de contrôle de qualité botanique et phytochimique de quatre plantes du Mali, sources de colorants utilisés dans les formulations médicamenteuses.
<b>Année Universitaire</b>	2017 – 2018
<b>Pays d'origine</b>	Mali
<b>Lieu d'étude</b>	Département de Médecine Traditionnelle (DMT).
<b>Ville de soutenance</b>	Bamako (République du Mali).
<b>Lieu de dépôt</b>	Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'Université de Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako.
<b>Secteur d'intérêt</b>	Plantes tinctoriales, Pharmacognosie, Botanique, Galénique.
<b>Email</b>	Dede18mg@gmail.com
<b>Numéro de téléphone</b>	+223 72452870



## LE SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des Maitres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

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

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

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

-----0-----

Je le jure !