

République du Mali
Un Peuple-Un But-Une Foi

MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE

UNIVERSITÉ DE BAMAKO

Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie

ANNEE : 2004-2005

Thèse N°.....

Screening phytochimique de deux espèces de plantes :
crotalia retusa L (Papilionaceae) et hallea ciliata
Aubrev & Pellegr. (Rubiaceae) récoltées au Gabon

Thèse présentée et soutenue publiquement le .../.../ 2004
Devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
Par Monsieur Ange **MIBINDZOU MOUELLET**
Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

JURY :

Président:

Professeur Harama Moussa

Membres:

Docteur Elimane Mariko

Docteur Rokia Sango

Directeur :

Professeur Jean Noël Gassita

Codirecteur :

Docteur Drissa Diallo

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTOSTOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2003 - 2004

Administration

Doyen : Moussa TRAORE – Professeur

1^{er} Assesseur : Massa SANOGO – Maître de conférence

2^{ème} Assesseur : Gangaly DIALLO – Maître de conférence agrégé

Secrétaire Principal : Yénimégué Albert DEMBELE – Maître de conférence agrégé

Agent comptable : Fatoumata TALL – Contrôleur des finances

Professeurs honoraires

Mr Aliou BA

Mr Bocar SALL

Mr Souleymane SANGARE

Mr Yaya FOFANA

Mr Mamadou L. TRAORE

Mr Balla COULIBALY

Mr Mamadou DEMBELE

Mr Mamadou KOUMARE

Mr Mohamed TOURE

Mr Ali Nouhoum DIALLO

Mr Aly GUINDO

Ophtalmologie

Orthopédie Traumatologie – Secourism

Pneumo-phtisiologie

Hématologie

Chirurgie générale

Pédiatrie

Chirurgie générale

Pharmacognosie

Pédiatrie

Médecine interne

Gastro-entérologie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R & PAR GRADE

D.E.R Chirurgie et spécialités chirurgicales

1. Professeurs

Mr Abdel Karim KOUMARE

Mr Sambou SOUMARE

Mr Abdou Alassane TOURE

Mr Kalilou OUATTARA

Mr Amadou DOLO

Chirurgie Générale

Chirurgie Générale

Orthopédie – Traumatologie, **Chef de**

Urologie

Gynéco Obstétrique

2. Maîtres de conférences agrégés

Mr Abdoulaye DIALLO

Mr Djibril SANGARE

Mr Abdel Kader TRAORE dit DIOP

Mr Alhousseini Ag MOHAMED

Mr Abdoulaye DIALLO

Mr Gangaly DIALLO

Ophtalmologie

Chirurgie Générale

Chirurgie Générale

O.R.L

Anesthésie – Réanimation

Chirurgie Viscérale

3. Maîtres de conférences

Mme Sy Aïda SOW
Mr Salif DIAKITE

Gynéco-obstétrique
Gynéco-obstétrique

4. Maîtres assistants

Mme Fatimata DIALLO S. DIABATE
Mr Mamadou TRAORE
Mr Sadio YENA
Mr Filifing SISSIKO
Mr Issa DIARRA

Gynéco-obstétrique
Gynéco-obstétrique
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Gynéco-obstétrique

5. Assistants chefs de clinique

Mr Mamadou L DIOMBANA
Mr Sekou SIDIBE
Mr Abdoulaye DIALLO
Mr Tiénam COULIBALY
Mme J. Thomas TRAORE
Mr Nouhoum ONGOIBA
Mme Zanafon OUATTARA
Mr Zimogo Zié SANOGO
Mr Adama SANGARE
Mr Youssouf COULIBALY
Mr Samba Karim TIMBO
Mme TOGOLA Fanta KONIPO
Mr Sanoussi BAMANI
Mr Doulaye SACKO
Mr Ibrahim ALWATA
Mr Lamine TRAORE
Mr Mady MAKALOU
Mr Aly TEMBELY
Mr Niani MOUNKORO
Mme Djénéba DOUMBIA
Mr Tiémoko D. COULIBALY
Mr Souleymane TOGORA
Mr Mohamed KEITA

Stomatologie
Orthopédie – Traumatologie
Anesthésie – Réanimation
Orthopédie – Traumatologie
Ophtalmologie
Anatomie & Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Orthopédie – Traumatologie
Anesthésie – Réanimation
O.R.L
O.R.L
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Orthopédie – Traumatologie
Ophtalmologie
Orthopédie – Traumatologie
Urologie
Gynéco-obstétrique
Anesthésie – Réanimation
Odontologie
Odontologie
O.R.L

D.E.R Sciences fondamentales

1. Professeurs

Mr Daouda DIALLO
Mr Bréhima KOUMARE
Mr Siné BAYO
Mr Yéya T. TOURE

Chimie Générale et Minérale
Bactériologie – Virologie
Anatomie – Pathologie – Histoembriol
Biologie

Mr Amadou DIALLO
Mr Moussa HARAMA
Mr Ogobara DOUMBO

Biologie
Chimie Organique
Parasitologie – Mycologie, **Chef de D.**

2. Maîtres de conférences agrégés

Mr Yénimégué Albert DEMBELE
Mr Anatole TOUNKARA
Mr Amadou TOURE
Mr Flabou BOUGOUDOGO

Chimie Organique
Immunologie
Histoembryologie
Bactériologie - Virologie

3. Maîtres de conférences

Mr Bakary M. CISSE
Mr Abdourhamane S. MAIGA
Mr Adama DIARRA
Mr Mamadou KONE
Mr Massa SANOGO

Biochimie
Parasitologie
Physiologie
Physiologie
Chimie Analytique

4. Maîtres assistants

Mr Mahamadou CISSE
Mr Sékou F. M. TRAORE
Mr Abdoulaye DABO
Mr Abdourahamane TOUNKARA
Mr Ibrahim I. MAIGA
Mr Moussa Issa DIARRA
Mr Amagana DOLO
Mr Kaourou DOUKOURE
Mr Bouréma KOURIBA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Cheik Bougadari TRAORE

Biologie
Entomologie Médicale
Malacologie – Biologie Animale
Biochimie
Bactériologie - Virologie
Biophysique
Parasitologie
Biologie
Immunologie
Bactériologie - Virologie
Anatomie - Pathologie

5. Assistants

Mr Mounirou BABY
Mr Mahamadou A. THERA

Hématologie
Parasitologie

D.E.R de médecine et de spécialités médicales

1. Professeurs

Mr Abdoulaye Ag RHALY
Mr Mamadou K. TOURE
Mr Mahamane MAIGA
Mr Baba KOUMARE
Mr Moussa TRAORE

Médecine Interne
Cardiologie
Néphrologie
Psychiatrie, **Chef de D.E.R**
Neurologie

Mr Issa TRAORE
Mr Mamadou M. KEITA
Mr Hamar A. TRORE
Mr Dapa Aly DIALLO

Radiologie
Pédiatrie
Médecine interne
Hématologie

2. Maîtres de conférences agrégés

Mr Toumani SIDIBE
Mr Bah KEITA
Mr Boubacar DIALLO
Mr Somita KEITA
Mr Moussa Y. MAIGA
Mr Abdel Kader TRAORE
Mr Siaka SIDIBE

Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Cardiologie
Dermato-lèprologie
Gastro-entérologie
Médecine Interne
Radiologie

3. Maîtres assistants

Mr Mamadou DEMBELE
Mr Mamady KANE
Mme Tatiana KEITA
Mr Diakiné KAYENTAO †
Mme TRAORE Mariam SYLLA
Mr Adama D. KEITA
Mme SIDIBE Assa TRAORE
Mme Habibatou DIAWARA

Médecine Interne
Radiologie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Radiologie
Endocrinologie
Dermatologie

4. Assistants chefs de clinique

Mr Bou DIAKITE
Mr Bougouzié SANOGO
Mr Saharé FONGORO
Mr Bakoroba COULIGALY
Mr Kassoum SANOGO
Mr Seydou DIAKITE
Mr Mahamadou B. CISSE
Mr Arouna TOGORA
Mme DIARRA Assétou SOUCKO
Mr Boubacar TOGO
Mr Mahadou B. TOURE
Mr Idrissa A. CISSE
Mr Mamadou B. DIARRA
Mr Anselme KONATE
Mr Moussa T. DIARRA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Souleymane COULIBALY
Mr Douada K. MINTA
Mr Sougalo DAO

Psychiatrie
Gastro-entérologie
Néphrologie
Psychiatrie
Cardiologie
Cardiologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Médecine Interne
Pédiatrie
Radiologie
Dermatologie
Cardiologie
Hepatho-gastro-entérologie
Hepatho-gastro-entérologie
Pneumologie
Psychologie
Maladies Infectieuses
Maladies Infectieuses

5. Assistant

Mr Cheick Oumar GUINTO

Neurologie

D.E.R des Sciences Pharmaceutiques

1. Professeurs

Mr Boubacar Sidiki CISSE
Mr Gaoussou KANOUTE

Toxicologie
Chimie analytique

2. Maîtres de conférences agrégés

Mr Arouna KEITA
Mr Ousmane DOUBIA

Matières Médicales
Pharmacie Chimiques

3. Maîtres de conférences

Mr Boulkassoum HAIDARA
Mr Elimane MARIKO

Législation
Pharmacologie, **Chef de D.E.R**

4. Maîtres assistants

Mr Benoît KOUMARE
Mr Drissa DIALLO
Mr Alou KEITA
Mr Ababacar I. MAIGA
Mr Yaya KANE

Chimie analytique
Matières Médicales
Galéniques
Toxicologie
Galénique

D.E.R de Santé Publique

1. Professeur

Mr Sidi Yaya SIMAGA

Santé Publique, **Chef de D.E.R**

2. Maître de conférence agrégé

Mr Moussa A. MAIGA

Santé Publique

3. Maître de conférence

Mr Sanossi KONATE

Santé Publique

4. Maîtres assistants

Mr Boca G. TOURE
Mr Adama DIWARA
Mr Hamadou SANGHO
Mr Masambou Sacko
Mr Alassane A. DICKO

Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique

Chargés de cours & enseignants vacataires

Mr N'golo DIARRA
Mr Bouba DIARRA
Mr Salikou SANOGO
Mr Bokari Y. SACKO
Mr Boubacar KANTE
Mr Souleymane GUINDO
Mme DEMBELE Sira DIARRA
Mr Modibo DIARRA
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA
Mr Arouna COULIBALY
Mr Mahamadou TRAORE
Mr Souleymane COULIBALY
Mr Yaya COULIBALY
Mme Rokia SANOGO
Mr Boubacar TRAORE
Mr Saïbou MAIGA
Mr Ousmane KOITA
Mr Samba DIOP
Mr Seydou DOUMBIA
Mr Oumar THIERO
Mr Mangara M. BAGAYOGO
Mr Guimogo DOLO
Mr Abdoulaye TOURE
Mr Djibril SANGARE
Mr Mouctar DIALLO

Enseignants en mission

Pr. Doudou BA
Pr. Babacar FAYE
Pr. Eric PICHARD
Pr. Mounirou CISSE
Pr. Amadou Papa DIOP

Botanique
Bactériologie
Physique
Biochimie
Galénique
Gestion
Mathématiques
Nutrition
Hygiène du Milieu
Mathématiques
Génétique
Psychologie Médicale
Législation
Pharmacognosie
Pharmacognosie
Législation
Parasitologie Moléculaire
Anthropologie Médicale
Epidémiologie
Biostatistique
Entomologie Moléculaire Médicale
Entomologie Moléculaire Médicale
Entomologie Moléculaire Médicale
Entomologie Moléculaire Médicale
Biologie – Parasitologie

Bromatologie
Pharmacodynamie
Pathologie Infectieuse
Hydrologie
Biochimie

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

- Mon père Guy Maurice MOUELET «**Homme de rigueur et de sagesse**», tu m'as donné cette rigueur dans le travail et la vie.
Puisse Dieu t'accorder encore la vie afin que tu jouisses des bienfaits de tes fils et filles tout au long de ta vieillesse.
- Ma mère Madeleine MOUELET née MOUGHOLA «**Femme battante, de sagesse et d'amour**», tu as su donner à tous tes enfants le maximum d'attention et d'amour. Trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.
- Mes frères et sœurs : feu grand Yaya, Ya Clarisse, Ya Julienne, Ya Espérance, Michel, Mauricette, Guilain, Nina, Copine, Zita, Sandra, Anna, Jolie, Papys, Zénabou, Amadou, Mohamed et j'en oublie certainement. Que tous trouvent ici ma sincère reconnaissance.
L'atmosphère familiale cordiale que nous entretenons m'a permis d'être ce que je suis au jour d'aujourd'hui.
Votre attitude de toujours satisfaire le désir des autres fait que vous êtes tous amis à moi. Cette attitude est une force de caractère qui fait votre grandeur et vous rend enviable.
Ce faisant, rendons grâce à Dieu en souhaitant que perdure entre nous la Sincérité.
- Mes fils et filles : Gildoric, Feu Fild, Pernelle, Elie, Djo, Merlance, Azel, Yann-Daniel, Andel, Guidorlaine, Jance, Juvence, Fild, Alpi, Christ, Brefandra, Michelin et ceux que je n'ai pas cités.
Que Dieu vous accorde la longévité pour lire votre père.
- Ma future épouse Gisèle OGOULIGENDE INDJELE, pour toute ton attention et ton amour. Trouve par ces quelques mots ma profonde reconnaissance.

Remerciements

Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent :

- A Dieu Tout puissant qui a permis que je sois ce que je suis au jour d'aujourd'hui. Car l'homme propose mais Dieu dispose.
Seigneur, veille toujours diriger mes pas.
- A tout le personnel de l'Institut de Pharmacopée et de Médecine Traditionnelles (I.PHA.ME.TRA) du Centre National de Recherches Scientifiques et Technologiques. Le cadre de travail que vous m'avez offert me restera gravé à l'esprit.
Je remercie vivement la Directrice Madame NZE Emilienne Lucienne, le Directeur adjoint Monsieur IGNOUNGA MIKALA Bernard, le Docteur EYELE Célestin et les Botanistes NIANGADOUMA Raoul et NANG ESSOUMA Ginot pour la clarté dans tout ce que nous avons entrepris ensemble.
- A tout le personnel du Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique.
- A mes aïeux plus particulièrement mes grands parents Messieurs et Mesdames PINDA et MIBINDZOU pour avoir donné naissance à mes parents.
- A mes oncles et tantes Messieurs et Mesdames NGOMENE, GNIMBI, N'DIAYE, ROBERT, je leur exprime ici ma profonde gratitude.
- A Monsieur NZENGUE Rufin Marc, Mademoiselle OGOULIGENDE WORA Dorothée ainsi qu'à Monsieur et Madame OGOULIGENDE.
- A tous mes Maîtres ceux sans lesquels on ne saurait parler d'élèves, je vous remercie très ardemment. Retrouvez ici à travers ma modeste personne toute la satisfaction du service rendu.
- A tous ceux qui furent mes compagnons sur cette tumultueuse piste qui me mène à mon parchemin.
- A mon pays le Gabon pour m'avoir fait bénéficier d'une bourse d'étude pour étudier au Mali.
- A tous les Gabonais du Mali regroupés au sein de l'Association des Elèves, Etudiants et Stagiaires Gabonais au Mali (ASSESGAM). Recevez présentement chers compatriotes mes sincères remerciements.

- Enfin, le plus grand des remerciements va à tous ceux qui m'ont encouragé tout au long de mes études, cette thèse c'est un peu chacun de vous qui l'avez écrite.

*Remerciements
aux membres
du jury*

A notre Maître et Président du jury

Professeur Harama MOUSSA

Professeur de chimie organique à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Responsable de l'enseignement de la chimie organique

Chargé de cours et de travaux pratiques de chimie organique et de chimie analytique qualitative.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury.

Votre dévouement pour l'enseignement, la recherche et votre rigueur scientifique ne sont plus à démontrer.

Veillez trouver par ces quelques professeur cher mots l'expression de notre profonde reconnaissance et nos remerciements les plus chaleureux.

A notre Maître et juge

Pharmacien militaire Elimane MARIKO

Maître de conférence en Pharmacologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Chef du Département d'Etudes et de Recherches des Sciences Pharmaceutiques

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

Votre simplicité dans l'art de transmettre la connaissance nous a largement convaincu.

Veillez trouver ici l'expression de notre plus profond respect.

A notre Maître et juge

Docteur Rokia SANOGO

PhD en Pharmacognosie

Chargé de cours en Pharmacognosie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

C'est pour nous un grand plaisir que vous ayez accepté d'être membre de ce jury.

Votre courage et votre détermination pour la recherche et l'enseignement font de vous un exemple exceptionnel à suivre.

Veillez trouver ici notre profonde reconnaissance.

A notre Directeur de thèse

Professeur Jean Noël GASSITA

Professeur honoraire de Pharmacognosie, de Pharmacologie et de Pharmacopée Africaine.

Directeur du laboratoire Universitaire de Traduction Orale (UTO).

Tout au long de ce travail vous nous avez donné la confirmation de votre connaissance du domaine des plantes. Votre dévouement pour la recherche et votre rigueur scientifique sont connus de tous. Veuillez trouver dans cet ouvrage l'expression de mes remerciements les plus chaleureux et mes sentiments de profond respect.

A notre Maître et codirecteur de thèse

Docteur Drissa DIALLO _____

Maître assistant en Pharmacognosie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Chef du Département de Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé Publique

Le cadre de travail que vous nous avez offert montre à suffisance que le travail de thèse est loin d'être une sinécure.

Vous nous avez impressionné et séduit par la qualité et la clarté de votre enseignement, la simplicité de votre encadrement et de vos relations avec les étudiants.

Veillez trouver ici l'expression de notre plus profond respect.

SOMMAIRE

Abréviations

Introduction

Chapitre 1 :

1. Motivations
2. Objectifs
 - Objectif général
 - Objectifs spécifiques
3. Cadre d'étude
 - 3.1. Le Gabon
 - 3.1.1. Généralités sur le Gabon
 - 3.3.2. Infrastructures et politique sanitaire du Gabon
 - 3.2. L'Institut de Pharmacopée et de Médecine Traditionnelles (I.PHA.ME.TRA)

Chapitre 2 :

1. Travaux antérieurs sur le *Crotalaria retusa*
 - Autres dénominations de *Crotalaria retusa*
 - Taxonomie
 - Généralités sur la famille des *Fabaceae*
 - Généralités sur le genre *Crotalaria*
 - Quelques plantes utilisées en médecine traditionnelle dans le genre *Crotalaria*
 - Etudes de *Crotalaria retusa*
 - 1.6.1. Description botanique de *Crotalaria retusa*
 - 1.6.2. Habitat
 - 1.6.3. Usages traditionnels
 - 1.6.4. Etudes phytochimiques de *Crotalaria retusa*
 - 1.6.5. Toxicité
2. Travaux antérieurs sur *Hallea ciliata* encore appelé *Mitragyna ciliata*
 - Autres dénominations de *Hallea ciliata*
 - Taxonomie
 - Généralités sur la famille des *Rubiaceae*
 - Généralités sur le genre *Hallea*
 - Autres plantes utilisées dans le genre *Hallea*
 - Etude de *Hallea ciliata*
 - 2.6.1. Description botanique de *Hallea ciliata*

- 2.6.2. Habitat
- 2.6.3. Usages traditionnels

Chapitre 3 : Travaux personnels

- 1. Matériel végétal
 - Récolte
 - Séchage
 - Pulvérisation
- 2. Etudes phytochimiques
 - Matériel
 - Alcaloïdes
 - Substances polyphénoliques
 - 2.4. Dérivés anthracéniques
 - 2.5. Stérols et terpènes
 - 2.6. Hétérosides cardiotoniques
 - 2.7. Saponosides
 - 2.8. Autres caractérisations
 - 2.9. Dosage des substances extractibles par l'eau
 - 2.10 Dosage de l'eau : Méthode pondérale
 - 2.11 Technique de la CCM

Chapitre 4 : Commentaires et discussion

Conclusion

Bibliographie

Abréviations

ACCT :	Acide Désoxyribo-Nucléique
A.D.N :	Acide Ribo-Nucléique
A.R.N :	Butyl hydroxyanisole
BHA :	Butyl hydroxytoluène
BHT :	Chromatographie sur couche mince
CCM :	Chloroforme
CHCl ₃ :	Centre National de Recherches Scientifiques et Technolog
CENAREST :	Centimètre
	<i>Crotalaria retusa</i>
cm :	Département d'Etudes et de Recherches
C.r :	Département de Médecine Traditionnelle
D.E.R:	Trichlorure de fer
DMT:	Ecorces
FeCl ₃ :	Feuilles
E :	Fleurs
F:	Gramme
F' :	Graines
g :	Gramme par litre
G:	Gamma glutamyl transférase
g/l:	Heure
gamma G-T :	Acide chlorhydrique
h:	Acide nitrique
HCl:	Acide sulfurique
HCN:	Indice de mousse
H ₂ SO ₄ :	Institut National de Recherche en Santé Publique
Idm:	Institut de Pharmacopée et de Médecine Traditionnelles
INRSP:	Kilomètre
I.PHA.ME.TRA	Mètre
km:	<i>Hallea ciliata</i>
m:	Milligramme
H.c :	Millilitre
mg:	Millimètre
ml:	Madame
mm:	Monsieur
Mme:	Normalité
Mr:	Hydroxyde d'ammonium
N:	Microlitre
NH ₄ OH :	Nanomètre
µl:	Organisation Mondiale de la Santé
nm:	ORL :
OMS:	Pr. :
Agence de Coopération	R :
Culturelle et Technique	T :
	UV :

°C :
Oto-rhino-laryngologie
Professeur
Racines

Tiges
Ultrat-Violet
Degré Celsius

Introduction

Depuis la nuit des temps, l'homme a toujours loué les services de la nature pour soulager ses maux ; celle-ci le lui a bien rendu à travers la médecine traditionnelle qui se définit selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme étant « l'ensemble de toutes les connaissances et pratiques explicables ou non pour diagnostiquer, prévenir ou éliminer un déséquilibre physique, mental ou social en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation transmise de générations en générations, le plus souvent oralement ou par écrit ». Bien que cette relation ait existé depuis toujours, tous les mystères de la nature ne sont pas encore perçus par l'homme [24].

Les médecines « douces » connaissent un succès considérable dans de nombreuses régions d'Afrique, d'Asie et d'Europe, en particulier la phytothérapie. Des enquêtes récentes révèlent que 3 à 5% des patients des pays occidentaux [18], 80% des populations rurales des pays en développement et 85% des populations au sud du Sahara [22] utilisent les plantes médicinales comme traitement principal. Cet engouement est explicable par plusieurs facteurs : un retour aux produits naturels considérés comme ayant très peu d'effets indésirables dans les pays industrialisés contrairement aux médicaments classiques, le coût très accessible des phytomédicaments dans les pays en développement, l'existence des maladies graves pour lesquelles il n'y a pas de traitements vraiment satisfaisants en particulier le SIDA (syndrome de l'Immunodéficience Acquise), les cancers et à un moindre degré l'hépatite.

La flore du Gabon regorge de plusieurs espèces de plantes encore peu ou pas étudiées, mais dotées de réelles propriétés pharmacologiques. C'est le cas de *Hallea ciliata* encore appelée *Mitragyna ciliata*. Nonobstant ces propriétés, il est important de souligner la toxicité de certaines d'entre elles. Cette notion a été réactualisée depuis quelques années avec la survenue de plusieurs exemples de toxicité d'herbes médicinales, en particulier *Crotalaria retusa*. Certains auteurs ont respectivement mis en évidence la toxicité et les propriétés anti-inflammatoire et analgésique de *Crotalaria retusa* et de *Hallea ciliata*.

La maîtrise totale et parfaite des différentes propriétés de ces plantes passe par la détermination de l'ensemble des groupes physico-chimiques capables d'engendrer un ou plusieurs effets pharmacologiques. Des études antérieures ont porté sur les alcaloïdes de *Crotalaria retusa* et de *Hallea ciliata* [4], [5], [7], [8]. Il nous a donc paru intéressant d'étendre les études sur d'autres groupes phytochimiques présents dans les feuilles, les fleurs, les tiges, les graines, les racines de *Crotalaria retusa* et les écorces du tronc pour *Hallea ciliata*.

Dans ce cadre, nous exposerons d'abord sur les études effectuées sur la botanique, la chimie, la pharmacologie et les utilisations en médecine traditionnelle puis nous aborderons nos travaux expérimentaux en décrivant le matériel et les méthodes utilisées, nous exposerons ensuite les résultats de nos recherches et nous terminerons par des commentaires et discussions dans

lesquels nous essayerons par l'interprétation de nos résultats de tirer des conclusions et d'ouvrir quelques perspectives.

Chapitre 1

1. Motivations

Ce travail à été motivé par :

- Une contribution à la connaissance des familles des *Fabaceae* – *Papilionaceae* et des *Rubiaceae* à travers les genres *Crotalaria* et *Hallea* ;
- Une contribution à la connaissance de l'espèce *Crotalaria retusa* reconnue toxique pour l'homme et l'animal ;
- Une valorisation de l'espèce *Hallea ciliata* ;
- L'existence sur le plan national de peu de travaux phytochimiques et pharmacologiques sur *Crotalaria retusa* et *Hallea ciliata*

2. Objectifs

2.1. Objectif général :

Evaluer les substances chimiques organiques contenues dans les feuilles, les fleurs, les tiges, les graines, les racines de *Crotalaria retusa* et les écorces du tronc de *Hallea ciliata* récoltés au Gabon.

2.2. Objectifs spécifiques :

- Identifier par des réactions de caractérisation les différents groupes chimiques présents dans *Crotalaria retusa* et *Hallea ciliata* récoltés au Gabon ;
- Réaliser la chromatographie sur couche mince des alcaloïdes totaux de ces deux espèces ;
- Déterminer la teneur en substances extractibles par l'eau ;
- Déterminer les teneurs en eau des poudres des feuilles, des fleurs, des tiges, des graines, des racines de *Crotalaria retusa* et des écorces de *Hallea ciliata*

3. Cadre d'étude

3.1. Le Gabon

3.1.1. Généralités sur le Gabon



Figure 1 : Carte du Gabon [16]

Le Gabon est un pays d'Afrique centrale de 267667 km² de superficie, à cheval sur l'équateur, limité au nord par le Cameroun, à l'est par le Congo et au nord-ouest par la Guinée équatoriale. Il est divisé administrativement en neuf provinces qui sont : l'Estuaire, le Haut-Ogoué, le Moyen-Ogoué, la Ngounié, la Nyanga, l'Ogoué-Ivindo, l'Ogoué-Lolo, l'Ogoué-Maritime et le Woleu-Ntem ; la capitale Libreville se trouve dans la province de l'Estuaire.

Le climat est équatorial avec deux saisons sèches (une grande et une petite) et deux saisons de pluie (une grande et une petite).

La forêt dense et vierge recouvre 85% du territoire national, la population est évaluée à 1 233 353 habitants (recensement 2002) avec un taux de natalité de 27,24 pour mille, un taux de mortalité de 17,59 pour mille et une espérance de vie de 49,11 ans. Le taux d'alphabétisation étant de 63,2%.

La religion chrétienne est la plus pratiquée (55 à 75%) devant la religion musulmane (1%) et l'animisme.

La population du Gabon est difficile à évaluer mais les derniers recensements proposent un chiffre de 1,15 millions d'habitants. La densité moyenne est très faible (4,4 habitants par km²) mais varie considérablement selon les régions. La population est essentiellement concentrée autour des foyers urbains (75% de la population dont 40% vivent dans la capitale et sa périphérie). L'espérance de vie est de 54 ans.

Dans ce beau pays, se côtoient plus de 40 ethnies dont les principales sont : le Batéké, le Fang, le Myènè, le Nzébi et le Punu. La langue officielle étant le français.

La République du Gabon, membre actuel de la CEMAC (Communauté Economique et Monétaire d'Afrique Centrale) regorge d'énormes richesses naturelles telles que le pétrole, le manganèse, l'uranium, l'or, le bois et le fer [16].

3.1.2. Infrastructures et politique sanitaire

Les infrastructures sanitaires du Gabon, bien que difficilement comparables à celles des pays Européens figurent parmi les plus importantes de l'Afrique subsaharienne. Chaque année le Gabon consacre un budget assez élevé à la santé qui représente environ 5% du budget de l'Etat.

Concernant l'organisation territoriale de la santé publique, il est important de noter une grande disparité dans la répartition géographique des services de santé.

La province de l'estuaire possède la meilleure couverture sanitaire avec cinq hôpitaux publics (le plus important étant le centre hospitalier de Libreville), plusieurs cliniques privées, des cabinets médicaux, des pharmacies, une faculté de médecine et une école d'infirmiers diplômés d'Etat. En général, les chefs lieux des provinces sont pourvus d'un hôpital général public (hôpital provincial) et les préfectures sont dotées de centres médicaux. Il existe dans les villages ou les quartiers près de 340 dispensaires et 140 cases de santé.

Le service de Grandes Endémies (vaccination, tuberculose, etc....) demeurent également un des principaux moyens d'action de l'organisation sanitaire gabonaise. Ce service est reparti en secteurs qui correspondent au découpage administratif des neuf provinces.

3.2. L'Institut de Pharmacopée et de Médecine Traditionnelles

(I.PHA.ME.TRA)

L'Institut de Pharmacopée et de Médecine Traditionnelles a été créé le 11 décembre 1976. C'est une unité de recherche au sein du Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CENAREST) du Gabon.

Il comprend les services suivants :

- Un herbier national ;
- Un service de pharmacopée ;
- Un centre de thérapeutique traditionnelle ;
- Un laboratoire de phytochimie/ pharmacologie/ pharmacognosie.

Chapitre 2

Travaux

antérieurs

1. Travaux antérieurs sur *Crotalaria retusa*

1.1. Autres dénominations

Les différentes dénominations de *Crotalaria retusa* sont relatives au bruit que fait son fruit à maturité après agitation de la plante. Ce sont : chacha, sonnettes, cliquettes [13], arachides de brousse en français ; tulokorocipè en bambara du Mali ; dolingo en manding du Sénégal ; dèn a hodohon chez les serer ; gyadaar yaaraa chez les haoussa et àwiyan chez les yoruba du Nigeria [11].

1.2. Taxonomie

La classification de *Crotalaria retusa* est la suivante :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Rosidées

Ordre : Fabales

Famille : Fabacées – Papilionacées

Genre : *Crotalaria*

Espèce : *retusa*

1.3. Généralités sur la famille des *Fabacées*

Cette famille qui, avec les *Césalpiaceae* et les *Mimosaceae* forment le grand groupe des légumineuses est fort importante, par le nombre de genres (80) et d'espèces qui la composent. Elle comporte aussi bien des arbres que des arbustes, des lianes et des herbes. Toutes ces plantes vivent en forêt dense et humide, en savane ou en steppe sahélienne.

Les feuilles composées imparipennées avec des folioles alternes ou opposées sont en général garnies de stipules à la base de la foliole.

Les fleurs sont zygomorphes, presque toujours hermaphrodites et parfois assez grandes. Elles peuvent atteindre plus de 20 cm dans le genre *Camoensia* d'Afrique centrale. Il y a ordinairement 5 pétales et 5 sépales.

Le fruit est comme chez les Césalpiniacées et les Mimosacées une gousse déhiscente ou non renfermant une seule ou en général plusieurs graines avec ou sans albumen. Parfois le fruit est renflé en articles successifs au niveau des graines (*Erytrina*), parfois le fruit est ailé, ou encore « soufflé » [26].

Notons que certaines espèces de cette famille ont une grande importance économique, c'est le cas de *Pterocarpus erinaceus* Lamk. et de *Pterocarpus lucens* Lepr. qui sont utilisées dans l'alimentation du bétail, de *Indigoferia tinctoria* Chev. utilisée dans la teinture et de *Vigna sinensis* Savi qui est comestible.

1.4. Généralités sur le genre *Crotalaria*

C'est un genre assez vaste comprenant aussi bien des herbes que des arbustes. Il regorge 550 espèces dont 400 sont africaines, la flore ouest africaine ne comprenant que 5 douzaines. Mais plusieurs autres y ont été introduites [11].

Il contient des herbes plus ou moins lignifiées à la base (suffrutescentes), ou des arbustes à feuilles simples, trifoliées (ternées), ou à 5 folioles et composées palmées. Les fleurs sont groupées en grappes, parfois réunies elles-mêmes en panicules, terminales ou axiales [4].

Ce genre a également une grande importance économique à cause non seulement de sa richesse en fibres, mais également de l'utilisation de certaines de ses espèces comme engrais vert. Aussi, plusieurs d'entre elles contiennent des alcaloïdes toxiques causant des dommages de façon progressive au poumon et au foie chez l'homme et chez l'animal[11].

1.5. Etudes de quelques espèces du genre *Crotalaria*

1.5.1. *Crotalaria cytisoide* Hils. & Boy.

Description :

Arbuste de 50cm à 1m, pouvant atteindre exceptionnellement 3m sur certains sommets montagneux protégés des feux ; stipules petites, souvent précocement caduques ; feuilles à pétioles courts (10 à 15mm de long), à trois folioles elliptiques ou obovales-elliptiques, de 2 à 3cm de long et de 10 à 15mm de large, très courtement petiolulées (pétiole atteignant à peine 1mm), obtuses et mucronulées au sommet, rétrécies à la base.

Grappes latérales et terminales au sommet des rameaux et de courtes ramules ; fleurs d'un beau jaune, au nombre de 6 à 12 par grappe, portées sur des pédoncules grêles de 5 à 8cm de long, pourvues de bractéoles linéaires très petites ; calice campanulé, à divisions lancéolées, atteignant la moitié du limbe. Gousse ovoïde ou oblongue, polysperme (15 à 20 graines), atteignant 20mm de long et 8mm de diamètre, arrondie aux deux extrémités, fortement velue hirsute [4].

Usages traditionnels :

Crotalaria cytisoïde est employé en médecine contre la gale et d'autres maladies, il est employé en topique pour usage externe. Les vieux Malagasy connaissaient bien l'extrême danger de cette plante et se seraient en général gardés d'en absorber. Il faut cependant signaler son administration en tisane aux individus atteints de troubles plus ou moins psychiques, mais cette pratique était fort limitée. Cet arbuste est également utilisé dans certaines régions comme poison de pêche [4].

Etudes chimiques :

Les feuilles contiennent 0,32% d'alcaloïdes, les tiges 0,14%, les racines 0,12%, les gousses 0,16%. Ces alcaloïdes sont des dérivés de la pyrrolizidine.

La chromatographie sur couche mince a fourni un seul spot : $R_f = 0,86 ; 0,82 ; 0,87$ pour chaque organe végétatif (feuilles, tiges et racines) et deux spots de $R_f = 0,53$ et $0,91$ pour les gousses.

Les feuilles contiennent aussi des saponosides [4].

1.5.2. *Crotalaria diosmaefolia* Benth

Description :

Arbuste de 50cm à 1m, très rameux, à tiges dressées, couvert sur toutes ses parties d'un tomentum soyeux. Feuilles presque sessiles (pétiole de 1mm environ), à trois folioles linéaires, lancéolées de 12 à 18mm de long et de 2mm de large environ atténuées vers la base, très obtuses ou tronquées au sommet mucronulé.

Inflorescences pauciflores (2 à 3 fleurs généralement) portées par des pédoncules latéraux vers le sommet des ramules. Fleurs très courtement (2 à 3mm) pédicellées, calice de 2,2mm de long à divisions triangulaires, acuminées ; pétales jaunes, devenant verdâtres vers l'onglet, dépassant toujours le calice ; étendard orbiculaire, velu à l'extérieur [4].

Usages traditionnels :

Les feuilles servent à préparer une décoction dont on prend une cuillerée à soupe tous les jours quand l'on redoute d'avoir été empoisonné par quelques plantes toxiques [4].

Etude chimique :

La plante entière a fourni 0,25% d'alcaloïdes bruts. La chromatographie ayant confirmé l'existence d'alcaloïdes dérivés de la pyrrolizidine [4].

1.5.3. *Crotalaria fulva* Roxb

Description :

Encore appelé « Ambrevade des morts », « Ambrevade du diable », Cascavelle fauve ou *Crotalaria fauve*, *Crotalaria fulva* est une plante suffrutescente atteignant environ 1m de haut, couverte d'une forte pubescence veloutée.

Les feuilles sont simples, entières, oblongues lancéolées ; de 8 à 10cm de long et de 2 à 3cm de large ; stipules petites, subulées, parfois inexistantes ou très rapidement caduques. Les fleurs sont en panicules terminales amples composées de plusieurs grappes ; bractées ovales. La gousse est soyeuse couverte de poils fauves et à peine plus longue que le calice accrescent.

C'est une espèce originaire d'Asie du sud-est, introduite tout d'abord aux Mascareignes (ancien nom de l'archipel dans l'océan Indien formé principalement par la Réunion et l'île Maurice) et cultivée comme engrais vert ou plante de couverture dans les plantations de cannes à sucre. D'après Perrier de la Bathie elle aurait été introduite dans ce but à la station agricole de Nanisana et serait restée longtemps cantonnée autour de cette localité. Elle est en tout cas largement répandue aujourd'hui dans tout le centre de Madagascar et considérée comme autochtone par les Malagasy eux-mêmes. Cette plante fournit également une belle fibre, elle a été utilisée pendant la seconde guerre mondiale pour la production de pâte à papier. La qualité de cette fibre est très proche de celle qu'on connaît commercialement sous le nom de Sunn Hemp, fournie aux Indes par *Crotalaria juncia* L [4].

Etudes chimiques :

Albert RAKOTO-RATSIMAMANGA [4] a constaté chez *Crotalaria fulva* la présence de 0,2% d'alcaloïdes dans les racines et de 0,8% dans les gousses. Ils ont constaté en outre la présence de trois spots en chromatographie sur papier et obtenu l'alcaloïde principal sous forme cristallisée.

Des études plus détaillées sur cette espèce ont révélé 0,4 à 2% d'alcaloïdes totaux pour la plante entière séchée, les fleurs se révélant plus particulièrement riches (les graines n'ont pas été étudiées alors qu'elles ont une teneur plus

élevée encore). Cet alcaloïde principal s'appelle la fulvine (figure 2), c'est un isomère de la rétusine [4].

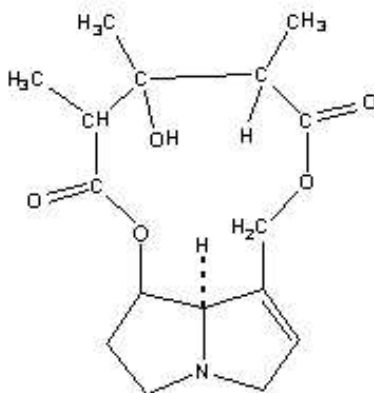


Figure 2 : structure chimique de la fulvine [4]

Toxicité :

Albert RAKOTO-RATSIMAMANGA et collaborateurs [4] signalaient que les animaux n'ont aucune appétence pour cette légumineuse et que les graines n'en sont pas comestibles. Sa réputation de toxicité dès cette époque était donc bien établie.

Des cas très sévères d'atteintes hépatiques en Jamaïque ont été constatés chez les jeunes enfants par le professeur Bras à la suite d'administrations inconsidérées de tisanes préparées avec cette plante. La chromatographie de ces infusions a permis l'identification d'alcaloïdes dérivés de la pyrrolizidine et la reconnaissance de la plante responsable [4].

En administrant expérimentalement au rat l'extrait aqueux de plante (décoction d'une partie de plante pour quatre parties d'eau), des chercheurs (Mac Lean, Bras et Gyorgy) ont réussi à reproduire les symptômes constatés chez les

enfants Jamaïcains : nécrose des régions centrales des lobules hépatiques, dégénérescence des cellules nobles, apparition de mégaloctes, occlusion des veines hépatiques, ascite, augmentation de l'activité glutamique-pyruvique-transaminase (pouvant atteindre jusqu'à vingt fois sa valeur normale dans le sérum).

Etude pharmacologique :

Après administration par gramme de poids d'animal d'une seule dose de 0,5 mg de l'extrait aqueux de cette plante par tubage gastrique à 22 rats, les animaux ont survécu 20 jours au maximum et ont tous présenté un sévère symptôme veino-occlusif. A l'autopsie, on a constaté les mêmes lésions hépatiques : altération des noyaux et dégénérescence des cellules centri-lobulaires, formation des mégaloctes, occlusion des vaisseaux, hémorragie. Chez les animaux domestiques et l'homme, les symptômes de l'intoxication rappellent tout à fait ceux qui sont dues à l'aflatoxine ou à la consommation des arachides ou des tourteaux contaminés par *Aspergillus flavus*. Du fait de cette convergence, il est possible que certaines intoxications attribuées en Afrique et même à Madagascar à l'aflatoxine soient dues en réalité à l'absorption de préparations de cette plante [4].

1.5.4. *Crotalaria naragutensis* Hutch

Description :

C'est une plante sous ligneuse, ramifiée, haute de 1 à 1,5 m. Les feuilles sont trifoliées alternes, folioles obovales ou elliptiques de 3 à 6 cm de long, de 2,5 cm à la base et sommet arrondi.

Fleurs jaunes disposées en racèmes terminales de 20 à 30 cm de long.

Le fruit est une gousse longue de 2 à 2,5 cm.

Cette espèce est répandue dans les savanes de la région soudano zambienne [2].

Usages traditionnels :

Les écorces de racines en association avec d'autres plantes sont utilisées sous forme de décoction dans le traitement du prolapsus anal [2].

1.6. Etudes de *Crotalaria retusa*

1.6.1. Description botanique de *Crotalaria retusa*

Crotalaria retusa est une plante herbacée semi vivace de 30 à 80cm ou plus de haut.

Les feuilles sont simples, alternes, oblongues, de 4 à 8cm de long sur 15 à 35mm de large. La base de la feuille est atténuée ou arrondie au coin. Le sommet est largement tronqué, arrondi et le pétiole est court (2 à 5mm).

L'inflorescence est spiciforme, terminale, de 15 à 25cm. Les fleurs ont une corolle jaune, grande, longue et large de 25 à 30mm. L'étendard est pourpre à la partie dorsale.

Son fruit est une gousse cylindrique de 4 à 5cm de long sur 12mm de large contenant une vingtaine de graines lisses en croissant [2].

1.6.2. Habitat

Il vit en rudérale, le long des routes, dans les friches et les villages. Il est pantropical et très répandu, probablement introduit en Afrique [1].

Crotalaria retusa pousse en terrain sec, caillouteux et pauvre en éléments nutritifs. Il lui faut le plein soleil, il supporte les températures élevées et l'air sec [13].

1.6.3. Usages traditionnels

Crotalaria retusa est utilisé comme engrais vert car il a la capacité de fixer l'azote atmosphérique comme toutes les autres légumineuses grâce à des bactéries vivants dans les nodosités de ses racines [13].

En Inde, il est cultivé pour ses fibres, ces dernières étant utilisées en Afrique de l'est et au Soudan pour la fabrication de cordes et de filets. En Australie, il est réputé pour sa toxicité due à la présence d'alcaloïdes de la pyrrolizidine dont le chef de file est la « monocrotaline » (1,89% dans les graines) ; cette toxicité affecte énormément la volaille et est utilisée dans certaines régions d'Afrique pour la pêche. Nonobstant cette toxicité, les feuilles sont utilisées comme aliment au Gabon. Les fleurs étant consommées au Sénégal.

Des préparations de cette plante sont utilisées en application locale pour les maladies de la peau telle que la gale au Nigéria et en Inde. En République Centrafricaine, la pâte de la plante encore jeune est utilisée pour le traitement des petites blessures en répandant la pâte sur les lésions.

Le décocté de feuilles est utilisé au Nigéria contre la fièvre et les racines en association avec d'autres espèces contre les coliques. En Asie, *Crotalaria retusa* est utilisé contre l'hémoptysie. Les graines sont utilisées au Sénégal comme purgatif et au Nigeria comme vermifuge [11].

Il est en outre connu pour ses propriétés contre les hallucinations lorsqu'il est réduit en poudre et brûlé dans la chambre du malade sous forme d'encens [1]. Son absorption de façon prolongée peut entraîner une stase du système porte et un cancer du foie ; son action est d'autant plus dangereuse qu'elle est insidieuse [23].

1.6.4. Etudes chimiques de *Crotalaria retusa*

Les alcaloïdes de *Crotalaria retusa* ont été étudiés pour la première fois par Adams et Roger. La structure de l'alcaloïde principal appelé monocrotaline (figure 3) a fait l'objet de très nombreux travaux. Elle a finalement été établie par R. Adams, P.R. Shafer et B.H. Braun. La monocrotaline appartient au groupe des alcaloïdes à noyau pyrrolizidique ; elle se présente dans la plante sous forme de base tertiaire et sous forme de N-oxyde (l'azote devenant

pentavalent). C'est un corps bien cristallisé (température de fusion : 201-202°C) de formule $C_{16}H_{23}O_6N$ [4].

C.C.J. CULVENOR et L.W. Smith ont isolé outre la monocrotaline, deux autres alcaloïdes : la rétusine $C_{16}H_{25}O_5N$, température de fusion 174-175°C dont ils ont pu établir la structure (figure 4) et la rétusamine, de formule empirique $C_{19}H_{25}O_7N$ de température de fusion 174°C mais en plus petite quantité et dont la structure n'a pu être établie [7]. Nous pouvons encore citer comme autres alcaloïdes de la pyrrolizidine : la retorsine (figure 5), la senecionine (figure 6) [8].

D'après les auteurs sus cités, la teneur des divers organes de la plantes en alcaloïdes de la pyrrolizidine serait la suivante : graines : 5,1 à 5,2% du poids sec ; feuilles et gousses immatures : 2% ; feuilles seules : 2,1% ; parties souterraines (racines) : 1,5%. Des études menées par R.K. Sharma, K.V. Kasture, K.K. Kapoor et C.K. Atal [25] ont révélé une teneur de 1,178% dans les gousses, mais 0,078% seulement dans les feuilles. Les gousses ne donneraient qu'un spot en chromatographie (celui de la monocrotaline), alors que les feuilles fournissent trois spots. Il est possible qu'il existe des races géographiques plus ou moins toxiques, mais de toute façon cette espèce est une des plus dangereuses [4].

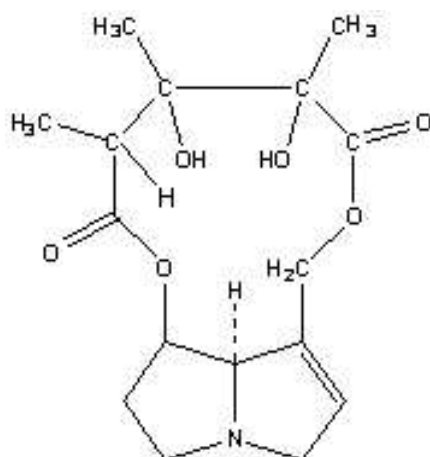


Figure 3 : Structure chimique de la monocrotaline ($C_{16}H_{23}O_6N$) [4]

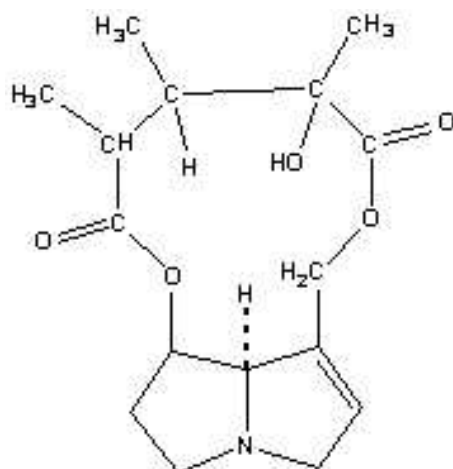


Figure 4 : Structure chimique de la rétusine ($C_{16}H_{23}O_5N$) [4]

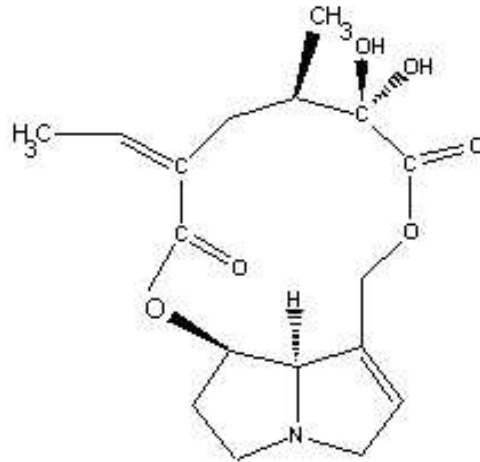


Figure 5 : Structure chimique de la retorsine [8]

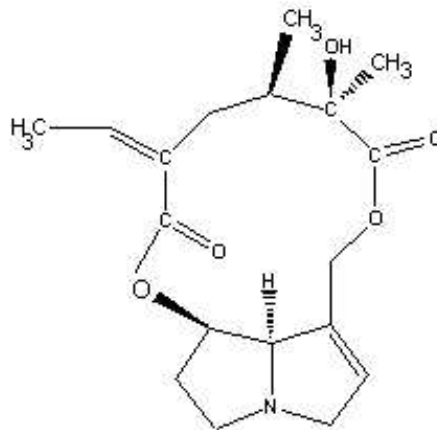


Figure 6 : Structure chimique de la senecionine [8]

1.6.5. Toxicité

L'hépatotoxicité de ces alcaloïdes présents dans plus de 350 espèces végétales est connue depuis plus de 40 ans. Les principales espèces impliquées sont *Heliotropium*, *Senecio*, *Crotalaria* et *Symphytum* (consoude).

L'empoisonnement à la pyrrolizidine est endémique en Afrique et en Amérique centrale où les alcaloïdes toxiques sont ingérés sous forme d'infusions, de décoctions et même de lavements. Une intoxication endémique a également été notée en Inde et en Afghanistan résultant d'une contamination de farines par les plantes contenant ces alcaloïdes. Quelques rares cas d'atteintes hépatiques ont aussi été observés après contamination du lait de vache ou du miel par les alcaloïdes de la pyrrolizidine. Récemment, plusieurs cas d'hépatites ont été observés dans les pays occidentaux chez des patients utilisant des plantes contenant ces alcaloïdes sous forme d'infusions, de capsules ou de compléments alimentaires.

La principale lésion induite par les alcaloïdes de la pyrrolizidine est la maladie veino-occlusive. La symptomatologie peut être aiguë se caractérisant par une douleur abdominale brutale, une ascite, une hépatomégalie et une augmentation marquée des transaminases. La biopsie hépatique à ce stade montre une nécrose centro-lobulaire hémorragique sans inflammation, liée à une atteinte aiguë des veines centro-lobulaires. Lorsque les lésions restent limitées, l'évolution se fait vers une guérison complète. A l'inverse lorsqu'elles sont étendues, on peut observer une insuffisance hépatocellulaire pouvant être mortelle. L'évolution peut se faire de façon plus insidieuse et aboutir à une hépatopathie chronique simulant une cirrhose. Un cas de maladie veino-occlusive mortelle a été constaté chez un nouveau-né dont la mère prenait régulièrement des plantes contenant les alcaloïdes de la pyrrolizidine pendant la grossesse. La toxicité de ces alcaloïdes est dose-dépendante chez l'animal [18]. 20 à 30 mg/kg d'animal de monocrotaline administrés en une seule fois par tubage gastrique suffisent à provoquer des altérations profondes (nécrose hépatique puis syndrome veino-

occlusif). Chez certaines lignées de rats, on constate aussi des hémorragies pulmonaires, l'apparition d'une artérite pulmonaire, ainsi qu'une hyperplasie épithéliale. Trente minutes après l'administration d'une seule dose de 80 mg/kg d'animal de monocrotaline en solution dans de l'eau additionnée de quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué, les nucléoles des cellules du foie présentent des altérations profondes [4].

Cette toxicité est liée à la transformation d'alcaloïdes insaturés en métabolites réactifs toxiques, probablement des dérivés pyrroliques. Les métabolites sont formés non seulement dans les hépatocytes mais aussi dans les cellules endothéliales qui sont particulièrement sensibles. Il en résulte une atteinte vasculaire prédominante, secondairement responsable de la nécrose hépatocytaire. Les atteintes aiguës paraissent résulter d'une exposition courte à de fortes doses alors que les lésions chroniques sont liées à une exposition prolongée à doses plus faibles d'alcaloïdes [18].

Sur le plan biochimique, il faut retenir une élévation du taux des transaminases, de la phosphatase alcaline et de la gamma-GT [15]. Simultanément, il y a une baisse de façon spectaculaire de la synthèse de l'acide ribo-nucléique (A.R.N). La proportion d'A.R.N. par rapport à l'A.D.N. total tombe de 4,76 à 2,19 vingt-quatre heures après l'administration de la monocrotaline. Cet alcaloïde se comporte donc comme un inhibiteur de la synthèse de l'A.R.N. et en particulier l'A.R.N. ribosomique. Cette perturbation d'une commande essentielle des systèmes entraîne pour l'organisme des conséquences extrêmement graves. En définitive, les alcaloïdes pyrrolizidiques ont une action qui ressemble à celle de l'actinomycine D, mais ils s'avèrent incapables de provoquer chez le rat des modifications de l'ultra structure du pancréas exocrine constatées sous l'influence de cet agent [4].

2. Travaux antérieurs sur *Hallea ciliata*

2.1. Autres dénominations

Communément appelé Abura ou Tilleul d'Afrique [20], *Hallea ciliata* est connu sous le nom de : bahia en Côte-d'Ivoire et au Bénin ; subaha au Ghana ; woda en Ethiopie [14]; otsigé-nzam chez les Fang ; épuku chez les Mitsogo et mbudi chez les Bandjabi du Gabon [5].

2.2. Taxonomie

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Astéridées

Ordre : Rubiales

Famille : Rubiacées

Genre : *Hallea*

Espèce : *ciliata*

2.3. Généralités sur la famille des Rubiaceae

C'est une famille essentiellement tropicale mais atteignant les régions tempérées et même l'arctique. Elle comprend 500 genres et 6000 espèces dont la répartition en sous famille pose encore des problèmes fondamentaux.

Cette famille comprend des arbres, des arbustes, des herbes, des lianes ou des épiphytes à feuilles opposées, décussées, parfois verticillées, simples généralement entières, stipulées à stipules interpétiolaires ou intrapétiolaires, libres ou soudées et alors formant une gaine. L'inflorescence est cimeuse avec des fleurs actinomorpes, épigynes. La graine est albuminée à petit embryon.

Cette famille a un très grand intérêt économique dans l'alimentation humaine et en pharmacopée [10].

2.4. Généralités sur le genre *Hallea*

Les espèces du genre *Hallea* contiennent un certain nombre d'alcaloïdes dont le principal est la mitraphylline. Ces différents alcaloïdes ont des propriétés anesthésiantes et entraînent une accélération des battements du cœur. Ils induisent également une excitation du système nerveux autonome et une contraction des intestins [12].

2.5. Autre espèce utilisée du genre *Hallea* : *Hallea stipulosa*

Bien que cette espèce soit botaniquement différente de *Hallea ciliata*, il est morphologiquement difficile de les distinguer.

C'est un arbre de 20m de haut avec des feuilles persistantes, opposées, simples, entières, grandes (10 à 45cm sur 5 à 25cm) avec un pétiole épais (2 à 5cm de long) et de grandes stipules (3 à 8cm sur 2,5 à 5cm) ; le limbe est coriace avec 5 à 10 paires de nervures secondaires très saillantes à la face inférieure. Les fleurs ont un calice à bord entier et glabre. Les fruits sont en boules (diamètre de 1 à 2cm) et composés de nombreuses petites capsules. Les graines sont minuscules (1,5 à 2,5mm), plates, ailées aux deux extrémités et en grande quantité.

Hallea stipulosa est utilisé pour la fabrication de contre-plaqué, de baguettes, de moulures et en menuiserie intérieure.

La différenciation avec le *Hallea ciliata* se fait grâce au calice qui est lobé chez ce dernier [27].

2.6. Description botanique de *Hallea ciliata*

Hallea ciliata est un grand arbre de 20 à 30m de haut à diamètre atteignant rarement 0,8 à 1m, à fût de 12 à 15m, cylindrique, droit et sans apattement.

La cime est réduite, étroite, à branches peu importantes et tortueuses, à feuillage dense. L'écorce est fendillée, écailleuse à tranches jaune rosées devenant rouges ou violacées par oxydation, très fibreuse et épaisse de 2 à 3cm.

L'inflorescence terminale et composée. Les fleurs sont jaunes et vertes, nectarifères et très odorantes, insérées sur un réceptacle hirsute de 3 à 4mm de diamètre.

Le fruit est fusiforme atteignant 8mm de long sur le capitule et dépassant de 2 à 3 mm le sommet des bractéoles [21].

2.7. Habitat

Hallea ciliata se retrouve dans les régions marécageuses d'eau douce. Cette espèce a besoin de lumière, elle forme une barrière étroite entre les rivières et les lagons dans les zones de futaies, dans les prairies de plaines, les savanes et les zones marécageuses des forêts sempervirentes et d'arbres à feuilles caduques.

Hallea ciliata vit également dans les zones périodiquement inondées et a tendance à avoir une distribution clairsemée autour des marécages bien qu'il ne se rencontre pas forcément dans toutes les zones marécageuses [19].

2.8. Usages traditionnels

Hallea ciliata est un produit ligneux à usage général utilisé dans la menuiserie, la production de meubles et de paquets domestiques, la fabrication de contre-plaqué, de bois de placage, de sculptures sur bois, de poteaux électriques [19] et de pirogues [5].

C'est un poison pour les paramécies, il a des propriétés analgésiques et de nombreuses utilisations en médecine locale [19]. Les Bavili du Gabon pilent l'écorce avec les fruits de raphia pour asphyxier le poisson. L'écorce bouillie avec *Piper guinense* Sch. & Th. (piment) et *Xylopietia aetthiopa* (Dural) A.Rich (poivre) est un bon remède pour les maux de poitrine. La décoction d'écorces de *Hallea ciliata* en association avec d'autres espèces végétales est administrée en lavement dans les menstruations douloureuses [5]. Il est également utilisé dans le traitement de la stérilité chez la femme [20] et pour les toilettes vaginales comme antiseptique local [3].

Par ailleurs, il est connu pour ses propriétés anti-inflammatoires, antihypertensives, antirhumatismales, contre les maux de tête et les maladies broncho-pulmonaires. Les feuilles, les écorces du tronc et les racines contiennent des alcaloïdes dont la mitraphylline (2-méthoxy corynantheine), la rotundifoline, la rynchophyline, l'isorotundifoline, la ciliaphyline, la mitragynine et la speciociliatine [9].

Chapitre 3

Travaux

personnels

1. Matériel végétal

Notre étude a porté sur : les feuilles, les fleurs, les tiges, les graines, les racines de *Crotalaria retusa* et les écorces de *Hallea ciliata* tous deux récoltés au Gabon dans les régions de l'estuaire et de l'ogoué-lolo.

1.1. Récolte

1.1.1. Récolte de *Crotalaria retusa*

Les récoltes de *Crotalaria retusa* ont eu lieu en avril, en décembre 2003 et en janvier 2004. C'est à ces périodes que la croissance des jeunes rameaux se fait et que l'activité photosynthétique est au maximum. Les plantes ont été récoltées à Libreville et à Koula-Moutou (chef lieu de la province de l'Ogoué-Lolo), l'identification du matériel végétal a été faite sur le terrain et à l'herbier National du Gabon.

Les spécimens de *Crotalaria retusa* sont disponibles dans les Herbiers du Département de Médecine Traditionnelle du Mali et de l'Institut de la Pharmacopée et de la Médecine Traditionnelles du Gabon.

1.1.2. Récolte de *Hallea ciliata*

Nous avons effectué deux récoltes pour *Hallea ciliata* : en mai et en décembre 2003. Elles ont eu lieu à Libreville et l'identification du matériel végétal a été faite sur le terrain et à l'Herbier National du Gabon.

Les spécimens de *Hallea ciliata* sont disponibles à l'Herbier National du Gabon.

1.2. Séchage

Le séchage a eu lieu à l'ombre et à la température ambiante. Nous avons disposé de paillasses sur lesquelles, nous avons étalé les plantes pendant quelques jours.

1.3. Pulvérisation

Cette opération a été faite après séchage des plantes récoltées. Nous avons utilisé un broyeur de type SK 100 Comfort Gußeinsen (figure 11) pour avoir de la poudre fine. Au préalable la plante entière a été concassée à l'aide d'un sécateur.

2. Etudes phytochimiques

Les études analytiques ont été faites à partir des techniques standard du Département de Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherches en Santé Publique du Mali.

Les résultats ont été évalués comme suit :

- +++ : Fortement positif ;
- ++ : Moyennement positif ;
- + : Faiblement positif ;
- - : Négatif.

2.1. Matériel

Nous avons utilisé pour nos études phytochimiques, le matériel suivant :

- Agitateur magnétique de type AM BBS 3000 (figure 13) ;
- Bain marie ;
- Balance analytique de précision SCALTEC de type SPB31 (figure15) ;
- Ballons (figure 18) ;
- Béchers ;
- Calottes chauffantes (figure 18)
- Coton ;
- Cuves ;
- Distillateur d'eau de type Mono-Dest 3000 (figure 14)
- Entonnoirs ;
- Eprouvettes ;
- Erlenmeyers ;

- Etuve Memmert de type U30 (figure 12) ;
- Fioles ;
- Flacons ;
- Hotte (captair) de type NU (figure17) ;
- Lampe U.V ;
- Micropipettes ;
- Papiers filtres ;
- Papiers pH ;
- Pincés ;
- Pipettes ;
- Plaques chauffantes ;
- Poires ;
- Réfrigérants (figure 18) ;
- Rotavapor Heidoph de type LABOROTA 4002 (figure16) ;
- Soxhlets (figure 18) ;
- Solvants ;
- Supports ;
- Tubes à essais ;

2.2. Alcaloïdes

2.2.1. Méthodologie

2.2.1.1. Solution à analyser

Introduire 10g de poudre à analyser dans un erlenmeyer de 250ml, ajouter 100ml d'acide sulfurique dilué au 1/20^{ème} avec de l'eau distillée, puis boucher l'erlenmeyer.

Agiter et laisser macérer pendant 24 heures à la température du laboratoire.

Filtrer et laver de façon à obtenir 50ml de filtrat.

2.2.1.2. Caractérisations

2.2.1.2.1. Réactions de précipitations

Prendre deux tubes à essais et les numéroter tube n°1 et tube n°2. Introduire 1ml de filtrat dans chaque tube, ajouter cinq gouttes de réactif de Bouchardât dans le tube n°1 et cinq gouttes de réactif de Dragendorff dans le tube n°2. En laissant reposer 10 minutes, les résultats ont été évalués comme suit :

- Précipité abondant : +++
- Précipité moyen : ++
- Précipité louche : +
- Test négatif : 0

L'extraction des alcaloïdes totaux peut se faire selon deux procédés :

Première méthode :

Introduire les 25ml de filtrat obtenus précédemment dans une ampoule à décanter. Le filtrat est alcalinisé sous hotte avec l'ammoniaque jusqu'à odeur (pH : 8 à 9). Ajouter du chloroforme dans un volume égal à la solution alcaline, agiter sans former d'émulsion et après décantation, soutirer la phase organique.

Cette opération est reprise 3 fois au total. Ensuite réunir les phases organiques et sécher sur sulfate de sodium anhydre. Pour finir filtrer et évaporer au bain-marie jusqu'à sec.

Reprendre une petite du résidu sec par 2ml d'acide chlorhydrique dilué. La solution obtenue est partagée entre deux tubes à essais et essayer les réactifs généraux des alcaloïdes (Dragendorff et Bouchardât).

Deuxième méthode :

Alcaliniser la drogue sous hotte avec de l'ammoniaque dilué jusqu'à odeur (pH : 8 à 9), extraire les alcaloïdes bases dans un soxhlet avec du dichlorométhane (CH_2Cl_2) et concentrer la solution sous vide. Ajouter de l'acide chlorhydrique dilué au $1/10^{\text{ème}}$, agiter sans former d'émulsion et après décantation soutirer la phase aqueuse acide (cette opération est répétée trois fois). Ensuite neutraliser la solution aqueuse, l'alcaliniser puis ajouter du dichlorométhane. Agiter sans former d'émulsion, après décantation soutirer la phase organique (cette opération est répétée trois fois) et évaporer à sec. Reprendre le résidu sec par 2ml d'acide chlorhydrique dilué. La solution obtenue est partagée entre deux tubes à essais et essayer les réactifs généraux des alcaloïdes (Dragendorff et Bouchardât).

2.2.1.2.2. Détermination du pourcentage en alcaloïdes

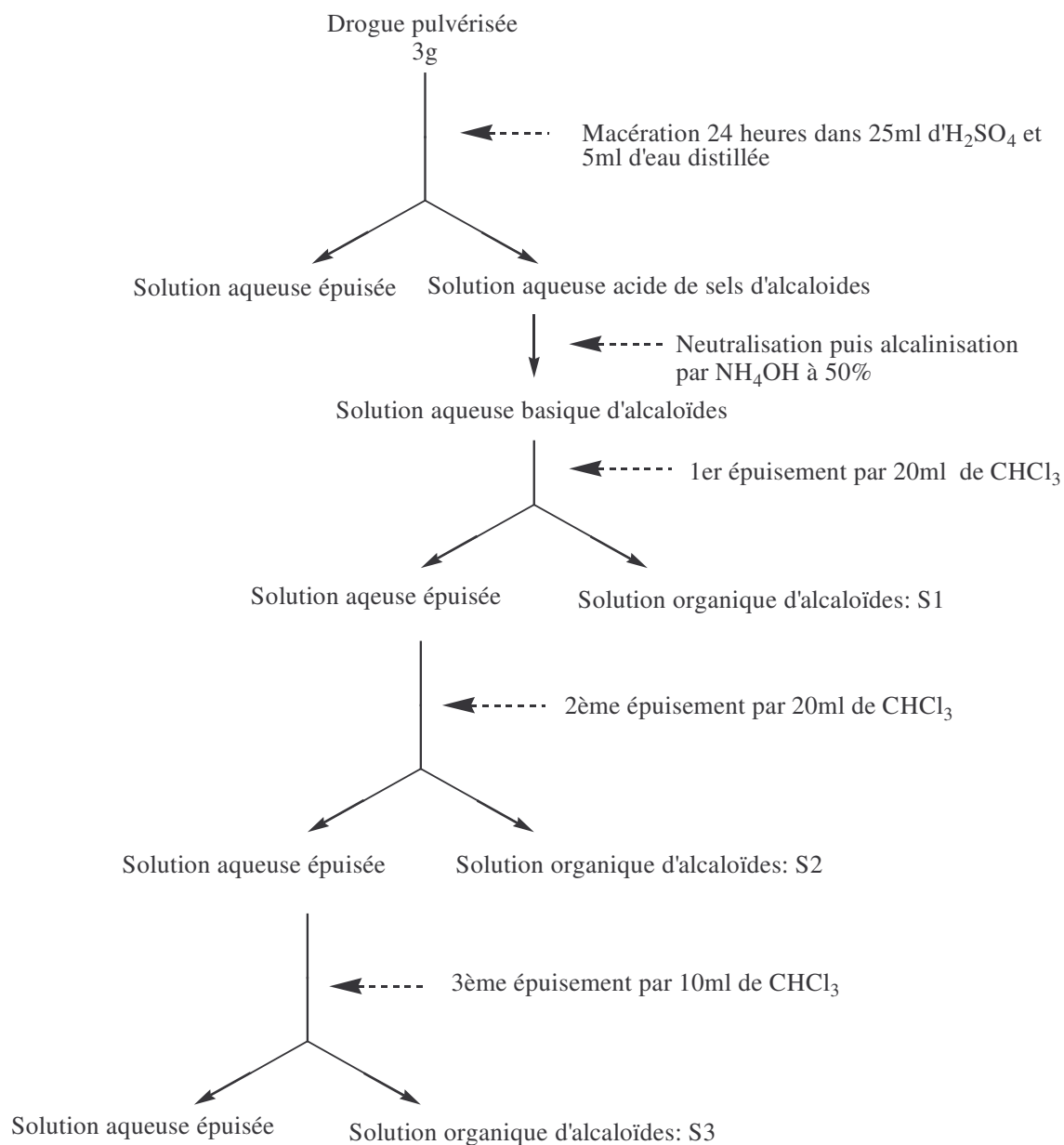


Figure 20 : Schéma d'extraction et de la détermination du Pourcentage en alcaloïdes totaux.

Introduire 3g de poudre à étudier dans un erlenmeyer de 250 ml contenant 25ml d'acide sulfurique dilué à 10% et 5ml d'eau distillée. Boucher, agiter et laisser

macérer à la température du laboratoire pendant 24 heures. Filtrer et compléter à 50ml avec de l'eau distillée.

Alcaliniser par l'ammoniaque à 50% jusqu'à odeur (pH : 8 à 9). Ajouter du chloroforme (CHCl₃), agiter sans former d'émulsion et après décantation, soutirer la phase organique. Faire cette opération 3 fois au total (20ml de CHCl₃ la première, 20ml la deuxième et 10ml la troisième fois).

Recueillir les phases organiques dans un erlenmeyer, sécher sur sulfate de sodium anhydre et filtrer dans une capsule au préalable pesée. Evaporer au bain-marie jusqu'à sec et repeser la capsule.

Si P₁ est le poids de la capsule vide et P₂ celui de la capsule après évaporation, le pourcentage en alcaloïdes (%Alcaloïdes) se calcule de la façon suivante

$$\% \text{Alcaloïdes} = \frac{(P_2 - P_1) \times 100}{3}$$

2.2.2. Résultats de la recherche des alcaloïdes

TABLEAU I : RESULTATS DE LA RECHERCHE DES ALCALOÏDES

Recherches	<i>Crotalaria retusa</i>					<i>Hallea ciliata</i>
	Feuilles	Fleurs	Tiges	Graines	Racines	Ecorces
Alcaloïdes sels	++	++	++	+++	++	++
Alcaloïdes bases	++	++	++	+++	++	++

Les graines de *Crotalaria retusa* sont plus riches en alcaloïdes.

TABLEAU II : POURCENTAGE EN ALCALOÏDES TOTAUX

Drogues	Poids de la capsule vide P ₁ = tare (g)	Poids de la capsule après évaporation P ₂ (g)	Masse alcaloïdes (g)	Pourcentage en alcaloïdes (%)
Feuilles de <i>C.r</i>	50,8932	50,8983	0,0051	0,1700
Fleurs de <i>C.r</i>	48,8233	48,8283	0,0050	0,1667
Tiges de <i>C.r</i>	30,9673	30,9762	0,0089	0,2967
Graines de <i>C.r</i>	30,9734	31,0390	0,0656	2,1867
Racines de <i>C.r</i>	27,3104	27,3172	0,0068	0,2267
Ecorces de <i>H.c</i>	31,0189	31,0280	0,0091	0,3033

NB : *C.r* : *Crotalaria retusa*

H.c : *Hallea ciliata*

Ce tableau confirme les résultats obtenus dans le tableau I, à savoir que les graines de *Crotalaria retusa* sont plus riches en alcaloïdes

2.3. Substances polyphénoliques

2.3.1. Méthodologie

2.3.1.1. Solution à analyser

Introduire 5g de poudre dans 100ml d'eau bouillante contenue dans un erlenmeyer de 250ml. Arrêter l'ébullition et refermer l'erlenmeyer avec un verre de montre ou le surmonter d'un entonnoir et laisser infuser 15 minutes.

Ensuite, filtrer et rincer avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 100ml de filtrat.

2.3.1.2. Recherche des tanins

Introduire dans un tube à essais 5ml d'infusé à 5% et ajouter 1ml de solution aqueuse diluée de FeCl₃ à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

2.3.1.2.1. Recherche des tanins cathéchiques

A 5ml d'infusé, ajouter 1ml d'acide chlorhydrique concentré puis porter à ébullition pendant 10 minutes. L'observation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique indique une réaction positive.

2.3.1.2.2. Tanins galliques

La différenciation des tanins (cathéchiques et galliques) est obtenue par la réaction de Stiasny (10ml de formol + 5ml d'acide chlorhydrique) :

A 30ml d'infusé à 5%, ajouter 15ml de réactif de Stiasny puis chauffer au bain-marie pendant 15 à 30 minutes. L'apparition d'un précipité montre la présence des tanins cathéchiques. Filtrer et saturer le filtrat avec 10ml d'une solution d'acétate de sodium pulvérisée puis ajouter quelques gouttes de solution de FeCl₃ à 1% (1ml).

Le développement d'une teinte bleu-noirâtre indique la présence des tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

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

2.3.1.3. Flavonoïdes

2.3.1.3.1. Recherche d'anthocyanes

A 5ml d'infusé présentant une coloration plus ou moins foncée, ajouter 5ml d'acide sulfurique puis 5ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH). Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, conclure à la présence d'anthocyanes.

2.3.1.3.2. Réaction à la cyanidine

Introduire dans un tube à essais 5ml d'infusé, ajouter 5ml d'éthanol chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée et acide chlorhydrique en parties égales en volumes de 5ml) puis quelques copeaux de magnésium et 1ml d'alcool isoamylique.

L'apparition d'une coloration :

- Rose-orangée pour les flavones ;
- Rose-violacée pour les flavanones ;
- Rouge pour les flavonols et les flavanonols ;

sur la couche surnageante d'alcool isoamylique, indique la présence d'un flavonoïde libre (génine).

Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques. La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les aurones, les cathéchines et les isoflavones.

Effectuer la réaction de la cyanidine sans ajouter des copeaux de magnésium et chauffer pendant 10 minutes au bain-marie. En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée ; les catéchols donnent une teinte brun-rouge.

2.3.2. Résultats des la recherche des composés polyphénoliques

TABLEAU III : RESULTATS DE LA RECHERCHE DES TANINS

Recherches	<i>Crotalaria retusa</i>					<i>Hallea ciliata</i>
	Feuilles	Fleurs	Tiges	Graines	Racines	Ecorces
Tanins (réaction avec FeCl ₃)	+++	+++	+++	+++	-	+++
Tanins catéchiques	++	++	++	+++	-	++
Tanins galliques	+++	+++	+++	+++	-	+++

Ces deux espèces sont très riches en tanins.

TABLEAU IV : RESULTATS DE LA RECHERCHE DES FLAVONOÏDES

Recherches	<i>Crotalaria retusa</i>					<i>Hallea ciliata</i>
	Feuilles	Fleurs	Tiges	Graines	Racines	Ecorces
Anthocyanes	-	-	-	-	-	-
Génines flavoniques	+++ (Flavones)	+++ (Flavanones)	++ (Flavones)	+++ (Flavanones)	-	+++ (Flavones)
Leucoanthocyanes	-	-	-	-	-	+++
Catéchols	+	+	+	+++	-	-

Les racines de l'espèce *Crotalaria retusa* ne contiennent pas de flavonoïdes et les écorces de *Hallea ciliata* sont les seules à renfermer les leucoanthocyanes.

2.4. Dérivés anthracéniques

2.4.1. Méthodologie

2.4.1.1. Préparation des solutions à analyser

2.4.1.1.1. Extrait chloroformique

A 1g de drogue en poudre, ajouter 10ml de chloroforme et chauffer prudemment pendant 3 minutes au bain-marie. Filtrer à chaud et compléter à 10ml si nécessaire.

2.4.1.1.2. Hydrolysats

A une partie du résidu de la poudre épuisée par le chloroforme, ajouter 10ml d'eau distillée et 1ml d'acide chlorhydrique concentré, ensuite maintenir le tube à essais dans un bain marie bouillant pendant 15 minutes. Refroidir le tube sous un courant d'eau et filtrer.

2.4.1.2. Dérivés anthracéniques libres : Réaction de Bornträger

Introduire dans un tube à essais 1ml d'extrait chloroformique préparé, ensuite ajouter 1ml de NH₄OH dilué puis agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'antraquinones libres.

2.4.1.3. Dérivés anthracéniques combinés

2.4.1.3.1. Recherche des O-Hétérosides

Prélever 5ml d'hydrolysats préparés ci-dessus et agiter avec 5ml de chloroforme. Soutirer la phase organique, l'introduire dans un tube à essais et garder la phase aqueuse. Ajouter à la phase organique 1ml de NH₄OH dilué et agiter.

La présence d'antraquinones est révélée par la coloration rouge plus ou moins intense. En cas de réaction négative ou faiblement positive, rechercher les O-hétérosides à génines réduites.

2.4.1.3.2. Recherche des O-Hétérosides à génines réduites

Prélever 5ml de l'hydrolysats préparés ci-dessus et ajouter 3 à 4 gouttes de chlorure ferrique à 1%. Chauffer pendant 5 minutes au bain marie et refroidir sous un courant d'eau. Agiter avec 5ml de chloroforme et soutirer la phase chloroformique. L'introduire dans un tube à essais, ajouter 1ml de NH₄OH dilué et pour finir agiter.

En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthranones, la coloration rouge est plus intense que précédemment (c'est à dire sans addition de chlorure ferrique)

2.4.1.3.3. C-Hétérosides

Reprendre la phase aqueuse qui a été conservée par 10ml d'eau distillée et ajouter 1ml de chlorure ferrique à 10%. Maintenir le tube à essais dans un bain-marie bouillant pendant 30 minutes puis refroidir sous un courant d'eau. Agiter avec 5ml de chloroforme, ajouter 1ml de NH₄OH et agiter.

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

2.4.2. Résultats de la recherche des dérivés anthracéniques

TABLEAU V : RESULTATS DE LA RECHERCHE DES DERIVES ANTHRACENIQUES

Recherches	<i>Crotalaria retusa</i>					<i>Hallea ciliata</i>
	Feuilles	Fleurs	Tiges	Graines	Racines	Ecorces
Anthracénosides libres	-	-	-	-	-	++
O-Hétérosides	-	-	-	-	-	+
O-Hétérosides à génines réduites	-	-	-	++	-	++
C-Hétérosides	-	-	-	++	-	++

L'espèce *Crotalaria retusa* est très pauvre en dérivés anthracéniques

2.5. Stéroïdes et terpènes

2.5.1. Méthodologie

2.5.1.1. Extrait

Introduire dans un tube à essais 1g de poudre et 20ml d'éther. Boucher, agiter et laisser en contact pendant 24 heures. Après ce temps, filtrer et compléter à 20ml avec de l'éther.

2.5.1.2. Caractérisations

2.5.1.2.1. Réaction de Liebermann-Buchard

Evaporer à sec dans une capsule 10ml d'extrait. Dissoudre le résidu dans 1ml d'anhydride acétique avec 1ml de chloroforme et recueillir la solution dans un tube à essais. Ajouter 1 à 2ml d'acide sulfurique concentré au fond du tube à essais à l'aide d'une pipette et ne pas agiter.

La formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides et la coloration verte ou violette de la couche surnageante révèlent la présence de stéroïdes et de triterpènes.

2.5.1.2.2. Caroténoïdes : Carr et Price

Evaporer 5ml d'extrait étheré dans une capsule jusqu'à sec, ajouter 2 à 3 gouttes de solution saturée de chlorure d'antimoine (SbCl₃) dans le chloroforme ou dans le tétrachlorure de carbone (CCl₄). Il se développe en présence de caroténoïdes une coloration bleu-rouge par la suite.

2.5.2. Résultats de la recherche des stérols et triterpènes

TABLEAU VI : RESULTATS DE LA RECHERCHE DES STEROLS ET TERPENES

Recherches	<i>Crotalaria retusa</i>					<i>Hallea ciliata</i>
	Feuilles	Fleurs	Tiges	Graines	Racines	Ecorces
Stérols et triterpènes	++	+++	+	+++	+++	+++
Caroténoïdes	-	-	-	-	-	-

Crotalaria retusa et *Hallea ciliata* sont riches en stérols et terpènes et ne contiennent pas de caroténoïdes.

2.6. Hétérosides cardiotoniques

2.6.1. Méthodologie

2.6.1.1. Solution à analyser

Introduire 1g de poudre dans un tube à essais puis ajouter 10ml d'éthanol à 60% et 5ml d'une solution d'acétate neutre de plomb à 10%. Ensuite porter au bain-marie bouillant pendant 10 minutes et filtrer.

2.6.1.2. Caractérisation

Agiter le filtrat avec 10ml de chloroforme dans un tube à essais et éviter la formation d'une émulsion. Laisser décanté, soutirer à l'aide d'une pipette la phase chloroformique et la partager entre trois tubes. Evaporer au bain-marie bouillant jusqu'à sec le contenu des deux tubes et reprendre le résidu avec 0,4 ml d'isopropanol.

Ajouter dans chacun des tubes :

- Tube 1 : 1ml de réactif de Baljet
- Tube 2 : 1ml de réactif de Kedde

Introduire dans chaque tube 4 gouttes de potasse à 5% dans l'éthanol. En présence de cardénismes, les colorations suivantes se développent :

- Tube 1 : Coloration orangée
- Tube 2 : Coloration rouge-violacée

2.6.2. Résultats de la recherche des Hétérosides cardiotoniques

TABLEAU VII : RESULTATS DE LA RECHERCHE DES HETEROSIDES CARDIOTONIQUES

Recherches	<i>Crotalaria retusa</i>					<i>Hallea ciliata</i>
	Feuilles	Fleurs	Tiges	Graines	Racines	Ecorces
Réactif de Baljet	+	-	-	-	-	-
Réactif de Keede	+	+	+	+	+	+

Nos deux plantes étudiées ne sont pas riches en hétérosides cardiotoniques.

2.7. Saponosides

2.7.1. Méthodologie

2.7.1.1. Préparation du décocté à 1%

A l'aide d'un erlenmeyer de 250ml, faire une décoction de 1g de poudre dans 100ml d'eau distillée. Chauffer pendant 15 minutes tout en maintenant une ébullition modérée. Filtrer après refroidissement et ajuster à 100ml.

2.7.1.2. Caractérisation

Dans une série de 10 tubes à essais numérotés de 1 à 10, répartir successivement 1, 2,10ml de décocté à 1% préparé, ajuster le volume dans chaque tube à 10ml avec de l'eau distillée et agiter chaque tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde. Laisser reposer

pendant 15 minutes et mesurer la hauteur de la mousse dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est de 1cm permet de calculer l'indice de mousse.

$$\text{Indice de mousse (Idm)} = \frac{10}{n \times 10^{-2}}$$

Avec n = numéro du tube dans lequel la hauteur de la mousse est égale à 1cm. Si la hauteur de la mousse est inférieure à 1cm dans tous les tubes, l'indice de mousse est inférieur à 100.

Si la hauteur de la mousse est supérieure à 1cm dans tous les tubes, l'indice de mousse est supérieur à 100.

2.7.2. Résultats de la recherche des saponosides

TABLEAU VIII : RESULTATS DE LA RECHERCHE DES SAPONOSIDES

Recherches	<i>Crotalaria retusa</i>					<i>Hallea ciliata</i>
	Feuilles	Fleurs	Tiges	Graines	Racines	Ecorces
Hauteur de la mousse	0	<1cm	<1cm	<1cm	<1cm	1cm dans le tube 2
Indice de mousse (Idm)		<100	<100	<100	<100	500

Les écorces de *Hallea ciliata* sont très riches en saponosides.

2.8. Autres caractérisations

2.8.1. Méthodologie

Faire une décoction à 10% dans de l'eau distillée.

2.8.1.1. Composés réducteurs

Evaporer à sec au bain-marie 5ml de décocté à 10% placé dans une capsule et ajouter au résidu 1ml de réactif de Fehling. L'obtention d'un précipité rouge-brique indique la présence de composés réducteurs.

2.8.1.2. Mucilages

Introduire 1ml de décocté aqueux à 10% dans un tube à essais et ajouter 5ml d'éther absolu. L'obtention d'un précipité floconneux par mélange après 10 à 15 minutes d'agitations indique la présence de mucilages.

2.8.1.3. Coumarines : Fluorescence U.V

Evaporer 5ml d'extrait éthéré (macération pendant 24 heures) dans une capsule et à l'air libre. Ajouter au résidu 2ml d'eau chaude, partager la solution entre deux tubes à essais et ajouter au contenu de l'un des tubes 0,5ml d'ammoniaque à 25%. Mélanger et observer la fluorescence sous U.V à 366nm. Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

2.8.2. Résultats

TABLEAU IX : RESULTATS DES AUTRES CARACTERISATIONS

Recherches	<i>Crotalaria retusa</i>					<i>Hallea ciliata</i>
	Feuilles	Fleurs	Tiges	Graines	Racines	Ecorces
Composés réducteurs	++	++	-	++	-	++
Mucilages	++	+++	++	+++	++	++
Coumarines	+	+	+	+	-	+

Crotalaria retusa et *Hallea ciliata* sont riches en mucilages.

2.9. Substances extractibles par l'eau

2.9.1. Méthodologie

Porter à ébullition pendant 15 minutes 20ml d'eau distillée et 1g de poudre. Laisser refroidir pendant 20 minutes, filtrer et évaporer le filtrat dans un ballon d'évaporation au préalable pesé à vide (P₁). Après refroidissement, repeser le ballon (P₂).

$$\text{Substances extractibles par l'eau} = (P_2 - P_1) \times 100.$$

2.9.2. Résultats

**TABLEAU X : DOSAGE DES SUBSTANCES EXTRACTIBLES
PAR L'EAU**

Drogues	Poids de la capsule vide P ₁ (g)	Poids de la capsule après évaporation P ₂ (g)	P ₂ -P ₁ (g)	Pourcentage des substances extractibles par l'eau (%)
Feuilles de <i>C.r</i>	31,4347	31,5058	0,0711	7,11
Fleurs de <i>C.r</i>	27,7976	27,9551	0,1575	15,75
Tiges de <i>C.r</i>	30,9746	31,0796	0,1050	10,50
Graines de <i>C.r</i>	27,3130	27,5076	0,1946	19,46
Racines de <i>C.r</i>	31,4340	31,5096	0,0756	7,56
Ecorces de <i>H.c</i>	44,8776	44,9839	0,1063	10,63

NB : *C.r* : *Crotalaria retusa* ; *H.c* : *Mitragyna ciliata*

Les graines et les fleurs de *Crotalaria retusa* ont les pourcentages de substances extractibles par l'eau les plus élevés.

2.10. Dosage de l'eau : Méthode pondérale

2.10.1. Méthodologie

C'est la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve.

Opérer en utilisant des verres de montre préalablement chauffés, après refroidissement les peser. Utiliser au total 5 verres de montre, la masse du verre de montre vide correspondant à la tare.

Prendre 1 à 2g de poudre dans différents verres de montre, peser et obtenir la masse totale avant étuve. Placer les différents verres de montre à l'étuve à 110°C pendant 24 heures puis les peser : c'est la masse totale après étuve. Partant de ces données, calculer le pourcentage d'eau sachant que :

Masse de la drogue = Masse totale avant étuve – Tare

Masse eau = Masse totale avant étuve – Masse totale après étuve

$$\% \text{Eau} = \frac{\text{Masse eau}}{\text{Masse de la drogue (essai)}} \times 100$$

2.10.2. Résultats

**TABLEAU XI : TENEUR EN EAU DES FEUILLES DE
*CROTALARIA RETUSA***

N°	Tare	Masse avant étuve (g)	Masse après étuve (g)	Masse de la drogue (g)	Masse de l'eau (g)	Pourcentage en eau (%)
1	27,3098	28,6034	28,4854	1,2936	0,1180	9,12
2	31,7988	33,0374	32,9211	1,2386	0,1163	9,39
3	28,0796	29,3817	29,2617	1,3021	0,1200	9,22
4	27,7958	28,9914	28,8788	1,1956	0,1126	9,42
5	26,7559	28,0817	27,9577	1,3258	0,1240	9,35

$$9,12 + 9,39 + 9,22 + 9,42 + 9,35$$

$$\text{Teneur moyenne en eau} = \frac{\quad}{5} = 9,30\%$$

**TABLEAU XII : TENEUR EN EAU DES FLEURS DE
*CROTALARIA RETUSA***

N°	Tare	Masse avant étuve (g)	Masse après étuve (g)	Masse de la drogue (g)	Masse de l'eau (g)	Pourcentage en eau (%)
1	30,9750	32,1720	32,0713	1,1970	0,1007	8,41
2	31,7707	33,0167	32,9083	1,2460	0,1084	8,70
3	30,9671	32,1180	32,0222	1,1509	0,0958	8,32
4	31,4319	32,6346	32,5321	1,2027	0,1025	8,52
5	27,0517	28,4162	28,2990	1,3645	0,1172	8,59

$$8,41 + 8,70 + 8,32 + 8,52 + 8,59$$

$$\text{Teneur moyenne en eau} = \frac{\quad}{5} = 8,51\%$$

**TABLEAU XIII : TENEUR EN EAU DES TIGES DE
*CROTALARIA RETUSA***

N°	Tare	Masse avant étuve (g)	Masse après étuve (g)	Masse de la drogue (g)	Masse de l'eau (g)	Pourcentage en eau (%)
1	46,1153	47,3039	47,1961	1,1886	0,1078	9,07
2	49,2471	50,5566	50,4399	1,3095	0,1167	8,91
3	51,1951	52,8512	52,7043	1,6561	0,1469	8,87
4	45,5964	46,7591	46,6552	1,1627	0,1039	8,94
5	46,2715	47,5327	47,4196	1,2612	0,1131	8,97

$$9,07 + 8,91 + 8,87 + 8,94 + 8,97$$

$$\text{Teneur moyenne en eau} = \frac{\text{---}}{5} = 8,95\%$$

**TABLEAU XIV : TENEUR EN EAU DES GRAINES DE
*CROTALARIA RETUSA***

N°	Tare	Masse avant étuve (g)	Masse après étuve (g)	Masse de la drogue (g)	Masse de l'eau (g)	Pourcentage en eau (%)
1	14,3291	15,6596	15,5369	1,3305	0,1227	9,22
2	11,0956	12,4415	12,3194	1,3459	0,1221	9,07
3	8,1286	9,5190	9,3926	1,3904	0,1264	9,09
4	11,6247	12,8063	12,6965	1,1816	0,1098	9,29
5	8,9048	10,1866	10,0691	1,2818	0,1175	9,17

$$9,22 + 9,07 + 9,09 + 9,29 + 9,17$$

$$\text{Teneur moyenne en eau} = \frac{\text{---}}{5} = 9,17\%$$

**TABLEAU XV : TENEUR EN EAU DES RACINES DE
*CROTALARIA RETUSA***

N°	Tare	Masse avant étuve (g)	Masse après étuve (g)	Masse de la drogue (g)	Masse de l'eau (g)	Pourcentage en eau (%)
1	18,3722	19,5463	19,4526	1,1741	0,0937	7,98
2	28,0092	29,1815	29,0887	1,1723	0,0928	7,92
3	31,0179	32,4492	32,3337	1,4313	0,1155	8,07
4	31,7203	33,2437	33,1226	1,5234	0,1211	7,95
5	29,3114	30,7239	30,6095	1,4125	0,1144	8,10

$$7,98 + 7,92 + 8,07 + 7,95 + 8,10$$

$$\text{Teneur moyenne en eau} = \frac{\text{---}}{5} = 8,00\%$$

**TABLEAU XVI : TENEUR EN EAU DES ECORCES DE
*HALLEA CILIATA***

N°	Tare	Masse avant étuve (g)	Masse après étuve (g)	Masse de la drogue (g)	Masse de l'eau (g)	Pourcentage en eau (%)
1	47,7999	49,0458	48,9410	1,2459	0,1048	8,41
2	51,6356	52,9449	52,8335	1,3093	0,1114	8,51
3	50,8907	52,0668	51,9672	1,1761	0,0996	8,47
4	23,3493	24,7404	24,6237	1,3911	0,1167	8,39
5	24,2516	25,6163	25,5000	1,3647	0,1163	8,52

$$8,41 + 8,51 + 8,47 + 8,39 + 8,52$$

$$\text{Teneur moyenne en eau} = \frac{\text{---}}{5} = 8,46\%$$

**TABLEAU XVIII : RECAPITULATIF DE LA PRESENCE DES
SUBSTANCES CHIMIQUES**

Substances chimiques		<i>Crotalaria retusa</i>					<i>Hallea ciliata</i>
		F	F'	T	G	R	E
Alcaloïdes	Alcaloïdes sels	++	++	++	+++	++	++
	Alcaloïdes bases	++	++	++	+++	++	++
Tanins	Tanins (avec FeCl ₃)	+++	+++	+++	+++	-	+++
	Tanins catéchiqes	++	++	++	+++	-	+++
	Tanins galliques	+++	+++	+++	+++	-	+++
Flavonoïdes	Génines flavoniques	+++	+++	++	+++	-	+++
	Leucoanthocyanes	-	-	-	-	-	+++
	Catéchols	+	+	+	+++	-	-
Dérivés anthracéniques	Anthracénosides libres	-	-	-	-	-	++
	O-Hétérosides	-	-	-	-	-	+
	O-Hétérosides à génines réduites	-	-	-	++	-	++
	C-Hétérosides	-	-	-	++	-	++
Stérols et terpènes		++	+++	+	+++	+++	+++
Hétérosides cardiotoniques	Réactif de Baljet	+	-	-	-	-	-
	Réactif de Keede	+	+	+	+	+	+
Saponosides	Hauteur de la mousse (cm)	0	<1	<1	<1	<1	1cm ; n = 2.
	Idm		<100	<100	<100	<100	500
Composés réducteurs		++	++	-	++	-	++
Mucilages		++	+++	++	+++	++	++
Coumarines		+	+	+	+	-	+

F : feuilles ; F' : fleurs ; T : tiges ; G : graines ; R : racines ; E : écorces

Les composés polyphénoliques (flavonoïdes et tanins), les mucilages et les stérols et terpènes sont en proportions plus importantes dans nos deux espèces.

**TABLEAU XVII : RECAPITULATIFS DES POURCENTAGES EN
ALCALOÏDES, DES DOSAGES EN SUBSTANCES
EXTRACTIBLES PAR L'EAU ET DES TENEURS EN EAU**

<i>Crotalaria retusa</i>			<i>Hallea ciliata</i>			
Recherches	Feuilles	Fleurs	Tiges	Graines	Racines	Ecorces
Pourcentages en alcaloïdes	0,1700%	0,1667%	0,2967%	2,1867%	0,2267%	0,3033%
Substances extractibles par l'eau	7,11%	15,75%	10,50%	19,46%	7,56%	10,63%
Teneur moyenne en eau	9,30%	8,51%	8,95%	9,17%	8,00%	8,46%

2.11. Technique de la Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

2.11.1. Méthodologie

Nous avons utilisé des plaques pour CCM avec des supports en aluminium. La plaque est recouverte d'absorbant (gel de silice 60 F₂₅₄) dont l'épaisseur est d'environ 250 microns.




Sur des plaques de format 10cm x 10cm déposer 1µl d'une solution d'alcaloïdes totaux de concentration 10g/l à séparer à environ 1cm du bord inférieur à l'aide d'une micropipette. Après les dépôts, faire évaporer complètement le solvant de dilution de l'extrait. Placer les plaques ensuite dans une cuve de développement dans laquelle se trouve un solvant approprié jusqu'à une hauteur de 0,50cm environ. Auparavant, s'assurer que l'atmosphère dans la cuve est saturée, pour cela, prendre un temps minimum de 15 minutes entre la mise du solvant dans la cuve et l'introduction des plaques. La migration du solvant d'élution entraîne les substances contenues dans l'extrait de plante à des vitesses variées appelées vitesses de migration. Il se forme des tâches qui caractérisent les substances existantes. La distance suffisante pour l'élution est d'environ 8cm à partir de la zone de départ. Les facteurs qui sous tendent la séparation des substances peuvent être des phénomènes d'absorption, de partage ou d'échange d'ions ou encore une combinaison des différentes propriétés. Quand le solvant a parcouru la distance suffisante, retirer la plaque de la cuve et faire sécher.

Révéler les substances séparées, la révélation a été faite à l'U.V à 254nm et à 366nm et à l'aide du réactif de Dragendorff. Chaque substance a été identifiée par son Rf dans un système de solvant précis, par sa fluorescence sous U.V ou par sa couleur après révélation de Dragendorff.

$$\text{Rf} = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

Rf doit être inférieur à 1.

Nous avons utilisé les annotations suivantes pour caractériser les substances :

-  Substances révélées à 254nm ;
-  Substances révélées à 366nm ;
-  Substances révélées par le réactif de Dragendorff.

2.11.2. Résultats de la chromatographie sur couche mince

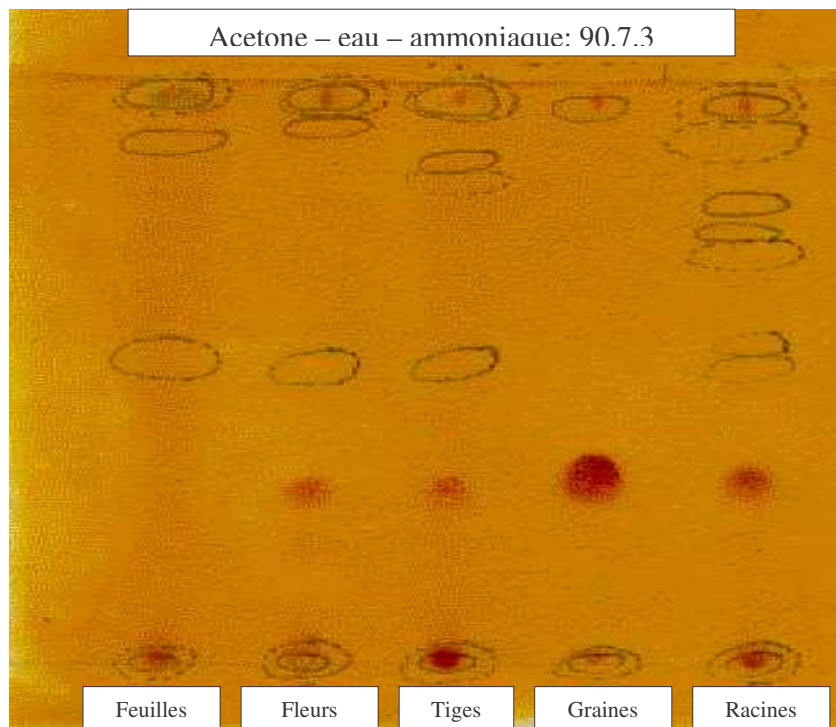


Figure 19 : Chromatographie sur couche mince des alcaloïdes totaux de *Crotalaria retusa* dans le système acétone – eau – ammoniacque (90-7-3)



Figure 20 : Chromatographie sur couche mince des alcaloïdes totaux de *Hallea ciliata* dans le système acétone – eau – ammoniacque (90-7-3)

**TABLEAU XIX : RESULTATS DE LA CHROMATOGRAPHIE SUR
COUCHE MINCE DES ALCALOÏDES TOTAUX**

Drogues	Résultats			
	Rf	U.V 254nm (couleur)	U.V 366 (fluorescence)	Dragendorff (couleur)
Feuilles de <i>Crotalaria retusa</i>	0,53	/	Bleue	/
	0,90	Grise	/	/
	0,99	Grise	Orange	Orange
Fleurs de <i>Crotalaria retusa</i>	0,31	/	/	Orange
	0,51	/	Bleue	/
	0,93	Grise	0,51	/
	0,99	Grise	Orange	Orange
Tiges de <i>Crotalaria retusa</i>	0,31	/	/	Orange
	0,53	/	Bleue	/
	0,84	/	Orange	/
	0,88	Grise	/	/
	0,99	Grise	/	Orange
Graines de <i>Crotalaria retusa</i>	0,34	/	/	Orange
	0,99	Grise	/	Orange
Racines de <i>Crotalaria retusa</i>	0,31	/	/	Orange
	0,50	Grise	/	/
	0,55	/	Bleue	/
	0,7	/	Bleue	/
	0,74	Grise	/	/
	0,85	Grise	/	/
	0,98	/	Bleue	/
	0,99	Grise	Orange	Orange
Ecorces de <i>Hallea ciliata</i>	0,51	/	Bleue	/
	0,69	Grise	/	/
	0,76	Grise	/	Orange
	0,82	Grise	/	/
	0,89	Grise	/	/
	0,99	Grise	Orange	Orange

Le spot au Rf de 0,99 donne une coloration orangée après révélation avec le réactif de Dragendorff pour toutes les parties étudiées de *Crotalaria retusa* ainsi que pour les écorces de *Hallea ciliata*.

Chapitre 5

Commentaires

et discussion

Notre étude qui a consisté à un screening phytochimique de deux espèces de plantes *Crotalaria retusa* et *Hallea ciliata* récoltées au Gabon a abouti à des résultats par l'interprétation desquels, nous avons pris en compte les études antérieures.

Lors de la caractérisation du matériel végétal à partir des réactions en tube, il a été mis en évidence la présence des substances chimiques suivantes : **les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, les stérols et terpènes, les saponosides, les composés réducteurs, les mucilages, les dérivés anthracéniques, les hétérosides cardiotoniques et les coumarines**. Les trois derniers cités n'étant qu'en très petite quantité. Cependant, à côté de cette existence de substances chimiques, il est important de noter que les réactions de caractérisations ont été positivement plus marquées avec les graines de *Crotalaria retusa*.

Les réactions de dosage qui ont été effectuées ont concerné le pourcentage en alcaloïdes, les substances extractibles par l'eau et la teneur en eau.

Le pourcentage en eau dans les différentes parties des plantes étudiées est compris entre 8,00% et 9,30%. Ces taux étant inférieurs à 10%, ils sont conformes à la norme internationale qui exige pour une meilleure conservation des échantillons une teneur en eau inférieure à 10%.

Les substances extractibles par l'eau nous ont révélé 7,11% pour les feuilles ; 15,75% pour les fleurs ; 10,50% pour les tiges ; 19,46% pour les graines ; 7,56% pour les racines et 10,63% pour les écorces. Ces résultats voudraient dire que 1/14^{ème} des substances des feuilles est extractible par l'eau contre 1/6^{ème} pour les fleurs ; 1/9^{ème} pour les tiges et les écorces; 1/5^{ème} pour les graines et 1/13^{ème} pour les racines.

Pour le pourcentage en alcaloïdes, nous avons obtenu 0,1700% pour les feuilles ; 0,1667% pour les fleurs ; 0,2967% pour les tiges ; 2,1867% pour les graines ; 0,2267% pour les racines et 0,3033% pour les écorces. La chromatographie sur couche mince des alcaloïdes totaux a donné après révélation avec le réactif de Dragendorff un spot pour les feuilles de *Crotalaria retusa* et deux spots pour les

quatre autres parties. Les Rf de ces spots étant quasi les mêmes, nous pouvons alors dire que les cinq parties étudiées de l'espèce *Crotalaria retusa* récoltée au Gabon ont quasi le mêmes types d'alcaloïdes. Pour le *Hallea ciliata* nous avons également obtenu deux spots. Il faut cependant souligner qu'aux lieux de dépôt de nos extraits d'alcaloïdes nous avons aussi obtenu des colorations orange pour chaque partie étudiée. Ceci peut s'expliquer par le fait que certains alcaloïdes n'ont pas pu migrer dans ce milieu (acétone – eau – ammoniacale)

Ces résultats sont en conformité avec les travaux antérieurs dans la mesure où les graines de l'espèce *Crotalaria retusa* récoltée au Gabon ayant une teneur en alcaloïdes élevée sont les parties les plus riches en alcaloïdes comme l'avait déjà trouvé C.C.J. Culvenor et J.W. Smith [7]. Ce sont certainement les alcaloïdes de la pyrrolizidine dont le chef de file est la monocrotaline qui ont été mis en évidence dans *Crotalaria retusa* et les alcaloïdes oxindoliques dont le chef de file est la mitraphylline qui sont présents dans l'espèce *Hallea ciliata*.

Ainsi la présence d'alcaloïdes dans nos deux espèces récoltées au Gabon pourrait expliquer les propriétés anti-inflammatoires, analgésiques, antirhumatismales de *Hallea ciliata* et la toxicité pour l'homme et l'animal de *Crotalaria retusa*.

Des études plus approfondies menées dans des laboratoires mieux équipés nous permettront d'établir avec précision les structures de tous ces alcaloïdes.

Les saponosides et les flavonoïdes présents en grande quantité dans ces deux espèces pourraient grâce à leurs propriétés fongicides [6] expliquer les propriétés antifongiques (contre la gale [11]) de *Crotalaria retusa* et l'utilisation de *Hallea ciliata* comme antiseptique local [1] pour les toilettes vaginales chez les femmes.

Les substances polyphénoliques (tanins et flavonoïdes) mises en évidence au cours de nos tests phytochimiques pourraient présager que nos deux espèces étudiées ont une activité antioxydante plus ou moins élevée, les tanins agissant en capteur de radicaux libres produits lors de l'oxydation lipidique. Ces derniers

sont également connus pour leurs propriétés molluscicides [6]. Nos plantes pourraient de ce fait être étudiées dans le cadre de la lutte contre les mollusques, hôtes intermédiaires et non négligeables dans les cycles d'évolution de nombreux germes pathogènes responsables des maladies telles la schistosomiase ou bilharziose et le paludisme.

Enfin, la présence de mucilages dans nos deux espèces expliquerait le caractère visqueux des extraits aqueux de *Crotalaria retusa* et de *Hallea ciliata*.

Conclusion

Notre étude qui est une contribution à l'étude de la composition chimique de deux espèces de plantes *Crotalaria retusa* et *Hallea ciliata* nous a permis de comprendre que le domaine des plantes demeure encore un secteur valable de recherches.

Certaines propriétés notamment celles antioxydantes et antiradicalaires que seraient susceptibles d'avoir nos deux plantes grâce à leurs constituants (composés polyphénoliques) sont recherchées dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

Dans l'industrie alimentaire pour la conservation des aliments, la découverte d'antioxydants d'origine naturelle pourrait constituer une alternative aux composés synthétiques tels que : le Butyl hydroxytoluène (BHT) et le Butyl hydroxyanisole (BHA) utilisés actuellement dans ce but.

Dans l'industrie pharmaceutique sachant que les antioxydants sembleraient contribuer de manière significative à la prévention des maladies telles que le cancer et les maladies cardiaques, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit être à l'ordre du jour.

Face à la toxicité de l'espèce *Crotalaria retusa*, nous invitons les populations, les ministères de la santé et les gouvernements à prendre des dispositions telles la sensibilisation et la création des centres antipoisons pour éviter et prendre en charge dans les meilleurs délais de nouveaux cas d'intoxications comme ceux déjà rencontrés en Jamaïque. Des efforts devront également être accomplis du côté de la volaille, des animaux domestiques, des bovins et des ovins qui pourraient la consommer en grande quantité et de façon régulière dans la nature. Par ailleurs, face à la richesse de nos deux espèces en substances phytochimiques susceptibles d'avoir des propriétés pharmacologiques intéressantes, les investigations dans les genres *Crotalaria* et *Hallea* et plus précisément pour les espèces *retusa* et *ciliata* méritent d'être poussées. Nous souhaiterions qu'en plus soient entreprises pour *Crotalaria retusa* des études sur les possibilités de diminuer ou d'utiliser à des fins thérapeutiques sa toxicité car

la capacité de ses alcaloïdes d'inhiber la synthèse de l'ARN par exemple laisse présager une activité antitumorale.

Nous ne saurons terminer ce travail sans faire une adresse aux hommes pour la conservation de la nature. Quelque part, l'incidence entraînant des variations biologiques et saisonnières qui sont des contraintes que nous ne maîtrisons pas, il serait souhaitable que nous profitions de ces variations pour valoriser des ressources locales reconnues comme ayant ou susceptibles d'avoir une valeur thérapeutique.

Références

Bibliographiques

1. Adjonohoun E.J, J.J. Floret, S. Guindo, M. Koumaré, A.M.R. Ahyi, R. Raynal ; 1985 ; Contribution aux Etudes Ethnobotaniques du Mali ; ACCT ; Paris ; 250p.
2. Adjonohoun E.J, M.R. Ahyi, L. Ake Assi, K. Akpagana, P. Chibon, El Hadj Watara, J. Eyme, M. Garba, J.N. Gassita, M. Gbeassor, E. Goudote, S. Guindo et Collaborateurs ; 1996 ; Contribution aux études Ethnobotaniques et Floristiques du Togo ; ACCT ; Paris ; 674p.
3. Alain Wagner ; 1986 ; Aspects des Médecines Traditionnelles du Gabon ; Editions universelles ; Toulouse ; 332p.
4. Albert RAKOTO-RATSIMAMANGA, Pierre BOITEAU, Marcel MOUTON ; 1969 ; Eléments de Pharmacopée Malagasy ; Société pour la Promotion de la Pharmacopée Malagasy ; Tananarive ; 308p.
5. André RAPONDA-WALKER et Roger SILLANS ; 1961 ; Les Plantes Utilisées au Gabon ; Paul Lechevalier ; Paris ; 616p.
6. Bakary TRAORE ; 2001 ; Screening de l'activité biologique de deux espèces de *Tapinanthus* poussant sur *Butyrospermum paradoxum* (Gaertn F) Hepper (*Sapotaceae*) ; Thèse de Pharmacie ; Bamako ; N° 28 ; 83p.
7. Culvenor C.C.J et Smith L.W ; 1957 ; The Alkaloids of *Crotalaria retusa* ; *Australian journal of Pharmacology* ; N° 10 ; p.464-473.
8. David M. ROSEMAN, Xiyang WU et Mark J. KURTH ; 1996 ; Elisa Detection of Pyrrolizidine Alkaloids ; *Bioconjugate Chemistry* ; N° 2 ; p.187-195.
9. Dongmo A.B, Kamanyi A, Dzikouk G, Chungag-Anye Nkeh B, Tan P.V, Nguenefack T, Nole T, Bopelet M, Wagner H ; 2003 ; Anti-inflammatory and Analgesic Properties of Stem Bark extract of *Mitragyna ciliata* (*Rubiaceae*) ; *Journal of Ethnopharmacology* ; N° 84 ; p.17-21.
10. H. Gaussen, J.F. Leroy, P. Ozenda ; 1982 ; Précis de Botanique ; Masson ; Paris ; 580p.

11. H.M. Burkill ; 1995 ; Useful Plants of West Tropical Africa ; Royal Botanic Gardens ; Kew ; Vol. 3 ; 858p.
12. H.M. Burkill ; 1997 ; Useful plants of West Tropical Africa ; Royal Botanic Gardens ; Kew ; Vol. 4 ; 970p.
13. http://www.barbadine.com/pages/crotalaria_retusa_lien.html
14. <http://www.biodiversity.uno.edu/delta/wood/fr/3w/rubmicil.html>
15. http://www.caryenne.ird.fr/database/web_elodie/symptomes/crotalaria/html
16. <http://www.cia.gov/cia/publications/factbook/geos/gb.html>
17. <http://www.fhngabon.ga/html/ufdga05.html>
18. <http://www.fmcgastro.org/htdocs/postu98/larrey.html>
19. http://www.unep-wcmc.org/species/tree_study/africa/fra/1-43.html
20. J.N. GASSITA, Lucienne NZE EKEKANG, Hélène De VICHY, Louis Adrian MELS, Blaise KOUDOGBO, Richard EKOMIE ; 1982 ; Les Plantes Médicinales du Gabon ; Mission Ethnobotanique de l'ACCT au Gabon ; Libreville ; 55p.
21. Nicolas HALLE ; 1996 ; Flore du Gabon ; Muséum National d'Histoire Naturelle ; Paris ; 280p.
22. Organisation Mondiale de la Santé ; 2002 ; Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle ; Organisation Mondiale de la Santé ; Genève ; 65p.
23. Pierre BOITEAU ; 1989 ; Médecine Traditionnelle et Pharmacopée - Précis de Matière Médicale Malgache ; ACCT ; Paris ; 144p.
24. Pierre NGAVOURA ; 1990 ; Fiabilité de la Médecine Traditionnelle dans le monde moderne « Contribution du Forestier » ; Mémoire de fin de cycle en Eaux et Forêts ; Libreville ; 123p.
25. R.K. Sharma, K.V. Kasture, K.K. Kapoor, C.K. Atal ; 1965 ; Studies of the alkaloids of *Crotalaria retusa* ; *Lloydia* ; N° 28 ; p.215-227.
26. R. Letouzey ; 1982 ; Manuel de Botanique Forestière ; Centre Technique Forestier Tropical ; Marne ; Tome 2 ; 206p.

27. Vivien J et Faure J.J ; 1995 ; Arbres et Forêts Denses d'Afrique Centrale ; ACCT ; Paris ; 568p.

FICHE SIGNALÉTIQUE

Titre :

Screening phytochimique de deux espèces de plantes : *Crotalaria retusa* L et *Hallea ciliata* Aubrev. & Pellgr. récoltées au Gabon

Auteur :

Ange MIBINDZOU MOUELET

Année :

2004

Ville de soutenance :

Bamako

Lieu de dépôt :

Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS). BP : 1805, Bamako.

Résumé :

Notre étude qui a porté sur la détermination de la composition en substances chimiques organiques de deux espèces végétales : *Crotalaria retusa* et *Hallea ciliata* récoltées au Gabon a comporté :

- Un rappel sur les travaux antérieurs qui a permis d'obtenir des renseignements sur les utilisations traditionnelles de *Hallea ciliata* et de *Crotalaria retusa* (en plus de la toxicité de cette dernière) ;
- Des réactions de caractérisation qui ont permis d'identifier différents groupements chimiques que renferment ces deux espèces qui sont : les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, les stérols et terpènes, les saponosides, les composés réducteurs, les mucilages, les dérivés anthracéniques, les hétérosides cardiotoniques et les coumarines. Les trois derniers cités étant en quantités moins importantes.
- Une chromatographie sur couche mince des alcaloïdes totaux au cours de laquelle, après révélation avec la réactif de Dragendorff, nous avons obtenu pour *Crotalaria retusa* un spot pour les feuilles et deux pour chacun des quatre autres organes étudiés (fleurs, tiges, graines, racines). Et pour les écorces de *Hallea ciliata* nous avons également obtenu deux spots.

Mots clés :

Crotalaria retusa, *Hallea ciliata*, Toxicité, alcaloïdes.