

MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS
SECONDAIRE ET SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple - Un But - Une Foi

DIRECTION NATIONALE DE
L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale de Médecine
et de Pharmacie du Mali
(E.N.M.P.)

Année 1994

N°

***CONTRIBUTION A L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE
DE PSOROSPERMUM GUINEENSE HOCHR
(HYPERICACEAE)***

THESE

Présentée et soutenue publiquement le.....
devant l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali

Par

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

JURY

Président : Professeur Bréhima KOUMARE
Membres : Professeur Boubacar Sidiki CISSE
Docteur Ousmane DOUMBIA
Directeur : Professeur Arouna KEITA

I
ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DU MALI
ANNEE UNIVERSITAIRE 1993-1994

=====

ADMINISTRATION

Doyen: Issa TRAORE - Professeur
1er assesseur: Boubacar S. CISSE - Professeur
2^{ème} Assesseur : Amadou DOLO - Maître de Conférence Agrégé
Secrétaire Général : Bakary CISSE - Maître de Conférence
Conseiller Technique : Bernard CHANFREAU - Chargé de cours
Econome : Mamadou DIANE - Contrôleur des Finances

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Aliou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Ortho-Traumato.sécourisme
Mr Souléymane SANGARE	Pneumo-phthisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L.TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie

Liste du Personnel Enseignant par D.E.R & par Grade

D.E.R.CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chef DER de Chirurgie
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Ortho-Traumatologie
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie

2. MAITRES DE CONFERENCE AGREGES

Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale

3. MAITRES DE CONFERENCE

Mme Sy Aida SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique

4. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Mamadou L.DIOMBANA	Stomatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie

II

Mr Alhouséini AG MOHAMED	O.R.L.
Mme DIANE F.S.DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesth.-Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Générale
Mr Sékou SIDIBE	Ortho.Traumatologie
Mr A.K.TRAORE DIT DIOP	Chirurgie Générale
Mr Abdoulaye K.DIALLO	Anesthésie-Réanimation
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Tiéman COULIBALY	Ortho.Traumatologie
Mme TRAORE J.THOMAS	Ophthalmologie

5. ASSISTANTS

Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Ibrahim ALWATA	Ortho.Traumatologie
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale

D.E.R.DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Bréhima KOUMARE	Bactériologie-Virologie
Mr Sinè BAYO	Anatomie-Path.Histoembryologie.
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique
Mr Yéya T.TOURE	Biologie
Mr Amadou DIALLO	Biologie Chef de D.E.R.
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique

2. MAITRE DE CONFERENCE AGREGÉ

Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie
-------------------	---------------

3. MAITRES DE CONFERENCE

Mr Yénimégué A.DEMBELE	Chimie Organique
Mr Massa SANAGO	Chimie Analytique
Mr Bakary M.CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S.MAIGA	Parasitologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sekou F.M.TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr Y'yenigue Simon KOITA	Chimie Organique
Mr Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie

III

Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie
Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr Ibrahim I.MAIGA	Bactériologie

5. ASSISTANT

Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
-------------------	-------------------

D.E.R. DE MEDICINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY	Med.int. Chef DER MEDICINE
Mr Aly GUINDO	Gastro-Enterologie
Mr Mamadou K.TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Aly Nouhoum DIALLO	Médecine Interne
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamamdou M.KEITA	Pédiatrie
Mr Eric PICHARD	Médecine Interne

2. MAITRE DE CONFERENCE AGREGE

Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
-------------------	-----------

3. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Moussa Y.MAIGA	Gastroenterologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Dapa Ali DIALLO	Hémato-Médec.Interne
Mr Somita KEITA	Dermato-Leprologie
Mr Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Mr Hamar A.TRAORE	Médecine Interne

4. ASSISTANTS

Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mr Adama D.KEITA	Radiologie
Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie

D.E.R. de SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR

Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
--------------------------	-------------

IV

2. MAITRE DE CONFERENCE AGREGE

Mr Arouna KEITA Matière Médicale

3. MAITRES DE CONFERENCE

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

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Drissa DIALLO Matière Médicale
Mr Alou KEITA Galénique

5. ASSISTANT

Mr Boubacar I.MAIGA Toxicologie

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

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

2. MAITRE DE CONFERENCE AGREGE

Mr Moussa A.MAIGA Santé Publique

3. MAITRE DE CONFERENCE

Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bernard CHANFREAU Santé Publique
Mr Jean Michel MOURILLE Santé Publique
Mr Bocar G.TOURE Santé Publique
Mr Sory I.KABA Santé Publique
Mr Alain PRUAL Santé Publique

5. ASSISTANT

Mr Massambou SACKO Santé Publique

V**CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES**

Mme CISSE A.GAKOU	Galénique
Mr N'golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale et Minérale
Mr Bakary I.SACKO	Biochimie
Mr Yoro DIAKITE	Maths
Mr Sidiki DIABATE	Bibliographie
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mr Mrs Sira DEMBELE	Maths
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Nyamanton DIARRA	Mathématiques
Mr Moussa I.DIARRA	Biophysique
Mr Mamadou Bakary DIARRA	Cardiologie

PERSONNEL D'ENCADREMENT (STAGES & TP)

Mr Madani TOURE	H.G.T.
Mr Tahirou BA	H.G.T.
Mr Amadou MARIKO	H.G.T.
Mr Badi KEITA	H.G.T.
Mr Antoine Niantao	H.G.T.
Mr Kassim SANOGO	H.G.T.
Mr Yéya I. MAIGA	I.N.R.S.P.
Mr Chompere KONE	I.N.R.S.P
Mme Ba MARIE P. DIALLO	I.N.R.S.P
Mr Almahdy DICKO	P.M.I.SOGONIKO
Mr Mohamed TRAORE	KATI
Mme Arkia DIALLO	P.M.I. CENTRALE
Mr Reznikoff	I.O.T.A
Mr P. BOBIN	I.MARCHOUX
Mr A. DELAYE	H.P.G.
Mr N'DIAYE F. N'DIAYE	I.O.T.A
Mr Hamidou B. SACKO	H.G.T.
Mr Hubert BALIQUE	C.T.MSSPA
Mr Sidi Yéhiya TOURE	H.G.T

ENSEIGNANTS EN MISSION

Mr G.GRAS	Hydrologie
Mr A.E.YAPO	Biochimie
Mr B.FAYE	Pharmacodynamie
Mr M.BADIANE	Pharmacie chimique
Mr I.LO	Legislation
Mr G.FARNARIER	Physiologie

DEDICACES

A la mémoire de mon père Feu Mama TANGARA

Homme pieux, probe et généreux. Tu nous as inoculé les vertus de probité, de persévérance et l'amour du travail bien fait. J'avais trouvé auprès de toi toute l'affection et toute la tendresse que je pouvais désirer.

De ton vivant, jamais tu n'as failli à tes devoirs de père et d'éducateur. Je serai sincèrement fier, si un jour, mon fils pense de moi, ce que je pense de toi aujourd'hui.

En ce jour, concrétisant l'aboutissement de notre rêve, tu es le grand absent. J'avais voulu que tu sois là pour admirer la réussite de tes efforts qui ne sont pas demeurés vains.

Que ce modeste travail te prouve tout mon amour et te rend à jamais présent dans ma mémoire. Que la terre te soit légère et que ton âme repose en paix

A ma douce mère Adama COULIBALY

Femme pieuse, timide, humble, généreuse et honnête. Tu représentes pour moi l'exemple de la bonté, du respect de l'autre, de la femme modèle

Ce travail est le fruit de tes longues années de patience, d'efforts et de sacrifices pour parfaire notre éducation et notre instruction. Tu n'as cessé de m'encourager tout au long de mes études et surtout aux moments les plus pénibles. Ta tendresse ne peut s'évaluer.

Tes bénédictions seront toujours pour moi la lampe qui illumine la voie devant indiquer le chemin de L'honneur.

Chère mère, en ce jour de réalisation de tes vœux, les mots me manquent pour t'exprimer mes sincères sentiments.

Que Dieu te garde très longtemps parmi nous et qu'il m'aide à te satisfaire d'avantage.

A tes pieds, je dépose respectueusement ce modeste travail en gage de ma très grande affection.

A ma marâtre Massamba KEITA

Toi qui m'as de tout temps entouré de tendresse, d'amour de conseils utiles, de soins... de tout ce dont j'ai eu besoin pour devenir l'être que je suis fier d'être .

Tu as montré tout l'intérêt que tu accordés aux études médicales et m'as encouragé dans ce sens. Tu m'as fait confiance et tu m'as prodigué des conseils sages pour me guider sur le sentier tortueux de la vie.

Voici venu le moment de ta récompense et les mots me manquent pour t'exprimer toute ma gratitude. Tu as su créer l'ambiance nécessaire à mon épanouissement et m'apporter l'aide morale dont j'ai bénéficiée tout au long de ma scolarité.

A chaque réussite au cours de mes études , je pensais à tes encouragements et à cet instant les larmes me viennent aux yeux rien qu'en pensant que tu seras fière de moi. Je ne cesserais jamais de te remercier

Que ce travail puisse être le témoignage de mon amour profond à ton égard.

A la mémoire de mon frère jumeau Feu Fouseni TANGARA

Trop tôt enlevé à notre affection d'une façon brutale. Je regrette ton absence.

J'aurais voulu que tu sois là pour partager cette joie. Hélas! Dieu seul détient le plan de vie de chacun de nous. Paix à ton âme.

A la mémoire de ma grande soeur Feue Kadidia TANGARA

La mort t'a privée de la joie que t'aurait procurée ce travail, hélas! on ne peut rien contre la volonté de Dieu. Que ton âme repose en paix

A la mémoire de Feu Souleymane DIALLO

Vous m'avez donné le meilleur de vous même en acte et en paroles pour m'élever à ce niveau.

Aujourd'hui que vous n'êtes plus, je vous dédie ce modeste travail en guise du profond respect et de la sympathie que je vous dois, mais surtout en remerciement pour tous les nombreux sacrifices consentis à mon égard.

Puisse Dieu garder votre âme à jamais irrépréhensible.

A la mémoire de mon ami Feu kassim SOW

Brutalement arraché à notre affection, nous regrettons ton absence. Que la terre te soit légère et que ton âme repose en paix.

Aux braves jeunes de Dorobougou (Djenné)

Nous faisons votre fierté aujourd'hui. Nos encouragements

A tous les malades et handicapés de la terre

Puisse la compréhension et la solidarité humaine, aider à votre guérison pour vous redonner la joie de vivre.

REMERCIEMENTS

A mes grandes soeurs: Aminata TANGARA - Aïssata TANAGARA - Fatoumata TANGARA

Vous avez toujours manifesté un intérêt particulier à la réussite de mes études. Vos aides et vos conseils ne m'ont jamais fait défaut. " L'attente familiale est à la base de tout bien être"

Toute mon affection et ma reconnaissance.

A mes petites soeurs et petits frères: Hawa TANGARA - Fanta TANGARA - Fousseni TANGARA - Yacouba TANGARA - Ousmane TANGARA - Abdramane TANGARA - Soumaïla TANGARA

Votre affection ne m'a jamais fait défaut, que le sentiment fraternel qui nous lie se réserve d'avantage. Je vous souhaite un avenir brillant.

A mes nièces et neveux.

En espérant que vous ferez mieux, je vous embrasse très fort.

A mes cousines et cousins : Korotoumou TANGARA - Baky TANGARA - Baye TANGARA.

Toute ma reconnaissance

A mes belles soeurs et beaux frères

Une grande affection et toute ma gratitude.

A mes tantes et oncles Bâ Maté COULIBALY - Bâ Tenenba TANGARA - Manny KONE - Bréhima TANGARA (in memorium) - Abou COULIBALY...

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

A mes grand-mères : Nahan - Kadia Maro

Que Dieu vous prête longue vie afin que nous puissions jouir de votre présence

A Mrs Amadou COULIBALY - Almany Soucka CISSE - Boureima TANGARA- Abdoulaye COULIBALY - Djimé TRAORE - Nouhoum SANGARE - Namory KEITA - Sory KOITA.

Vous m'avez apporté votre aide pendant les durs moments du parcours de mes études. Puisse ce travail être pour vous un signe de reconnaissance et de satisfaction légitime

A mon tuteur Mamadi COULIBALY, son épouse Diarra DRAME et leurs enfants.

Venu seul à Bamako, vous avez rempli envers moi, non seulement un devoir de beau frère, mais aussi celui d'une véritable famille.

J'ai reçu auprès de vous accueil, aides, encouragements pendant cette dure période qu'est la vie estudiantine. Jusqu'au bout vous m'avez suivi, ne ménageant ni votre force, ni votre temps, ni votre amour. Ce qui m'a beaucoup réconforté.

En espérant que **Boubacar Sidiki (Vieux) - Seydou et Samba COULIBALY**, feront mieux, recevez en témoignage de mon affection filiale et respectueuse, ce modeste travail que votre sacrifice m'a permis de réaliser. Pour cette compréhension, soyez à jamais remerciés.

A monsieur Bocary SIDIBE, son épouse Oumou SIDIBE et leurs enfants.

En témoignage de ma vive reconnaissance pour votre confiance, votre estime et votre gentillesse

A Korotoumou - Mariam et Yâ DRAME, Dramane - Yacaria et Moussa COULIBALY, Amadou GASSAMBE, Modibo DIALLO

En souvenir des moments d'allégresse et de détresse vécus ensemble en famille

A Mlles Djénèba DIAKITE - Elisabeth TRAORE et Hassanatou TEMBELY - Mrs Youssouf TAWATY - Ibrahim HAIDARA et Idrissa DIARRA

Pour les immenses services rendus et le soutien moral au cours de l'élaboration de ce document. J'accorde la plus haute importance aux liens qui nous unissent.

Aux Docteurs : Drissa DIALLO - Ené ARANA - Soumana FOFANA - Benoît KOUMARE - Mantala SANGARE - Ibrahim TOURE.

Nous sommes très reconnaissant pour les conseils et les encouragements que vous nous avez dispensés.

Au D^r Namory TRAORE (In memoriam) et tout le personnel de l'officine Achkbad.

Toute ma gratitude.

Au D^r Seydou TRAORE et tout le personnel de l'officine Touba notamment Salim GUINDO - Abdoulaye SANGARE - Oumar TOURE - Bréhina TRAORE

Votre disponibilité et votre soutien ne m'ont jamais fait défaut. Soyez assurés de ma profonde reconnaissance

A Mrs BAGAYOGO - SIDIBE - TRAORE du laboratoire de Biologie de l'E.N.M.P. et tout le personnel de l'infirmerie de l'Armée de terre de Sévaré

Nous vous remercions d'avoir guidé nos premiers pas aux techniques de laboratoire et en soins infirmiers

A Mrs Fagnan SANOGO - Kassim COULIBALY - Niaraga DIARRA - Madou KEITA - Djan COULIBALY et Mlle Seynabou TRAORE et tout le personnel de la D.M.T.

Votre accueil chaleureux et votre ardeur au travail ont forcé notre admiration. Nos encouragements.

A tous mes amis(es)

Que je ne peux citer de peur d'en oublier mais, qui j'en suis sûr, sauront s'y reconnaître.
" L'amitié s'acquiert et se cultive "

A mes camarades de promotion

Mme Awa DEMBELE - Mme Aminata SINGARE - Aïcha GUINDO - Mme Mariétou N. DIARRA - Mme Oumou N'DIAYE - Rosine N'JOE - Massa Bakary KEITA - Yacouba KEITA - Yacouba DIOURTE -Oumar Labass KEITA - Drissa BAGAYOGO -Elbadawi MOHAMED FAKIII - Guy EMMANUEL - Guy WILLIAM.Salomon KONE - Abdoulaye DEMBELE - Jean PHILLIPE - Madou COULIBALY - Sanibé TRAORE - Georges KAMATE - Kouana DENA - Amadou COULIBALY.

En souvenir des moments de joie et de peine vécus ensemble sur le long chemin des études en Pharmacie.

A mes maîtres et collaborateurs

Vos encouragements et votre affection ont été et resteront mes meilleurs soutiens. Trouvez en ce travail ma grande reconnaissance.

A tous ceux qui luttent pour soulager les souffrances humaines.

Votre acharnement est à la mesure de votre générosité; que la volonté divine et populaire vous paye le prix de votre abnégation. Mais nous savons que le travail bien fait est déjà une récompense pour l'âme de son auteur.

A Fatoumata TRAORE dite " Fifi "

Tu es pour moi un véritable trésor. Ton amour, ta fidélité, ton soutien moral, ta présence constante et ton éternel attachement ont été le meilleur réconfort pendant les moments difficiles. Tu les as comblé par l'effort admirable que tu as fourni pour rendre ce travail acceptable.

Très chère, sois rassurée de mon amour indéfectible et de mon éternelle reconnaissance.

**Au Bureau d'Etude et de Services Informatiques de Quinzambougou
notamment Mlle Kady DEMBELE - Mrs Siné TRAORE - Kalilou TIGANA -
Souleymane TIGANA (Vieux) et Waly Badji SISSOKO**

Pour le travail fastidieux de traitement Informatique qu'ils ont si bien exécuté.

A tous ceux qui n'ont pas été cités dans ce travail.

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

A NOTRE JURY

A notre président de jury Professeur Bréhima KOUMARE

Agrégé en Microbiologie
Chargé de cours de Bactériologie à l'E.N.M.P.
Chef de service de Bactériologie de l'I.N.R.S.P.

Permettez-nous de vous remercier très sincèrement du grand honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de ce jury de thèse, malgré vos multiples occupations. Le choix porté sur vous est motivé par deux raisons: l'une sentimentale, l'autre professionnelle.

La raison sentimentale est bien simple, car vous êtes de ces professeurs qui marqueront toujours toute une génération d'étudiants, par le sens du discours clair, cohérent et adapté à une vision pratique des choses. Votre bonté et votre éloquence du verbe ont attiré la sympathie et l'admiration de tous les étudiants. Les amphithéâtres de l'Ecole, résonneront encore longtemps de vos cours de Bactériologie dispensés avec amour, abnégation et efficacité, nous nous réjouissons de compter parmi les bénéficiaires de ces cours.

La raison professionnelle est surtout motivée par votre lutte constante pour l'amélioration de la qualité de la formation et des conditions de travail du laboratoire de Microbiologie.

Cher maître, vos éminentes qualités scientifiques et humaines, vos prises de position franches et courageuses vous valent le respect de votre entourage.

Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre profonde estime, et que Dieu vous garde longtemps parmi nous

A notre maître et juge Professeur Boubacar Sidiki CISSE

Agrégé en Toxicologie
Chargé de cours de Toxicologie à l'E.N.M.P.
Chef de service de Toxicologie-Bromatologie de l'I.N.R.S.P.
Premier Assesseur de l'E.N.M.P.
Chef de la mission universitaire au Mali

Nous avons toujours admiré le grand pharmacien et grand maître que vous êtes. Votre souci du travail bien fait n'a d'égal que vos qualités humaines et scientifiques remarquables. Votre disponibilité et votre souci constant pour la qualité de notre formation, et votre lutte pour la cause des études et de la profession pharmaceutique au Mali forcent notre admiration.

Par ailleurs, nous nous réjouissons d'avoir bénéficié durant deux ans, de vos cours de Toxicologie que vous avez toujours dispensés avec clarté et bienveillance. Nous garderons toujours de vous l'image du maître généreux, soucieux de la bonne formation de ses élèves. Votre goût de la discipline et votre esprit ouvert constituent le meilleur gage de notre Ecole.

Nous vous en sommes très reconnaissant et nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de participer à ce jury de thèse.

A notre maître et juge Docteur Ousmane DOUMBIA

Maître assistant chargé des cours de pharmacie chimique à l'E.N.M.P.
Chef de DER des sciences pharmaceutiques à l'E.N.M.P
Directeur du laboratoire National de la santé

Nous voudrions vous dire combien vos multiples qualités humaines et professionnelles ont charmé notre vie d'étudiant.

Nous garderons pendant longtemps le meilleur souvenir de votre enseignement très riche d'expérience, fait de rigueur et de doigté, votre modestie et votre honnêteté doublées d'une grande compétence.

La clarté de votre raisonnement et votre capacité de travail alliées à une personnalité attachante, resteront pour nous un exemple.

Vous nous avez honoré en acceptant de rehausser de votre présence la soutenance de cette thèse. Qu'il nous soit permis de vous exprimer tout le respect, toute l'admiration et toute la profonde gratitude que nous avons toujours eus pour vous.

A notre Directeur de thèse Professeur Arouna KEITA

Agrégé en Pharmacognosie
Chargé de cours de Matière Médicale à l'E.N.M.P.
Chef de service de la Division Médecine Traditionnelle de l'I.N.R.S.P.

C'est le moment de vous exprimer l'admiration silencieuse que nous portions pour vous tout le long de notre stage, aussi bien dans le laboratoire que pendant les cours magistraux.

Nous vous remercions de nous avoir accueilli avec autant de bienveillance et de sympathie dans votre service, pour nous faire part du fruit de votre expérience si enrichissante.

Vos éminentes qualités humaines et scientifiques, votre persévérance, votre dévouement et votre haute compétence resteront pour nous un souvenir inoubliable.

Nous avons été fascinés par les horizons luxuriants de votre savoir et de votre culture. Votre lutte pour la revalorisation de la Médecine Traditionnelle a forcé notre admiration. Nous vous encourageons et suivrons vos pas dans cette tâche.

Vous avez toujours été pour nous un modèle par votre probité intellectuelle, un aîné par vos conseils et aides pendant les moments difficiles, un maître par votre sens aigu du travail bien fait et votre amour pour la recherche.

Au delà de notre sincère respect, nous vous prions de trouver ici, l'expression de notre grande estime et de notre profonde gratitude.

LISTE DES ABREVIATIONS

Appl	=	Application
Ca	=	Calcium
ccm	=	Chromatographie sur couche mince
Cf	=	Confère
CHCl ₃	=	Chloroforme
cm	=	Centimètre
C ₆ H ₆	=	Benzène
Dec. aq	=	Décocté aqueux
D.M.T.	=	Division Médecine Traditionnelle
D.O.	=	Densité optique
E.N.M.P	=	Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie
g	=	Gramme
Hcl	=	Acide chlorhydrique
H ₂ SO ₄	=	Acide sulfurique
I.N.R.S.P	=	Institut National de Recherche en Santé Publique
Kg	=	Kilogramme
Km	=	Kilomètre
KOH	=	Potasse alcoolique
m	=	Mètre
Mac.aq	=	Macéré aqueux
max	=	Maximum
mg	=	Milligramme
ml	=	Millilitre
mm	=	Millimètre
mn	=	Minute
M.T	=	Masse totale
nm	=	Nanomètre
°C	=	Dégré Celsius
%	=	Pour cent
Pdre	=	Poudre
Pmde	=	Pommade
qsp	=	Quantité suffisante pour
Ram	=	Rameaux
Rf	=	Rapport frontal
ul	=	Microlitre
uv	=	Ultra violet
v	=	Volume

SOMMAIRE

INTRODUCTION	2
MOTIVATION DE LA RECHERCHE	5
PREMIERE PARTIE	
TRAVAUX ANTERIEURS	6
A - Etude botanique	7
I . Synonymies	7
II . Noms vernaculaires	7
III . Place dans la systématique	7
IV . Description de la plante	9
V . Habitat	13
VI . Contrôle de qualité de la matière première	14
1. Description	14
1.1. Caractères organoleptiques	14
1.2. Caractères macroscopiques	14
1.3. Caractères microscopiques	14
2. Réaction d'identité	16
3. Chromatographie	16
B - Chimie	18
C - Pharmacologie	26
DEUXIEME PARTIE	
UTILISATION EN MEDECINE TRADITIONNELLE	28
I. L'appareil cardio vasculaire	28
Hypertension artérielle	28
II. L'appareil digestif	28
1. Coliques	28
2. Etats nauséeux	28

III. L'appareil génito-urinaire	28
1. Gonococcie :	28
2. Syphilis :	28
IV. L'appareil locomoteur et le système nerveux	29
1. Arthralgies :	29
2. Névralgies :	29
V. L'appareil respiratoire :	29
Toux :	29
VI. Maladies infectieuses :	29
Lèpre :	29
VII. La peau et les phanères :	29
1. Eczéma :	29
2. Eczéma suintant :	30
3. Dermites banales :	31
4. Gâle et Herpès :	31
5. Vitiligo :	31
VIII. Indications particulières	32

TROISIEME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS	34
Recherches phytochimiques	35
Matériel d'étude	35
- Récolte de la matière première	35
- Séchage et Pulvérisation	35
I- Techniques générales d'étude	36
1. Extraction	36
2. Séparation	37
2.1. Chromatographie sur colonne	37
2.2. Chromatographie sur couche mince :	39

3. Purification :	41
Chromatographie préparative sur plaque	44
4. Identification	44
II. Caractéristiques physico-chimiques	45
1. Détermination du pH	45
2. Détermination de la teneur en eau	45
2.1. Méthode gravimétrique	45
2.2. Méthode volumétrique	46
3. Détermination de la teneur en cendres	49
3.1. Cendres totales	49
3.2. Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique	49
3.3. Cendres sulfuriques	50
4. Essais Chimiques préliminaires	51
5. Résultats	52
5.1. pH	52
5.2. Teneur en eau	52
5.3. Teneur en cendres	54
5.4. Mise en évidence des principales classes chimiques	56
6. Contrôle de passage du pigment anthracénique dans le décocté aqueux	58
6.1. Décoction aqueuse	58
6.2. Extraction liquide-liquide	58
6.3. Chromatographie sur couche mince de contrôle	58
6.4. Conclusion :	
III. Extraction	60
IV. chromatographie sur couche mince de contrôle	64

V. Etude des fractions	66
1. Etude de la fraction F	66
1.1. Séparation des composés	66
1.1.1. Chromatographie sur colonne	66
1.1.2. Chromatographie sur couche mince de contrôle	68
1.2. Purification des composés	73
1.2.1. Purification (fraction F ₁)	73
1.2.2. Purification (fraction F ₂)	73
2. Etude de la fraction G	76
2.1. Chromatographie préparative sur plaques	76
2.2. Colonne	76
3. Etude de la fraction H	80
3.1. Séparation des composés	80
3.1.1. Chromatographie sur colonne	80
3.1.2. Chromatographie sur couche mince	82
3.2. Purification des composés	87
3.2.1. Chromatographie préparative sur plaques	87
3.2.2. Colonne	87
VI. Identification des composés	92
COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS	95
CONCLUSION GENERALE	98
BIBLIOGRAPHIE	100

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Psorospermum guineense Hochr est une Hypericaceae africaine. Elle est réputée au Mali dans le traitement traditionnel des dermatoses en général et des eczémas en particulier.

Ce sont les racines qui sont fréquemment utilisées. Sur le terrain, nous avons constaté que leur obtention est difficile et correspond à la destruction de la plante. Il a été donc nécessaire pour nous de chercher à connaître l'écologie de la plante en vue de sa préservation dans le cas d'une utilisation intensive.

Psorospermum guineense a été peu étudiée. Cependant, une espèce voisine, Psorospermum febrifugum a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques. Les travaux effectués ont montré la présence de nombreux composés chimiques tels les anthracéniques, les xanthones et les xantholignanes.

Il nous est apparu important de nous intéresser à l'étude phytochimique de Psorospermum guineense Hochr qui en principe devrait contenir des composés voisins à ceux de l'espèce febrifugum. En effet, l'élargissement de la connaissance des molécules chez Psorospermum guineense Hochr et la possibilité d'identifier de nouvelles structures présentent un enrichissement scientifique à plusieurs titres. Enrichissement qui peut se concrétiser en premier lieu par l'apport de données chimiotaxinomiques. D'autres part, l'intérêt pharmacologique des molécules isolées ne peut être oublié.

Des propriétés spécifiques sont déjà connues comme, par exemple, la propriété laxative et purgative selon les doses des anthracéniques dont on commence à connaître également les effets en pathologie cutanée. En effet, les laboratoires :

- Valdafrique de Rufisque commercialisent une pommade à 1% de Dioxyanthraquinol (D.O.A.) pour traiter les eczémas secs.
- A. Bailly. Speab commercialisent une pommade à 0,35% de Dithranol ou Dianthranol pour le traitement des parakératoses.
- Gal Derma commercialisent des pommades à 0,3%, 1 % et 3% de Dithranol (Dithrasis) pour traiter le psoriasis en plaques du corps et du cuir chevelu.

Toutes ces pommades ont pour principe actif des anthracéniques à activité réductrice. De plus ces pommades sont indiquées dans le traitement des pathologies cutanées de guérison difficile que sont : les parakératoses, les dermatoses sèches et squameuses (eczémas secs).

Les quelques données bibliographiques qui existent sur Psorospermum guineense Hochr révèlent la présence dans les racines d'un pigment rouge de nature anthraquinonique, doué de toxicité rénale chez la souris blanche. Cette donnée nous a incité à faire des essais de passage de ce pigment dans le décocté aqueux, forme pharmaceutique la plus utilisée en milieu traditionnel.

La première partie de notre travail est consacrée à une présentation botanique de la plante étudiée et à des recherches bibliographiques portant sur la chimie et la pharmacologie.

La deuxième partie rend compte des différents usages en Médecine Traditionnelle.

Dans la troisième partie, nous abordons nos travaux personnels en présentant les différentes étapes de notre étude phytochimique.

**MOTIVATION
DE LA RECHERCHE**

MOTIVATION DE LA RECHERCHE

Cette modeste contribution à une mise en valeur de la pharmacopée traditionnelle répond surtout à un souci, celui de :

- mieux connaître la pharmacopée traditionnelle de notre pays afin de communiquer plus intimement avec nos tradipraticiens de santé.
- renseigner utilement le médecin sur la nature des médicaments que l'indigène malade a probablement utilisé avant de se présenter au dispensaire ou à l'hôpital
- venir en aide au praticien qui ne dispose pas toujours des produits pharmaceutiques manufacturés importés.
- donner à la pharmacopée traditionnelle nationale un caractère scientifique et pratique.
- encourager d'autres fils de ce pays à se livrer à des recherches afin de promouvoir une politique de production locale de médicaments et d'exploitation de la pharmacopée traditionnelle essentiellement fondée sur la phytothérapie, véritable trésor de la race noire qu'il faut conserver et faire fructifier par tous les moyens disponibles.

PREMIERE PARTIE
TRAVAUX ANTERIEURS

A - ETUDE BOTANIQUE

Dans cette rubrique nous avons présenté les synonymies de genre et d'espèce de *Prorospermum guineense* Hochr et les différents noms utilisés pour désigner la plante au Mali, la place dans la systématique, la description botanique et l'habitat. Nous terminons par la description de la partie de la plante utilisée au Mali comme médicament des eczémas. Nous devons en partie cette description à I. DIARRA (22).

I. Synonymies

Pour G. Penso, *Psorospermum guineense* décrit par Hochr est identique à *Psorospermum senegalensis* décrit par Spach. Cet auteur identifie également l'espèce au *Vismia guineensis* décrit par Guill et Perr.

1 Synonymie de genre

Psorospermum guineense Hochr = *Vismia Guineensis* Guill et Perr

2 Synonymie d'espèce

Psorospermum guineense Hochr = *Psorospermum senegalensis* Spach

II. Noms vernaculaires

Des enquêtes effectuées auprès des tradipraticiens de santé nous ont permis de savoir que, pour une même ethnie, le nom vernaculaire varie peu. Nous avons retenu les appellations suivantes :

Bambara : Karidjakuma, Dura sungalani, Makara kumkoyoté

Malinké : Kiti dankuma, Kato dakuma

Peulh : Koti dankuma, Kotidakuma

III. Place dans la systématique (27)

Règne	Végétal
Sous-règne	Eucaryotes
Groupe	Eucaryotes chlorophylliens
Sous-groupe	Embryophytes vasculaires

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales
Série	Thalamiflores
Sous-série	Meristémones
Ordre	Guttiférales ou Hypéricales
Famille	Hypéricacées
Genre	Psorospermum
Espèce	Guineense

IV. Description de la plante

Psorospermum guineense Hochr est un arbuste buissonnant de 2 à 5 m de hauteur. Les écorces, beige rougeâtre, se desquamant par petites plaques. Les feuilles sont opposées, parfois verticillées par 3 ou subopposées. (33)

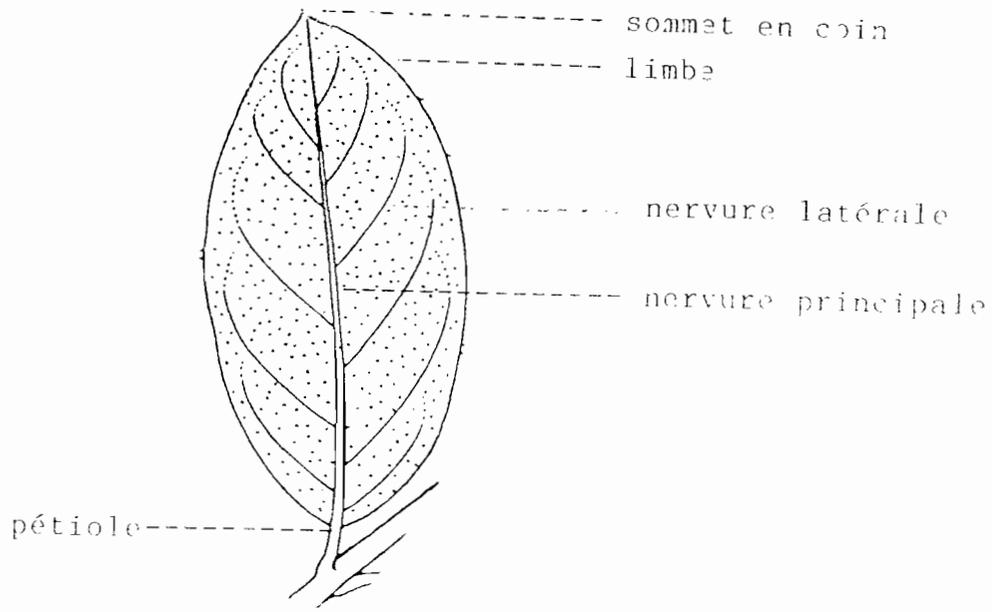
PHOTO N°1 : Psorospermum guineense Hochr



Le limbe est elliptique, long de 6 à 12 cm, large de 3 à 6 cm ; sa base est cunéiforme, parfois arrondie ; son sommet est en coin, ou arrondi avec une courte pointe brusque. On observe cinq à six nervures latérales principales. Le limbe est vert foncé sur la face supérieure et devient glabre et tomenteux sur la face inférieure : cette pubescence est souvent saumonée sur la nervure médiane. Le dessous du limbe est criblé de points noirs, visibles quand la pubescence n'est pas trop dense. Dans la pubescence clairsemée, on distingue des poils étoilés.

Le pétiole est long de 6 à 12 mm, à pubescence tomenteuse rousse de même que les jeunes tiges. (33)

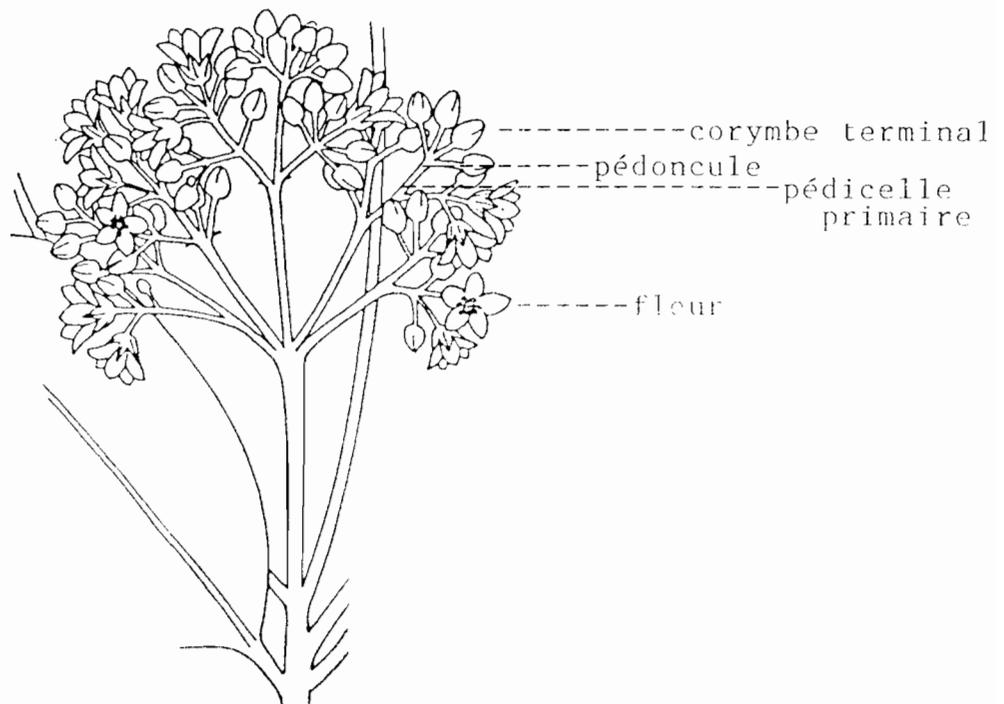
Planche N°1 : Feuille de Psorospermum guineense Hochr



Les fleurs sont en corymbe terminal large de 5 à 10 cm, plutôt courtement pédonculé. Le pédoncule est soit nul soit de 2 à 3 cm. Les pédicelles primaires sont larges de 2 à 5 cm. Les pédicelles secondaires ne dépassent guère 8 à 10 mm, elles portent des fleurs blanches. La corolle est large de 8 à 10 mm, à 5 pétales pubescents dessus; 5 sépales lancéolés, pubescents, long de 3 mm.

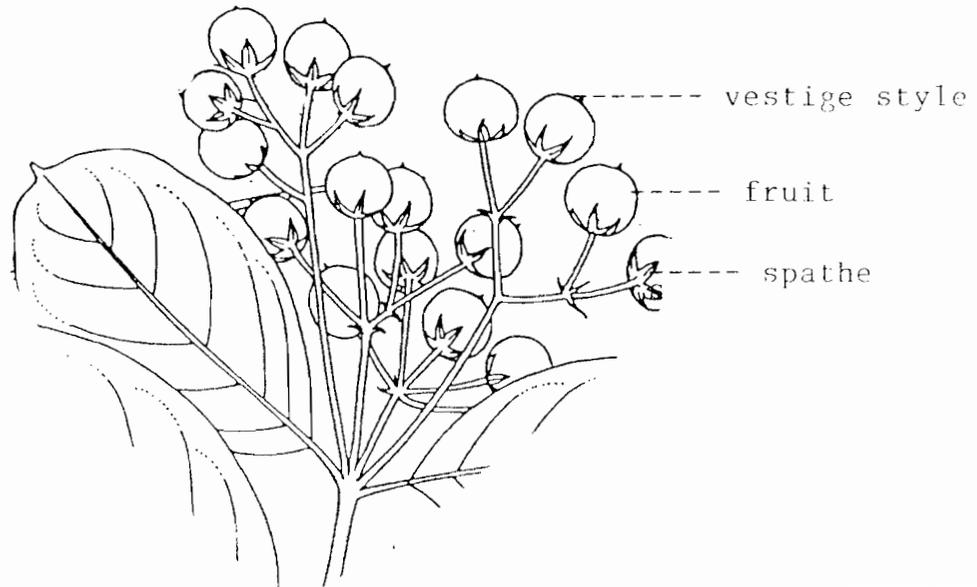
Le style est trapu, haut de 2 mm, à 5 branches de 2 mm munies de stigmates. Les étamines sont par 3 à 6 au sommet des 5 filets dépassant les stigmates. (33)

Planche N°2 : Fleurs de Psorospermum guineense Hochr



Les fruits sont des baies sphériques lisses, larges de 6 à 7 mm, rougeâtres à maturité, avec des spathes persistantes à la base et les vestiges des styles au sommet. (33)

Planche N°3 : Fruits de Psorospermum guineense Hochr



V. Habitat

Psorospermum guineense Hochr est une espèce soudano-guinéenne que l'on rencontre surtout dans les savanes arbustives et boisées et dans les jachères car elle rejette facilement. Elle est répandue du Sénégal au Cameroun. Elle est fréquente de façon dispersée dans le Sud et l'Est du Mali. (22) ; (33)

L'aire géographique de la plante est représentée par la figure N°1

Figure N°1 : Phytogéographie de *Psorospermum guineense* Hochr.

La zone hachurée représente l'aire de répartition géographique de la plante



VI. Contrôle de qualité de la matière première

La drogue est constituée par la racine desséchée de *Psorospermum guineense* Hochr (Hypericaceae). Elle contient plus de 3,5% d'hydroxyanthracéniques.

1. Description

1.1. Caractères organoleptiques

	<u>Racine entière</u>	<u>Poudre de racines</u>
1.1.1. Couleur	brune	brun-jaunâtre
1.1.2. Odeur	faible	faible
1.1.3. Saveur	peu astringente	peu astringente

1.2. Caractères macroscopiques

La racine desséchée présente des écorces fissurées, coriaces, de couleur brun-rougeâtre avec des traces d'une résine de couleur rouge. Le bois, jaune rougeâtre, est très dur

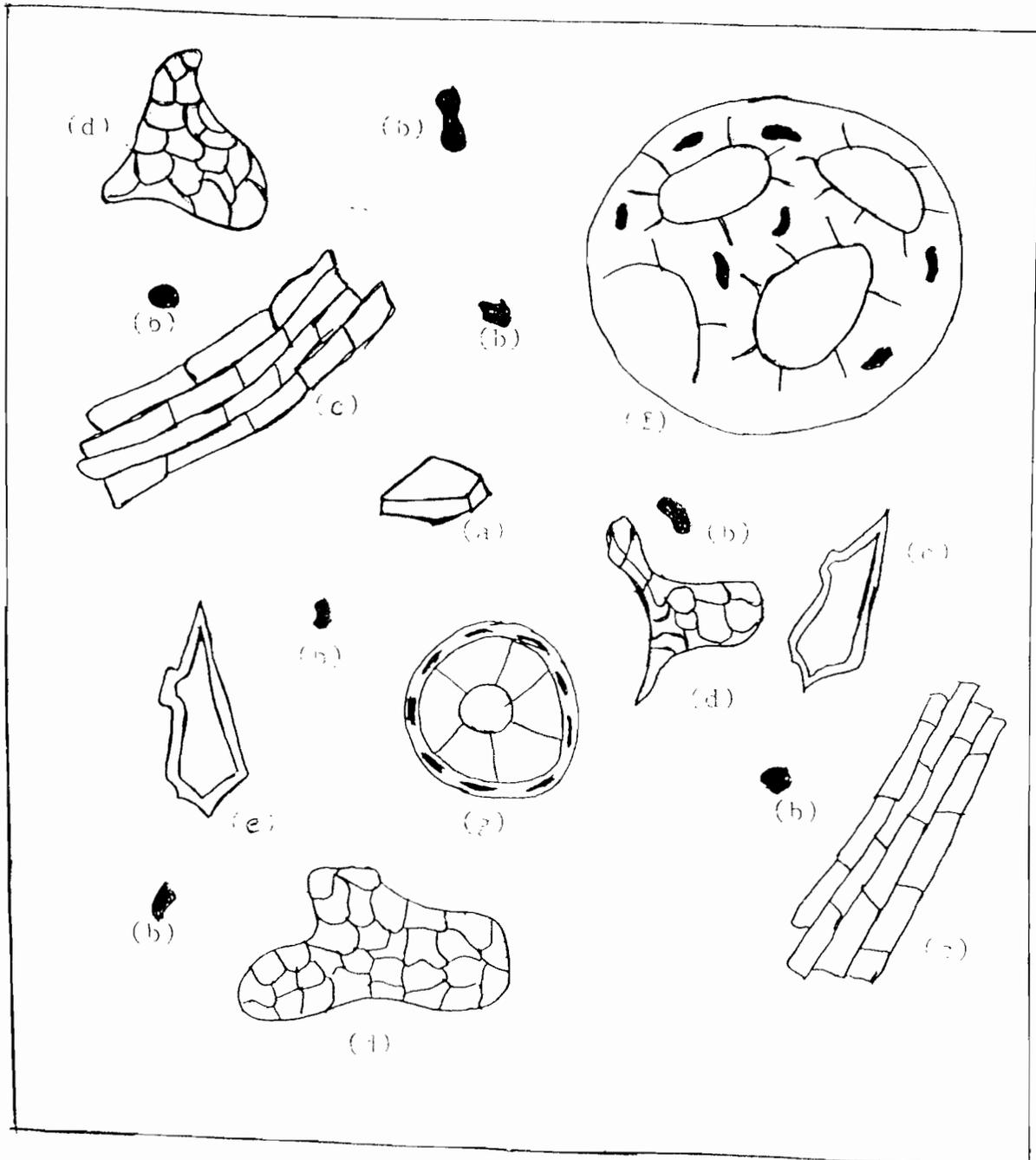
1.3. Caractères microscopiques

L'observation microscopique de la poudre de racines de *Psorospermum guineense* Hochr dans le réactif universel (Réactif de Gazet du Chatelier) montre la présence des éléments suivants:

- cristaux d'oxalate de Calcium (a)
- grains d'amidon (b)
- éléments lignifiés (c)
- fragments d'épiderme (d)
- tissus subérifiés (e)
- ensemble de canaux sécréteurs schizogènes (f)
- canal sécréteur schizogène (g)

Nous avons représenté sur la figure N°2 les éléments caractéristiques de la poudre de racines.

Figure N°2 : Poudre de racines de *Psorospermum guineense* Hochr vue au microscope dans le réactif universel ou réactif de Gazet du Chatelier.



2. Réaction d'identité

Ajouter 10ml de chloroforme à 1g de poudre de racines de Psorospermum guineense Hochr. Agiter la suspension et filtrer sur papier.

Prélever 1 ml de filtrat dans une éprouvette graduée et compléter à 10 ml avec du chloroforme.

A 1 ml de cette solution ajouter 3 gouttes de potasse alcoolique à 10%. La solution chloroformique jaune vire au rouge.

3. Chromatographie

Opérer par chromatographie sur plaque de silice GF 254

Solution à examiner : extrait chloroformique à 1 pour cent de poudre de racines de Psorospermum guineense Hochr (solution 1).

Solution témoin : 5mg de Rhéine dans 10 ml d'éthanol absolu (solution 2).

Déposer 10 ml de chacune des deux solutions et développer sur plaque de silice GF254 sur un parcours de 10 cm.

Le solvant de migration est un mélange Hexane-Acétate-d'Ethyle 70-30/V-V.
La plaque, séchée, est soumise à l'ultra-violet à 254 et 366nm.

Observer pour la solution à examiner une tâche de fluorescence rose de $R_f = 0,95$ et une autre de fluorescence jaune de $R_f = 0,80$ (à 366nm)

A 254nm, on observe une tâche de fluorescence jaune de $R_f = 0,72$.

Pour la solution témoin, on observe une tâche de fluorescence jaune de $R_f = 0,07$ à 254nm seulement.

Pulvériser sur la plaque une solution de potasse alcoolique à 10 pour cent.

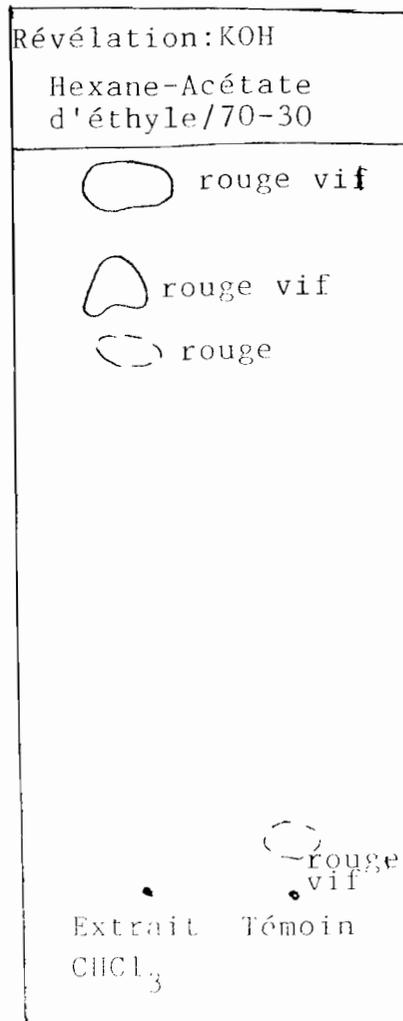
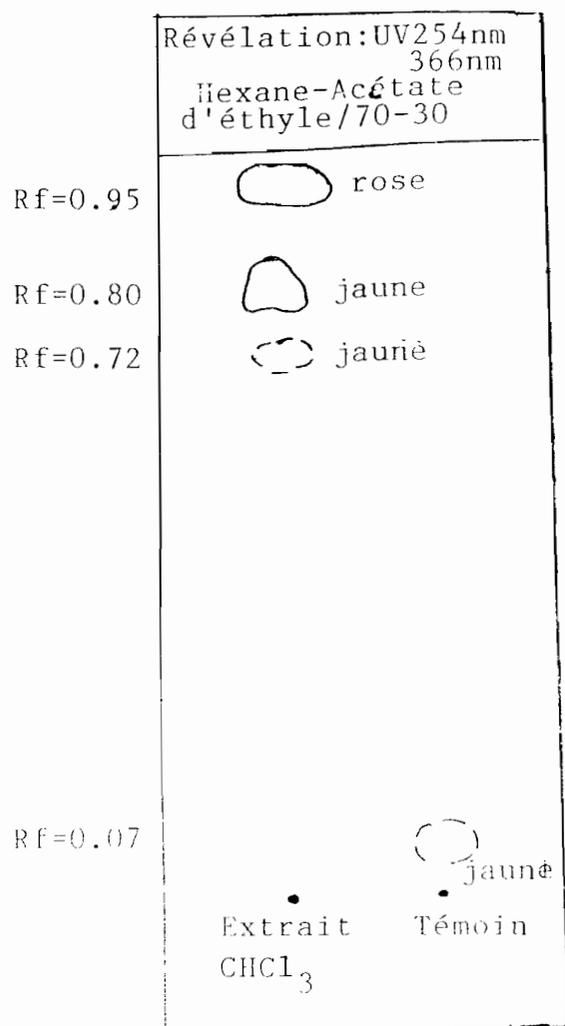
On observe que:

Pour la solution à examiner les tâches jaune et rose (à 366nm) deviennent rouge vif.

Pour la solution témoin, la tâche jaune devient rouge vif.

Nous concluons que les tâches jaune et rose (à 366nm) de la solution à examiner et la tâche jaune du témoin sont anthracéniques.

Ces résultats sont consignés dans les chromatogrammes N°(1) et (2).

Chromatogramme N°1Chromatogramme N°2

Support : Silice GF 254 pour cm

Dépôts : 10 µl de chaque solution

Solvant : Hexane - Acétate d'éthyle/70-30/V-V

Révélateurs : UV 254 nm et 366 nm

Potasse alcoolique à 10%

B - CHIMIE

Les études sur Psorospermum guineense Hochr sont anciennes et peu nombreuses

A notre connaissance, elles ont été réalisées d'abord par M^{elle} Planche à la faculté de pharmacie de l'université de Paris en 1948, puis par I. Diarra à la Division Médecine Traditionnelle de Bamako en 1991.

Les travaux de M^{elle} Planche au cours de sa thèse de Doctorat en pharmacie ont montré que :

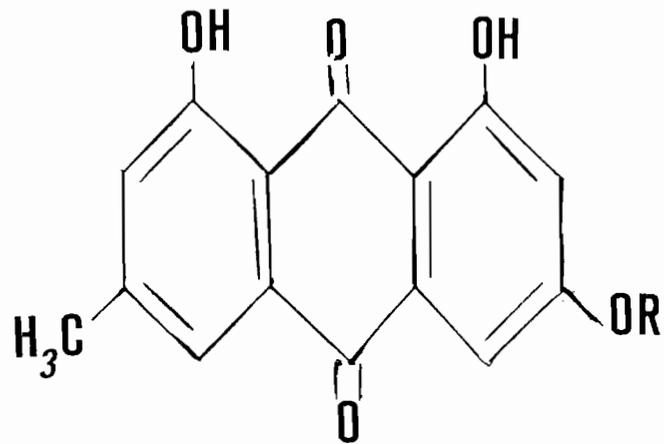
- la racine contient 9,54% de tannins catéchiques et 1,53% d'un pigment rouge de nature anthraquinonique (33) ; (56) ; (57).
- l'écorce contient 1% de sucres reducteurs (33) ; (56) ; (57).

M^{elle} Planche n'a trouvé dans les racines ni de saponosides ni d'alcaloïdes (33) ; (56) ; (57).

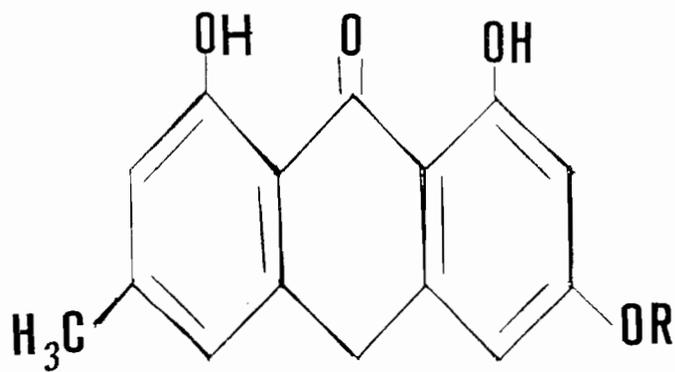
Nous avons présenté dans les tableaux ci-après les principaux composés chimiques isolés et identifiés dans le genre Psorospermum, notamment chez Psorospermum febrifugum. La présence de ces composés chez cette espèce a orienté nos travaux de recherches phytochimiques sur Psorospermum guineense Hochr.

Tableau N°1 Les Anthracéniques

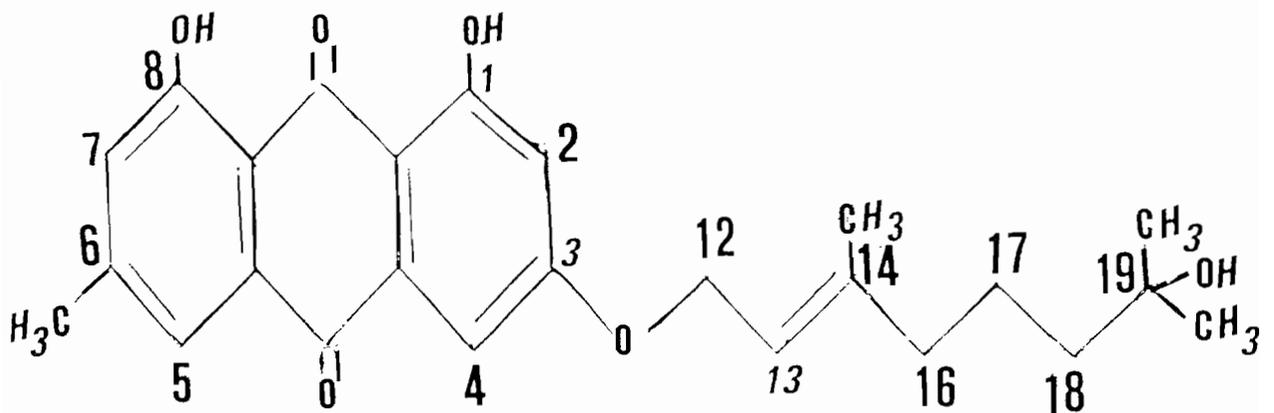
Composés	Références
Acétylvismione D	Botta (1986)
Acide Chrysophanique	Bettolo (1993)
Ferrugine B	Bettolo (1993)
Géranyl oxyémidine	Botta (1993) Bettolo (1993) Marston (1995)
3-géranyleoxy 6 méthyl-1,8 dihydroxyanthrone	Marston (1985)
3-(19-hydroxy-géranyleoxy) -6-méthyl 1-8 dihydroxyanthraquinone	Marston (1985)
2-Isoprényle émidine	Bettolo (1983)
-Selinène B-Selinène	Marston (1986)
Vismione C	Bettolo (1983)
Vismione D	Bettolo (1983) Botta (1985) Marston (1985)
Vismione E	Bettolo (1983)
Vismione F	Marston (1986)



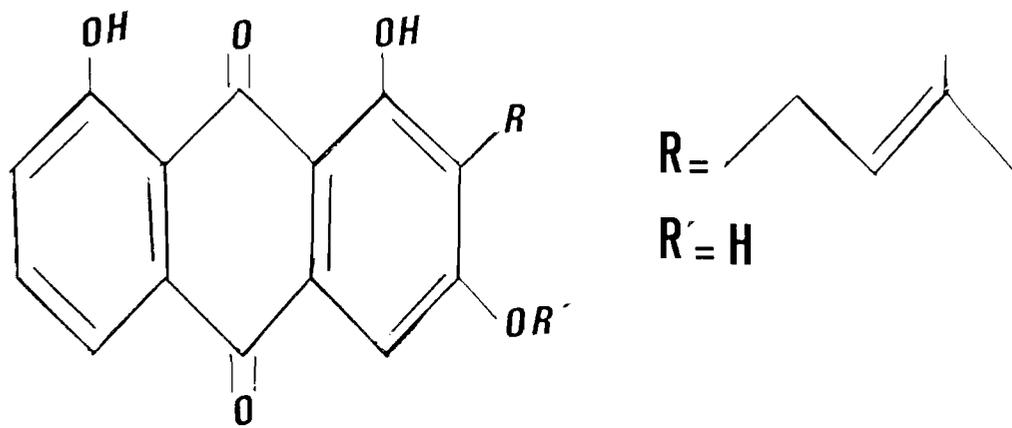
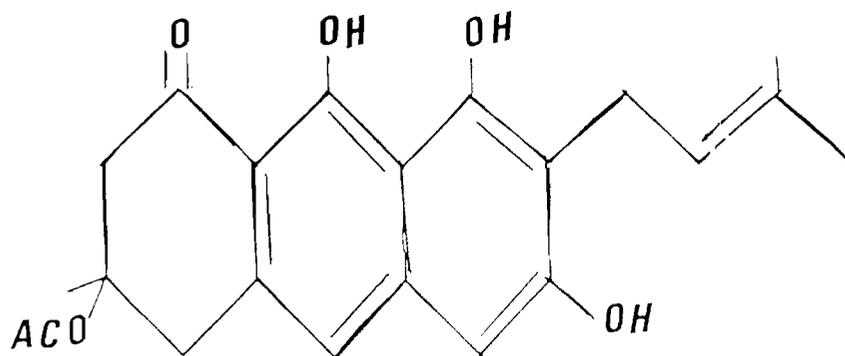
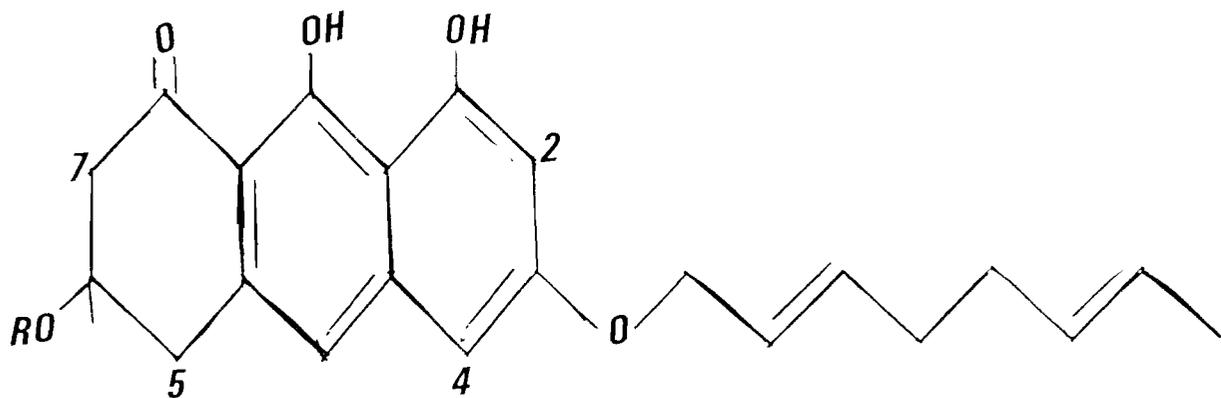
3-Géranioxyémidine



3'Géranioxy-6-Méthyl-1,8-Dihydroxyanthrone



3-(19-Hydroxygéranioxy)-Méthyl-1,8-Dihydroxyanthraquinone

IsoprénylémodineVismione C

$R=H =$ Vismione D

$R=AC =$ Acétylvismione D

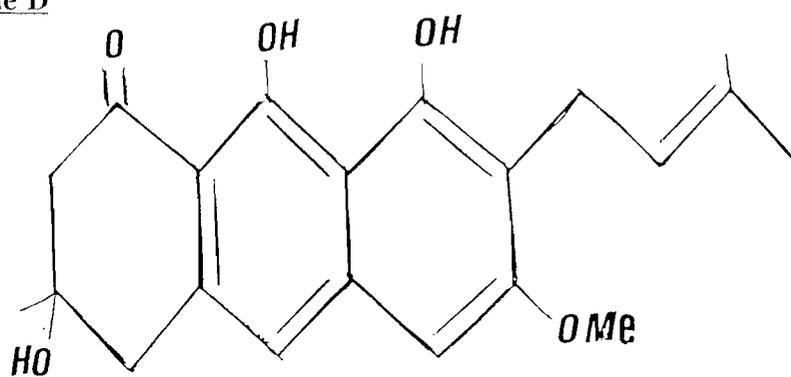
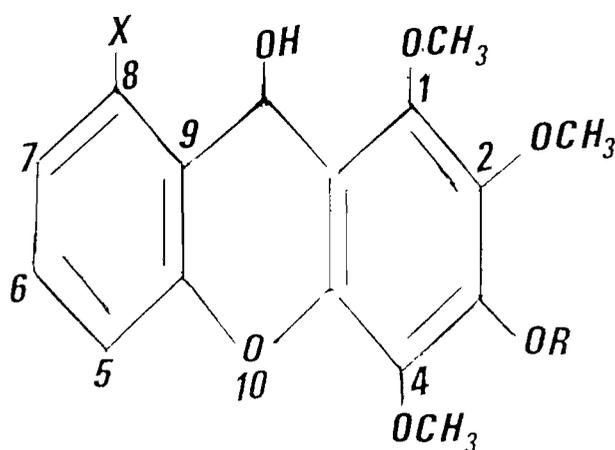
Vismione E

Tableau N°2 : Les Xanthones

Composés	Références
2-méthoxy-3 hydroxyxanthone	Mc cloud (1987)
1,2,3,4, 8 Pentaméthoxyxanthone	Mc cloud (1987)
Psorospermine	Kupchan (1980)
1,2,3,4- Tétraméthoxyxanthone 1,2,4- Triméthoxy-3,8 diacétoxyxanthone 1,2,4- Triméthoxy-3 hydroxyxanthone 1,2,4- Triméthoxy-3 acétoxyxanthone	Mc cloud (1987)

**Tableau N°3**

	R	X
1,2,3,4,8 Pendaméthoxyxanthone	CH ₃	OCH ₃
1,2,3,4 Tétraméthoxyxanthone	CH ₃	H
1,2,4 Triméthoxy-3,8 - diacétoxyxanthone	AC	OAC
1,2,4 triméthoxy-3,8 - dihydroxyxanthone	H	OH
1,2,4 Triméthoxy-3 - hydroxyxanthone	H	H
1,2,4 Triméthoxy-3 - acétoxyxanthone	AC	H

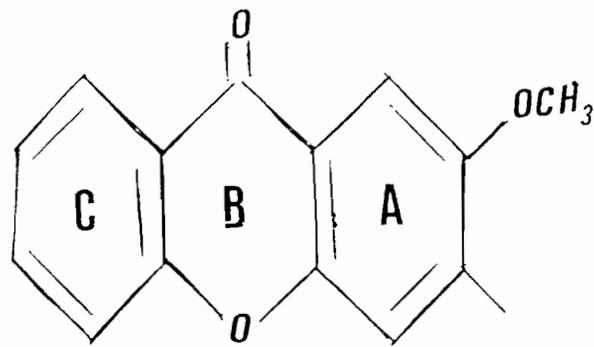
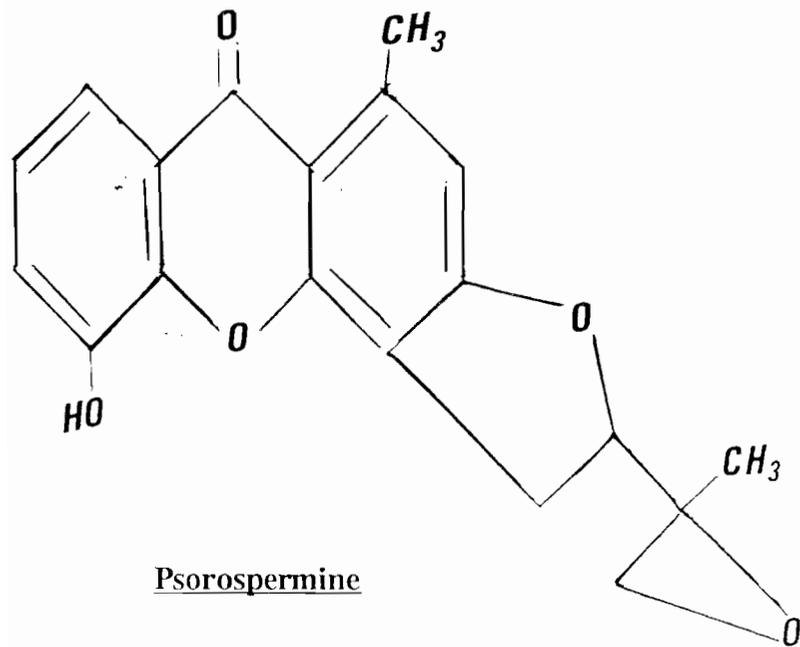


Tableau N°4: Les Xantholignanes

Composés	Références
Cadensine D Cadensine F Cadensine G	Cassady (1989)
6 - Hydroxy-isocadensine	Cassady (1989)
Isocadensine D	Cassady (1989)
Kielcorine	Cassady (1989)

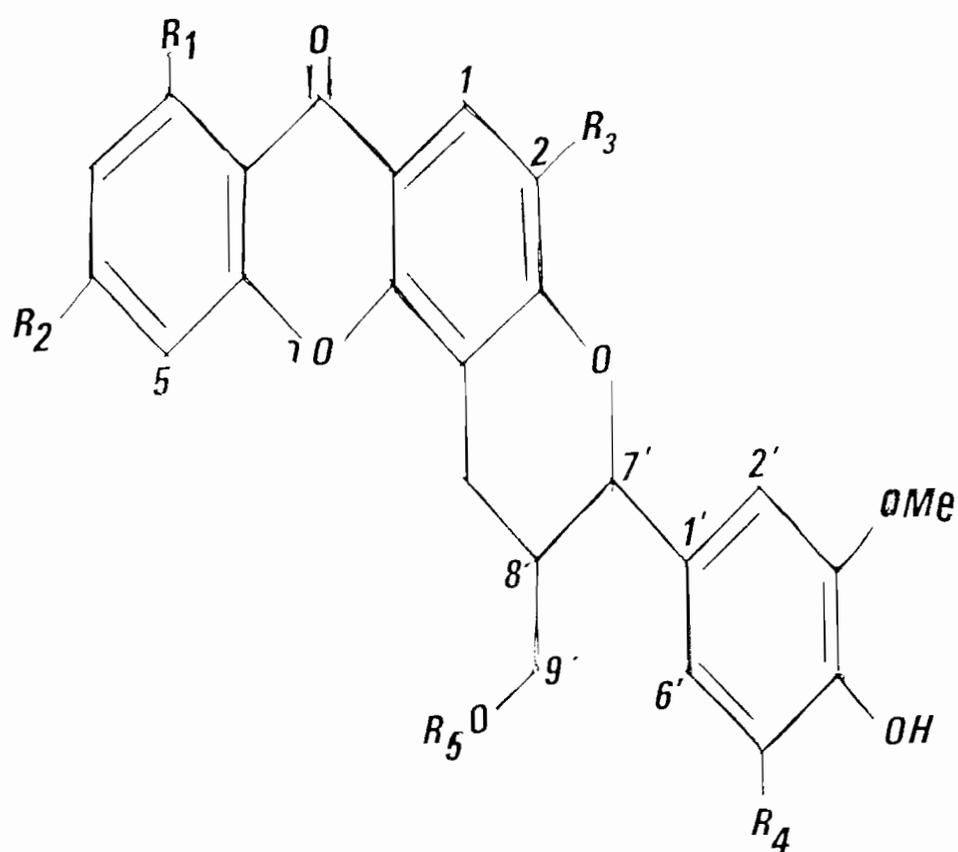


Tableau N°5

	R1	R2	R3	R4	R5
Cadensine D	H	H	OMe	OMe	H
Cadensine F	OMe	H	OMe	OMe	H
Cadensine G	OH	OH	H	OMe	H
6-Hydroxy-isocadensine F	OMe	OH	OMe	OMe	H
Isocadensine D	OMe	H	OMe	H	H
Kielcorine	H	H	OMe	H	H

Les travaux du Dr I. Diarra (33) ont montré que les flavonoïdes, les tannins galliques et les leucoanthocyanes, présents dans les feuilles, sont absents dans les racines.

Les Saponosides, les hétérosides cyanogénétiques et les alcaloïdes sont absents dans les deux organes. Ces résultats confirment ceux de M^{elle} Planche (56),(57)

C - PHARMACOLOGIE

Des essais pharmacologiques effectués sur la souris blanche ont prouvé que le Psorospermum guineense Hochr a une toxicité qui lui est conférée par un pigment rouge de nature anthraquinonique contenu dans l'écorce de racines.

L'action, comparable à celle de l'hypéricine, se manifeste par une hypertrophie rénale avec congestion et par des hémorragies intestinales (33)

DEUXIEME PARTIE
UTILISATION EN MEDECINE
TRADITIONNELLE

UTILISATION EN MEDECINE TRADITIONNELLE

Parmi les Hypericaceae qui existent au Mali, l'espèce Psorospermum guineense Hochr a la plus grande réputation surtout dans le traitement des dermatoses. Ce qui fait qu'elle est beaucoup recherchée et appréciée par les tradithérapeutes.

Des enquêtes effectuées auprès des tradithérapeutes et une recherche bibliographique, nous ont permis :

- de savoir que les différents organes de la plante sont utilisés soit seuls, soit en association avec d'autres matières végétales, animales ou minérales
- de répertorier les différents usages de Psorospermum guineense Hochr par grand appareil.

I. L'appareil cardio vasculaire

Hypertension artérielle

Les tiges feuillées de Psorospermum guineense Hochr ont des propriétés diurétiques (9).

Une décoction aqueuse est faite avec les tiges feuillées et le décocté est donné en boisson au malade

II. L'appareil digestif

1. Coliques

Les racines sont pulvérisées et la poudre obtenue est donnée au malade per os à la dose d'une cuillerée à café, trois fois par jour (33)

2. Etats nauséux

Une décoction aqueuse est faite avec les feuilles. Le décocté est donné en boisson au malade (9).

III. L'appareil génito-urinaire :

1. Gonococcie :

L'écorce et les racines semblent être les plus efficaces dans le traitement de cette maladie. Le décocté aqueux d'écorce ou des racines est prescrit en bain et boisson (9) : (33)

2. Syphilis : même traitement que pour la gonococcie (cf gonococcie)

IV. L'appareil locomoteur et le système nerveux

1. Arthralgies :

Les organes de la plante utilisés sont les feuilles, les écorces ou les racines.

Une décoction aqueuse est réalisée avec ces différentes parties et le malade prend le décocté en bain et boisson (33).

2. Névralgies :

Les feuilles, les écorces et les racines sont efficaces contre les névralgies.

Une décoction aqueuse est faite avec ces différents organes et le décocté est donné au malade per os (9).

V. L'appareil respiratoire :

Toux :

Une décoction aqueuse est réalisée avec les feuilles et le malade prend le décocté per os à raison d'une cuillerée à soupe trois fois par jour (9).

VI. Maladies infectieuses :

Lèpre :

Avec les feuilles, on réalise une décoction aqueuse et le malade prend le décocté per os (9) ; (33)

Avec les racines, on fait une macération aqueuse et le macéré est utilisé en bain corporel par le patient (9) ; (33)

VII. La peau et les phanères :

1. Eczéma :

a). Les racines ou les rameaux feuillés de Psorospermum guineense Hochr sont les plus utilisés (22)

Les racines sont débarrassées de leurs couches superficielles, séchées puis pulvérisées

Les rameaux feuillés sont regroupés en bottes puis séchés.

Faire une décoction avec trois bottes pour les hommes ou quatre pour les femmes.

Préparer une pommade en ajoutant une pincée à cinq doigts de la poudre de racines à quatre ou cinq morceaux de beurre de karité ou tout autre excipient approprié.

Le patient boit une grande louchée du décocté de feuilles. Après s'être lavé avec le décocté, il applique la pommade sur les parties atteintes, deux fois par jour.

b). Les racines ou les rameaux feuillés de Psorospermum guineense Hochr sont associés (22).

- aux écorces de Parkia biglobosa Jacq Benth (Mimosaceae)
- à la plante entière d'Ipomea eriocarpa R.Br (Convolvulaceae)
- à la plante entière de Leptadenia hastata (Pers) Decne (Asclepiadaceae).

Mettre ensemble quelques fragments d'écorces de la première plante, une botte de la deuxième et de la troisième dans un canari. Ajouter de l'eau jusqu'à immersion puis quelques morceaux de beurre de karité. Le mélange est bouilli pendant un bon moment.

Le patient boit le décocté (deux louchées deux fois par jour) et se lave avec, deux fois par jour pendant une à trois semaines.

Interdits durant le traitement :

Le malade ne doit pas manger d'aliments trop gras et trop sucré.

2. Eczéma suintant :

Les rameaux feuillés de Psorospermum guineense Hochr sont associés :

- aux rameaux feuillés de Trichilia roka (Forsk) Chiov (Meliaceae)
- à la plante entière de Cassia nigricans Vahl (Caesalpiniaceae)
- aux rameaux feuillés de Opilia celtidifolia (Guill et Perr) (Opiliaceae)
- aux écorces de tronc de Khaya senegalensis (Desr) A. Juss (Meliaceae)

Réunir ces différents éléments et faire une décoction aqueuse.

Le patient boit une louchée du décocté deux à trois fois par jour, au moment des repas et se lave avec, deux fois par jour.

3. Dermites banales :

L'écorce de tronc et les racines sont les plus utilisées.

Une décoction est réalisée avec ces éléments et le malade prend le décocté en boisson et bain.

Les écorces, brûlées sur des braises, sont très fumigènes ; on soumet parfois le patient (devêtu) à ces fumigations en l'enfermant dans un local adéquat (9) ; (33)

4. Gâle et Herpès :

la décoction de racine et des feuilles donnée en boisson et appliquée en friction, aurait une action antigâleuse et efficace contre l'herpès (9) ; (22) ; (33).

Avec ces différents organes, on peut faire des pommades que le malade appliquera sur les parties atteintes (9) ; (22) ; (33).

5. Vitiligo :

Les parties de la plante utilisées sont : les rameaux feuillés et les racines (22). Les racines sont débarrassées de leurs couches superficielles, séchées puis pulvérisées.

Les rameaux feuillés sont regroupés en bottes puis séchés. Faire une décoction avec trois bottes pour les hommes ou quatre pour les femmes.

Préparer une pommade en ajoutant une pincée à cinq doigts de la poudre de racines à quatre ou cinq morceaux de beurre de karité ou tout autre excipient approprié.

Le patient boit une grande louchée du décocté. Après s'être lavé avec le décocté, il applique la pommade sur les parties affectées, deux fois par jour.

VIII. Indications particulières

Les fumigations des écorces brûlées sur des braises auraient un pouvoir magique de chasse-démons (9) ; (33)

Les feuilles sont signalées pour leurs propriétés eupnéïques, fortifiantes et fébrifuges (9); (33).

L'écorce bouillie donnerait un produit savonneux qui, mélangé avec de l'huile, sert à frotter ou à oindre la peau, ou à mettre sur les plaies des animaux, pour éloigner les mouches (9).

L'écorce bouillie donne aussi une solution que l'on mélange à de la viande, comme piège: ce serait un appât mortel qui < <collerait le ventre de l'hyène> > et la ferait crever (9).

Tableau N°6 :

Appareils	Affections	Parties de la plante utilisées	Formes pharmaceutiques	Mode d'emploi	Références
Cardiovasculaire	H.T.A	Tiges feuillées	Dec . aq	Per os	9
Digestif	Coliques	Racines	Pdre	Per os	33
	Etats nauséux	Feuilles	Dec . aq	Per os	9
Genito-urinaire	Gonococcie	Ecorces Racines	Dec . aq " "	Per os, Bain " "	9 ; 33
	Syphilis	Ecorces Racines	Dec . aq " "	Per os, Bain " "	9 ; 33
locomoteur et système nerveux	Arthralgie	Feuilles Ecorces Racines	Dec . aq " " " "	Per os, Bain " " " "	33
	Nevralgie	Feuilles Ecorces Racines	Dec . aq " " " "	Per os " "	9
Respiratoire	Toux	Feuilles	Dec . aq	Per os	9
Maladies infectieuses	Lèpre	Feuilles Racines	Dec . aq Mac . aq	Per os Bain	9 ; 33
Peau et phanères	Eczéma	Ram-Feuillés Racines	Dec . aq Pmde	Per os, Bain Appl locale	22
	Dermites banales	Ecorces Racines	Dec . aq " "	Per os, Bain " "	9 ; 33
	Gâle, Herpès	Feuilles Racines	Dec . aq, Pmde " "	Per os, Appl locale " "	9 ; 22 ; 33
	Vitiligo	Ram. Feuillés Racines	Dec . aq Pmde	Per os, Bain Appl. locale	22

Légende : Ram = Rameaux ; Dec. aq = Décocté aqueux ; Pdre = Poudre ; Mac. aq = Macéré aqueux ; Pmde = Pommade ; Appl = Application

TROISIEME PARTIE
TRAVAUX PERSONNELS

RECHERCHES PHYTOCHIMIQUES

Matériel d'étude :

Il est constitué par les racines de Psorospermum guineense Hochr. Un échantillon d'herbier est déposé à la Division Médecine Traditionnelle de Bamako et un autre au Centre National de Floristique d'Abidjan (R.C.I)

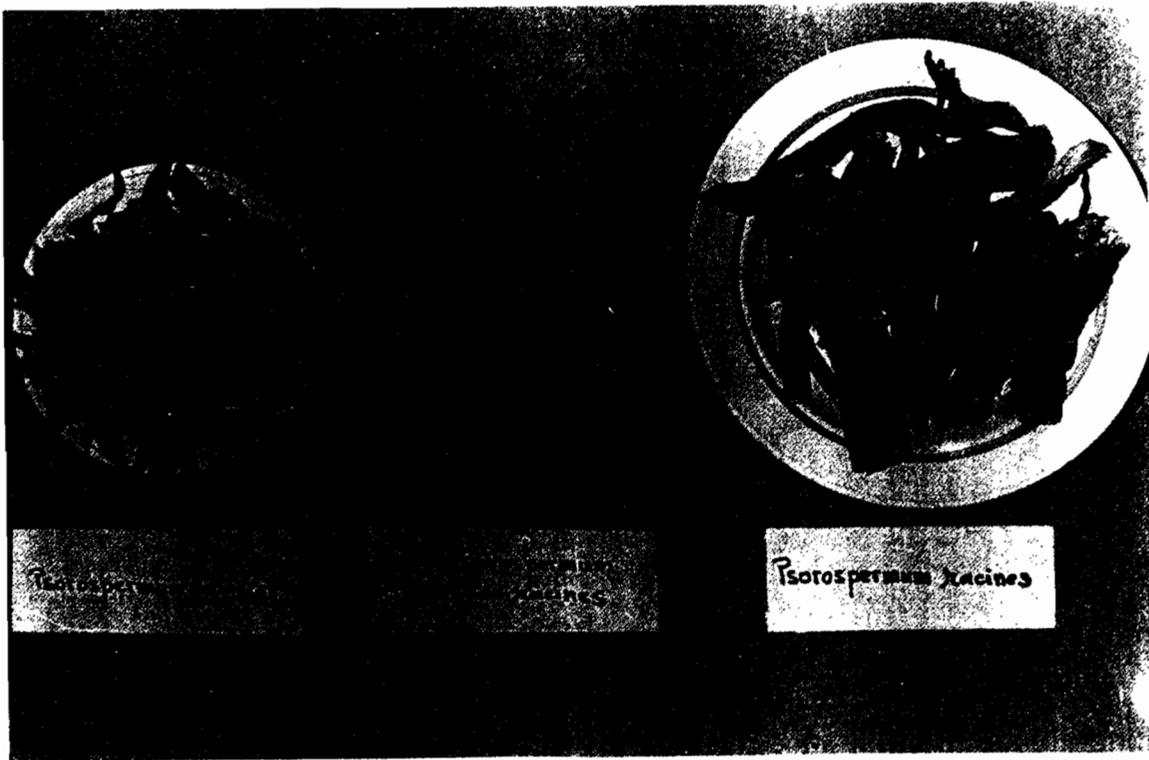
- Récolte de la matière première

La récolte intéresse le système racinaire. Elle a été faite dans la forêt classée de **Tienfala**, village situé à 36km de Bamako. Nous avons récolté les racines entières.

- Séchage et Pulvérisation

Les racines sont d'abord lavées à l'eau très soigneusement, puis fendillées en petits morceaux. Les morceaux obtenus sont étalés sur une claie à l'air libre et à l'ombre pendant une semaine pour le séchage. Les morceaux secs sont pulvérisés au moyen d'un broyeur de type **Forplex**. La poudre obtenue est conditionnée dans un sachet.

Photo N°2 : Feuilles, racines et poudre de racines de Psorospermum guineense Hochr.

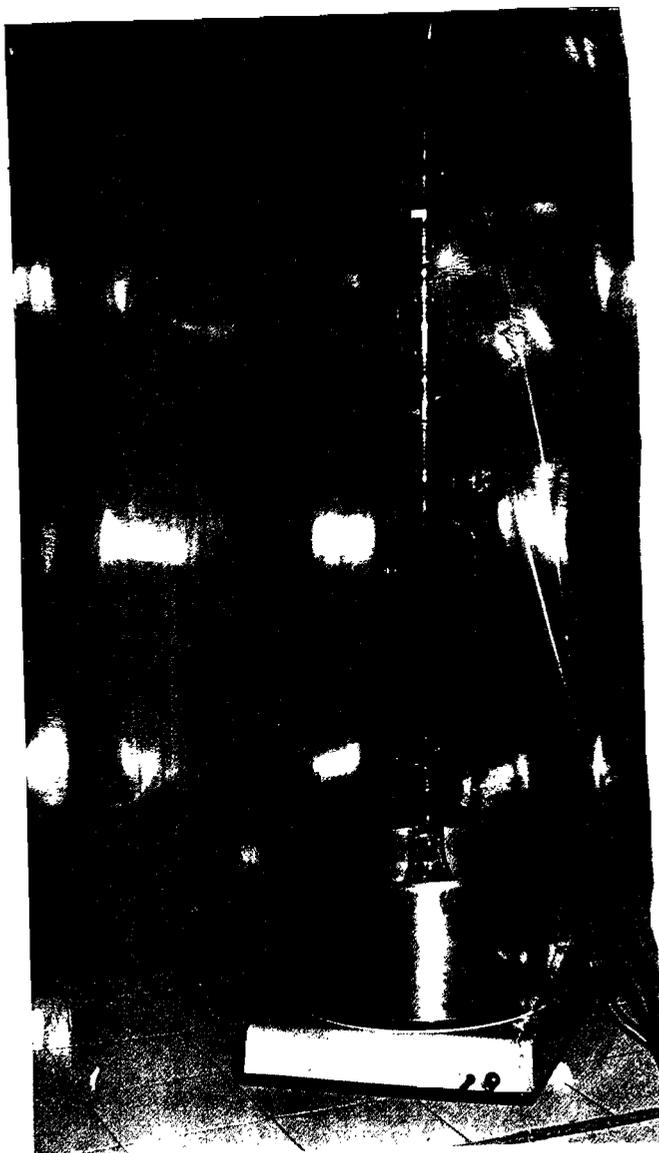


I- TECHNIQUES GENERALES D'ETUDE

1. Extraction :

La technique d'extraction que nous avons utilisée est l'épuisement continu dans un appareil de type **Soxhlet**, muni d'un ballon de chauffage et d'un réfrigérant. On introduit une certaine quantité de poudre de racines dans la cartouche (percale cousu), puis une autre de solvant extracteur dans le ballon. Le chauffage est effectué à la température d'ébullition du solvant. Les vapeurs se condensent au niveau du réfrigérant et retombent sous forme liquide sur la cartouche contenant la poudre à épuiser. La solution extractive après épuisement total de la drogue, est concentrée par évaporation dans un ballon de chauffage.

Photo N°3 : Extraction au soxhlet



2. Séparation :

Nous avons utilisé la chromatographie sur colonne et la chromatographie préparative sur couche mince.

2.1. Chromatographie sur colonne :

C'est une méthode de séparation des constituants suivant leur polarité. Le support utilisé est la silice G de référence Art 7734. La quantité doit être comprise entre 30 et 100 fois le poids du mélange à chromatographier.

a. Préparation de la colonne :

La colonne est d'abord soigneusement lavée et séchée. On introduit ensuite au fond une quantité suffisante de coton pour éviter le bouchage par les grains de silice.

La silice est agitée vigoureusement avec une certaine quantité de solvant, puis la suspension est versée dans la colonne. La colonne est abandonnée au repos pendant quelques minutes, après que l'ouverture supérieure ait été soigneusement fermée, puis le solvant est soutiré par le robinet jusqu'à ce que son niveau soit ramené à une hauteur d'environ 2 cm au dessus de la silice. Ceci permet à la silice de se tasser et d'éviter les effets de bord.

b. Dépôt de l'extrait à étudier :

La solution à fragmenter est versée dans un mortier contenant de la silice. Le mélange est trituré jusqu'à évaporation complète du solvant.

Le mélange pulvérulent ainsi obtenu est déposé sur la colonne par petites fractions. Il est ensuite recouvert d'une couche de silice d'environ 2 cm, puis de coton permettant d'amortir la chute du solvant sur le dépôt.

c. Elution de la colonne :

L'allonge de la colonne est alors remplie avec le solvant d'élution. Le débit est réglé selon les besoins et les éluats sont recueillies dans des flacons de 90 ml propres et secs.

Le contenu de chaque flacon est ensuite concentré par évaporation dans un ballon à température douce de manière à ne pas détruire les composés.

Une chromatographie analytique sur couche mince est effectuée sur chacune des fractions concentrées afin de réunir celles qui sont identiques, après révélation à la lumière ultra-violette et par les différents réactifs. Les fractions réunies sont de nouveau concentrées pour la suite des travaux.

Photo N°4 : Chromatographie sur colonne



2.2. Chromatographie sur couche mince :

C'est une méthode de séparation physico-chimique faisant intervenir une phase stationnaire ou adsorbant, une phase mobile ou éluant et des révélateurs, variables suivant la nature des composés à étudier. Elle a été utilisée en technique unidimensionnelle et nous a permis de suivre :

- l'efficacité de la séparation avec les différents solvants utilisés
- la composition des différentes fractions obtenues
- la pureté des produits isolés

a. Support :

Nous avons utilisé des plaques de silice GF254 d'épaisseur 0,2 mm préparées industriellement.

b. Dépôt des solutions à étudier :

Sur les plaques, nous avons effectué à l'aide de micropipettes des dépôts de 10 μ l des fractions à analyser. Les fractions à analyser sont disposées sur la ligne de départ sous forme de points de 6mm de diamètre, distants d'environ 10 à 15mm les uns des autres.

Les dépôts sont faits à 25mm du bord inférieur et 20 mm au moins des bords latéraux de la plaque. Après chaque dépôt, on évapore le solvant avec un courant d'air sec. La plaque est alors prête pour le développement.

c. Solvant de migration :

Le choix des solvants se fait après plusieurs essais préliminaires. Ceux dans lesquels les principaux constituants migrent bien sont sélectionnés.

Chaque solvant est caractérisé par un pouvoir d'éluion qui augmente avec sa polarité. ϵ (constante diélectrique) fournit une mesure de la polarité du solvant.

d. Développement :

La cuve à chromatographier lavée, séchée et munie d'un couvercle étanche doit contenir la phase mobile ou éluant d'une hauteur d'environ 5 à 8 mm. Elle est ensuite laissée hermétiquement close pendant un certain temps afin qu'elle soit saturée de vapeur d'éluant.

Après séchage des dépôts, la plaque est introduite dans la cuve en s'assurant que les dépôts ne touchent pas le solvant. La résolution de la solution en ses différents constituants se fait grâce à l'ascension par capillarité le long de la phase stationnaire de l'éluant.

Pour un bon développement, le front du solvant doit être au moins de 100 mm. La vitesse d'élution est fonction de la viscosité du solvant et de la nature de la phase stationnaire (53)

Série éluotrope : Pouvoir d'élution croissant de haut en bas

Tableau N°7

Solvants	Constante diélectrique ε
n- Hexane	1,890 à 20°C
Cyclohexane	2,023 à 20°C
Tétrachlorure de carbone	2,238 à 20°C
Benzène	2,84 à 20°C
Chloroforme	4,806 à 20°C
Acétate d'éthyle	6.02 à 25°C
Ethanol	24,30 à 25°C
Méthanol	33.62 à 20°C
Eau	80.37 à 20°C

Après le développement, les plaques sont séchées soit à la température du laboratoire soit à l'aide d'un séchoir. Sur le chromatogramme, chaque spot est caractérisé par son Rf.

$$R_f = \frac{\text{Distance du point milieu du composé au point de départ}}{\text{Distance du front du solvant au point de départ}}$$

Le Rf est donc toujours compris entre 0 et 1

e. Révélateurs :

La plupart des substances sont invisibles à l'oeil nu sur le chromatogramme, elles sont détectées grâce à des Révélateurs. Il en existe plusieurs types suivant les composés chimiques. Mais, au cours de nos travaux, nous avons utilisé :

- La lampe ultra-violette à 254 nm
à 366 nm
- La potasse alcoolique à 10 %

KOH	10 g
Méthanol qsp	100 ml
- La vanilline sulfurique.

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

Après pulvérisation, la plaque est chauffée à 120°C pendant 2 à 4 mn.

3. Purification :

Pour la purification des fractions obtenues par chromatographie sur colonne, nous avons utilisé la chromatographie préparative (CP), (elle permet d'obtenir des séparations plus fines et des produits purs) et la colonne contenant du coton pour l'élution des bandes grattées.

3.1. Préparation des plaques (35)

Elle comporte plusieurs étapes:

- Mise en place des plaques et préparation de l'étaleur
- Préparation de la suspension à étaler et l'introduction dans l'étaleur
- Etalement sur les plaques
- Traitement des plaques préparées
- Vérification des plaques de gel de silice.

a. Mise en place des plaques et préparation de l'étaleur :

Les plaques doivent être très soigneusement nettoyées et complètement débarrassées de matières grasses.

On place le cadre, qui mesure environ 110 cm de longueur, sur la paille de telle façon que la butée la plus courte se trouve à droite. On dispose sur ce cadre 5 plaques de 20 x 20 cm d'égale épaisseur ou un nombre correspondant de plaques plus étroites. Pour les empêcher de glisser, on peut les maintenir solidement sur le support par un peu d'eau.

Aux deux extrémités droite et gauche, la rangée de plaques est complétée par deux plaques de 5 x 20 cm. On pose l'étaleur, l'ouverture en dessus, sur la plaque étroite de gauche. Le levier du tambour est dirigé vers la droite, dans la direction de la flèche rouge gravée sur la face supérieure de l'instrument. Le sabot de guidage doit être maintenu étroitement contre le cadre. Sur le modèle utilisé; on peut régler l'épaisseur de la couche en déplaçant la plaque métallique qui se trouve sur le côté gauche de l'instrument, après avoir donné du jeu aux deux vis. La largeur de la fente se lit sur l'échelle au milieu de cette plaque.

b. Préparation de la matière à étaler et remplissage de l'étaleur :

La matière à étaler (adsorbant) est le gel de silice G de référence Art 7739 kieselgel 60 HF 254 Merck.

On mélange 30 g de gel de silice G avec 70 ml d'eau distillée en malaxant dans un mortier ou bien en agitant énergiquement dans un erlenmeyer bouché de 200 à 250 ml pendant 30 à 45 secondes. La suspension, assez fluide mais homogène, << prend >> en quelques minutes car elle contient du plâtre. C'est pourquoi on doit la verser immédiatement dans l'étaleur, sur lequel on a réglé au préalable l'épaisseur de la couche.

c. Etalement sur les plaques :

Après avoir versé la suspension dans l'instrument, on bascule le levier de 180° vers la gauche de telle façon que dans la flèche rouge l'orifice d'entrée d'air soit visible. On attend que la suspension apparaisse pour commencer à étaler.

Pour cela la meilleure façon de faire est de se placer vers le milieu du cadre, de saisir l'étaleur des deux mains et de le faire glisser sur les plaques jusqu'à l'autre bout sans trop appuyer. Le sabot sert de guide latéral. En déplaçant l'instrument à vide sur les plaques mises en place, on peut contrôler s'il existe les différences de niveaux aux endroits où elles se touchent. Une fois la plaque terminale atteinte, on renverse le levier vers la droite, empêchant ainsi le liquide restant de s'échapper.

L'opération terminée. On enlève le capuchon à vis du tambour (côté de la flèche) et l'on sort ce dernier pour le nettoyer. On brosse à fond les différentes pièces de l'instrument sous un jet d'eau et l'on rince à l'eau distillée.

IL faut prendre particulièrement soin de ne pas endommager les surfaces qui constituent la fente de sortie, soit par le choc soit par les éraflures. Elles doivent être parfaitement lisses.

Les plaques étroites sont plus régulières quand on les dispose de telle façon que leur côté le plus long se trouve dans la direction du mouvement d'étalement.

d. Traitement des plaques préparées :

- Séchage :

On laisse les plaques en place jusqu'à ce que la surface devienne tout à fait mate (10 mm environ). Le mieux est de les laisser sécher une nuit à l'air ; de cette façon il se forme des couches qui adhèrent très fortement au verre. Pour beaucoup de travaux, ce genre de plaques suffit.

- Activation :

On introduit les plaques dans une étuve, mais pas avant la fin de la prise, c'est à dire le moment où la surface devient mate. La température et le chauffage dépendent de l'activité choisie.

- Stockage :

Du fait que les plaques perdent leur activité à l'air humide, on les conserve en présence d'un agent desséchant (gel de silice bleu, alumine activée, chlorure de Ca) dans un dessiccateur ou dans un coffret à plaques. En plaçant les plaques chaudes dans le dessiccateur, on doit laisser le robinet du couvercle ouvert ; c'est pourquoi celui-ci est pourvu d'une garde remplie de gel de silice bleu.

Bien entendu, les couches doivent être protégées des vapeurs du laboratoire et des dommages mécaniques dans toute la mesure du possible.

e. Vérification des plaques de gel de silice :

Les couches doivent avoir une apparence homogène quand on les regarde par transparence ou par réflexion. La surface doit être lisse et dépourvue de grains un peu gros. L'adhérence doit être telle qu'en passant légèrement le doigt sur la couche on ne l'endommage pas sérieusement.

Pour délimiter nettement la couche, on peut enlever une bande de 2 mm environ sur les bords à l'aide d'une spatule ou bien entre les pouces et l'index.

Au total, nous avons préparé 55 plaques de verre de 20 x 20 cm avec une couche de silice d'environ 2 à 3 mm d'épaisseur.

3.2. Chromatographie préparative sur plaque :

La chromatographie préparative permet d'obtenir des séparations plus fines et la purification des composés.

a. Support :

Gel de silice de référence Art 7739 kieselgel 60 HF 254 Merck.

b. Solvant :

Benzène pur

c. Dépôt des solutions :

Nous avons réalisé des dépôts linéaires de 30 μ l à l'aide de micropipettes. Les dépôts sont distants les uns des autres d'environ 10 à 15 mm de 25 mm du bord inférieur et de 20 mm des bords latéraux de la plaque.

Après chaque Dépôt, on évapore le solvant avec un courant d'air sec à l'aide d'un séchoir.

d. Révélation et récupération des bandes de composés purs :

La Révélation des produits se fait après migration dans le benzène pur et séchage des plaques. Les bandes correspondant aux produits sont révélées sous la lumière ultra-violette à 254 nm.

Les bandes sont repérées à l'aide d'un crayon de papier et récupérer par grattage à l'aide d'une lame propre. Elles sont réunies et introduites dans de petites colonnes à chromatographier contenant du coton puis éluées avec du méthanol pur.

Les solution récoltées sont concentrées par évaporation dans un ballon de chauffage à température inférieure à 50°C.

Les solutions concentrées sont récupérées dans des flacons de 90 ml propres et bien étiquetés. Leur pureté est encore contrôlée par chromatographie sur couche mince.

4. Identification :

Pour l'identification des composés, nous n'avons pu utiliser que la spectrométrie dans l'ultra-violet.

II. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

1. Détermination du pH

a. Principe :

Réaliser une décoction aqueuse de la poudre de drogue et déterminer le pH sur le filtrat à l'aide d'un pH mètre

b. Méthode :

On chauffe à l'ébullition dans un ballon 1g de poudre de racines dans 100 ml d'eau distillée pendant 15mn.

On laisse refroidir, puis on filtre sur coton, ensuite on ajuste à 100 ml avec de l'eau distillée. Ainsi on obtient un décocté à 1%. La détermination du pH se fait sur le filtrat avec un pH mètre de type Horiba M-8E à une température bien déterminée

2. Détermination de la teneur en eau (53)

La teneur en eau constitue un indice très important pour la conservation des drogues

Pour une bonne conservation, elle doit être inférieure à 10 pour cent (10%)

Pour le dosage de l'eau, nous avons utilisé deux méthodes

- La méthode gravimétrique
- La méthode volumétrique.

2.1. Méthode gravimétrique :

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

a. Principe :

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

b. Mode opératoire :

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

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

Les poids totaux sont évalués P'_1 ; P'_2 ; P'_3 ; P'_4 et P'_5 .

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

Après, ils sont encore pesés et les poids P''_1 , P''_2 , P''_3 , P''_4 et P''_5 sont obtenus

La perte de poids est obtenue en faisant une différence des différents poids ($P'_1 - P''_1$; $P'_2 - P''_2$; $P'_3 - P''_3$; $P'_3 - P''_3$; $P'_4 - P''_4$; $P'_5 - P''_5$).

Cette différence de poids est la quantité d'eau contenue dans la poudre. Elle est évaluée pour 100g de poudre.

2.2. Méthode volumétrique :

C'est le dosage de l'eau par entraînement azéotropique. L'eau est entraînée par distillation avec un solvant qui ne lui est pas miscible. La réaction azéotropique (mélange) se fait à une température d'ébullition constante.

Après condensation par réfrigération des vapeurs de l'azéotrope, l'eau se sépare et est mesurée en volume.

Les solvants utilisés sont :

Benzène (point d'ébullition 80°C)

Toluène (point d'ébullition 110°C)

Xylène (point d'ébullition $136^\circ\text{-}140^\circ\text{C}$)

L'appareil (voir figure N°3) est constitué d'un ballon de verre (A) relié par un tube de raccordement (B) à un tube cylindrique de condensation avec tube collecteur gradué (E). Le réfrigérant (C) est placé sur le tube cylindrique (B). Le tube collecteur (E) est gradué en 0.1ml de telle façon que l'erreur de lecture ne dépasse pas 0,5ml. Comme source de chaleur, on utilise de préférence un chauffage électrique avec un contrôle à rhéostat ou un bain d'huile. La partie supérieure du ballon et le tube de raccordement peuvent être isolés par de l'amiante.

Mode opératoire :

Nettoyez le tube collecteur et le réfrigérant de l'appareil, rincez-les soigneusement à l'eau, puis séchez. Dans un ballon sec, introduisez 200ml de toluène (R) et 2ml d'eau environ; distillez pendant 2 heures, laissez refroidir pendant une demi-heure et lisez le volume d'eau avec une précision de 0,05ml.

Introduisez ensuite dans le ballon sec la prise d'essai (10g) de la substance à examiner, pesée au centigramme près. Si la substance est pâteuse, pesez-la dans une nacelle constituée d'une feuille de métal. Chauffez doucement le ballon pendant 15mn en présence d'une substance assurant une ébullition régulière. Lorsque la toluène commence à bouillir, distillez à la vitesse d'environ 2gouttes par seconde jusqu'à ce que la plus grande partie de l'eau soit entraînée, puis augmentez la vitesse de distillation jusqu'à 4 gouttes par seconde. Lorsque toute l'eau a été entraînée, rincez au toluène (R) l'intérieur du tube réfrigérant. Continuez la distillation pendant 5mn, arrêtez le chauffage et laissez refroidir le tube collecteur à la température ambiante. Faites tomber les gouttelettes d'eau adhérant à la paroi du tube. Lorsque l'eau et le toluène se sont séparés, lisez le volume d'eau et calculez en pourcentage la teneur en eau de la substance à examiner selon la relation

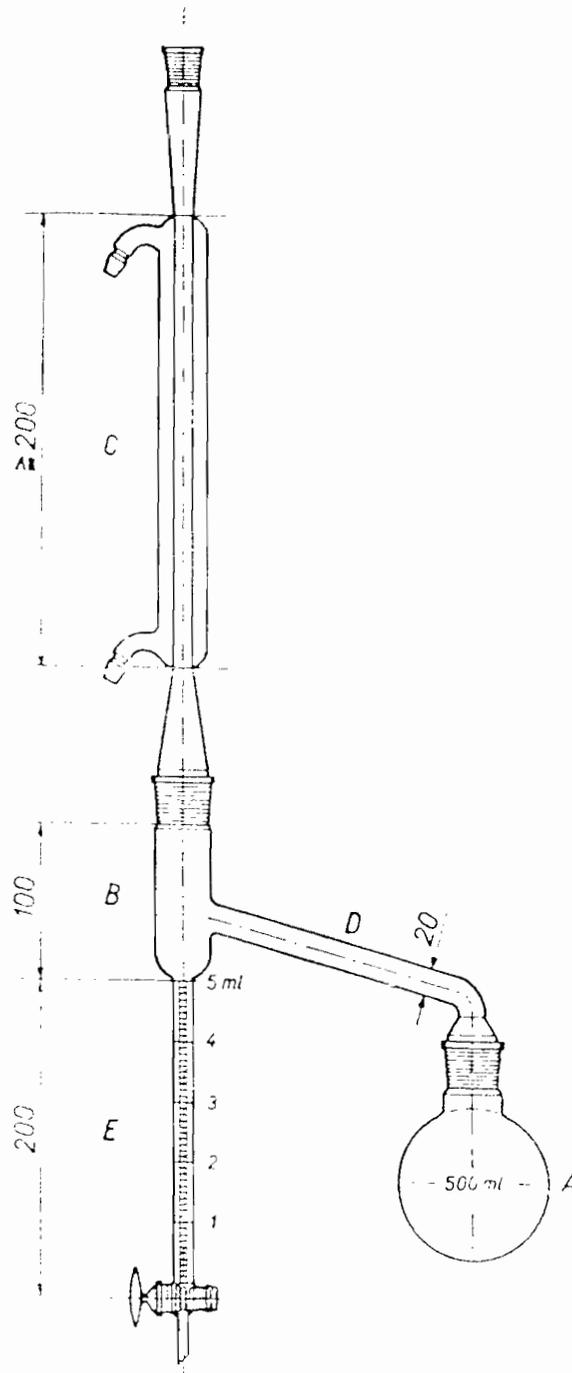
$$100 \frac{(v_1 - v_0)}{P}$$

P = Poids en gramme de la prise d'essai de substance à examiner

V₀ = Nombre de ml d'eau obtenus dans la première distillation

V₁ = Nombre total de ml d'eau obtenus dans les deux distillations

Figure N°3 : Appareil pour le dosage de l'eau par entraînement azéotropique
(Dimensions en mm)



3. Détermination de la teneur en cendres (53)

Le dosage des cendres permet de mettre en évidence les charges minérales des drogues.

Cette détermination est importante pour les drogues fréquemment souillées de terre ou mêlées de sable.

On détermine la teneur des cendres totales, des cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique, des cendres sulfuriques.

3.1. Cendres totales :

a. Principe :

Le principe consiste à incinérer la poudre jusqu'à obtention de cendres blanches.

b. Mode opératoire :

Dans un creuset de quartz à fond plat (70mm de diamètre et 15 mm de hauteur), préalablement calciné au rouge, refroidi et taré, on introduit une prise d'essai (1 à 5 g) de drogue pulvérisée. On incinère doucement, puis jusqu'au rouge sans dépasser 800°C, au four à moufle.

Après disparition de toute particules noires, on laisse refroidir dans un dessiccateur, puis on pèse. La différence de poids obtenue par les deux pesées, avant et après calcination est le poids de cendres contenues dans la prise d'essai.

Cette quantité est évaluée en pourcentage. Comme nous avons effectué 5 prises d'essai, nous avons fait une moyenne des différences de poids.

3.2. Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10% :

a. Principe :

Les cendres insolubles dans l'HCl à 10% sont constituées par le résidu obtenu après extraction des cendres totales, par l'acide chlorhydrique, et rapporté à 100g de drogue.

b. Mode opératoire :

On ajoute aux cendres totales 20ml d'HCl à 10% et l'on chauffe dans une fiole conique pendant 30mn au bain-marie. On filtre sur un filtre sans cendres. On lave le résidu insoluble à l'eau très chaude, puis on incinère le filtre séché et le résidu insoluble jusqu'à poids constant. On laisse refroidir et on pèse.

La quantité de cendres insolubles dans HCl est obtenue en faisant la différence de poids des deux pesées.

En effet, le résidu, constitué de silice, représente le sable que peut mouiller les drogues mal lavées ou mal triées.

3.3. Cendres sulfuriques :

a. Principe :

Les cendres sulfuriques résultent de la calcination au contact de l'air, de la poudre de drogue après attaque par l'acide sulfurique.

b. Mode opératoire :

On porte au rouge pendant 10mn environ, un creuset de platine de forme basse. On laisse refroidir dans un dessiccateur et on tare. La prise d'essai (2 à 3g) exactement pesée est introduite dans le creuset. On la mouille avec une quantité suffisante d' H_2SO_4 concentré, préalablement dilué par un volume égal d'eau distillée. On chauffe au bain-marie puis à feu nu : d'abord avec précaution, puis au rouge sans excéder la température de $800^{\circ}C$. On maintient la calcination jusqu'à disparition des particules noires, on laisse refroidir, puis on ajoute au résidu 5 gouttes d' H_2SO_4 dilué au demi. On évapore et on calcine comme précédemment jusqu'à poids constant après refroidissement dans le dessiccateur.

On calcule le taux de cendres sulfuriques en les rapportant à 100g de substance végétale.

4. Essais Chimiques préliminaires :

Les essais préliminaires ont porté sur la recherche dans la poudre de racines d'alcaloïdes, anthracéniques, coumarines, flavonoïdes, quinones, saponosides, tannins, stérols et terpènes. Ces essais ont mis en oeuvre soit des réactions en tube (48), soit des procédés chromatographiques.

Ces essais sont simplement indicatifs. Ils permettent d'avoir des informations préliminaires sur la composition chimique du végétal.

5. Résultats

5.1. pH

Le pH du décocté aqueux à 1% est de 5,9 à la température de 27°C. Cette faible acidité serait donc due à la présence d'acides organiques dans la poudre de racines de Psorospermum guineense Hochr.

5.2. Teneur en eau :

Les résultats obtenus lors de la détermination de la teneur en eau de la poudre de racines de Psorospermum guineense Hochr sont consignés dans le tableau suivant :

a. Méthode gravimétrique :

Tableau N° 8

Tare	M.T. avant étuve	M.T. après étuve	M.T. prise d'essai	M.T. Eau	% Eau
13,3082	15,3527	15,2496	2,0445	0,1031	$x_1 = 5,04$
13,5526	15,1575	15,0836	1,6049	0,0739	$x_2 = 4,60$
13,9625	15,2210	15,1675	1,2585	0,0535	$x_3 = 4,25$
13,2915	15,6541	15,5472	2,3626	0,1069	$x_4 = 4,52$
13,1432	15,7060	15,5888	2,5628	0,1172	$x_5 = 4,57$

Masse d'essai = masse avant étuve - Tare

Masse Eau = masse avant étuve - masse après étuve

$$\% \text{ eau} = \frac{\text{masse eau}}{\text{masse essai}} \times 100$$

Comme nous avons effectué cinq pesées, le pourcentage de l'eau est

$$X = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + x_5}{5} = \frac{22,98}{5} = 4,59\%$$

$$X = 4,59\%$$

b. Méthode volumétrique :

$$V_0 = 1,6 \text{ ml}$$

$$V_1 = 2,1 \text{ ml}$$

Le volume de l'eau est $V = V_1 - V_0 = 2,1 - 1,6 = 0,5 \text{ ml}$

Le pourcentage de l'eau de la poudre de racines de Psorospermum guineense Hochr est :

$$Y = \frac{100 (V_1 - V_0)}{P} = \frac{100 \times 0,5}{10} = 5\%$$

$$Y = 5\%$$

5.3. Teneur en cendres :

Les résultats du dosage des cendres sont consignés dans le tableau suivant :

a. cendres totales :

Tableau N°9

Tare	M.T. avant calcination	M.T. après calcination	M.T. prise d'essai	M.T. cendres	% cendres
29,7013	31,6167	29,7356	1,9159	0,0343	$x_1 = 1,79$
24,3269	25,8510	24,3531	1,5241	0,0262	$x_2 = 1,72$
20,6975	21,9073	20,7180	1,2098	0,0205	$x_3 = 1,69$
17,6346	19,8818	17,6729	2,2472	0,0383	$x_4 = 1,70$
16,9529	19,3862	16,9952	2,4333	0,0423	$x_5 = 1,74$

Masse essai = masse avant calcination - Tare

Masse cendres = masse après calcination - Tare

$$\text{Pourcentage cendres} = \frac{\text{masse cendres}}{\text{masse essai}} \times 100$$

Comme nous avons effectué cinq pesées, le pourcentage de cendres totales de *Psorospermum guineense* Hoch est :

$$X = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + x_5}{5} = \frac{8,64}{5} = 1,73\%$$

$X = 1,73\%$

b. Cendres insolubles dans HCl à 10% :

- Tare du creuset = 29,0911
- Masse totale avant calcination = 30,7775
- Masse totale après calcination = 29,1384
- Masse de la prise d'essai = 1,6880
- Masse des cendres chlorhydriques = 0,0489
- Pourcentage de cendres insolubles dans HCl est Y

$$Y = \frac{\text{masse cendres}}{\text{masse essai}} \times 100 = \frac{0,0489}{1,6880} = 2,89\%$$

$Y = 2,89\%$

c. Cendres sulfuriques :

- Tare du creuset = 29,0911
- Masse totale avant calcination = 34,7865
- Masse totale après calcination = 29,1994
- Masse de la prise d'essai = 5,6954
- Masse des cendres sulfuriques = 0,1083
- Pourcentage de cendres sulfuriques est T

$$T = \frac{\text{masse cendres}}{\text{masse essai}} \times 100 = \frac{0,1083}{5,6954} = 1,90\%$$

$T = 1,90\%$

Récapitulatif des pourcentages en eau et en cendres

Tableau N°10

Eau	Méthode gravimétrique	4,59%
	Méthode azéotrope	5%
Cendres	totales	1,73%
	insolubles dans HCl à 10%	2,89%
	sulfuriques	1,90%

5.4. Mise en évidence des principales classes chimiques :

Les résultats obtenus au cours des essais préliminaires sont résumés dans le tableau N°11

Tableau N°11

Composés recherchés		Résultats	Observations
Alcaloïdes		0	néant
Anthracéniques	libres	+ + +	coloration rouge
	combinés	0	néant
Anthraquinones		+ + +	coloration rouge
Coumarines		+ + +	Fluorescence verte UV = 366nm
Flavonoïdes		0	néant
Saponosides	Mousse	+	peu abondant
	Indice de mousse	200	Tube N°5
Stérols		+ + +	surageant verdâtre
Tannins	Catéchiques	+ + +	précipités abondants
	Galliques	0	néant
Terpènes		+ + +	anneau rouge brunâtre

Remarque :

Bien que l'indice de mousse soit égal à 200, les saponosides ne sont pas décelés par chromatographie sur couche mince de contrôle.

Conclusion :

Les anthracéniques libres, anthraquinones, coumarines, tannins catéchiques, stérols et terpènes sont présents dans la drogue.

Les alcaloïdes, flavonoïdes, anthracéniques combinés, tannins galliques et saponosides sont absents dans la drogue.

6. Contrôle de passage du pigment anthracénique dans le décocté aqueux

Dans les usages en Médecine Traditionnelle, nous avons constaté une consommation importante du décocté aqueux des racines de Psorospermum guineense Hochr par rapport aux autres formes pharmaceutiques.

Le pigment anthracénique contenu dans les racines étant toxique, nous avons jugé nécessaire de vérifier son passage dans le décocté aqueux.

Pour y parvenir, nous avons réalisé d'abord une décoction aqueuse, puis une extraction liquide-liquide, ensuite une chromatographie analytique sur couche mince.

6.1. Décoction aqueuse :

Mettre 10g de poudre de racines de Psorospermum guineense Hochr. y ajouter de l'eau distillée jusqu'à 100ml.

Chauffer à ébullition pendant 15 mn. laisser refroidir. Filtrer sur coton. Ainsi, on obtient le décocté aqueux à 10%

6.2. Extraction liquide-liquide :

Nous avons fait une extraction liquide-liquide à volume égal avec le chloroforme, car le pigment anthracénique est décelable dans ce solvant.

Mettre 20ml du décocté aqueux dans une ampoule à décanter et y ajouter 20ml de chloroforme.

Agiter de temps en temps pendant quelques minutes. Laisser décanter puis soutirer la phase chloroformique.

6.3. Chromatographie sur couche mince de contrôle :

a. Support :

Nous avons utilisé des plaques de silice GF 254 d'épaisseur 0,2mm préparées industriellement.

b. Dépôts :

(Cf techniques générales d'étude page 39)

c. Solvant de migration :

Plusieurs solvants de migration ont été utilisés au cours de nos essais préliminaires. Nous en avons sélectionné trois pour leur bonne séparation : le benzène, le chloroforme, le mélange benzène-chloroforme. En effet, le pigment anthracénique migre bien dans ces solvants.

d. Révélation :

Après séchage des plaques, elles sont observées à la lumière ultra-violette à 254nm et 366 nm, puis révélées par la potasse alcoolique à 10%.

Après Révélation, on n'observe aucun développement du pigment à partir des solutions aqueuse et chloroformique.

6.4. Conclusion :

Le pigment anthracénique ne passe pas dans le décocté aqueux.

III. EXTRACTION

250g de poudre de drogue sont épuisés par 2 litres de chloroforme pendant 12 heures au soxhlet. Au bout de ce temps, l'extrait chloroformique est récupéré, filtré sur papier filtre et conservé dans un flacon propre.

Cette opération d'extraction au soxhlet est reconduite de la même façon, 4 fois de suite, pour obtenir l'épuisement d'1kg de poudre de racines de Psorospermum guineense Hochr. Les solutions extractives recueillies sont regroupées et concentrées par évaporation dans un ballon de chauffage à température inférieure à 50°C.

La quantité de drogue utilisée est égale à $4 \times 250g = 1kg$

la quantité de solvant utilisé est égale à $4 \times 2 \text{ litres} = 8 \text{ litres}$

1. Détermination du poids de l'extrait sec :

Les solutions extractives sont regroupées et concentrées par évaporation jusqu'à obtenir 200ml.

Peser un erlemmeyer vide (14,2g)

y introduire 10ml d'extrait concentré

Evaporer à siccité dans une étuve à 40°C

Peser l'erlemmeyer (16,9g)

Différence de poids = $16,9 - 14,2 = 2,7g$

En faisant une règle de trois, nous obtenons le poids de l'extrait sec

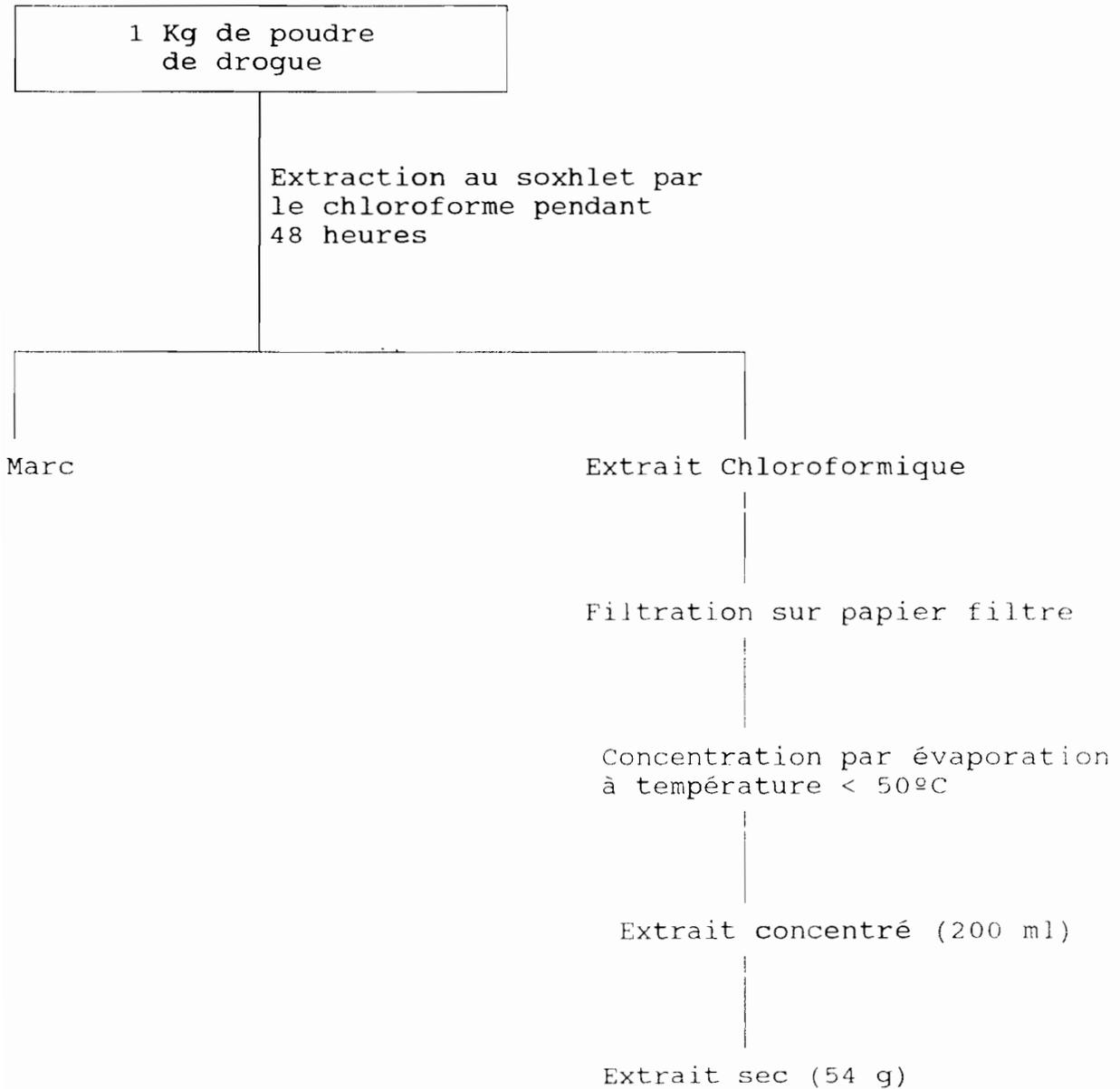
10ml-----> 2,7g

200ml-----> x

$$X = \frac{200 \times 2,7}{10} = 54g$$

Poids de l'extrait sec = 54g

Figure N°4 : Extraction au Soxhlet de la poudre de racines de *Psorospermum guineense* Hochr



2. Fragmentation de l'extrait chloroformique :

Chromatographie sur colonne :

a. Préparation de la colonne :

(Cf techniques générales d'étude page 37)

b. Dépôt de l'extrait à étudier :

La solution concentrée à étudier est versée dans un mortier contenant 20g de silice. Le mélange est séché puis pulvérisé. Le mélange pulvérulent ainsi obtenu est déposé sur la colonne par petites fractions. Il est ensuite recouvert d'une couche de silice (20g), puis de coton afin d'amortir la chute des solvants sur le dépôt.

c. Elution de la colonne :

Nous avons débuté notre élution par l'hexane suivi d'un gradient Hexane-chloroforme de polarité croissante 80-20 ; 70-30 ; 50-50 et enfin l'éthanol à 95°.

A l'issue de cette colonne, 170 fractions de 90ml chacune ont été recueillies suivant le schéma de la figure N°5

Figure N°5

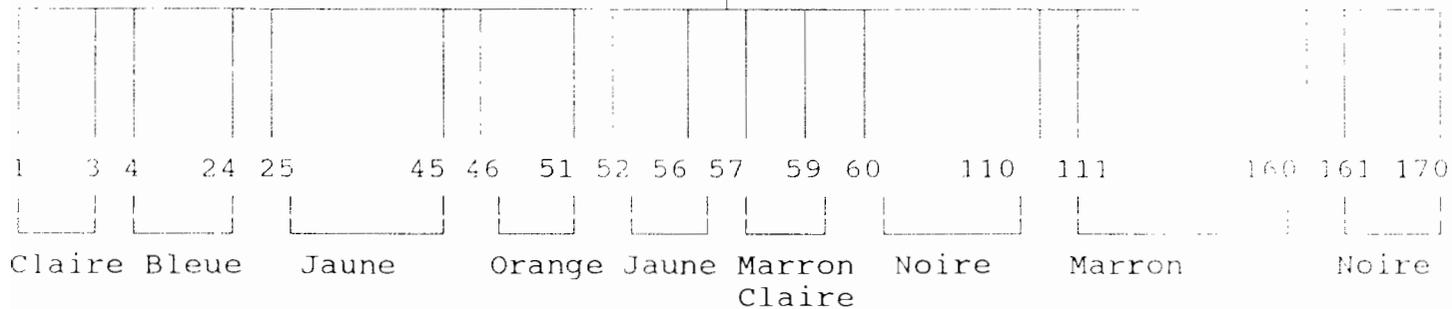
Extrait Chloroformique

Colonne I
(Silice G Merck 7734)

Solvants

Fractions

<u>Elution:</u> Hexane pur	1 à 22
Hexane-CHCl ₃ :80-20	23 à 58
Hexane-CHCl ₃ :70-30	59 à 99
Hexane-CHCl ₃ :50-50	100 à 137
Ethanol 95° pur	138 à 170



IV. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE DE CONTRÔLE

Nous avons contrôlé chacune des fractions obtenues afin de connaître leur composition et de réunir celles qui sont identiques :

1. Support :

Silice GF 254 d'épaisseur 0,2mm

2. Dépôt des solutions à étudier :

(cf techniques générales d'étude page 39)

3. Solvant de migration :

Benzène pur

4. Révélateurs :

- lampe UV à 254 nm
à 366 nm
- Potasse alcoolique à 10%
- Vanilline sulfurique

Après ce contrôle chromatographique nous avons choisi d'orienter nos recherches vers trois groupes de fractions :

1^{er} groupe : fractions 25 à 45

2^e groupe : fractions 61+62+63

3^e groupe : fractions 64 à 110 + 161 à 170

En effet :

- les fractions 25 à 45 présentent chacune un composé majoritaire de fluorescence jaune à la lumière UV 254nm devenant rouge après révélation par la potasse alcoolique à 10%. Ainsi nous les avons réunis en une seule fraction que nous avons nommée F.
- les fractions 61 + 62 + 63 présentent chacune deux composés. Le premier de fluorescence violette à la lumière UV 254nm migre en première position. Ce composé réagit avec la vanilline sulfurique en présentant une fluorescence violette très intense. L'autre, de fluorescence jaune à la lumière UV 254 nm, migre en seconde position et donne avec la potasse alcoolique une fluorescence rouge. Nous avons réunis ces fractions en une seule, nommée G.

- les fractions 64 à 110 + 161 à 170 présentent chacune deux composés majoritaires de fluorescence violette à la lumière UV 254nm. Ces composés donnent avec la vanilline sulfurique une fluorescence violette très intense, mais ne migrent pas au même niveau. Nous les avons ainsi réunis en une seule fraction H.

Les fractions réunies sont concentrées et étudiées séparément.

V. ETUDE DES FRACTIONS

1. Etude de la fraction F :

1.1. Séparation des composés de F :

1.1.1. Chromatographie sur colonne :

a. Préparation de la colonne :

(cf techniques générales d'étude page 37)

b. Dépôt de la fraction à étudier :

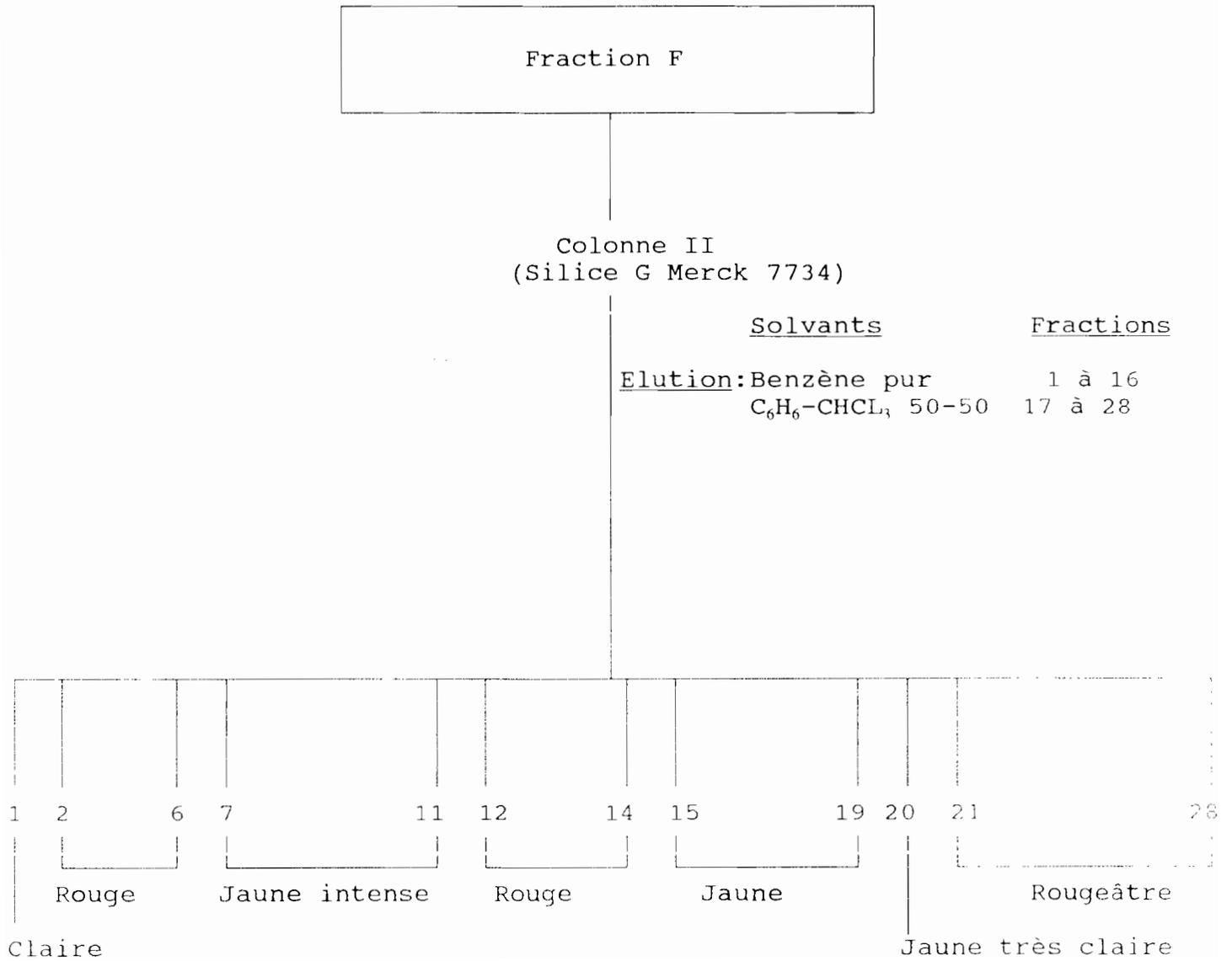
(cf techniques générales d'études page 37)

c. Elution de la colonne :

Nous avons débuté notre élution par du benzène pur, suivi du mélange benzène - chloroforme 50 - 50.

Au cours de cette élution, nous avons obtenu 28 fractions de 90ml chacune suivant le schéma de la figure N°6

Figure N°6



1.1.2 Chromatographie sur couche mince de contrôle :

a. Support :

Silice GF 254 d'épaisseur 0,2mm.

b. Dépôt des solutions à étudier :

(cf techniques générales d'étude page 39)

c. Solvant de migration :

Benzène pur

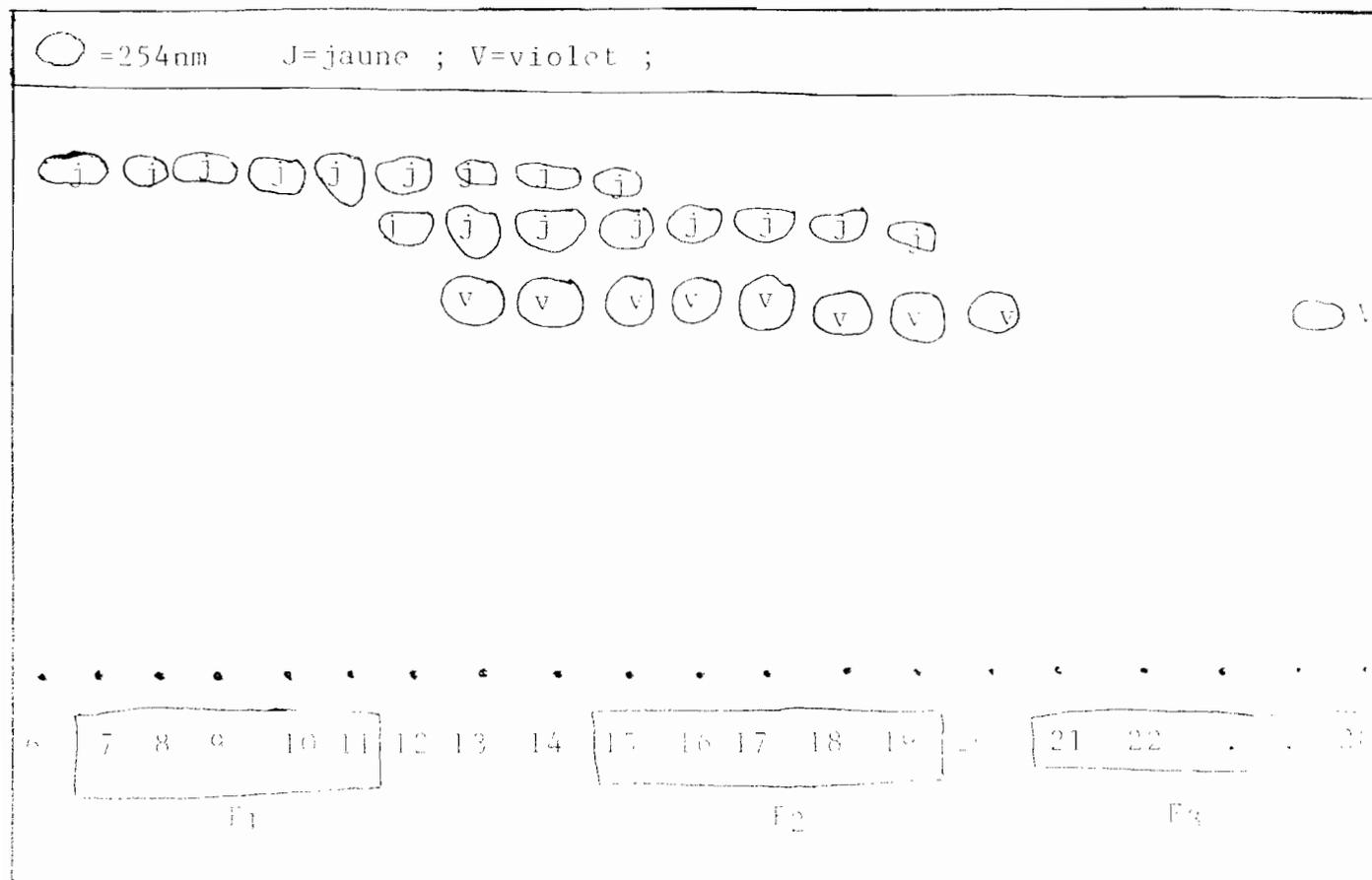
d. Révélateurs :

- Lampe UV à 254 nm
- Potasse alcoolique à 10%

Après ce contrôle chromatographique, nous observons que :

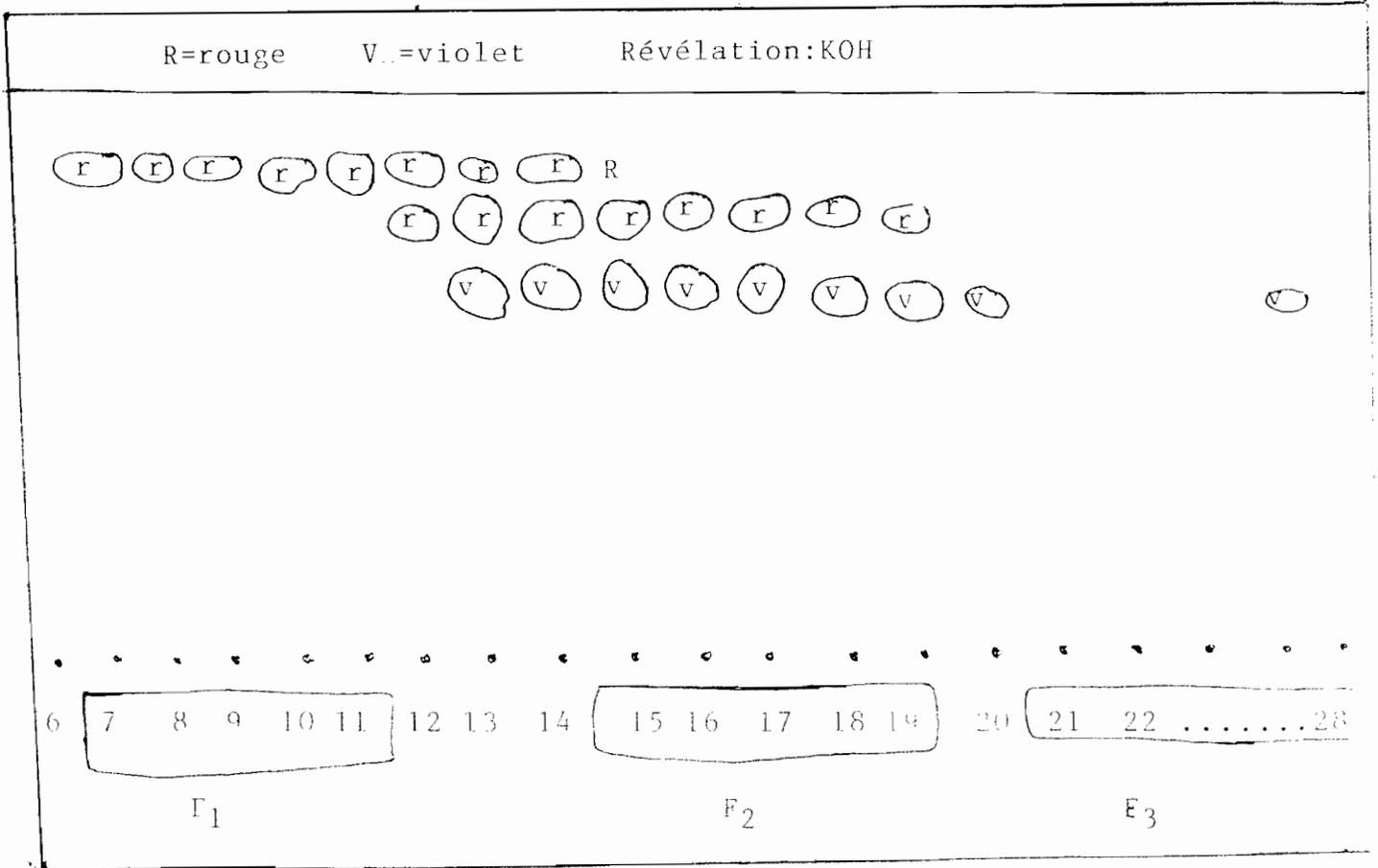
- les fractions 7 à 11 présentent chacune une tâche de fluorescence jaune à la lumière ultraviolette à 254 nm. Après révélation par la potasse alcoolique 10%, la tâche jaune devient rouge. Les fractions sont réunies en une seule F_1
- les fractions 15 à 19 présentent chacune à la lumière ultraviolette 254nm deux tâches :
 - . la 1^{ère} de fluorescence jaune, migre en première position et devient rouge après révélation par la potasse alcoolique 10%
 - . la 2^e de fluorescence violette, migre en deuxième position et ne réagit pas à la potasse alcoolique 10%. Ces fractions sont également réunies en une seule F_2
- les fractions 21 à 28 donnent chacune une tâche de fluorescence violette à la lumière ultraviolette à 254nm. Cette tâche ne réagit pas à la potasse alcoolique à 10%, mais migre au même niveau que la violette de la fraction F_2 . Nous les avons réunies en une seule fraction F_3 .

Le comportement chromatographique de ces fractions avant et après révélation à la potasse alcoolique est consigné dans les chromatogrammes N° (3); (4) ; (5) et (6)

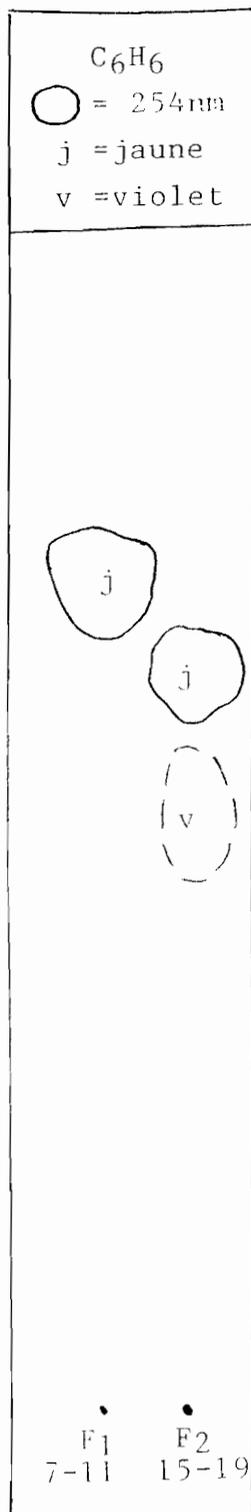
Chromatogramme N°3

Support : Silice GF 254 pour cem
 Dépôts : 10 μ l de chaque solution
 Solvant : Benzène pur
 Révélateur : UV 254 nm

Chromatogramme N°4



Support : Silice GF 254 pour ccm
 Dépôts : 10 μ l de chaque solution
 Solvant : Benzène pur
 Révélateur : Potasse alcoolique à 10%

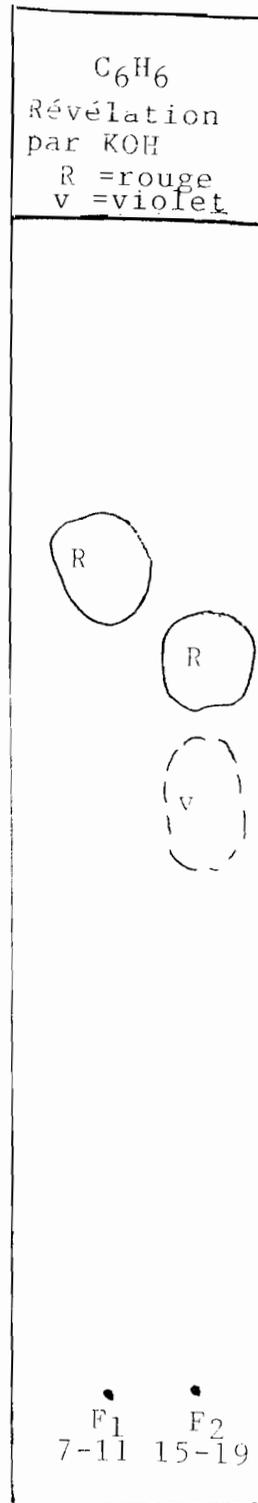
Chromatogramme N°5

Support : Silice GF 254 pour ccm

Dépôts : 10 μ l de chaque solution

Solvant : Benzène pur

Révélateur : UV 254 nm

Chromatogramme N°6

Support : Silice GF 254 pour ccm
Dépôts : 10 μ l de chaque solution
Solvant : Benzène pur
Révélateur : Potasse alcoolique à 10%

1.2. Purification des composés :

Nous avons choisi de purifier les composés réagissant positivement à la potasse alcoolique à 10%. Ce sont les composés de fluorescence jaune à la lumière UV des fractions F_1 et F_2

1.2.1. Purification (fraction F_1)

Nous avons utilisé la chromatographie préparative sur plaque de silice G et la colonne contenant du coton.

1.2.1.1. Chromatographie préparative :

a. Solvant de migration :

Benzène pur

b. Révéléateur : lampe UV à 254nm

Après la migration, les bandes révélées sont repérées à la lumière ultra violette à 254nm

1.2.1.2. Colonne :

Les bandes repérées sont grattées à l'aide d'une lame, puis réunies et placées dans une petite colonne à chromatographier contenant du coton. Elles sont ensuite éluées avec l'éthanol 95° pur.

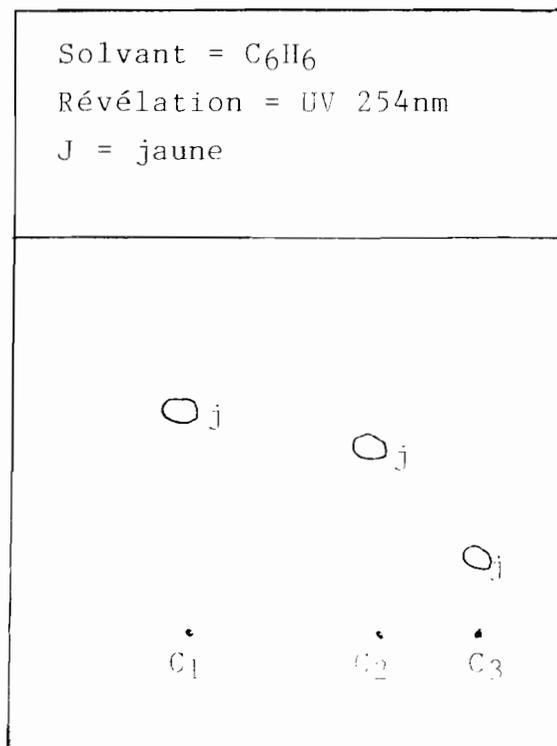
1.2.2. Purification (fraction F_3)

Nous avons opéré de la même manière qu'en VII.1.2.1. et avons obtenu deux fractions de 90ml chacune correspondant aux deux bandes repérées, grattées et éluées par l'éthanol séparément.

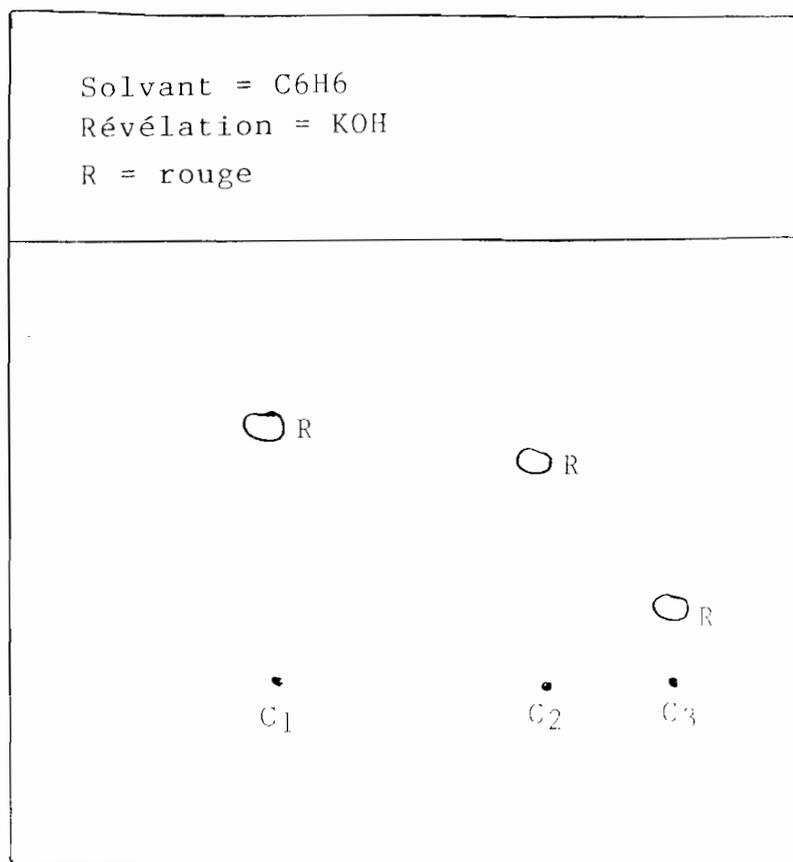
La pureté des composés est contrôlée de nouveau par chromatographie sur couche mince . Nous observons que : chacune des fractions donne une tâche jaune à la lumière ultraviolette à 254nm, devenant rouge après révélation à la potasse alcoolique, 10%

- le composé 1 de F_1 est nommé C_1
- le composé 1 de F_2 est nommé C_2
- le composé 2 de F_2 est nommé C_3

Leur comportement chromatographique est consigné dans les chromatogrammes N°(7) et (8)

Chromatogramme N°7

Support : Silice GF 254 pour cm
Dépôts : 10 μ l de chaque solution
Solvant : Benzène pur
Révélateur : UV 254 nm

Chromatogramme N°8

$$RfC_1 = 0,56$$

$$RfC_2 = 0,50$$

$$RfC_3 = 0,17$$

Support : Silice GF 254 pour cm

Dépôts : 10 μ l de chaque solution

Solvant : Benzène pur

Révélateur : Potasse alcoolique à 10%

2. Etude de la fraction G :

Nous avons directement procédé à la séparation et purification des deux composés contenus dans la fraction G en utilisant la chromatographie préparative et la colonne à chromatographier contenant du coton.

2.1. Chromatographie préparative :

a. Solvant de migration :

Benzène pur

b. Révélateur :

Lampe UV à 254nm

2.2. Colonne :

Après révélation à la lumière UV 254nm deux types de fluorescence sont observés : jaune et violette. Pour chaque type de fluorescence, nous avons utilisé une colonne contenant du coton. Les bandes de fluorescence jaune et violette sont repérées et grattées séparément, puis éluées dans une colonne avec de l'éthanol à 95° pur. A l'issue de chaque colonne, deux fractions de 90ml chacune ont été recueillies.

Le contrôle chromatographique et la révélation à 254nm puis à la potasse alcoolique (pour le composé jaune) et à la vanilline sulfurique (pour le composé violet) montrent que les deux composés sont propres : nous les avons nommé respectivement C₁ et C₂.

Leur comportement chromatographique est consigné dans les chromatogrammes N° (9); (10) et (11)

Chromatogramme N°9Solvant = C₆H₆

○ = 254nm

V = violet

J = jaune

V

J

•
G

Support : Silice GF 254 pour ccm
Dépôts : 10 μl de la solution
Solvant : Benzène pur
Révélateur : UV 254 nm

Chromatogramme N°10Solvant = C₆H₆

V = violet

R = rouge

Révélation = KOH

V

R

R

G

C₄RfC₄ = 0,09

Support : Silice GF 254 pour ccm

Dépôts : 10 μl de chaque solution

Solvant : Benzène pur

Révélateur : Potasse alcoolique à 10%

Chromatogramme N°11

Solvant = C₆H₆

Vi = violet intense

J = jaune

Révélateur = Vanilline
sulfurique

V Vi

j

G G₅

RfC₅ = 0,55

Support : Silice GF 254 pour ccm
Dépôts : 10 µl de chaque solution
Solvant : Benzène pur
Révélateur : Vanilline sulfurique

3. Etude de la fraction H :

3.1. Séparation des composés de H :

3.1.1. Chromatographie sur colonne :

a. Préparation de la colonne

(cf techniques générales d'étude page 37)

b. Dépôt de la fraction à étudier

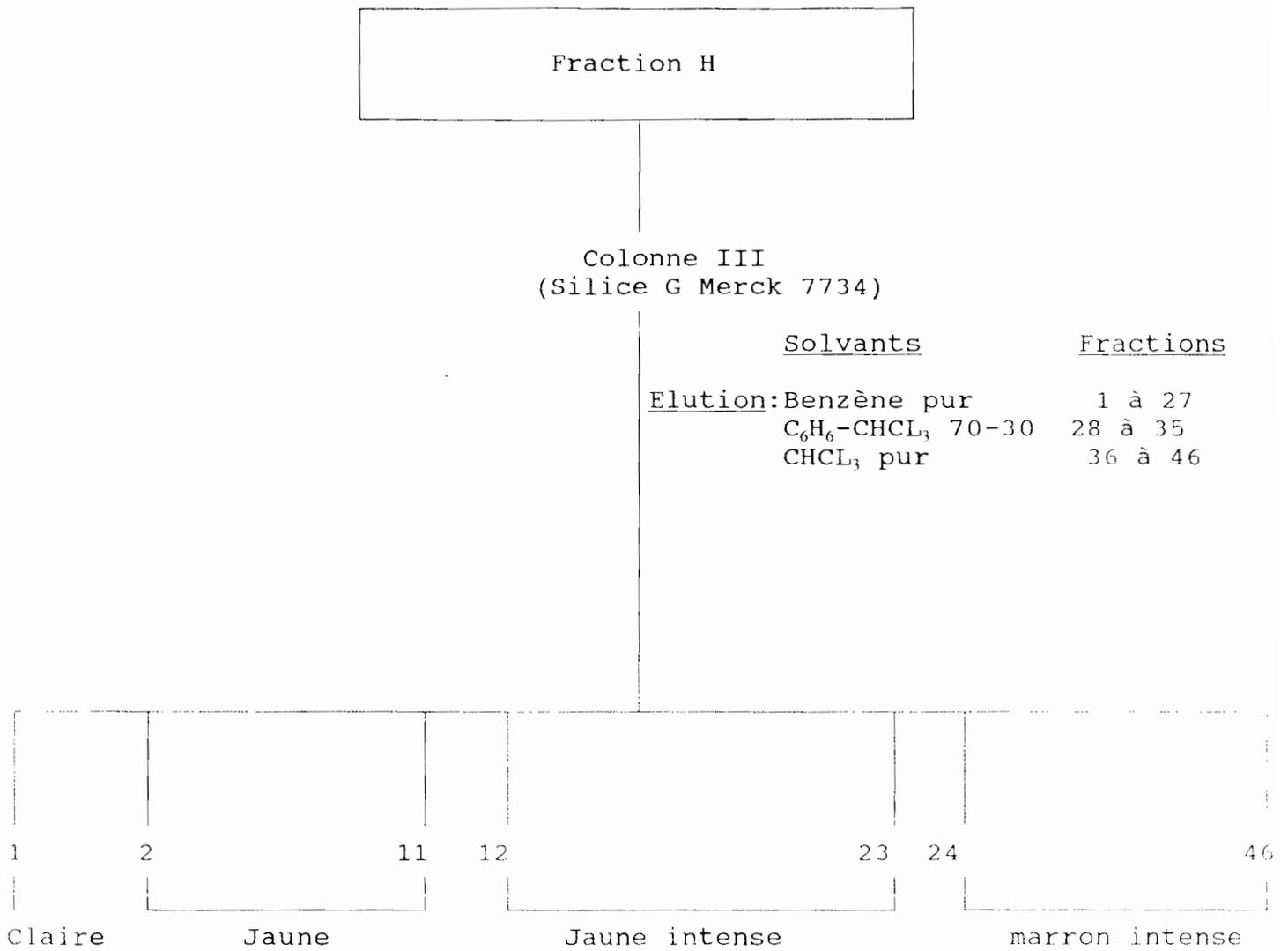
(cf techniques générales d'étude page 37)

c. Elution de la colonne :

Nous avons débuté notre élution par du benzène pur, suivi du gradient benzène - chloroforme 70 - 30 et enfin du chloroforme pur.

Au terme de cette élution 46 fractions de 90 ml chacune et de fluorescence différente à la lumière UV 254nm ont été recueillies suivant le schéma de la figure Figure N°7

Figure N°7



3.1.2. Chromatographie sur couche mince :

a. Support :

Silice GF 254 d'épaisseur 0,2 mm

b. Dépôt des solutions à étudier :

(cf techniques générales d'étude page 39)

c. Solvant de migration :

Benzène pur

d. Révélateurs

- Lampe U.V à 254 nm
- Vanilline sulfurique
- Potasse alcoolique à 10%

Après le développement, nous observons que :

- toutes les fractions, à l'exception des fractions 1 et 4, présentent deux tâches violettes qui migrent à des niveaux différents. Ces tâches violettes ne réagissent qu'à la vanilline sulfurique.

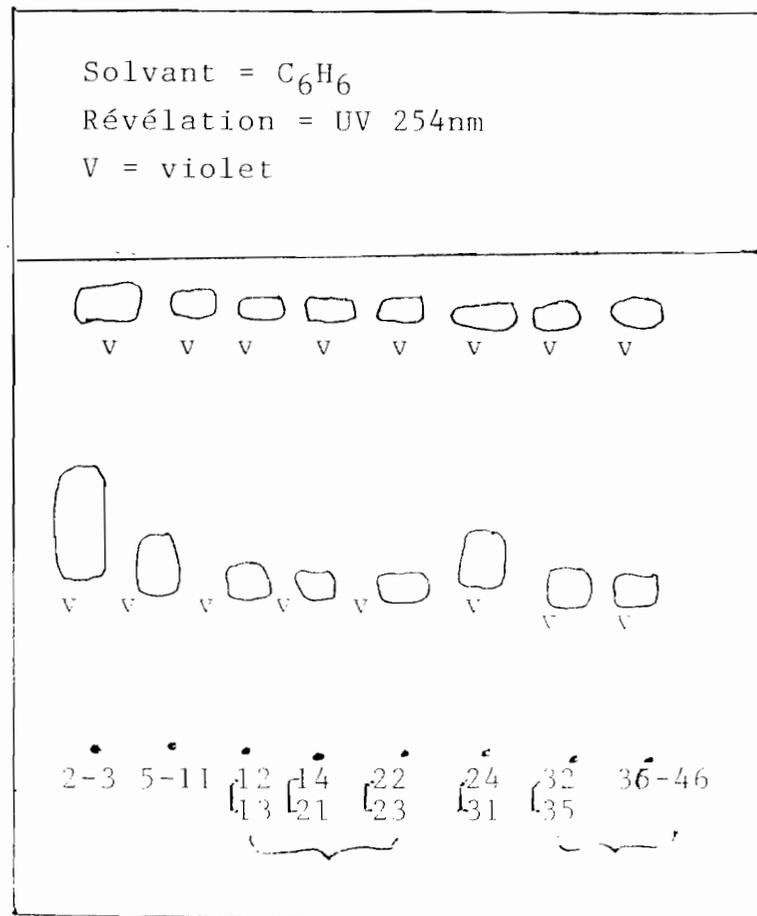
Les premières tâches violettes migrent au même niveau. Les deuxièmes aussi migrent au même niveau:

- la fraction 1 ne contient aucun composé
- la fraction 4 contient un composé jaune ne réagissant qu'à la potasse alcoolique 10%

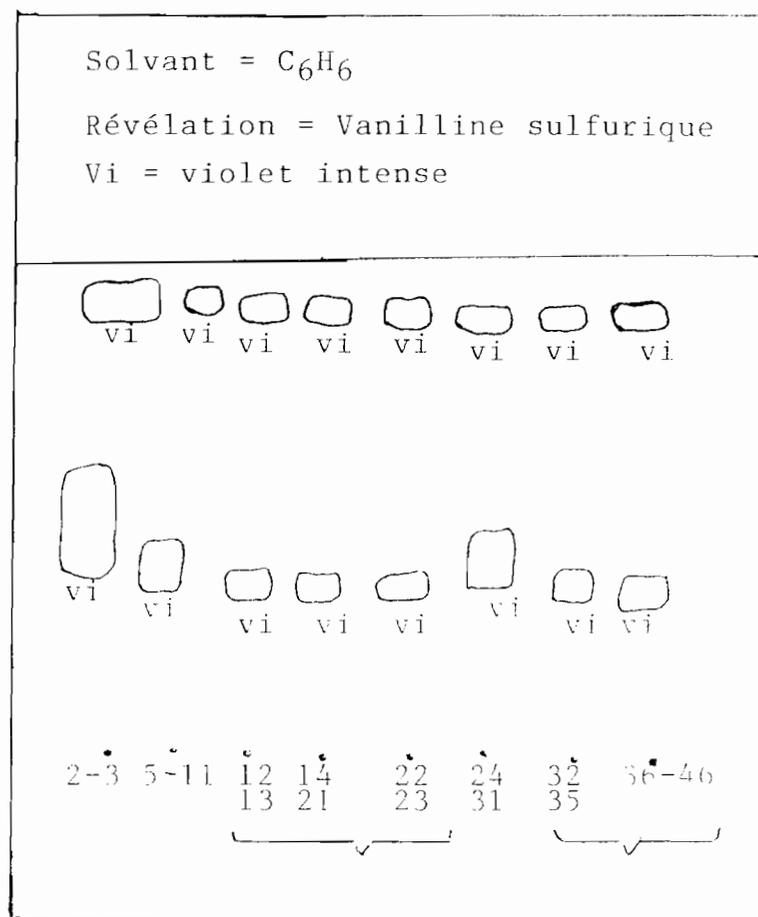
Nous avons choisi de purifier les fractions contenant les composés violets après avoir réuni et nommé celles qui sont identiques :

fractions 2 + 3 en H₁
 fractions 5 à 11 en H₂
 fractions 12 à 23 en H₃
 fractions 24 à 31 en H₄
 fractions 32 à 46 en H₅

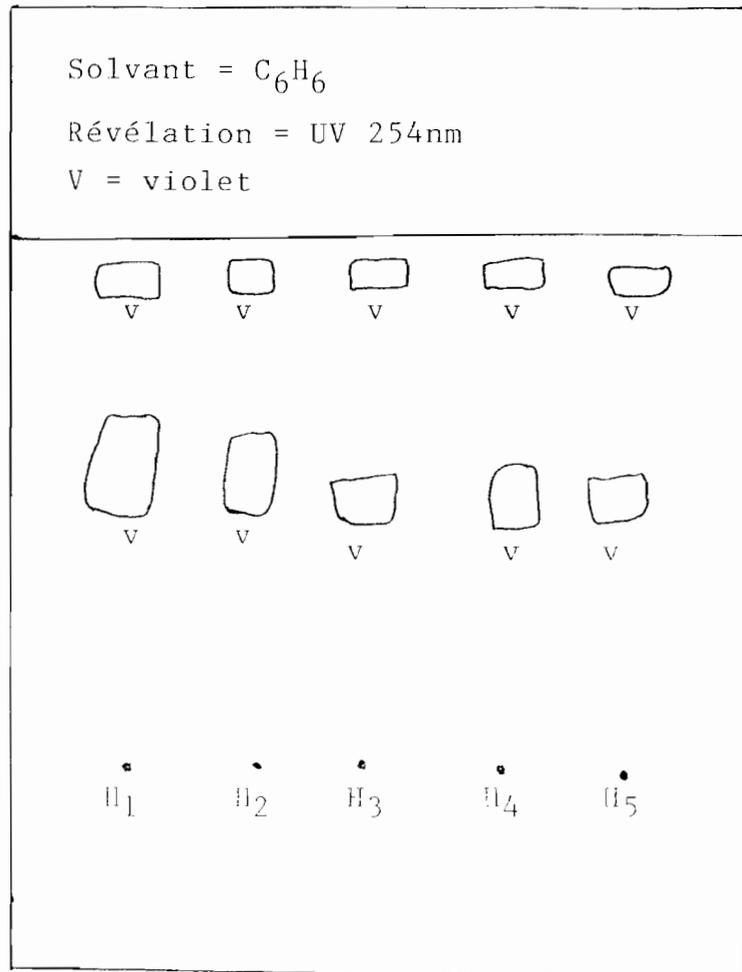
Leur comportement chromatographique est consigné dans les chromatogrammes N°(12); (13); (14); (15)

Chromatogramme N°12

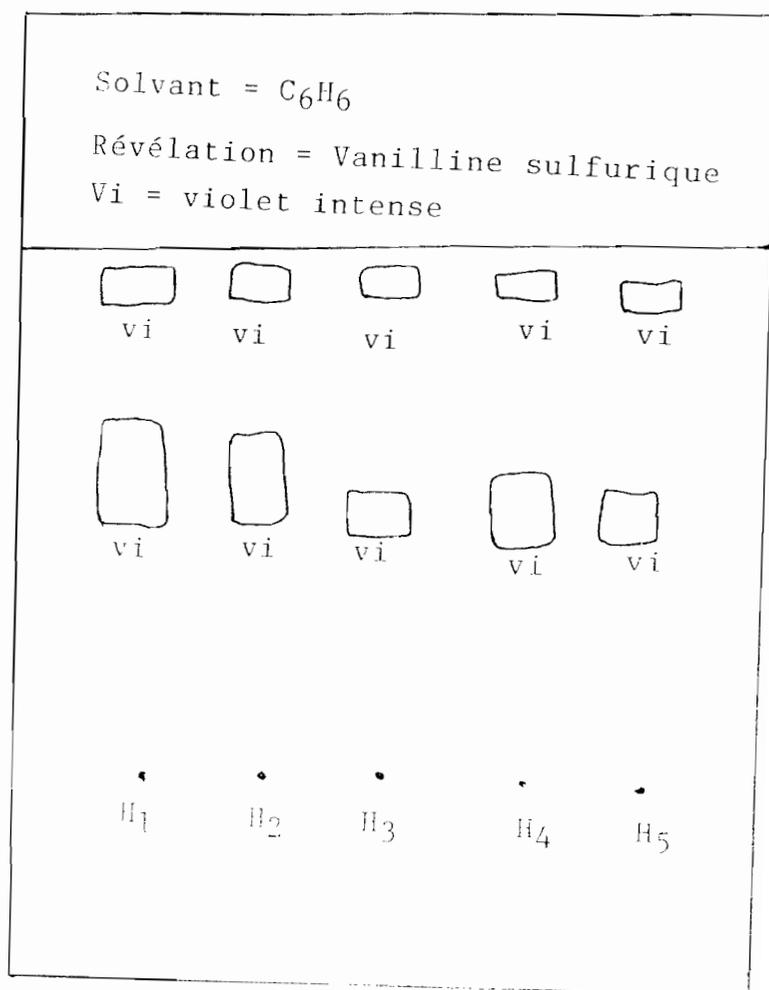
Support : Silice GF 254 pour ccm
 Dépôts : 10 μ l de chaque solution
 Solvant : Benzène pur
 Révélateur : UV 254 nm

Chromatogramme N°13

Support : Silice GF 254 pour ccm
 Dépôts : 10 μ l de chaque solution
 Solvant : Benzène pur
 Révélateur : Vanilline sulfurique

Chromatogramme N°14

Support : Silice GF 254 pour cm
Dépôts : 10 μ l de chaque solution
Solvant : Benzène pur
Révélateur : UV 254 nm

Chromatogramme N°15

Support : Silice GF 254 pour ccm
Dépôts : 10 μ l de chaque solution
Solvant : Benzène pur
Révélateur : Vanilline sulfurique

3.2. Purification des composés :

Nous avons choisi de purifier les composés réagissant positivement à la vanilline sulfurique. Ce sont les composés de fluorescence violette à la lumière ultra violette à 254 nm

3.2.1 Chromatographie préparative :

a. Solvant de migration :

Benzène pur

b. Révéléateur :

Lampe UV à 254 nm

Après la migration, les bandes révélées sont repérées à la lumière ultra violette à 254 nm

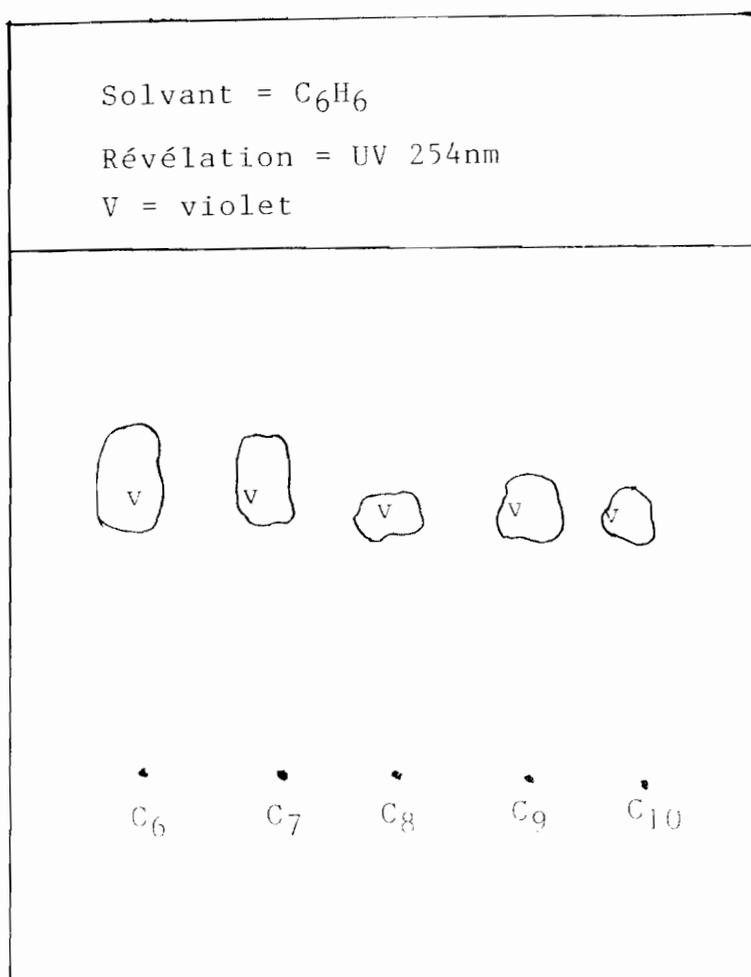
3.2.2. Colonne :

Pour chaque fraction, nous avons gratté et élué séparément les deux bandes avec de l'éthanol pur à 95° dans une colonne contenant du coton.

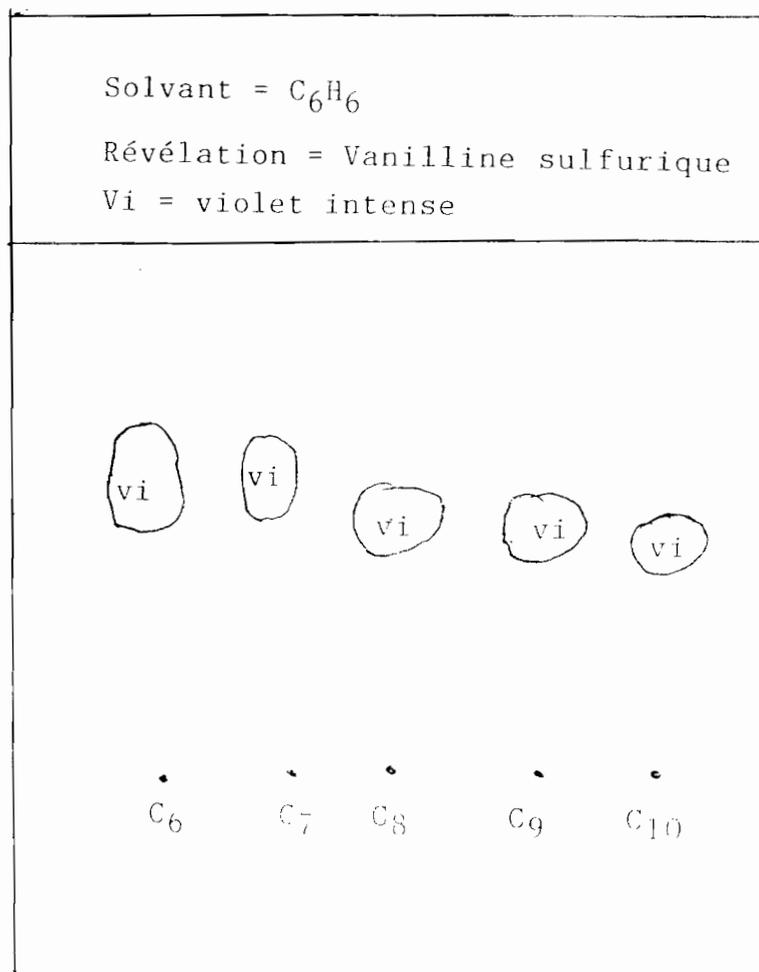
Nous signalons qu'à l'issue de la colonne III, avant la purification, les fractions H₁ et H₂ ont cristallisé. La pureté des composés obtenus est contrôlée de nouveau par chromatographie sur couche mince. Nous observons que chaque fraction donne une tâche violette à la lumière ultra violette à 254 nm devenant violette intense après révélation à la vanilline sulfurique :

- les composés 1 et 2 de H₁ sont nommés C₆ et C'₆
- les composés 1 et 2 de H₂ sont nommés C₇ et C'₇
- les composés 1 et 2 de H₃ sont nommés C₈ et C'₈
- les composés 1 et 2 de H₄ sont nommés C₉ et C'₉
- les composés 1 et 2 de H₅ sont nommés C₁₀ et C'₁₀

Leur comportement chromatographique est consigné dans les chromatogrammes N° (16); (17) ; (18) et (19)

Chromatogramme N°16

Support : Silice GF 254 pour cm
Dépôts : 10 μ l de chaque solution
Solvant : Benzène pur
Révélateur : UV 254 nm

Chromatogramme N°17

$$RfC_6 = 0,56$$

$$RfC_7 = 0,55$$

$$RfC_8 = 0,46$$

$$RfC_9 = 0,45$$

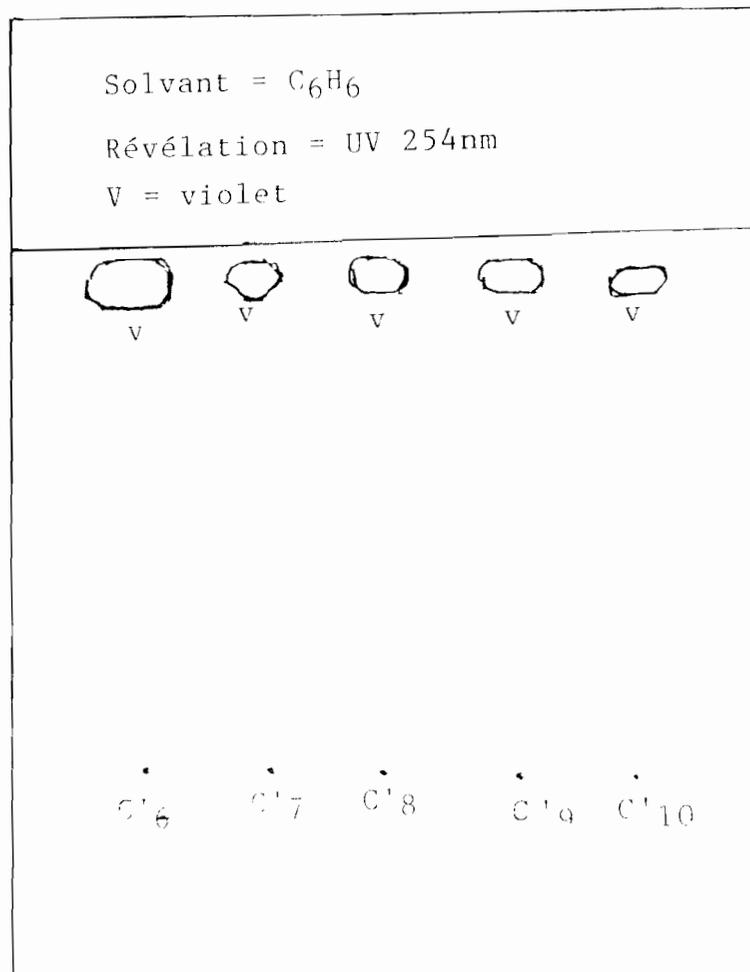
$$RfC_{10} = 0,42$$

Support : Silice GF 254 pour ccm

Dépôts : 10 μ l de chaque solution

Solvant : Benzène pur

Révélateur : Vanilline sulfurique

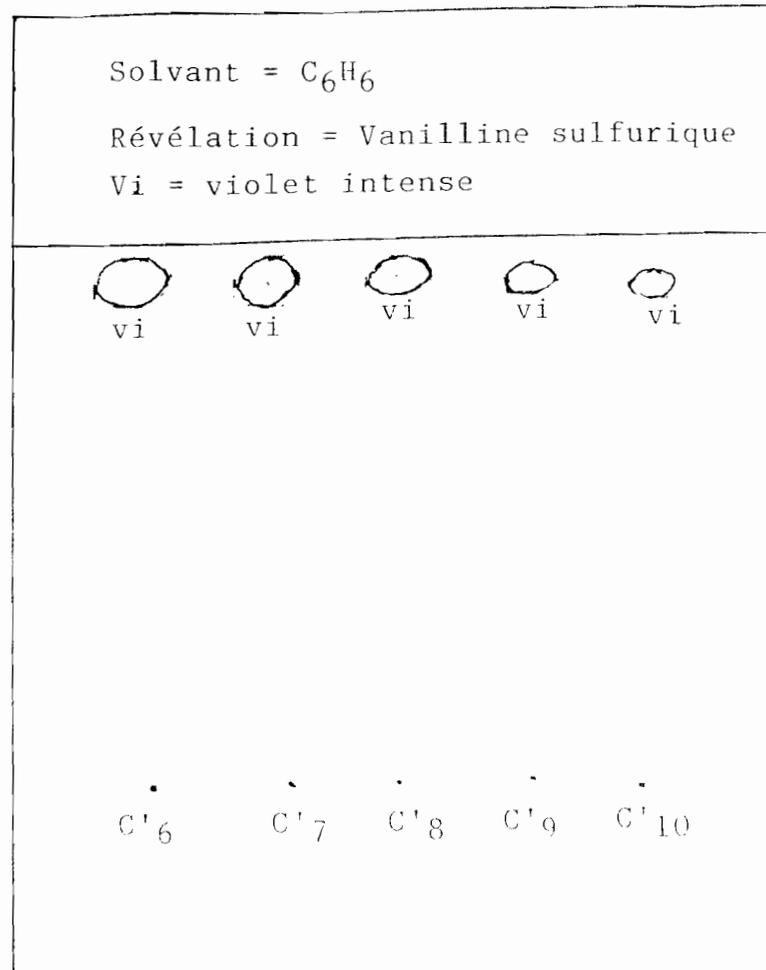
Chromatogramme N°18

Support : Silice GF 254 pour ccm

Dépôts : 10 μ l de chaque solution

Solvant : Benzène pur

Révélateur : UV 254 nm

Chromatogramme N°19

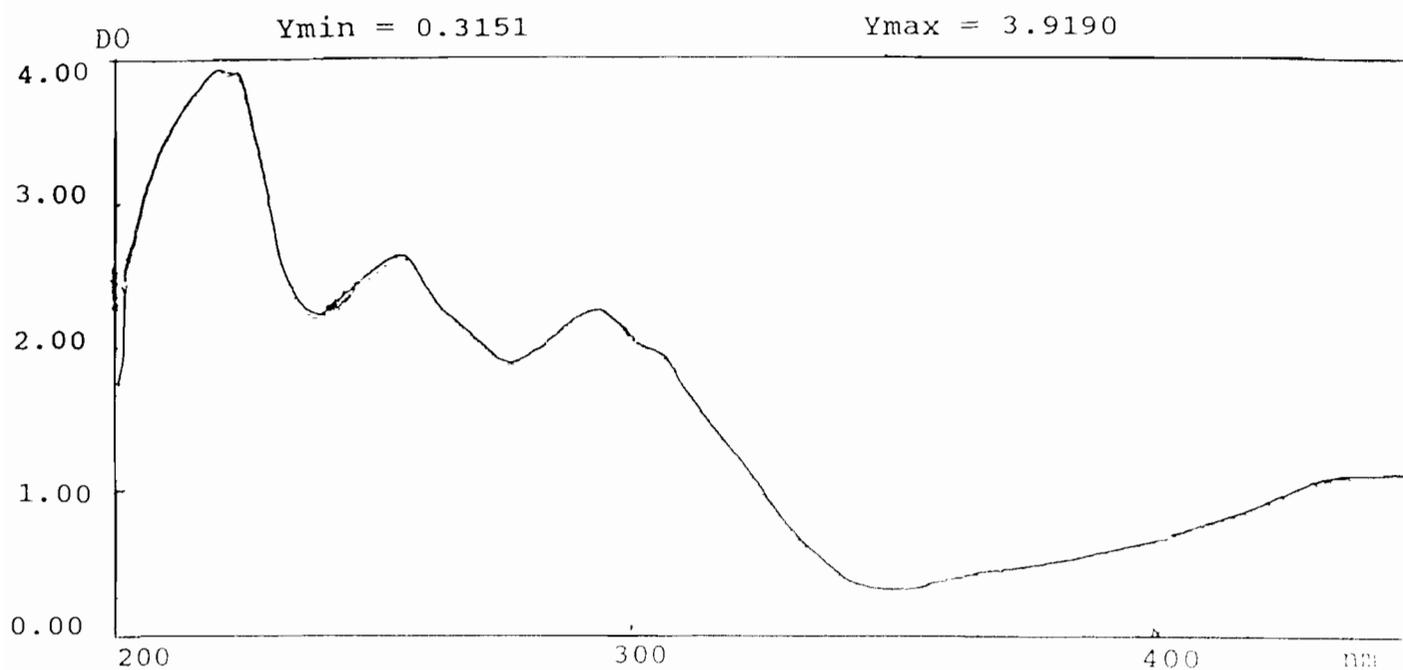
RfC'₆ = 0,93
 RfC'₇ = 0,92
 RfC'₈ = 0,92
 RfC'₉ = 0,91
 RfC'₁₀ = 0,91

Support : Silice GF 254 pour cm
 Dépôts : 10 μ l de chaque solution
 Solvant : Benzène pur
 Révélateur : Vanilline sulfurique

VI. IDENTIFICATION DES COMPOSES

Nous avons pu réaliser la spectrométrie UV du composé C_8
Nous présentons sur la figure N°8 le spectre UV de ce composé réalisé à Toulouse.
A notre avis les composés C_6 à C_{10} sont identiques, de même que les composés C'_6 à C'_{10} .

Figure N°8 Spectre UV du composé 8 dans le méthanol



Peak detection results

Sensitivity value.....	0.1000
Sensitivity mode.....	Abs
	Sample 1
	Loc
	Value
	peak
	442.00
	1.0788
	peak
	291.00
	2.2259
	peak
	253.00
	2.5804
	peak
	220.00
	3.9190

Ce spectre est caractéristique des Xanthones avec quatre maximums d'absorption (442 nm ; 291 nm ; 253 nm et 220 nm)

**COMMENTAIRES
ET
DISCUSSIONS**

COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

Sur le plan phytochimique, peu de travaux ont été réalisés sur Psorospermum guineense Hochr. Toute fois, c'est une plante qui constitue un véritable domaine d'intérêt pour la Division Médecine Traditionnelle, car elle y a fait l'objet de trois thèses d'exercice en pharmacie et d'une thèse d'expérimentation en Médecine

- la première thèse d'exercice a réalisé les enquêtes auprès des tradipraticiens concernant les usages en Médecine Traditionnelle (22)
- la deuxième thèse a porté sur la formulation galénique de pommade à base de Psorospermine (principe actif) avec excipient le beurre de karité (thèse en cours)
- la troisième thèse qui est la nôtre a permis de mettre en évidence les différentes classes chimiques (anthracéniques libres, stérols et terpènes, tannins catéchiques, et coumarines) contenues dans la poudre de racines et d'obtenir des fractions contenant chacune un seul composé
- la quatrième thèse a permis de tisser un lien de travail entre la Division Médecine Traditionnelle et l'Institut Marchoux, où la pommade à la Psorospermine est prescrite aux malades atteints d'eczéma (thèse en cours).

L'espèce febrifugum a donné lieu à de nombreuses applications surtout dans la pharmacopée indienne. De nombreux composés identifiés (anthracéniques, Xanthones, Xantholignanes) que nous avons rappelés dans les travaux antérieurs sont certainement similaires aux composés que nous avons nous mêmes décelés sur Psorospermum guineense Hochr. Malheureusement, nous n'avons pas pu disposer de témoins pour les comparer en chromatographie sur couche mince.

Nous souhaiterions réaliser dans ce travail l'analyse spectrale pour identifier tous les composés isolés et purifiés. Mais vu nos moyens limités, nous n'avons pu effectuer que celle du composé 8. Et ce, grâce à l'appui du laboratoire de Pharmacognosie de l'Université Paul Sabatier de Toulouse (France).

Nous avons constaté, lors de nos séances de récolte que certaines feuilles étaient infectées. Nous aurions aimé les étudier, notamment sur le plan bactériologique. Malheureusement, nous avons été confrontés au problème crucial de manque de réactif.

Le pigment rouge de nature anthraquinonique signalé dans les racines et ayant la même action que l'hypericine, ne passe pas dans le décocté aqueux. Ce qui est beaucoup réconfortant, surtout que le décocté aqueux est la forme pharmaceutique la plus utilisée dans le milieu traditionnel.

Malgré un indice de mousse de 200, nous n'avons pas décelé la présence de saponosides par chromatographie sur couches minces. Ce qui est conforme aux résultats de Mlle Planche O. (58), (57) et de I. DIARRA (22).

Nous avons déplacé une partie importante de nos travaux, personnels vers l'étude botanique de la plante car cette étude était à compléter pour identification correcte de la plante (photos, habitat au Mali, contrôle de qualité de la drogue).

Le travail que nous avons réalisé permettra à notre humble avis aux chercheurs du département de la Médecine Traditionnelle de travailler plus vite sur de plus grande quantité de matière première pour la purification et l'identification des composés que nous avons pu séparer.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Au terme de ce travail, nous soulignons tout particulièrement la qualité de l'encadrement et la motivation des travailleurs du laboratoire dans lequel nous avons évolué durant ces treize mois.

Ce stage nous a permis de nous familiariser avec les techniques de recherches en Phytochimie.

L'étude que nous avons faite sur Psorospermum guineense Hochr. (Hypericaceae) comporte principalement deux parties : une partie de recherches bibliographiques sur les travaux antérieurs et les usages en Médecine Traditionnelle et une partie expérimentale sur les recherches phytochimiques.

La première partie a consisté d'abord en un rappel :

- de la botanique, notamment : de la position systématique, de la description de la plante, de l'habitat et des caractères organoleptiques, macroscopiques et microscopiques :
- de la chimie
- et de la pharmacologie

La deuxième partie (Recherches phytochimiques) qui a porté sur la poudre de racines de Psorospermum guineense Hochr., comporte :

- les tests physico-chimiques
- l'étude des fractions contenant les composés majoritaires.

Pour le dosage de l'eau, nous avons utilisé les méthodes azéotropique et gravimétrique. Le dosage des cendres concerne les cendres totales, sulfuriques et insolubles dans l'acide chlorhydrique .

Les essais préliminaires effectués au moyen de réactions en tube et de chromatographie sur couche mince, nous ont permis de mettre en évidence dans la poudre de racines de Psorospermum guineense Hochr les classes chimiques suivantes : anthracéniques libres, coumarines, stérols, tannins catéchiques et terpènes.

L'étude des fractions a été réalisée par les techniques suivantes :

- fractionnement : extraction au soxhlet
- chromatographie : chromatographie sur colonne, chromatographie sur couche mince de contrôle et chromatographie préparative sur plaques
- étude spectrale : spectrométrie ultra-violette

Au terme de ces recherches phytochimiques, nous avons purifié et isolé de nombreux composés chimiques dont un seul à été soumis à la spectrométrie ultra violette.

L'étude toxicologique et pharmacologique de nos extraits et des composés auxquels ils doivent leur activité, serait complémentaire de notre étude phytochimique. Il est souhaitable de l'envisager.

Par ce travail nous pensons donner un nouveau souffle à la Médecine Traditionnelle et apporter notre modeste contribution à sa révalorisation.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

1. **ADJANOHOOUN E.J.et Coll**
Médecine traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République populaire du Bénin. Ed.A.C.C.T.,Paris,(1989)
2. **ADJANOHOOUN E.J. et Coll**
Médecine Traditionnelle et Pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et Floristiques au Mali. Ed.A.C.C.T.,Paris, 1980
3. **ADJANOHOOUN E.J et Coll**
Médecine Traditionnelle et Pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. Ed.A.C.C.T.,Paris,(1986)
4. **ANDREW M., JEAN C.C., BERNARD S., JEROME D.M. AND KURT II.**
Antracenic derivatives from *Psorospermum febrifugum* and their in vitro cytotoxicities to a human colon carcinoma. Cell, line *Planta Medica*, PP 207-210,(1986)
5. **BERHAUT J.**
FLORE du Sénégal. Clairafrique; Dakar, (1967)
6. **BERHAUT J.**
Flore illustrée du Sénégal; Tome I. Dakar,(1971)
7. **BERHAUT J.**
Flore illustrée du Sénégal ; Tome II. Dakar. (1974)
8. **BERHAUT J.**
Flore illustrée du Sénégal ; Tome III, Dakar, (1975)
9. **BERHAUT J.**
Flore illustrée du Sénégal : Tome IV. Dakar, (1975)
10. **BERHAUT J.**
Flore illustrée du Sénégal ; Tome V, Dakar. (1976)
11. **BERHAUT J.**
Flore illustrée du Sénégal ; Tome VI, Dakar, (1979)
12. **BOTTA B. DELLE M.F., DELLE M.G. MARINI B.G.B., MSONTHI J.D.**
Prenylated bianthrone and vismione F from *Psorospermum febrifugum* ; *Phytochemistry*, vol 22, N°4. PP 827 - 830, (1985)

- 13. BOTTA B. DELLE M.F, DELLE M.G., MARINI B.G.B. and OGUAKWA J.U.**
3-geranyl oxy-6 methyl 1,8. Dihydroxyanthraquinone and vismiones C,D and E from phytochemistry, vol 22, N°2, PP 539-542, (1983)
- 14. BOTTA B., DELLE M.F., DELLE M.G. and KABANGU K.**
Acetylvismione D from Psorospemum febrifugum Phytochemistry, vol 25, N°3, P. 766, (1986)
- 15. CAMARA D.**
Sur l'utilisation des plantes à action cicatrisante ou antiseptique externe ;
Thèse Pharm, Bamako, (1984)
- 16. CESAR F.P.B.**
Des plantes qui nous ont guéris ; Petit séminaire de Pabre BP. 4393 Ouagadougou, (1981)
- 17. CHOPRA G.N., CHOPRA I.C., HANDA K.L and KAPUR L.D.**
Chopra's indigenous drungs of India ; 1 vol, Dhur and sons édit., 2^{em} éd, Calcutta, (1938)
- 18. CRETE .P**
Précis de botanique : systématique des Angiospermes, 7^{em} éd.révisée, P. 239, (1989)
- 19. DEGOS R.**
Dermatologie : éd flammariion Médecine-Sciences ; Paris. (1981)
- 20. DEYSSON G.**
Elements d'anatomie des plantes vasculaires, SEDES, Paris, (1965)
- 21. DIAKITE D.**
Essais sur les traditions sanitaires et médicinales Bambara du Bélé Dougou.
Thèse Méd, P. 234, Bamako, (1988)
- 22. DIARRA I.**
Contribution à l'étude de dermatoses et leurs traitements en Médecine Traditionnelle au Mali. Thèse Pharm, P. 131, Bamako, (1991)
- 23. DUJARDIN. B. et EGASSE E.**
Les plantes médicinales indigènes et toxiques ; 1 vol ; P. 845 avec 1034 fig et 40 planches O. DOWING éd, Paris (1989)
- 24. FOFANA S.**
Contribution à l'étude phytochimique et pharmacologique de Acacia segal Del (Mimosaceae). Thèse Pharm, P.111, Bamako, (1993)

25. GARNIER D.

Dictionnaire des termes techniques de Médecine. 20^e éd. Maloine S.A. Editeur, Paris (1980)

26. GOMES E.T.

Contribution à l'étude phytochimique de Vepris heterophylla R. Let. (Rutaceae)
Thèse Doct. 3^{em} cycle E.S Sciences pharmaceutiques. Université Paul Sabatier, Toulouse, (1982)

27. GUINARD J.L.

Abrégé de Botanique. 6^{em} éd. Masson, PP 170-172, (1986)

28. HABIB A.M., KALAKOTA S.R., THOMAS G, Mc C., CHING J.C. and JOHN. M.C.

New xanthenes from Psorospermum febrifugum ; journal of natural products, vol 50, N°2, PP. 141-145, Mars-Apr. (1987)

29. HEGNAUER R.

Chemotaxonomie der Pflanzen ; 5 vol., Birkhäuser verlag, 5, P. 130 Basel und Stuttgart, (1962-1968)

30. HUTCHINSON J.F.

Flora of west tropical africa. vol1, a part 1, P. 232. London, (1954)

31. JESSEN L.B.

US Patent 2, P. 250-254. (1951)

32. KAHLEN G.

Recherches préliminaires de plantes à propriétés antifongiques parmi la flore sénégalaise: 4^{em} Colloque du CAMES, Libreville, (1979)

33. KERHARO J., ADAM J.C.

La pharmacopée sénégalaise traditionnelle Plantes médicinales et toxiques. Vigot et Frères éd, P. 1017, Paris, (1974)

34. KOUMARE M.

Point de vue sur l'utilisation des médecines traditionnelles dans les Etats Africains : 3^{em} symposium inter-africain sur les plantes médicinales et les pharmacopées traditionnelles, Caire, (1975)

35. KURT R.

Chromatographie sur couches minces. 2^{em} édition revue et augmentée, (1971)

36. LAURENS A.

Activité antimicrobienne de quelques espèces médicinales des marchés Dakarois: communication personnelle,(1983)

37. LEYE G.et PARES Y.

Action du latex sur la croissance de divers microorganismes appartenant au genre Mycobacterium, Neisseria, Maraxella et Bacillus ; 4^{em} Colloque CAMES,P.145-149, Libreville, (1979)

38. MANUILA A.,MANUILA L.,NICOULIN M.

Dictionnaire médical 5^{em} ed. complétée Masson Editeur,Paris,(1992)

39. MARSTON A. and HOSTETTMANN K.

Application of centrifugal countercurrent chromatography in the separation of natural products; 36th annual congress on Medicinal plant research. Planta medica, P.558, Freiburg,(1938)

40. MAURIN E.

Recherche des dérivés anthracéniques dans le genre Cassia ; Bull.Sc.Pharmacolog;34.PP 10-12,(1927)

41. MERCK E.A.G.D.

Révélateurs pour la chromatographie en couches minces et sur papier. Allemagne (1969)

42. MOHAMED A.S., FRED E.B. ,CHING J.C. and JOHN M.C.

Antitumoral and cytotoxic xanthones of Psorospermum febrifugum; Phytochemistry vol 27, N°9. PP.2795-2800, (1988)

43. MOHAMED A.S.,ABDEL A.H.,CHING J.C. and JOHN M.C.

Seven xanthonolignoids from Psorospermum febrifugum ; phytochemistry, vol 28,N.9,PP 2487,(1989)

44. MORIS K.S., DAVID R.R. and ALBERT T.S.

Psorospermum a new antileukemic xanthone from Psorospermum febrifugum : Journal of National products vol 43, N.2;PP 296-301,(1980)

45. MOULIN G.

Dermatologie ; Smep S.A. 3^{em} ed.France,(1980)

46. NICKEL L.G.

Antimicrobial activity of vascular plants. Economic Botany, 13, PP.281-318, (1959)

47. **PARES Y., ANDRE M. et Col**
Etude des plantes utilisées en Médecines traditionnelles africaines pour le traitement de la lèpre; 4^{em} Colloque, P.64-66, Libreville, (1979)
48. **PARIS M. , HURABIELLE M.**
Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie). Tome 1, Masson, Paris, (1981)
49. **PARIS R., NOTHIS A.**
Plantes médicinales et phytothérapie. Tome 3, N°4, P.274, (1969)
50. **PARIS. R., NOTHIS A.**
Plantes médicinales et phytothérapie. Plantes à dérivés polyphénoliques 4(1), P. 63-74, (1970)
51. **PARIS R.R., PEREYRA A.A.**
Plantes médicinales et phytothérapie. Tome 2, N°2, P.90, (1968)
52. **PARKAN J.**
Dendrologie forestière UNESCO, 1973
53. **PHARMACOPEE FRANCAISE**
VIII^e ed, 1^{re} partie. (1965)
54. **PHARMACOPEE FRANCAISE**
IX^e ed, 1^{re} partie, (1974)
55. **PHARMACOPEE FRANCAISE**
IX^e ed, 2^{em} partie, (1975)
56. **PLANCHE O.**
Etude d'une Hypericacee de Guinée, le Kari djakuma (Psorospermum guineense Hochr.) Thèse Doct. Pharm. Univ., Paris (1948)
57. **PLANCHE O.**
Le (Psorospermum guineense Hochr. ou "Karidjakouma" de la Guinée Française. Ann. Pharm, fr, 6, PP.546-565, (1948)
58. **ROBIN R.P., GRAHAM C.R.**
Antineoplastic agents from higher plants; Application of tandem mass spectrometry to xanthenes from Psorospermum febrifugum, Journal of natural products, vol 49, N°3, PP.412-423, (1986)

59. SANOGO M.

Contribution à l'étude botanique et phytochimique de Daniellia oliveri (Rolfe) Hutch et Dalz (Caesalpinaceae), Thèse Pharm, P 108, Bamako, (1991)

60. SCHATZ J.

Un objectif en commun. Sant.mond, OMS, (1979)

61. SEN G.K.P., GANGULI N.C., BHATTACHARJEE N.R.S.

Bacteriological and pharmacological studies of a vibriocidal drug derived from an indigenous source. Antiseptic,53,PP.287-292,(1956)

62. STAHL E.

Analyse chromatographique et microscopique des drogues. Entreprise moderne d'édit technique et documentation (1974)

63. STAHL E.

Thin layer chromatography; A laboratory Hand book 2em édit Springer-Verlag,Berlin,(1969)

64. SUSPLUGAS et Coll.

Plantes médicinales et phytothérapie. Tome XII, N°1, P.31, (1978)

65. THOMSON R.H.

Natural occurring quinones; 2em ed, departement of chemistry, University of Aberdeen, Scotland. (1971)

66. TRAORE D.

Magie et Médecine africaine. Comment les Noirs se soignent-ils ? (1983)

67. VALNET J.

Phytotherapia : Traitement des maladies par les plantes, 4^{em} ed. Maloine S.A. (1979).

RESUME

Nom : TANGARA

Prénom : Alassane

Titre de la thèse: " Contribution à l'étude phytochimique de Psorospermum guineense Hochr. (Hypericaceae)

Année : 1994

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : République du Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali

Secteur d'intérêt : Recherche en Médecine Traditionnelle

Résumé :

Après une recherche bibliographique portant sur la botanique puis les usages en Médecine Traditionnelle, des études phytochimiques ont été menées sur la poudre de racines entières de Psorospermum guineense Hochr.

Les essais chimiques ont révélé la présence des anthracéniques libres, anthraquinones, coumarines, stéroïls, tannins catéchiques et terpènes.

L'étude des fractions renfermant les composés majoritaires a permis d'isoler et de purifier de nombreuses molécules.

Le spectre UV dans le méthanol d'une des molécules purifiées est caractéristique des xanthones. Ce qui a permis de dégager une parenté de structure entre les constituants chimiques de Psorospermum guineense et de l'espèce voisine, Psorospermum febrifugum.

Mots-clés : Psorospermum guineense - Hypericaceae - Eczémas - Etude - Phytochimique.

SERMENT DE GALIEN.

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes condisciples.

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

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

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

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