## MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



### RÉPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE UNION-DISCIPLINE-TRAVAIL



Année : 2018– 2019 N°....

### **THÈSE**

Présentée en vue de l'obtention du

## DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

#### ASSEMIAN AKASSI MARIELLE ROSALYNDA

PROCEDE D'EXTRACTION GLOBALE DES COMPOSES

PHYTOCHIMIQUES POUR L'EVALUATION

ANALYTIQUE DES PRODUITS A BASE DE PLANTES

Soutenue publiquement	: 
-----------------------	-------

#### **COMPOSITION DU JURY:**

Président du jury : Monsieur MALAN Kla Anglade, Professeur titulaire

Directeur de thèse : Monsieur BONY François Nicaise, Maître de conférences agrégé

Assesseurs: Madame KOUAKOU SIRANSY Gisèle, Professeur Titulaire

: Monsieur ADJOUGOUA Attoli Léopold, Maître-Assistant

ADMINISTRATION ET PERSONNEL ENSEIGNANT
DE L'UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET
BIOLOGIQUES

#### II. HONORARIAT

Directeurs/Doyens Honoraires ProfesseurRAMBAUD André

Professeur FOURASTE Isabelle

Professeur BAMBA Moriféré

Professeur YAPO Abbé

Professeur MALAN Kla Anglade

Professeur KONE Moussa

Professeur ATINDEHOU Eugène

### III. ADMINISTRATION

Directeur Professeur KONE-BAMBA Diénéba

Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie Professeur Ag IRIE-N'GUESSAN A

Sous-Directeur Chargé de la Recherche Professeur Ag DEMBELE Bamory

Secrétaire Principal Madame NADO-AKPRO Marie Josette

Documentaliste Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert

Intendant Monsieur GAHE Alphonse

Responsable de la Scolarité Madame DJEDJE Yolande

## IV. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

## 1- PROFESSEURS TITULAIRES

M.ABROGOUA Danho Pascal Pharmacie Clinique

Mme AKE Michèle Chimie Analytique, Bromatologie

MM AMARI Antoine Serge G. Législation

AMIN N'Cho Christophe Chimie Analytique

MM ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L. Biochimie et Biologie Moléculaire

MM.DANO Djédjé Sébastien Toxicologie

GBASSI K. Gildas Chimie, Physique Générale

INWOLEY Kokou André Immunologie

Mme KONE BAMBA Diéneba Pharmacognosie

M.KOUADIO Kouakou Luc Hydrologie, Santé Publique

Mme KOUAKOU-SIRANSY Gisèle Pharmacologie

MM.MALAN Kla Anglade ChimieAnalytique,Contrôlede Qualité

M MENAN Eby Ignace Parasitologie - Mycologie

M MONNET Dagui Biochimie et Biologie

Moléculaire

Mme SAWADOGO Duni Hématologie

M. YAVO William Parasitologie-Mycologie

### 2- MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M. AHIBOH Hugues Biochimie et Biologie Moléculaire

Mmes AKE-EDJEME N'Guessan AngèlE BiochimieetBiologie Moléculaire

BARRO-KIKI Pulchérie Parasitologie - Mycologie

M. BONY François Nicaise Chimie Analytique

DALLY Laba Ismael Pharmacie Galénique

DEMBELE Bamory Immunologie

Mme DIAKITE Aïssata Toxicologie

M. DJOHAN Vincent Parasitologie – Mycologie

Mme FOFIE N'Guessan Bra Yvette Pharmacognosie

Mme IRIE-N'GUESSAN Amenan Pharmacologie

M. KASSI Kondo Fulgence Parasitologie-Mycologie

KOFFI Angely Armand Pharmacie Galénique

Mme KOUAKOU-SACKOU Julie Santé Publique

M. KOUASSI Dinard Hématologie

LOUKOU Yao Guillaume Bactériologie-Virologie

M. MANDA Pierre Toxicologie

M OGA Agbaya Stéphane Santé Publique et Economie de la Santé

OUASSA Timothée Bactériologie-Virologie

OUATTARA Mahama Chimie Organique, Chimie Thérapeutique

Mme POLNEAU-VALLEE Sandrine Mathématiques-Statistiques in memorium

Mme SANGARE TIGORI Béatrice Toxicologie

MM. YAPI Ange Désiré Chimie Organique, Chimie Thérapeutique

M. YAYO Sagou Eric Biochimie et Biologie Moléculaire

M. ZINZENDORF NangaYessé Bactériologie-Virologie

3- MAITRES ASSISTANTS

MM. ADIKO Aimé Cézaire Immunologie

ADJAMBRI Adia Eusebé Hématologie

ADJOUNGOUA Attoli Léopold Pharmacognosie

Mmes ABOLI-AFFI Mihessé Roseline Immunologie

AKA ANY-GRAH Armelle Adjoua S. Pharmacie Galénique

ALLA-HOUNSA Annita Emeline Santé Publique

M. ANGORA Kpongbo Etienne Parasitologie-Mycologie

Mmes AYE-YAYO Mireille Hématologie

BAMBA-SANGARE Mahawa Biologie Générale

MM. CABLAN Mian N'Dédey Asher Bactériologie-Virologie

CLAON Jean Stéphane Santé Publique

COULIBALY Songuigama Chimie organique, Chimie Thérapeutique

Mmes KABLAN-KASSI Hermance Hématologie

KONAN-ATTIA Akissi Régine Santé Publique

M. KONAN Konan Jean Louis Biochimie et Biologie Moléculaire

Mmes KONATE Abibatou Parasitologie-Mycologie

KOUASSI-AGBESSI Thérèse Bactériologie-Virologie

MM. KPAIBE Sawa André Philippe Chimie Analytique

N'GUESSAN Alain Pharmacie Galénique

N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul Chimie Organique, Chimie Thérapeutique

Mme VANGA ABO Henriette Parasitologie-Mycologie

## 4- ASSISTANTS

M. AMICHIA Attoumou Magloire Pharmacologie

Mmes AKOUBET-OUAYOGODE A. Pharmacognosie

ALLOUKOU-BOKA Paule-Mireille Législation

APETE Sandrine Bactériologie-Virologie

BEDIAKON-GOKPEYA Mariette Santé Publique

BLAO-N'GUESSAN Amoin Rebecca J. Hématologie

MM. BROU Amani Germain Chimie Analytique

BROU N'Guessan Aimé Pharmacie clinique

MM. DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Pharmacologie

DJATCHI Richmond Anderson Bactériologie-Virologie

MmesDONOU-N'DRAMAN Aha Emma Hématologie

Mme DOTIA Tiepordan Agathe Bactériologie-Virologie

M. EFFO Kouakou Etienne Pharmacologie

M. KABRAN Tano Kouadio Mathieu Immunologie

M. KACOU Alain Chimie Organique, Chimie Thérapeutique

M. KAMENAN Boua Alexis Thierry Pharmacologie

M. KOFFI Kouamé Santé Publique

M. KONAN Jean Fréjus Biophysique

Mme KONE Fatoumata Biochimie et Biologie Moléculaire

Mme KOUAHO Avi Kadio Tanguy Chimie Organique, Chimie Thérapeutique

M. KOUAKOU Sylvain Landry Pharmacologie

M. KOUAME Dénis Rodrigue Immunologie

M. KOUAME Jérôme Santé Publique

Mme KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde Bactériologie-Virologie

Mme LATHRO Joseph Serge Bactériologie-Virologie

M. MIEZAN Jean Sébastien Parasitologie-Mycologie

M. N'GBE Jean Verdier Toxicologie

Mme N'GUESSAN Kakwokpo Clémence Pharmacie Galénique

M. N'GUESSAN-AMONKOU Anne C. Législation

M. ODOH Alida Edwige Pharmacognosie

Mme SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle Biochimie et Biologie moléculaire

M. SICA-DIAKITE Amelanh Chimie Organique, Chimie Thérapeutique

Mme TANOH-BEDIA Valérie Parasitologie-Mycologie

M. TRE Eric Serge Chimie Analytique

Mme TUO Awa Pharmacie Galénique

M. YAPO Assi Vincent De Paul Biologie Générale

Mme YAPO-YAO Carine Mireille Biochimie

### 5- CHARGEES DE RECHERCHE

Mmes ADIKO N'dri Marcelline Pharmacognosie

Mme OUATTARA N'gnôh Djénéba Santé Publique

## 6- ATTACHE DE RECHERCHE

M. LIA Gnahoré José Arthur Pharmacie Galénique

### 7- IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa Professeur Titulaire

Feu YAPO Abbé Etienne Professeur Titulaire

Feu OUATTARA Lassina Professeur Titulaire

Feu COMOE Léopold Maître de Conférences Agrégé

Feue POLNEAU-VALLEE Sandrine Maître de Conférences Agrégé

Feu GUEU Kaman Maître-Assistant

Feu ALLADOUM Nambelbaye Assistant

Feu COULIBALY Sabali Assistant

Feu TRAORE Moussa Assistant

Feu YAPO Achou Pascal Assistant

## V. <u>ENSEIGNANTS VACATAIRES</u>

#### 1- PROFESSEURS

M. DIAINE Charles Biophysique

M. OYETOLA Samuel Chimie Minérale

## 2- MAITRES DE CONFERENCES

M. KOUAKOU Tanoh Hilaire Botanique et Cryptogamie

YAO N'Dri Athanase Pathologie Médicale

## 3- MAITRE-ASSISTANT

M. KONKON N'Dri Gilles Botanique, Cryptogamie

#### 4- NON UNIVERSITAIRES

M. AHOUSSI Daniel Ferdinand Secourisme

COULIBALY Gon Activité sportive

DEMPAH Anoh Joseph Zoologie

GOUEPO Evariste Techniques officinales

Mme KEI-BOGUINARD Isabelle Gestion

M. KOFFI ALEXIS Anglais

KOUA Amian Hygiène

KOUASSI Ambroise Management

N'GOZAN Marc Secourisme

KONAN Kouacou Diététique

Mme PAYNE Marie Santé Publique

## COMPOSITION DES DEPARTEMENTS DE L'UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

### I. BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

Professeur LOUKOU Yao Guillaume Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

Professeurs OUASSA Timothée Maître de Conférences Agrégé

ZINZENDORF NangaYessé Maître de Conférences Agrégé

Docteurs CABLAN Mian N'DédeyAsher Maître-Assistant

KOUASSI AGBESSI Thérèse Maître-Assistant

APETE Sandrine Assistante

DJATCHI Richmond Anderson Assistant

DOTIA Tiepordan Agathe Assistante

KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde Assistante

LATHRO Joseph Serge Assistant

## II. <u>BIOCHIMIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE, BIOLOGIE DE</u> LAREPRODUCTION ET PATHOLOGIE MEDICALE

Professeur MONNET Dagui Professeur Titulaire

Chef de Département

Professeurs HAUHOUOT ép. ATTOUNGBRE M.L. Professeur Titulaire Agrégé

AHIBOH Hugues Maître de Conférences Agrégé

AKE-EDJEME N'Guessan Angèle Maître de Conférences Agrégé

YAYO Sagou Eric Maître de Conférences Agrégé

Docteurs KONAN Konan Jean Louis Maître-Assistant

KONE Fatoumata Assistante

SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle Assistante

YAPO-YAO Carine Mireille Assistante

## III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Professeur SAWADOGO Duni Professeur Titulaire

Chef de Département

Professeurs INWOLEY Kokou André Professeur Titulaire

DEMBELE Bamory Maître de Conférences Agrégé

KOUASSI Dinard Maître de Conférences

Agrégé

Docteurs ABOLI-AFFI Mihessé Roseline Maître-Assistant

ADJAMBRI Adia Eusèbe Maître-Assistant

AYE-YAYO Mireille Maître-Assistant

BAMBA-SANGARE Mahawa Maître-Assistant

ADIKO Aimé Cézaire Maître-Assistant

DONOU-N'DRAMAN Aha Emma Assistante

KABLAN-KASSI Hermance Assistante

KABRAN Tano K. Mathieu Assistant

KOUAME Dénis Rodrigue Assistant

N'GUESSAN-BLAO A. Rebecca S. Assistante

YAPO Assi Vincent De Paul Assistant

## IV. CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

Professeur MALAN Kla Anglade Professeur Titulaire

Chef de Département

Professeurs AKE Michèle Professeur Titulaire

AMIN N'Cho Christophe Professeur Titulaire

GBASSI Komenan Gildas Professeur Titulaire

BONY Nicaise François Maître de Conférences Agrégé

Docteurs KPAIBE Sawa André Philippe Maître-Assistant

BROU Amani Germain Assistant

TRE Eric Serge Assistant

## V. <u>CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE</u>

Professeur OUATTARA Mahama Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

Professeur YAPI Ange Désiré Maître de Conférences Agrégé

X

Docteur COULIBALY Songuigama Maître-Assistant

N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul Maître-Assistant

KACOU Alain Assistant

KOUAHO Avi Kadio Tanguy Assistant

SICA-DIAKITE Amelanh Assistante

## VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE

Professeur MENAN Eby Ignace H. Professeur Titulaire

Chef de Département

Professeurs YAVO William Professeur Titulaire

DJOHAN Vincent Maître de Conférences Agrégé

BARRO KIKI Pulchérie Maître de Conférences Agrégé

KASSI Kondo Fulgence Maître de Conférences Agrégé

Docteurs ANGORA Kpongbo Etienne Maître-Assistant

KONATE Abibatou Maître-Assistant

VANGA ABO Henriette Maître-Assistant

MIEZAN Jean Sébastien Assistant

TANOH-BEDIA Valérie Assistante

# VII. PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE, COSMETOLOGIE, GESTION ET LEGISLATION PHARMACEUTIQUE

Professeur KOFFI Armand A. Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

Professeurs AMARI Antoine Serge G. Professeur Titulaire

DALLY Laba Ismaël Maître de Conférences Agrégé

Docteurs AKA ANY-GRAH Armelle A.S. Maître-Assistant

N'GUESSAN Alain Maître-Assistant

ALLOUKOU-BOKA P.-Mireille Assistante

LIA Gnahoré José Arthur Attaché de recherche

N'GUESSAN Kakwokpo Clémence Assistante

N'GUESSAN-AMONKOU A. C Assistante

TUO Awa Assistante

# PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE, CRYPTOGAMIE

Professeur KONE BAMBA Diénéba Professeur Titulaire

Chef de Département

Professeur FOFIE N'Guessan Bra Yvette Maître de Conférences Agrégé

Docteurs ADJOUGOUA Attoli Léopold Maître-Assistant

ADIKO N'dri Marcelline Chargée de recherche

AKOUBET-OUAYOGODE A. Assistante

ODOH Alida Edwige Assistante

# VIII. PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE ET PHYSIOLOGIE HUMAINE

Professeur ABROGOUA Danho Pascal Professeur Titulaire

Chef de Département

Professeurs KOUAKOU SIRANSY N'doua G. Professeur Titulaire

IRIE N'GUESSAN Amenan G Maître de Conférences Agrégé

EFFO Kouakou Etienne Maitre-assistant

XII

Docteurs AMICHIA Attoumou M. Assistant

BROU N'Guessan Aimé Assistant

DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Assistant

KAMENAN Boua Alexis Assistant

KOUAKOU Sylvain Landry Assistant

# IX. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur POLNEAU-VALLEE Sandrine Maître de Conférences Agrégé

In mémorium

Chef de Département

Docteur KONAN Jean-Fréjus Maître-Assistant

## X. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE

Professeur KOUADIO Kouakou Luc Professeur Titulaire

Chef de département

Professeurs DANO Djédjé Sébastien Professeur Titulaire

DIAKITE Aissata Maître de Conférences Agrégé

OGA Agbaya Stéphane Maître de Conférences Agrégé

KOUAKOU-SACKOU J. Maître de Conférences

Agrégé

SANGARE-TIGORI B. Maître de Conférences

Agrégé

MANDA Pierre Maître de Conférences

Agrégé

Docteurs CLAON Jean Stéphane Maître-Assistant

HOUNSA-ALLA Annita Emeline Maître-Assistante

KONAN-ATTIA Akissi Régine Maître-Assistante

OUATTARA N'Gnôh Djénéba Chargée de Recherche

BEDIAKON-GOKPEYA Mariette Assistant

XIII

KOFFI Kouamé Assistant

NGBE Jean Verdier Assistant

## **DEDICACES**

## AU DIEU TOUT PUISSANT

Merci pour nous avoir permis de mener ce travail à son terme et de réaliser ainsi aujourd'hui notre rêve·

Je te rends toute la gloire

## \* À mon père

## ASSEMIAN OI Assémian Hyacinthe,

C'est l'occasion pour moi aujourd'hui de te montrer ma gratitude et mon profond respect. Merci pour les sacrifices multiformes à moi consentis. Veuille DIEU le Tout Puissant, te garder longtemps parmi nous dans la santé, afin de continuer de bénéficier de tes sages conseils.

Papa, merci pour tout!

## À ma mère

## EYOROKON Ako Sidonie,

Maman, que devrais-je dire pour tout l'amour et l'affection que tu m'as apporté jusqu'à ce jour? Sinon que merci. En guise de gratitude, je te dédie ce travail et je prie le Seigneur de t'accorder une longue vie, afin de pouvoir bénéficier aussi de ses fruits.

XVI

Maman, merci pour tout!

### À mes frères et à ma sœur

ASSEMIAN Olivier Martial, AKA Houa Evariste, ASSEMIAN Koko Marie Rachel, merci d'avoir été présents à mes côtés ;

Je vous aime!

Une adresse particulière à **ASSEMIAN Tano Landry Juvénal**, mon défunt frère. Certes, tu n'es pas présent parmi nous ; mais sache que c'est en partie grâce à toi et à ton soutien que ce travail a pu être mené à son terme. Merci pour ta présence constante à mes côtés. À toi également je dédie ce travail. Tu resteras à jamais gravé dans mon cœur.

Je t'aime mon 'Easy Chéri!''

## À ma moitié KOMLA Kokou François Marie,

Merci pour ta présence constante à mes côtés et pour m'avoir ainsi permis d'expérimenter la patience, la persévérance ; des vertus qui m'ont été nécessaires dans la réalisation de ce travail. Que Dieu veuille exaucer tes vœux et t'accorder de longs et heureux jours.

Je t'aime!

## À mon oncle

GOUAHO Delloto Lucien, merci pour ton amour, tes conseils et pour ta confiance placée en moi.

## À mon oncle et à ma tante

Mr ET Mme NANGA, merci pour vos encouragements et vos conseils. C'est également grâce à vous que je suis arrivée à mes fins.

XVII

#### Aux techniciens de laboratoire.

Mlle AKICHI Emma et Mr Basile VANGA

Je ne saurais ne pas vous remercier pour vos différentes contributions à la réalisation de ce travail. Il est aussi le vôtre et je vous le dédie.

## À mes amies.

Merci à vous pour vos encouragements et vos soutiens, en particulier SOBRO Larissa, ETCHE Koko Rose, YAVO Myriam, KOUAME Audrey, KOFFI Jemima, SEA Carine Nous avons commencé cette aventure ensemble. Sachez que je vous porte dans mon cœur. Vous comptez énormément pour moi.

À toi ATTIOGBE RICK GRACE, ma voisine, que de beaux moments passés ensemble!

Je ne vous oublie pas, vous mes sœurs de la cité, Palier A4.

## À ma promotion : "LA PHARMA 35"

Merci pour ces moments de solidarité, de confraternité, pour les idées et conseils.

## À LA TEAM CACQ 2019.

Merci pour ses moments de joie

KOUAME Ahi Marlene Nancy,

SILUE Fougnigué Ezéchiel,

KOMENAN Mahossi Marie Faustine,

KOUAKOU Efai Carine

YAVO Renée Paule Myriam

## À mes collègues de la PHARMACIE SAINTE MARTHE

Merci à vous pour votre présence et votre soutient.

XVIII

À NOS MAITRES ET JUGES

### À NOTRE MAÎTRE ET PRESIDENT DE JURY

### Monsieur MALAN Kla Anglade

- ➤ Professeur titulaire de chimie analytique à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques
- ➤ Doyen honoraire à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques
- Directeur du Laboratoire National de la Santé Publique
- Membre du conseil national de l'Ordre des Pharmaciens
- Responsable du DESS de contrôle de qualité des médicaments, aliments, et produits cosmétiques
- Membre de l'Académie National de Pharmacie de France;
- ➤ Membre de l'académie des sciences, des cultures, des arts et de la diaspora (ASCAD)
- ➤ Membre de la Société des Experts Chimistes de France ;
- > Officier dans l'ordre du mérite de l'enseignement Supérieur ;
- > Commandeur de l'ordre de l'enseignement supérieur
- Chevalier dans l'ordre de la Santé Publique
- Expert de l'OMS.

#### Cher Maître,

Nous avons été impressionnés par vos qualités humaines et votre abnégation au travail. Votre disponibilité et l'intérêt que vous portez à vos étudiants font de vous une source de sagesse à laquelle tout étudiant doit s'abreuver. Vous nous avez fait ainsi l'honneur d'accepter de présider notre jury de thèse et cela en dépit de vos occupations.

C'est un honneur pour nous de vous avoir dans notre jury.

## Que Dieu vous bénisse.

## À NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THESE

#### **Monsieur BONY François Nicaise**

- Maitre de conférences Agrégé en chimie analytique bromatologie
- Doctorat de l'Université Paris-Sud, France, option Chimie Analytique
- > Docteur en Pharmacie
- Pharmacien analyste (DESS en contrôle qualité des médicaments, aliments et produits cosmétiques)
- Chef du laboratoire de contrôle des médicaments au Laboratoire National de la Santé Publique (LNSP) de Cote d'Ivoire.
- ➤ Ancien interne des hôpitaux de Cote d'Ivoire
- Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM)
- Membre de la société pharmaceutique de Cote d'Ivoire Chez maître,

Vous avez accepté malgré vos multiples charges d'assurer l'encadrement de cette thèse. Tout au long de ce travail nous avons pu apprécier non seulement votre ardeur au travail, mais aussi et surtout votre disponibilité, votre simplicité et votre bienveillance. Travailler sous votre direction est très enrichissant.

Puisse ce travail vous rende hommage.

Que Dieu vous bénisse.

## À NOTRE MAÎTRE ET JUGE

## Madame le professeur KOUAKOU SIRANSY Gisèle

- Professeur Titulaire pharmacologie ;
- ➤ Titulaire d'une thèse de doctorat unique en pharmacologie de l'université Félix Houphouet-Boigny ;
- > Titulaire d'un DEA en physiologie animale ;
- Membre de la société Française de la Pharmacologie et de la Thérapeutique;
- ➤ Pharmacien hospitalier au CHU de Cocody;
- ➤ Ancienne interne des Hopitaux ;
- Membre de la Société Française d'Ethnopharmacologie;
- ➤ Membre de la Société de Pharmacologie et de Toxicologie du Burkina Faso
- Membre de la Société Quest Africaine de Chimie

Chez maître,

Merci d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse. Nous avons eu de l'admiration pour vos qualités pédagogiques ; et votre présence dans ce jury est pour nous un très grand honneur. Nous vous en sommes infiniment reconnaissants.

Puisse Dieu vous bénir.

## À NOTRE MAÎTRE ET JUGE

## Monsieur le Docteur ADJOUGOUA Attoli Léopold

- ➤ Maître-Assistant au département de pharmacognosie botanique cryptogamie de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d' Abidjan.
- Doctorat de l'Université Paul Sabatier de Toulouse, France
- > Docteur en Pharmacie
- > DU de Phytothérapie
- DU de Homéopathie
- ➤ Pharmacien à la pharmacie du CHU de Treichville

#### Cher maître

Merci d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse. Nous avons eu de l'admiration pour vos qualités pédagogiques ; et votre présence dans ce jury est pour nous un très grand honneur. Nous vous en sommes infiniment reconnaissants.

Puisse Dieu vous bénir.

## **SOMMAIRE**

ABREVIATION-ACRONYMES	XXVI
LISTE DES TABLEAUX	XXVII
LISTE DES FIGURES	XXVIII
INTRODUCTION	1
PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	4
I. PRODUITS À BASE DE PLANTES	5
I.1. Definitions	5
I.2. Drogues végétales utilisées	6
II. COMPOSES PHYTOCHIMIQUES	12
II.1. Molécules issues du métabolisme primaire	12
II.2. Molécules issues du métabolisme secondaire	13
II.3. Composes phytochimiques des drogues vegetales utilisees	43
III. EVALUATION ANALYTIQUE DES PRODUITS À PLANTES	
III.1 Méthodes de préparation d'échantillon	48
III.2 Méthodes d'analyse	57
PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE	61
I MATERIEL ET METHODES	62
I.1 Matériel	62
I.2 Méthodes	65
II RESULTATS	77
II.1 Caractères organoleptiques	77

ANNEXE	128
REFERENCES BIBLIGRAPHIQUES	121
CONCLUSION	119
III.4 Analyse globale	117
III.3 Données qualitatives et quantitatives	113
III.2 Solvants d'extraction	112
III.1 Matrice végétale	111
III. DISCUSSIONS	111
II.4 Analyse globale	109
II.3 Paramètres phytochimiques	84
II.2 Paramètres physiques	79

## **ABREVIATION-ACRONYME**

Ae Acétate d'éthyle

Ao Acétone

C Chloroforme

CCM Chromatographie sur couche mince

CE Chromatographie sous échangeuse d'ions

CLHP Chromatographie Liquide Haute Performance

Cm Complètement miscible

CPG Chromatographie en phase gazeuse

D Dichlorométhane

E Ethanol

H Hexane

Ae Acétate d'éthyle

E Ethanol

M Méthanol

m miscible

Malca Méthanol (alcaloïdes)

D Dichlorométhane

W Eau

H Hexane

moy moyen

OMS Organisation Mondial de la Santé

Rf Rapport frontal

SM Spectrométrie de masse

UV Ultra-violet

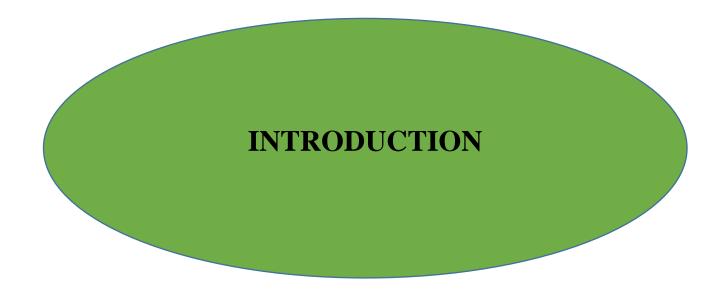
## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1 :</b> Solvants utilisés pour l'extraction des composés phytochimiques des	
drogues végétales [36]	49
Tableau 2 : Classification des composés phytochimiques selon leur polarité	50
Tableau 3 : Solvants utilisés et principes actifs	50
Tableau 4 : Différents solvants utilisés pour la préparation des extraits	66
Tableau 5 : Différents procédés d'extraction	69
Tableau 6 : Recherche par CCM des groupes phytochimiques	72
Tableau 7 : Recherche CCM des groupes de composés phénoliques	73
Tableau 8 : Recherche par CCM des groupes de composés terpéniques	73
Tableau 9: Les Caractères organoleptiques des 29 extraits	78
Tableau 10 : Détermination du résidu sec des extraits	79
Tableau 11 : Détermination des cendres totales pour 100 ml d'extrait	82
Tableau 12 : Recherche des composés qui absorbent à l'UV 365nm	85
Tableau 13: Recherche des composés qui absorbent à l'UV 254 nm	87
Tableau 14 : Recherche en composés alcaloïdiques avec le réactif de	
DRAGGENDOFF	89
Tableau 15 : Recherche globale des composés phénoliques	91
Tableau 16: Recherche des Flavonoïdes par CCM dans les extraits avec le réacti	if de
NEU	93
Tableau 17: Recherche des composés taniques ave le perchlorure de fer (fecl3/F	I2O)
	95
Tableau 18: Recherche des Coumarines/Quinones	97
Tableau 19 : Recherche des composés terpéniques	99
Tableau 20 : Recherche de triterpènes et stéroïdes	101
Tableau 21 : Dosage des polyphénols totaux des extraits	102
Tableau 22 : Dosage des alcaloïdes totaux des extraits	105
Tableau 23 : Dosage des terpènes totaux des extraits	107
Tableau 24: Analyse globale des données qualitatives et quantitatives	109

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Combretum micranthum	6
Figure 2: Voacanga africana	9
Figure 3 : Enantia polycarpa	11
Figure 4 : Structure des alcaloïdes vrais	14
Figure 5 : Structure pseudo alcaloïdes	15
Figure 6 : structure des proto-alcaloïdes	15
Figure 7 : Structure des dérivés tropaniques	16
Figure 8 : Structure de quelques dérivés pipéridiniques	16
Figure 9 : Structure de dérivés quinolizidiniques	16
Figure 10 : Structure des dérivés de l'acide nicotinique	17
Figure 11 : Structure des phénols simples	24
Figure 12 : Structure des acides phénols	25
Figure 13 : Structure des tanins condensés	26
Figure 14 : Structure des flavonoïdes	27
Figure 15:Structure générale des anthocyanes	28
Figure 16: Structure des coumarines	29
Figure 17 : Structure des Quinones	30
Figure 18 : Structure de l'acide mévalonique	32
Figure 19 : Structure des terpènes et des stéroïdes	33
Figure 20: structure des polystérols	39
Figure 21:L'extracteur de Soxhlet	54
Figure 22 : Schéma d'un chauffage à reflux	55
Figure 23 : Résidu sec moyen des 29 types extraits	. 80
Figure 24 : Détermination des cendres totales pour 100ml d'extrait	83
Figure 25: Chromatogramme de la recherche des composés qui absorbent à	
1'UV 365 nm	. 84

Figure 26 : Chromatogramme de la recherche des composés qui absorbent à	
1'UV 254 nm	86
Figure 27: Chromatogramme de recherche des alcaloïdes	88
Figure 28 : Chromatogramme de recherche globale des composés phénolique	es
	90
Figure 29: Recherche des flavonoïdes avec le réactif de NEU à 365	
Figure 30: Chromatogramme de recherche des tanins	94
Figure 31 : Chromatogramme de recherche des Coumarines/Quinones	96
Figure 32 : Chromatogramme de recherche des composés terpéniques	98
Figure 33: Chromatogramme de recherche des triterpènes et stéroïdes	100
Figure 34 : Dosage des polyphénols totaux des extraits	103
Figure 35: Dosage des alcaloïdes totaux des extraits	106
Figure 36 : Dosage des terpènes totaux des extraits	108
Figure 37: Analyse globale des données qualitatives et quantitatives	110



Depuis toujours, les hommes utilisent leur environnement et en particulier les produits à base de plantes (qui forment des sources riches en produits naturels), pour soigner diverses maladies. Actuellement, l'OMS estime qu'environ 80% des habitants du monde ont recours à la médecine traditionnelle à base de plantes en tant que soins de santé primaire [1]. Les produits naturels étaient et restent toujours une source inépuisable de structures chimiques complexes et diverses.

Les produits à base de plantes constituent un vaste réservoir de substances naturelles qui sont des composés phytochimiques pharmacologiquement actifs, des phytonutriments et des substances toxiques.

Du fait de cette énorme expansion, les autorités sanitaires et le grand public accordent beaucoup d'importance à l'innocuité et à l'efficacité des médicaments à base de plantes, ainsi qu'au contrôle de leur qualité.

La qualité des produits à base de plantes a un impact direct sur leur innocuité et leur efficacité. Des rapports ont montré des effets secondaires associés aux falsifications, et à la présence de contaminants (métaux lourds, pesticides et micro-organismes) [2].

L'évaluation et la maîtrise de la qualité pharmaceutique de ces produits à base de plantes traditionnellement utilisés en Afrique, s'avère très difficile. Car plusieurs éléments influents sur leur qualité. Ce sont des mélanges complexes de plusieurs plantes ou dérivés de plantes souvent inconnues et dont la source, la récolte, la qualité et la préparation des matières premières sont aussi très variables [3,4]. Une évaluation efficace des produits à base de plantes nécessite le développement de méthodes d'analyse globale des constituants pharmacologiques actifs et/ou chimiques caractéristiquement présents. Une méthode d'analyse globale requiert un procédé de préparation de l'échantillon qui va permettre d'extraire un plus grand nombre de composés phytochimiques (extraction globale des composés).

Notre travail a pour objectif général de proposer un procédé d'extraction globale de composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des produits à base de plantes.

#### Comme objectifs spécifiques :

- Faire le choix des solvants
- Appliquer différents procédés d'extractions sélectionnés sur une matrice végétale complexe;
- Déterminer les différents paramètres qualitatifs et quantitatifs des extraits ;
- Faire l'analyse comparée des données qualitatives et quantitatives des extraits afin de déterminer le meilleur procédé d'extraction.

Notre étude s'articule autour de deux parties :

La première partie porte sur une étude bibliographique dans laquelle nous parlerons des généralités sur les produits à base de plantes, leurs composés phytochimiques et leur évaluation analytique.

Une seconde partie expérimentale sera axée sur les méthodologies, les résultats ainsi que les discussions.

# PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

## I. PRODUITS À BASE DE PLANTES

#### I.1. Definitions

### I.1.1. Produits à base de plantes

Ce sont des produits de santé finis, étiquetés, qui contiennent exclusivement des matières premières végétales (plantes ou associations de plantes, à l'état brut ou sous forme de préparations ou d'extraits). Les extraits végétaux comprennent les sucs, les gommes, les huiles grasses, les huiles essentielles et toutes autres substances de cette nature.

### I.1.2. Médicaments à base de plantes

Ce sont des produits médicinaux finis, étiquetés, qui contiennent comme principe actif exclusivement, des plantes (parties aériennes ou souterraines), d'autres matières végétales ou associations de plantes, à l'état brut ou sous forme de préparations. Les produits végétaux comprennent les sucs, les gommes, les huiles grasses, les huiles essentielles et toutes autres substances de cette nature. Les médicaments à base de plantes peuvent contenir outre les principes actifs, des excipients. Les médicaments contenant les produits végétaux associés à des principes actifs chimiquement définis et isolés de plantes, ne sont pas considérés comme des médicaments à base de plantes [1].

## I.1.3. Compléments alimentaires à base de plantes

Les compléments alimentaires ou compléments nutritionnels, sont des produits de santé dont le but est de compléter un régime alimentaire normal. Ils constituent une source concentrée de phytonutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique. Cette source concentrée présentée seule ou combinée, est commercialisée sous forme de doses, (en gélules, en comprimés, en pilules) et sous d'autres formes analogues aux préparations liquides ou en poudre, destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité [5].

### I.1.4. Drogues végétales

Les drogues végétales sont des substances, issues de plantes fraîches ou desséchées, utilisées à des fins thérapeutiques. Ce sont le plus souvent des parties de plantes (racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, graines...) ou parfois des plantes entières,

## I.2. Drogues végétales utilisées

- Combretum micranthum (Combretaceae)
- Enantia polycarpa (Annonaceae)
- Voacanga africana (Apocynaceae)

### I.2.1. Combretum micranthum (Kinkéliba)

Le kinkéliba est une plante originaire d'Afrique de l'Ouest. Elle est connue sous le nom scientifique de *Combretum micranthum*. On en trouve principalement au Sénégal, au Mali et au Soudan. Depuis l'époque de la colonisation, ses propriétés médicinales ont été largement démontrées en pharmacologie et en phytothérapie ; à telle enseigne qu'on la qualifie de « tisane de longue vie».





Figure 1: Combretum micranthum

#### I.2.1.1 Classification

Famille: Combretaceae

**Genre**: Combretum

**Espèce**: C. micranthum

Noms vernaculaires: Kinkéliba, tisane de longue vie

Gian au Burkina Faso, Dandegha en Mossi, Bara moussoma, Kolobé en

Malinké, Singolobé en Bambara, Ekinda aloua en Agni [6]

# **I.2.1.2 Descriptions botaniques**

Le Kinkéliba est un arbuste buissonnant, poussant généralement sur des terres arides (Sénégal, Mali, Soudan), qui mesure de 2 à 6 m de hauteur. Ses feuilles de couleur verte foncé, résistantes et à pétioles courts, ont une extrémité pointue. La plante développe de petites fleurs blanches légèrement rosâtres. Elle donne des fruits qui sont des akènes aux ailettes papyracées.[7]

# I.2.1.3. Activités pharmacologiques

Le Kinkéliba possède des propriétés antioxydantes liées aux polyphénols (13-14%)[8].

Karou et al.[9] ont montré l'activité microbicide des feuilles de Kinkéliba contre Shigella, Salmonella parathyphi B. et Staphylococcus aureus et l'activité microbiostatique, contre Shigella flexneri, Shigella boydii, Salmonella thyphi, Klebsiella pneumoniae et Klebsiella ozenae.

Benoit et al. et Ancolio et al.[10,11] ont montré une activité antipaludique des feuilles de Kinkéliba dans le traitement du paludisme. Olajide et al. [12] ont validé l'utilisation traditionnelle des feuilles de Kinkéliba contre la fièvre paludéenne et l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des feuilles de Kinkéliba.

Chika et al.[13] ont montré les propriétés antidiabétiques de l'extrait

aqueux des feuilles de kinkeliba.

Ferrea et al. [14] ont démontré l'activité antivirale in vitro d'un extrait

méthanolique des feuilles de Kinkéliba contre les virus herpès simplex 1 et 2.

I.2.2. Voacanga africana K Sehum

Originaire d'Afrique tropicale, l'espèce est très répandue aujourd'hui

sur le continent africain. On en trouve au Sénégal, au Cameroun, en Guinée

Equatoriale, en Egypte. Au Cameroun, cette plante se rencontre sur presque

l'ensemble du territoire, sauf dans les steppes de l'extrême Nord. Elle pousse

sur la terre ferme et parfois à proximité des marécages, surtout dans les sables

littoraux humides de la zone soudano guinéenne. Elle résiste aux inondations

temporaires. Toutefois, si ces périodes se prolongent, il en résulte une

déperdition des feuilles, consécutive à une sécheresse physiologique.

I.2.2.1. Classification

Famille: Apocynaceae

**Genre**: Voacanga

Espèce: V africana

**Noms vernaculaires :** *Na munina yiri* (en Wolof), *Gbongbon* (en Attié),

*M'Piégba* (Abbey) [6]

## I.2.2.2. Descriptions botaniques



Figure 2: Voacanga africana

C'est un arbuste (ou petit arbre) à latex blanc atteignant 15 m de hauteur et à la cime arrondie. L'écorce du *Voacanga africana* est de couleur brunâtre lenticellée, avec des tranches jaunes ou blanches tachetées de couleur orangée.

Les feuilles sont opposées, simples, limbes obovales de dimension pouvant aller jusqu'à 30 x 16 cm, acuminés au sommet, glabres ou finement pubescentes à la face inférieure; pétiole atteignant 1,5 cm de longueur. Les fleurs sont blanches, odorantes, souvent regroupées par paires. Elles ont une corolle à tube court et 5 lobes obovales d'environ 1 cm de longueur au-dessus. Les fruits follicules globuleux de 3 à 5 cm de diamètre, accolés par paires, de couleur verte, marbrée de blanc, mais qui deviennent jaunes à maturité. Les graines sont nombreuses, petites et subglobuleuses.

# I.2.2.3. Propriétés pharmacologiques

Les graines de Voacanga sont généralement ingérées pour accroître l'endurance et la résistance. Les africains utilisent ces graines pour leurs effets stimulants et psychédéliques. L'écorce aurait des propriétés stimulantes. La sève de l'écorce est utilisée pour traiter des blessures, des furoncles, des abcès, des infections fongiques et des eczémas.

Les feuilles et l'écorce du *Voacanga africana* diminuent les inflammations et

soulagent les troubles mentaux. Une décoction préparée à partir de la racine

bouillie est employée pour la hernie douloureuse, la dysménorrhée, les

troubles cardiaques (spasme, angine), et la blennorrhée.

L'arbuste a en outre un effet anti-inflammatoire et neuro-protecteur.

Les racines et l'écorce du tronc sont hypotenseurs, tonicardiaques

effet direct sur le myocarde et ventriculaires par légèrement

parasympatholytique. On note un effet dépresseur cardiaque [15]; sans

modification de l'équilibre du système nerveux autonome et en provoquant

une hypotension qui relève d'un effet dilatateur périphérique et cardiaque.

Labarre et Gillo ont étudié les propriétés cardiotoniques de cette drogue [16].

I.2.3 Enantia polycarpa (DC) Engl et Diels (Annonaceae)

Enantia polycarpa (DC) Engl et Diels est une espèce Guinéo-congolaise

que l'on rencontre de la Sierra Leone jusqu'à l'Ouest du Cameroun. Elle est

particulièrement abondante en Côte d'Ivoire et en Sierra Leone.

I.2.3.1. Classification

Famille: Annonaceae

Genre: Enantia

**Espèce**: *E.polycarpa* 

Nom vernaculaire: Moambe jaune, so (en Oubi), tsin (en Attié), pkaoué

(en Abbey), souin (en Guéré), chibo okéré ou encore essulo (en Agni),

atinhia (en Ebrié) [6].

10

# I.3.2.2. Descriptions botaniques

Arbre au tronc généralement droit et cylindrique pouvant atteindre 40 cm de diamètre et une hauteur de 20 m. L'écorce de couleur verte ou noirâtre, généralement rugueuse ou fissurée, peut quelquefois être lisse. L'écorce interne de couleur jaune vif, est fibreuse.

Les feuilles sont alternes, simples et entières. Quant aux fleurs, elles sont solitaires sur les jeunes pousses bisexuées. Le fruit est composé de 5 à 55 follicules indéhiscents ellipsoïdes à obovoïdes de 2 à 2.5 cm de long. De couleur rouge, le fruit devient noirâtre à maturité.





**Figure 3** : Enantia polycarpa

# II.3.2.3. Propriétés pharmacologiques

La quinine est reconnue puissante contre le Plasmodium. Ce qui est en accord avec l'emploi empirique de la plante, dans le traitement du paludisme. L'extrait aqueux des écorces de tiges de Enantia polycarpa (DC) Engl et Diels possède une activité antibactérienne contre des souches cliniques de Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM). *Enantia polycarpa* (Annonaceae) est utilisé en Afrique pour traiter plusieurs maladies en usage traditionnel [17].

Au Nigéria, l'écorce de tiges de la plante est également utilisée pour traiter le paludisme, les ulcères, la lèpre et les plaies.

En Côte d'Ivoire, l'écorce de tiges est utilisée dans le traitement traditionnel de la fièvre typhoïde, du paludisme, de la trypanosomiase, de la diarrhée et de diverses affections oculaires [17].

# II. COMPOSES PHYTOCHIMIQUES

Les composés phytochimiques sont les molécules issues du métabolisme des végétaux appelés des métabolites. On distingue deux classes de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires.[18]

# II.1. Molécules issues du métabolisme primaire

Les métabolites primaires se distinguent par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme. On a :

## II.1.1. Les glucides

Les glucides sont des molécules indispensables à la survie des organismes vivants ; car leurs formes les plus simples sont à la base des mécanismes énergétiques et de la biosynthèse des autres métabolites. Chez les végétaux, on les retrouve sous différentes formes [18]:

- Les polymères énergétiques (amidon) ou structuraux (cellulose, pectines...)
- Les sucres simples
- Les hétérosides (sucre lié avec une molécule non osidique)
- Les précurseurs de voies de biosynthèse

# II.1.2. Les lipides

Le terme lipide est en général utilisé pour décrire des molécules à caractère hydrophobe et solubles dans des solvants organiques. Cette définition peut convenir à différentes classes moléculaires, tels que les acides gras, les terpènes, les caroténoïdes ou les stérols. Les lipides qui sont de nature hydrophobe se retrouvent principalement dans les fractions huileuses de la plante.

## II.1.3. Les protéines

Ce sont des macromolécules biologiques à caractère amphotère présentes dans toutes les cellules vivantes. Leur charge varie avec le pH. En milieu acide, les protéines s'ionisent comme des bases, et sont chargées positivement. En milieu alcalin elles forment des anions. Elles sont constituées d'une ou de plusieurs chaines polypeptidiques. Chacune de ces chaines est faite de l'enchainement de résidus d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques.

Les protéines assurent une multitude de fonctions au sein de la cellule vivante et dans les tissus.

## II.2. Molécules issues du métabolisme secondaire

Les composés phytochimiques secondaires ne sont pas nécessaires et vitaux pour la cellule ou l'organisme. Ces molécules sont présentes en très grand nombre, et elles sont d'une variété structurale extraordinaire. Elles ont de nombreuses applications pharmaceutiques. Ces molécules sont réparties en trois grands groupes :

- Les composés alcaloïdiques
- Les composés phénoliques
- Les composés terpéniques.

#### II.2.1. Les alcaloïdes

Le terme «alcaloïde» a été introduit par W. MEISNER au début du XIX ème siècle, pour désigner les substances naturelles réagissant comme des bases. Les alcaloïdes sont des composés azotés basiques qui s'extraient soit dans l'eau acide, soit dans des solvants comme le chloroforme après alcalinisation. Ils précipitent généralement avec des réactifs iodométalliques (réactif de Dragendorff), et sont très souvent biologiquement actifs. On retrouve en effet des molécules comme la quinine (anti-malaria), des drogues (cocaïne), des

anticancéreux (la vincristine). Les alcaloïdes ont comme caractéristique générale, d'être antinutritionnels.

Toutefois, il n'existe pas de définition simple et précise des alcaloïdes ; et il est parfois difficile de situer les frontières qui séparent les alcaloïdes des autres métabolites azotés naturels. On peut simplement cependant définir l'alcaloïde comme étant « une substance organique azotée d'origine végétale, à caractère alcalin et qui présente une structure complexe »[18]. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique

#### II.2.1.1. Structure des alcaloïdes

On distingue généralement :

Les alcaloïdes vrais qui sont issus de la biosynthèse des dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle.

Exemple : la strychnine dérivée du tryptophane.

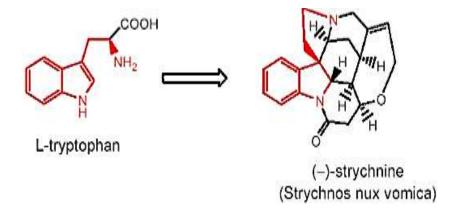


Figure 4 : Structure des alcaloïdes vrais

Les pseudo-alcaloïdes qui dérivent des acides aminés, mais pour lesquels l'azote est en dehors des structures cycliques (exemple : la colchicine)

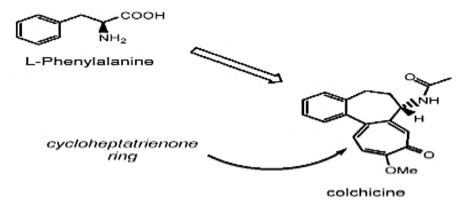


Figure 5 : Structure pseudo alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont des aminés simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique (exemple : la caféine).

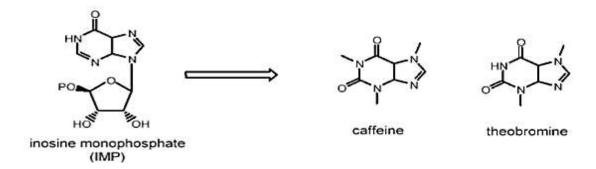


Figure 6 : structure des proto-alcaloïdes

# II.2.1.1.1. Alcaloïdes dérivés de l'ornithine et de la lysine

# Dérivés tropaniques

Les alcaloïdes tropaniques ont en commun un élément structural bicyclique azoté. On les rencontre chez les Solanaceae et les Erythroxylaceae.

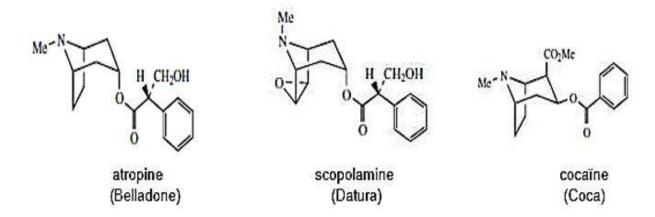


Figure 7 : Structure des dérivés tropaniques

Dérivés pipéridiniques

Figure 8 : Structure de quelques dérivés pipéridiniques

Dérivés quinolizidiniques

Dérivés caractéristiques de la famille des Fabacées.

Figure 9 : Structure de dérivés quinolizidiniques

# II.2.1.1.2. Alcaloïdes dérivés de l'acide nicotinique

Figure 10 : Structure des dérivés de l'acide nicotinique

# II.2.1.1.3. Alcaloïdes dérivés de la tyrosine et de la phénylalanine

Ce sont des alcaloïdiques issues du métabolisme des acides aminés aromatiques. Il s'agit presque toujours d'alcaloïdes isoquinoléiques.

- ⇒ Tétrahydroisoquinoléines
  - Tétrahydroisoquinoléines simples

Benzyltétrahydroisoquinoléines

Morphinanes

# Phénéthylisoquinoléines

colchicine (colchique) Colchicaceae

# II.2.1.1.4. Alcaloïdes dérivés du tryptophane

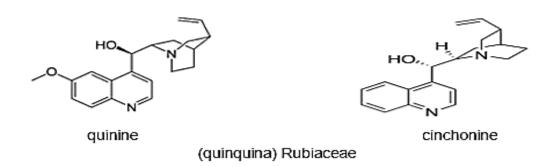
# $\Rightarrow$ Tryptamines

# ⇒ Indolo-monoterpéniques

Groupe d'alcaloïdes issu du métabolisme du tryptophane avec un précurseur commun : la strictosidine.

$$\begin{array}{c} \text{OMe} \\ \text{MeO}_{2}\text{C} \\ \text{OMe} \\ \text{réserpine} \end{array} \qquad \begin{array}{c} \text{OMe} \\ \text{OMe} \\ \text{ome} \\ \text{(sarpagandha) Apocynaceae} \end{array} \qquad \text{ajmalicine (raubasine)}$$

# ⇒ Quinoléines



# II.2.1.1.5 Alcaloïdes dérivés de l'acide anthranilique

# ⇒ Furoquinoléines

(Fagara xanthoxyloides) Rutaceae

#### II.2.1.1.6. Alcaloïdes dérivés de l'histidine

Ce sont des alcaloïdes à structure imidazolique

## II.2.1.1.7. Alcaloïdes à structures diverses

# ⇒ Phénéthylamines

# II.2.1.2. Propriétés physico-chimiques

Les alcaloïdes ont des masses moléculaires variant de 100 à 900. Si la plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire (nicotine, spartéine), celles qui comportent dans leur formule l'oxygène (et c'est le cas de la quasi-totalité des structures connues), sont normalement des solides cristallisables, rarement colorés. En règle générale, les alcaloïdes de base sont insolubles ou très peu solubles dans les alcools à titre élevé. La basicité des alcaloïdes est très variable. Elle permet de former des sels avec des acides minéraux (chlorydrates, sulfates, nitrates) ou organiques (tartrates, sulfamates, maléates). Les sels d'alcaloïdes sont généralement solubles dans l'eau et les alcools dilués. Ils sont insolubles dans les solvants organiques, sauf dans de rares exceptions. Les sels cristallisés se conservant plutôt bien, ils constituent la forme commerciale habituelle pour ces molécules.

# II.2.1.3. Propriétés pharmacologiques

Les alcaloïdes sont recherchés pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés :

<u>Les alcaloïdes qui agissent au niveau du système nerveux central</u> sont, soit dépresseurs (morphine, scopolamine) soit stimulants (strychnine, caféine);

Les alcaloïdes qui interviennent au niveau du système nerveux autonome sont sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques (yohimbine),

parasympathomimétiques (pilocarpine), anticholinergiques (atropine, hyoscyamine), ganglioplégiques (spartéine, nicotine).

Il est important de préciser l'existence des alcaloïdes utilisés dans d'autres domaines comme des curarisants, des anesthésiques locaux (cocaïne), d'antifibrillants (quinidine), d'anti tumoraux (vinblastine, ellipticine), antitussifs (codéine), antalgiques (morphine et codéine), spamolytiques (papavérine) d'anti malariques (quinine) et d'amoebicides (émétine). Les alcaloïdes jouent aussi le rôle d'antibiotique, telles la cyclosérine et la mytomycine[8].

# II.2.2. Les polyphénols

Les polyphénols avec environ les 8000 structures phénoliques connues, font partie des groupes les plus nombreux et largement distribués dans le règne végétal. Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, et ils sont présents dans toutes les parties de la plante [19].

Les composés phénoliques sont caractérisés par la présence dans leur structure d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction qui peut être soit l'éther, l'ester, ou l'hétéroside. Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'aromagenèse [18,20].

La voie la plus courante est celle de l'acide shikimique, qui conduit, des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine), puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acides benzoïques, acétophénones, lignanes, lignines, coumarines, etc...

L'autre voie part de l'acétate et conduit à des poly-cétoesters (polyacétates) de longueur variable. Les polyacétates engendrent par cyclisation (réaction de Claisen ou condensation aldolique) des composés souvent polycycliques : chromones, isocoumarines, orcinols, xanthones, quinones, etc...

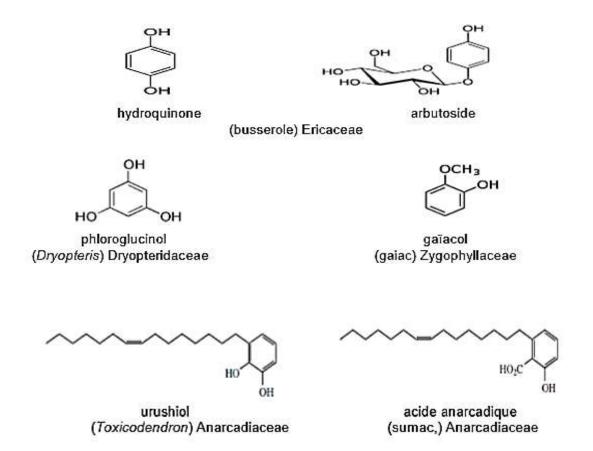
Les Dérivés mixtes des deux voies (flavonoïdes, stilbènes, pyrones, xanthones, etc.).

# II.2.2.1. Structure des composés phénoliques

# II.2.2.1.1 Phénols simples et dérivés

Les phénols simples (catéchol, phloroglucinol) sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae) le plus souvent à l'état de glucoside du diphénol (arbutoside) ou de monométhyléther (gaïacol).

- Les alkyl phénols : eugénol (allylphénol) ; thymol (monoterpènes phénoliques) ;
- Alcénylphénol : urushiol, acides anacardiques ;
- Les phénones : acétophénones, benzophénones.



**Figure 11 :** *Structure des phénols simples* 

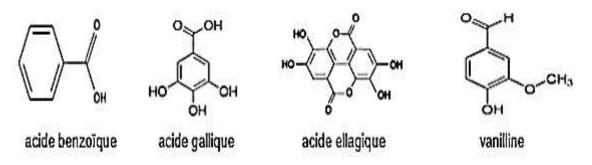
## II.2.2.1.2. Acides phénols

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La pratique courante en phytochimie conduit à réserver l'emploi de cette dénomination aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique.

Dérivés de l'acide benzoïque (C6-C1): les acides-phénols dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'ester ou d'hétéroside (acides benzoïque, vanillique, gallique, ellagique).

Dérivés de l'acide cinnamique (C6-C3) : la plupart des acides-phénols en (acides 4coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large. Les autres (acide 2coumarique) sont peu fréquents. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés. Cette vaste famille regroupe des composés présentant des cycles aromatiques le plus souvent soluble dans l'eau, et présent sous forme de glycoconjugués [21]. Parmi les acides phénoliques on cite :

- L'acide chlorogénique ;
- L'acide caféique;
- L'acide vanillique;
- L'acide gallique [22].



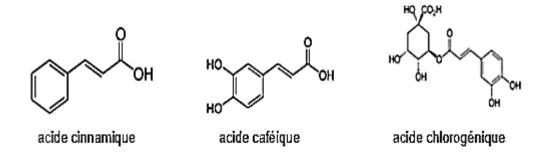


Figure 12 : Structure des acides phénols

#### **II.2.2.1.3.** Tanins

Ce sont des polyphénols polaires d'origine végétales [23]. Ils existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines .Leurs poids moléculaires vont de 500 à 3000 Da [24]. Il est difficile de les séparer dans

un extrait végétal, parce que de nombreux isomères avec une base moléculaire très semblable coexistent [23].

# Aujourd'hui, on distingue:

- Les tanins hydrolysables; esters d'un sucre (généralement le glucose, l'acide gallique) ou de l'acide ellagique.
- Les tanins condensés ou proanthocyanidols, non hydrolysables résultant de la polymérisation d'unités flavan-3-ols. Ils forment dans les vacuoles des solutions pseudo-colloïdales et peuvent aussi se fixer au niveau des lignines, renforçant encore l'imputrescibilité du bois de cœur. La disparition des tanins, lorsque les fruits ont atteint leur maturation, montre que comme d'autres composés phénoliques, ils peuvent être réutilisés par la plante [21].

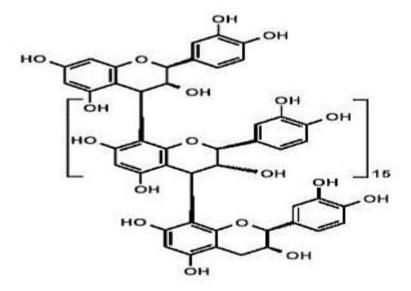


Figure 13 : Structure des tanins condensés

#### II.2.2.1.4. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des dérivés phénylpropanoïdes solubles dans l'eau, souvent incolores ou jaunes (sauf exceptions dont les anthocyanes). Ces composés sont des dérivés de la naringénine-chalcone ; elle-même issue de la condensation de trois résidus malonyl-CoA avec une molécule d'acide cinnamique. Il s'agit

donc de dérivés phénylpropanoïdes. La structure de base comporte deux cycles aromatiques à 6 carbones joints par un hétérocycle à oxygène. Les flavonoïdes constituent en eux même une famille de composés extrêmement vaste, jouant des rôles physiologiques importants [21].

Les principales catégories de flavonoïdes sont définies par :

La présence ou l'absence d'une double liaison entre les carbones 2 et 3 du cycle C, qui déterminent la planéité de la molécule. Les flavones, les flavonols et les dérivés présentent une double liaison. Ce sont des molécules planes, contrairement aux flavanes, aux flavanones et aux dérivés

# La présence de fonctions cétones, alcools et méthoxy [21].

**Figure 14 :** Structure des flavonoïdes

## II.2.2.1.5. Anthocyanes

Les anthocyanes regroupent les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules font partie de la famille des flavonoïdes et sont capables d'absorber la lumière visible. Ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil

nu. À l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des bais rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplis d'eau. On trouve également les anthocynes dans les racines, tiges, feuilles et graines.

Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glycosylé en position C3. Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou l'anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment.

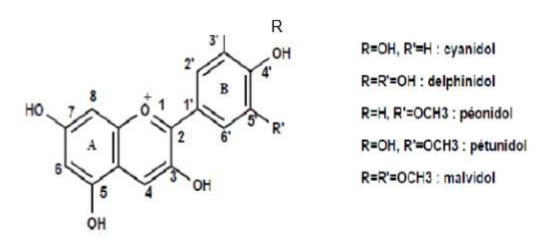


Figure 15: Structure générale des anthocyanes

#### II.2.2.1.6. Coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka (Dipteryx odorata Willd, Fabaceae), d'où la coumarine fut isolée, en 1820. Les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-one que l'on peut considérer, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-Z cinnamiques.

Coumarines simples

#### Furanocoumarines

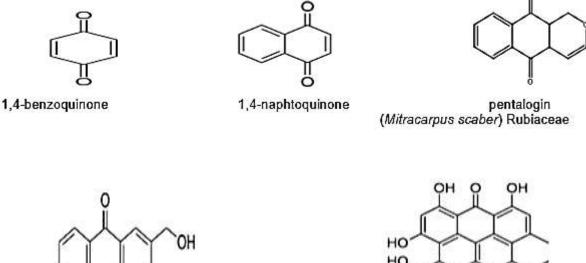
# Pyranocoumarines

Figure 16: Structure des coumarines

# **II.2.2.1.7.** Quinones

Les quinones sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques. Les quinones naturelles ont leur dione conjuguée aux doubles liaisons d'un noyau benzénique (benzoquinones) ou à celles d'un système aromatique polycyclique condensé : naphtalène (naphtoquinones), anthracène (anthraquinones).

# Quinones non hétérosidiques



aloe émodine (anthraquinone) (aloes)

hypéricine (naphtodianthrone) (millepertuis)

# Quinones hétérosidiques

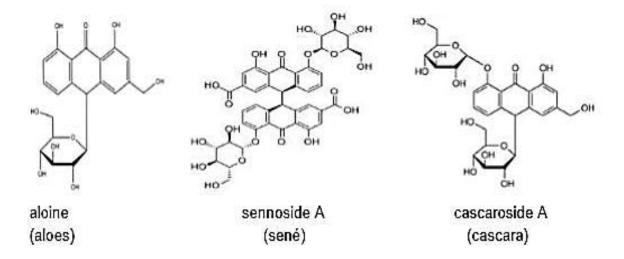


Figure 17 : Structure des Quinones

# II.2.2.2. Propriétés physico-chimiques

Les phénols sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires et dans les solutions d'hydroxyde de sodium et de carbonate de sodium. Les acides phénols sont solubilisés par les hydrogénocarbures. Ils sont extractibles par les solvants organiques en milieu légèrement acide. Les formes hétérosides de ces composés phénoliques sont classiquement solubles dans l'eau. Tous ces composés sont instables et sont facilement oxydables surtout en milieu alcalin. L'analyse des composés phénoliques est couramment réalisée en CCM, en CPG et/ou en CLHP.

# II.2.2.3. Propriétés pharmacologiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et antibactériennes. Ils possèdent des structures très variées avec diverses propriétés pharmacologiques [18,25].

- **Phénols** simples: antipyrétiques, antiseptiques, antiinflammatoires, inhibiteurs d'enzyme;
- Acides phénoliques : antibactériens, antifongiques, antioxydants ;
- Coumarines: veinotoniques et vasculoprotecteurs, anticedémateuses et antiinflammatoires. Les pyranocoumarines sont
  connues pour leurs propriétés vasodilatatrices coronariennes (action
  favorable sur les troubles de la sénescence cérébrale). Certaines
  furanocoumarines photosensibilisantes sont utilisées dans le
  traitement du psoriasis;
- Flavonoïdes: antioxydants, anti-inflammatoires, hépatoprotecteurs, anticancéreux, antibactériens, antiviraux, antiallergiques, veinotoniques. Ils diminuent la fragilité et la perméabilité capillaire. Les isoflavones, comme la daidzéine du soja possède des propriétés

- phytoestrogènes, Certains dérivés d'isoflavones sont des bactériostatiques.
- Anthocyanes: diminuent la fragilité et la perméabilité des capillaires. Ils sont veinotoniques, anti-œdémateux, antioxydants et antibactériens.
- Tanins: antioxydants, sont utilisés à usage externe dans les inflammations et les ulcérations des muqueuses, dans les hémorragies, les œdèmes et les plaies. Ils ont des activités cicatrisantes et hémostatiques, antibactériennes, antivirales et antifongiques. Par voie interne, les tanins exercent un effet antidiarrhéique.
- Quinones : antibactériennes, antifongiques. Les anthraquinones sont douées de propriétés laxatives. Les phylloquinones dont la vitamine K, jouent un rôle indispensable dans la coagulation sanguine et dans le métabolisme osseux. Beaucoup de naphtoquinones sont antibactériennes et fongicides.

# II.2.3. Composés terpéniques

Les terpènes sont une classe importante de métabolites secondaires qui proviennent du même précurseur biosynthétique, l'acide mévalonique. Chaque classe de terpènes est issue du couplage « tête-à-queue » d'unités isopréniques. La première étape de leur biosynthèse commence toujours par la condensation de deux dérivés phosphorylés de l'acide mévalonique : l'isopentényl pyrophosphate et le diméthylallyl pyrophosphate [18].

Figure 18 : Structure de l'acide mévalonique

# II.2.3.1. Structure des terpènes et stéroïdes

Les terpénoïdes et stéroïdes (isoprénoïdes) sont des composés issus de la condensation d'unités de base penta-carbonées ramifiées dérivées du 2-méthylbutadiène (isoprène) [18,20].

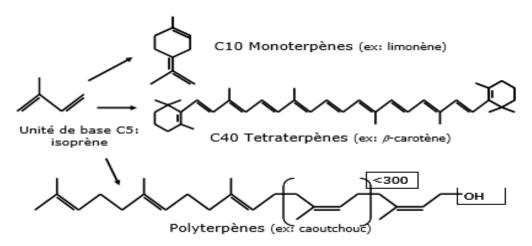


Figure 19 : Structure des terpènes et des stéroïdes

# On distingue:

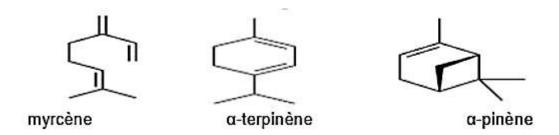
- C5 : hémiterpènes (une unité isoprène)
- C10 : monoterpènes (deux unités isoprène)
- C15 : sesquiterpènes (trois unités isoprène)
- C20 : diterpènes (quatre unités isoprène)
- C30 : triterpènes (six unités isoprène)
- C40 : tetraterpènes (huit unités isoprène)
- C45 et C50 : queues terpènes des molécules d'ubiquinone et de plastoquinones

Au-delà : polyterpènes (caoutchouc).

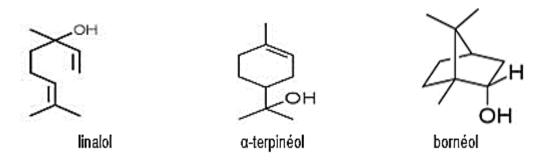
# II.2.3.1.1 Monoterpènes

Monoterpènes réguliers volatils

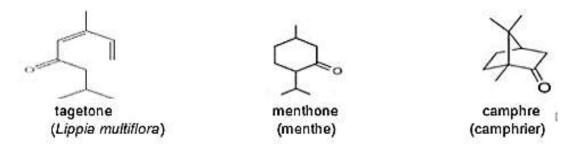
**Carbures** : acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques ( $\alpha$ - et  $\gamma$ - terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène,  $\Delta 3$ -carène, camphène, sabinène) ;



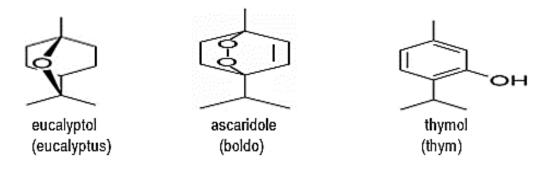
**Alcools**: acycliques (géraniol, linalol, citronellol), monocycliques (menthol, α-terpinéol, terpin-1-én-4-ol), bicycliques (bornéol, fenchol);



**Cétones** : acycliques (tagétone), monocycliques (menthone, isomenthone, carvone), bicycliques (camphre, fenchone, thuyone) ;



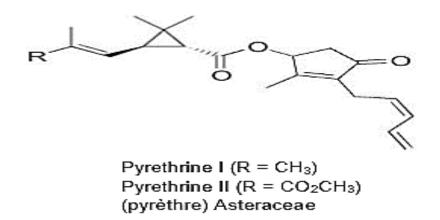
**Ethers** : (eucalyptol, oxydes de linalol) ; peroxydes (ascaridole) ; phénols (thymol, carvacrol) ;



**Esters:** acycliques (acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronellyle), monocycliques (acétate de menthyle, acétate de terpinyle), bicycliques (acétate d'isobornyle);

# Monoterpènes irréguliers

Les seuls monoterpènes irréguliers utilisés sont les pyréthrinoïdes, esters d'acides cyclopropaniques à squelette chrysanthéinane isolés d'une Astéracée (pyrèthre). Ce sont des insecticides non toxiques pour l'homme et les autres mammifères. Ils ont donné naissance à une série de composés synthétiques les pyrethrinoïdes.



# II.2.3.1.2. Sesquiterpènoïdes

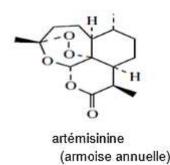
Ce sont des hydrocarbures de formule C15H24 (3 unités isopréniques). Le farnésol est un sesquiterpène linéaire constitué de nombreuses huiles essentielles, abondamment utilisé en parfumerie. On distingue également les sesquiterpènes monocycliques et polycycliques (caryophyllène).

# ⇒ Sesquiterpènes volatiles

On distingue : les carbures (caryophyllène), les alcools (farnésol), les cétones, les aldéhydes et les esters

# ⇒ Sesquiterpènes lactoniques

Les lactones sesquiterpéniques «principes amers» dérivent de la cyclisation du cyclodécadiénylique. Ils sont le plus souvent rencontrés au niveau des espèces de la famille des astéracées.



# II.2.3.1.3. Diterpènes

Ces composés en C20 sont très répandus.

# ⇒ Diterpènes acycliques

Parmi les diterpènes acycliques, on rencontre la famille des phytanes dont le phytol est le représentant le plus connu (dans la chlorophylle), les tocophérols (vitamine E) ou la phylloquinone (vitamine K1).

# ⇒ Diterpènes cycliques

# II.2.3.1.4 Triterpènes

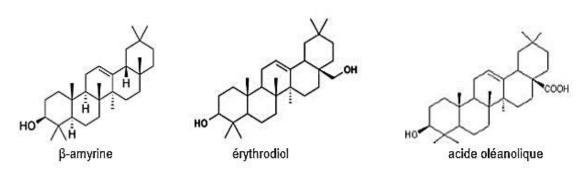
Les triterpènes sont des composés en C30 issus de la cyclisation du squalène. Ils sont très souvent hydroxylés et présentent une très forte unité structurale [26].

- ⇒ Triterpènoïdes non hétérosidiques
- Triterpènes acycliques. Parmi les triterpènes acycliques se trouve le squalène qui est le précurseur des autres triterpènes.

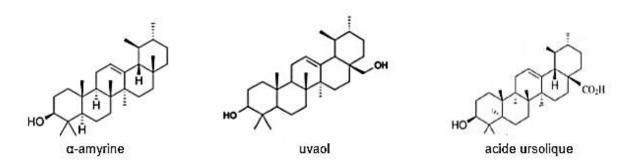
- Triterpènes cycliques
  - O Cucurbitacines: Les cucurbitacines sont des triterpènes tétracycliques particulièrement toxiques, amers, cytotoxiques.

- Pentacycliques : Les triterpènes pentacycliques sont représentés par les différentes structures suivantes : Lupane ; Oléane et Ursane
  - o Lupane:

#### Oléane:



#### o Ursane:



# ⇒ Triterpènes hétérosidiques

Les plus fréquents dans les plantes médicinales sont des saponosides triterpéniques (hétéroside de triterpènes).

#### **II.2.3.1.5. Stérols**

Les stérols ont une structure stéroïdique proche de celle des triterpènes. Les phytostérols sont spécifiques des végétaux. Ils sont sous forme libre, mais nombreux sont sous forme hétérosidique (saponosides et cardiotoniques).

⇒ Stérols non hétérosidiques : La plupart des stérols libres sont représentés par les phytostérols

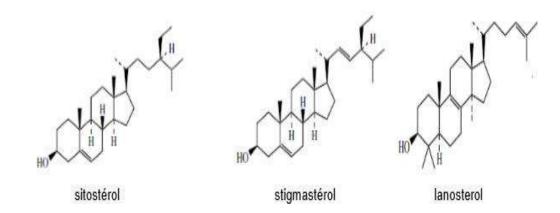
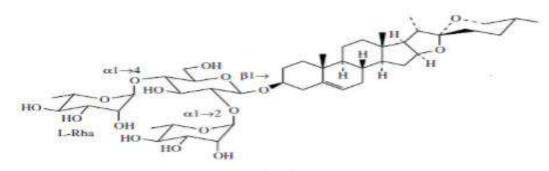


Figure 20: structure des polystérols

- ⇒ Stérols hétérosidiques
- ⇒ Saponosides stéroïdiques



dioscine (igname) Dioscoreaceae

# II.2.3.1.6. Tétraterpènes

Les tétraterpènes sont représentés par les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des terpènes en C40 qui possèdent un chromophore avec au moins dix doubles liaisons. Ce sont des pigments végétaux qui donnent une couleur jaune orangée aux organes qui les contiennent. Les caroténoïdes peuvent être séparés en deux grandes classes : les carotènes et les xanthophylles qui différent respectivement par l'absence ou la présence de fonctions hydroxyles [26].

# II.2.3.2. Propriétés physico-chimiques

Les monoterpènes et les sesquiterpènes (les huiles essentielles) sont des composés liquides à température ambiante, volatiles ; ce qui les différencie des huiles fixes. Les huiles essentielles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau. Solubles dans les solvants organiques usuels elles sont liposolubles, entrainables à la vapeur d'eau. Elles sont très peu solubles dans l'eau.

Les triterpènes et stéroïdes (saponosides, hétérosides cardiotoniques) sont solubles dans l'eau, légèrement dans l'éthanol et le chloroforme

# II.2.3.3 Propriétés pharmacologiques des terpènes et stéroïdes

Les terpènes et stéroïdes possèdent diverses propriétés pharmacologiques [18,25].

-Monoterpènes : constituants majoritaires des huiles essentielles, sont responsables des propriétés variées des huiles essentielles et des plantes qui les contiennent (antiseptiques, antispasmodiques, sédatives et anti-inflammatoires).

- **Iridoides**: action anti-inflammatoire.
- **Sesquiterpènes**: en dehors de l'artémisinine et ses dérivés qui ont des propriétés antimalariles la thérapeutique contemporaine n'utilise pas les lactones sesquiterpéniques.
- **Diterpènes**: propriétés anti-hypertensives, antirétrovirales, antitumorales, antiinflammatoires et analgésiques. Ils sont utilisés

comme anticonceptionnels, et pour favoriser l'accouchement. Plusieurs diterpènes sont des toxiques violents.

- **Saponosides**: anti-inflammatoires, anti-œdémateuses, antimycosiques.
- Cucurbitacines : particulièrement toxiques, elles possèdent des propriétés purgatives drastiques.
- Hétérosides cardiotoniques : activité sur le cœur (inotrope positive, chronotrope négative, dromotrope négative)
- **Phytostérols** sont hypocholestérolémiants.
- **Tétraterpènes** ont des propriétés anti-oxydantes

Les composés phytochimiques peuvent être également classés selon leur polarité.

#### I.1.3.3. Autres constituants

- Les vitamines
- Les éléments minéraux

# II.3. Composés phytochimiques des drogues végétales utilisées

# II.3.1 Composés phytochimiques de *Combretum micranthum* (Kinkéliba)

Des études ont permis d'isoler dans le Kinkéliba des flavonoïdes, des combrétines et des tanins catéchiques. La plante contient également des acides-alcools et des acides aminés quaternaires.[7].

#### II.3.1.1 Alcaloïdes

Différentes études ont permis d'identifier des alcaloïdes [7–10] Ammonium quaternaire ;

- Pipéridine-flavane alcaloïdes[27]

Kinkéloïde A1 : R1 = 2-piperidinyl, R2, R3, R4, R5 = H

Kinkéloïde A2 : R2 = 2-piperidinyl, R1, R3, R4, R5 = H

Kinkéloïde B1 : R1 = 2-piperidinyl, R2, R3, R5 = H, R4 = OH

Kinkéloïde B2 : R2 = 2-piperidinyl, R1, R3, R5 = H, R4 = OH

Kinkéloïde C1 : R1 = 2-piperidinyl, R2, R3 = H, R4, R5= OH

Kinkéloïde C2: R2 = 2-piperidinyl, R1, R3 = H, R4, R5= OH

Kinkéloïde D1 : R1 = 2-piperidinyl, R2 = H, R3, R4, R5 = OH

Kinkéloïde D2 : R2 = 2-piperidinyl, R1 = H, R3, R4, R5 = OH

#### II.3.1.2 Composés phénoliques

Différents composés phénoliques ont été identifiés [28,29]

# Acides phénols

#### ■ *Flavonoïdes*[30,31]

Vitexine (C-glycosyl-8 apigénine) Isovitexine ( C-glycosyl-6 apigénine)

orientine (C - glycosyl-8 lutéoline) Homoorientine (C - glycosyl-6 lutéoline)

#### Tanins

Des tanins catéchiques (combrétanin)

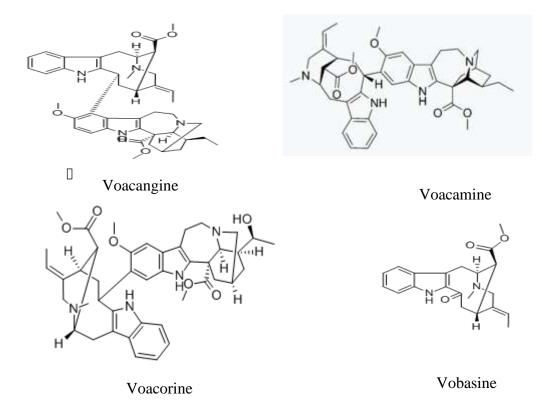
# II.3.1.3 Composés terpéniques

Des composés triterpéniques et stérols

# II.3.2 Composés phytochimiques de Voacanga africana K Sehum

L'étude chimique des *Voacanga* a été entreprise à la suite de la mise en évidence par Quevauvillier, Goutarel et Janot des propriétés hypotensives et tonicardiaques des alcaloïdes totaux de *Voacanga africana*.[32].

# ➤ Écorce :

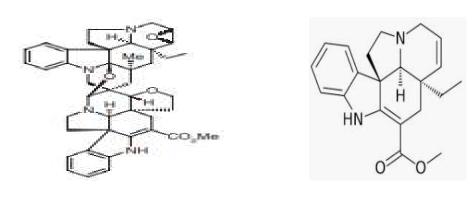


Voacristine

#### > Feuilles

Voafoline Réserpine Voacamine

#### > Graines.



Folicangine Tabersonine

# II.3.3 Composés phytochimiques de Enantia polycarpa (DC) Engl et Diels

On a isolé des écorces de tiges de la plante, un principe actif, la quinidine, douée de propriété antipaludique [33].Quelques années plus tard, Kamanzi [34] signale que les écorces de tiges de *Enantia polycarpa* contiennent :des alcaloïdes isoquinoliques dont la berbérine, des protoberbérines et un nouvel alcaloïde qui est la polycarpine. Il existe également des alcaloïdes quinoliques qui sont la quinine et la dihydroquinidine. L'analyse phytochimique a montré la présence des saponines, des alcaloïdes et des tanins dans l'extrait aqueux.

# III. EVALUATION ANALYTIQUE DES PRODUITS À BASE DE PLANTES

# III.1 Méthodes de préparation d'échantillon

La préparation de l'échantillon est une étape importante pour l'analyse des produits à base de plantes. La partie de la plante, le traitement préalable (séchage, fragmentation), le solvant et la procédure d'extraction influent sur la composition de l'extrait obtenu.

L'extraction est la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs qui sont traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales.

Les produits ainsi obtenus sont relativement impurs sous forme de liquides, semi-solides ou poudres, exclusivement destinées à un usage oral ou externe. La préparation de l'échantillon est une étape indispensable pour l'évaluation de la qualité des produits à base de plantes. Les paramètres de base qui influent sur la qualité de cette préparation sont : [35] :

- ✓ la nature du solvant
- ✓ la méthode d'extraction

#### III.1.1 Solvants d'extraction

Le choix d'un solvant ou d'un mélange de solvants est primordial, lorsqu'il s'agit d'une extraction des drogues végétales. Il est fondé sur plusieurs paramètres physicochimiques, tels que la polarité, la solubilité des constituants cibles, l'innocuité, la facilité d'élimination et la pureté du solvant [36,37].

On classe en général les solvants en fonction de leur polarité (tableau 1), et de leur capacité à extraire certaines molécules. L'extraction d'une molécule se fera toujours par solvant de même polarité (tableaux 2 et 3). Les solvants polaires tels que l'eau ; l'acétate d'éthyle, le méthanol, l'éthanol et l'acétone permettront l'isolement de molécules polaires : les **phénols**, les **lactones**, les **alcaloïdes**, les

protéines, les acide amines, les gommes, les mucilages. Les solvants apolaires comme le *chloroforme*, *le dichlorométhane*, l'hexane, *le toluène*, *le chlorure de méthylène* vont extraire les **terpènes**, **carbures**, **lipides**, **stérols**, **huiles essentielles**, **cires**, **résine**, et **chlorophylle** [36].

**Tableau 1:** Solvants utilisés pour l'extraction des composés phytochimiques des drogues végétales [36]

Solvants	Polarité	Temps d'ébullition (°C)	Miscibilité avec H2O, %(v/v)
Acide acétique	Polaire	116-117	cm
Méthanol		64.7	cm
Ethanol		78	cm
1-Propanol		91	m
2-Propanol		82.4	m
2-Butanol		79.5	19
Acétone		56	cm
Acétate d'éthyle		77	80
Ether éthylique		34.6	1.2
Ether de pétrole		30-50	0.01
Dichlorométhane		39.7	1.3
Chloroforme		61	cm
Tétrachlorure de pétrole		76-77	0.8
Toluène		110.6	0.06
Benzène		80	0.01
Cyclohexane	$\forall \vdash$	80.7	0.01
Hexane	Apolaire	69	0.01

**Tableau 2:** Classification des composés phytochimiques selon leur polarité

Polarités	Très polaires	Peu polaires	apolaires
Composés	Tanins	Alcaloïdes	Terpènes
	Saponosides	Acides phénoliques	
	Polysaccharides	Coumarines	
	Minéraux	Quinones	
	Vitamines	Flavonoïdes	
		Anthocyanes	

Tableau 3 : Solvants utilisés et principes actifs

Solvants	Composés phytochimiques			
Eau	Anthocyanes; Amidons; Tanins; Saponines; Terpènes;			
Éthanol	Stérols ; Polyphénols ; Alcaloïdes ; Terpènes ; Polyacétylènes			
Méthanol	Anthocyanes; Saponines; Alcaloïdes; Terpènes;			
Chloroforme	Terpénoïdes ; Flavonoïdes			
Éther	Alcaloïdes ; Terpénoïdes ; Coumarines ; Acides gras			
Acétone	Phénols ; Flavonols			
Acétate d'éthyle	Stérols ; Flavonoïdes ; Tanins ; Polyterpènes			
Hexane	Lipides, huiles essentielles, chlorophylles			
Dichlorométhane	Terpènes ; coumarines ; phénols			

#### III.1.2.Méthodes d'extraction

Il existe deux méthodes d'extraction :

#### **❖**L'extraction liquide-liquide

Elle est la plus simple des méthodes de séparation. Elle consiste à faire passer des métabolites (solutés) dissouts dans une phase liquide, dans une seconde phase liquide non miscible avec la première [38].

#### **❖**L'extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est une opération de transfert de matière entre une phase qui contient la matière à extraire «solide», et un solvant d'extraction «liquide». Le but de cette opération est d'extraire et de séparer un ou plusieurs composants mélangés à un solide dans un solvant. [39]

#### III.1.2.1 Procédures d'extraction

Elle est basée sur les caractéristiques physicochimiques des composés à extraire.

Deux procédures d'extraction sont généralement utilisées [36,37].

- L'extraction par mise en contact avec un solvant ou mélange de solvants : les échantillons végétaux broyés, sont mis en contact avec le solvant dans un mélangeur. Puis l'extrait est filtré. Le filtrat peut être séché sous pression réduite, puis rédissout dans le même solvant.
- L'extraction successive avec des solvants de polarité croissante : Elle se réalise d'un solvant apolaire à un solvant polaire, afin d'assurer une extraction optimale des composés de polarités différentes.

# III.1.2.2. Techniques d'extraction

#### III.1.2.2.1 Techniques d'extraction traditionnelle

Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales [36]. La tisane, que ce soit une infusion, une décoction ou une macération, est un procédé d'extraction de constituants actifs des plantes médicinales. Le mot tisane vient du grec «ptisané» qui désignait "orge mondé", puis tisane d'orge. L'utilisation de la plante en tisane est retrouvée parmi les méthodes les plus anciennes à côté des fumigations, des inhalations de vapeur, de l'application d'une solution sur le corps. L'eau chaude permet ainsi de récupérer certains constituants actifs hydrosolubles [40]. D'autres techniques traditionnelles étaient aussi utilisées pour la récupération des principes liposolubles et aromatiques comme les huiles infusées [41]. La présence d'un composé ou d'un autre dépend de sa solubilité dans le solvant utilisé, de la température et la durée d'extraction ainsi que de fragmentation de la plante [40].

#### Infusion

C'est la forme de préparation la plus simple. Celle-ci se fait en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes médicinaux. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes: feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatiles ou thermolabiles, comme les huiles essentielles [42,43].

#### Décoction

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dures ou très dures, bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinaux [42,43].

#### Macération

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voire plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle est également utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude [43]. Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition [42].

#### Distillation

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatiles. Développée par Jabir Ibn Hayyan (Geber 721-815) qui a rajouté l'alambic à l'ancien appareil de distillation pour la réfrigération, mais cette pratique fut utilisée par Al Kindi (Alchindius 805-873) et Ibn Sina (Avicenne 980-1037) pour la préparation des parfums. Les eaux distillées ou hydrolats, sont obtenues par distillation de la plante (feuilles, tige), alors que les eaux florales sont obtenues de la même manière mais à partir des fleurs[44]. De nos jours cette technique traditionnelle est encore utilisée à Constantine pour l'extraction de certaines plantes aromatiques

### Digestion

C'est une forme de macération dans laquelle la chaleur douce est utilisée pendant le processus d'extraction. Elle est pratiquée modérément, lorsque la température élevée n'est pas répréhensible. L'efficacité solvant du dissolvant est ainsi augmentée [36].

#### **❖** Percolation

C'est par cette procédure que l'on extrait le plus fréquemment des ingrédients actifs, dans la préparation de teintures et les extraits fluides. On se sert généralement d'un percolateur (un récipient étroit en forme de cône ouvert aux

deux extrémités). Les ingrédients solides sont humidifiés avec une quantité appropriée de dissolvant spécifié, et on laisse reposer pendant environ 4 h dans un récipient. Après quoi, la masse est emballée et le haut du percolateur est fermé. Un dissolvant additionnel est ajouté pour former une couche superficielle audessus de la masse. Le mélange est mis à macérer dans le percolateur fermé pendant 24 h. La sortie du percolateur est alors ouverte, et le liquide contenu est autorisé à couler lentement. Le marc (ou le résidu) est ensuite pressé et le liquide exprimé est ajouté à la percolation. Une quantité suffisante de dissolvant est ajoutée pour produire le volume requis ; et le liquide mixte est clarifié par filtration ou par décantation, suivie debout [36].

#### III.1.2.2.2 Techniques d'extraction modernes

#### **❖** Extraction au Soxhlet

Les méthodes d'extraction conventionnelles des plantes médicinales utilisaient les solvants organiques soit par macération (extraction discontinue), soit en utilisant certains appareils comme le Soxhlet (**Figure n°21**). Cette méthode qui fait usage du Soxhlet est une extraction continue expérimentée pour la première fois en 1879 par l'allemand Franz von Soxhlet (1848-1926). Mais certains inconvénients se présentent avec cet appareil, à cause de la taille limitée de la cartouche qui porte la plante, et la chaleur qui peut dégrader les composés chimiques.

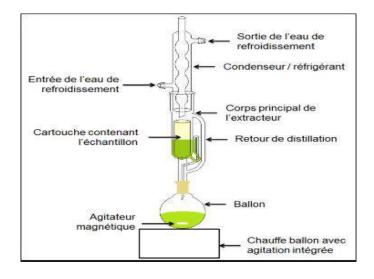


Figure 21:L'extracteur de Soxhlet

Les solvants organiques sont des composés chimiques volatils et relativement inertes. Dans la plupart des applications, ils jouent un rôle transitoire en facilitant le processus d'extraction, pour être ensuite évacués (Bégin et Gérin, 2002).

#### **\*** Extraction par chauffage à reflux

C'est une méthode d'extraction solide-liquide à chaud. Le reflux permet la réalisation d'une extraction à une température constante (température de reflux) égale à la température d'ébullition du solvant. Ainsi, le solvant s'évapore et le réfrigérant condense à nouveau les vapeurs qui retombent dans le ballon; permettant au solvant d'être ainsi recyclé (**figure n°22**). Le chauffage (augmentation de la solubilité et transfert de matière), l'ébullition (agitation) et le reflux permettent une extraction efficace avec un appareillage relativement simple. Le chauffage à reflux est utilisé pour extraire efficacement des composés phytochimiques [45].

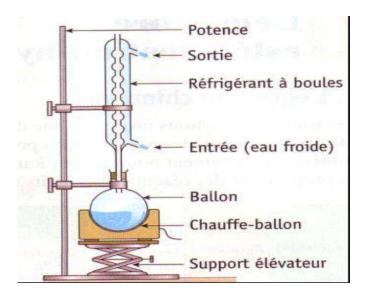


Figure 22 : Schéma d'un chauffage à reflux

# **\*** Extraction Assistée par Micro-Ondes

Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques de longueur d'onde intermédiaire entre l'infrarouge et les ondes de radiodiffusion entre 300 GHz à 300 MHz. L'usage de l'énergie micro-onde dans les laboratoires de chimie, a été décrit pour la première fois en 1986 par R. Gedye et coll. et R.J.

Giguere et coll. en synthèse organique et par K. Ganzler et coll. pour l'extraction des matrices biologiques en vue d'analyse d'échantillons (Gedye et al. 1986; Giguerre et al. 1986; Ganzler et al. 1986).

C'est un chauffage sélectif utilisant les radiations micro-ondes qui interagissent avec les dipôles des molécules polaires ou polarisables. Les molécules polaires tentent de s'orienter (rotation) dans la direction de champ et ainsi, elles chauffent. L'énergie électrique est convertie en énergie cinétique qui est ensuite transformée partiellement en chaleur par cette rotation dipolaire.

Dans cette méthode, la plante est chauffée par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle. Les molécules volatiles sont entrainées dans le mélange azéotropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. Ce chauffage, en vaporisant l'eau contenue dans les glandes oléifères, crée à l'intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois végétales et libère ainsi le contenu en huile [46].

# **\*** Extraction par Ultrasons ou Sonication

Inaudibles par l'oreille humaine, les ultrasons ont été découverts en 1883 par le physiologiste anglais Francis Galton (1822-1911). Celui-ci inventa le sifflet à ultrasons, en testant plusieurs fréquences pouvant être entendues par les animaux. Il fallut cependant attendre les années 1980 et l'apparition des premiers générateurs ultrasonores fiables pour que des chercheurs démontrent que les ondes ultrasonores offrent d'indéniables perspectives en chimie. Et pour la première fois, le terme de « sonochimie » est mentionné par Neppiras dans la revue Physics Report pour son travail sur la cavitation. Ainsi commencent les travaux sur les réactions de composés organiques s'opérant dans des solvants organiques eux aussi, et sous l'influence des ultrasons [47,48].

Plusieurs facteurs gouvernent l'action des ultrasons :

- la fréquence,

- la pression,
- la température
- et le temps de sonication.

Il faut prendre en considération les caractéristiques de la plante comme l'humidité, les dimensions des particules et les solvants utilisés pour avoir un bon rendement [49].

La technique d'extraction par ultrasons est la plus utilisée à l'échelle industrielle pour améliorer les phénomènes de transfert de masse. Elle a été reconnue pour son application potentielle dans l'extraction des plantes et leurs huiles (carvone, gingerols, huile d'amande), les protéines (soja), polyphénols, anthocyanines, saponines de ginseng, polysaccharides, la pasteurisation et la production de produits laitiers [49,50]; [51,52].

Cependant, l'effet de l'extraction par ultrasons sur le rendement et la cinétique d'extraction, est lié à la nature de la matrice végétale.

# III.2 Méthodes d'analyse

Diverses méthodes analytiques sélectives et sensibles sont utilisées pour l'analyse des extraits à base de plantes, dans le but d'établir une caractérisation phytochimique. Nous pouvons citer :

- Les méthodes chromatographiques (CCM, HPLC, GC, CE)
- Les méthodes spectrales (spectrophotométrie UV visible)

Le développement de la spectrométrie de masse et son couplage aux techniques chromatographiques, fait que GC/MS, HPLC/MS et CE/MS sont les techniques couramment utilisées dans le profilage métabolique des produits à base de plantes [53,54].

Cependant, les contrefaçons deviennent de plus en plus sophistiquées et difficiles à identifier d'un simple coup d'œil. Un contrôle qualité des médicaments, des phytomédicaments et des compléments alimentaires est donc nécessaire.

#### III.2.1 Méthodes chromatographiques

Les méthodes chromatographiques sont largement utilisées pour la détection de contrefaçons.

La chromatographie sur couche mince constitue une excellente technique moderne d'analyse par sa rapidité et sa haute sensibilité.

Elle a été utilisée en 1964 par Crépis O, Judas O et B Lachese pour la détection des stéroïdes conjugués. Il en est de même pour Galtier.P, Eeckhoutte.C, Alvinerie M qui ont isolé par chromatographie sur couche mince l'ochratoxine obtenue à partir de milieu liquide faiblement concentré en toxines.[55]

Akhanovna et al, ont utilisé cette même méthode en 2012 pour l'identification phytochimique de la plante *Anchomanes difformis* (blume) [56].

Mebarka B également a utilisé la chromatographie sur couche mince pour la caractérisation phytochimique de la plante *Cotula cinera* de la région d'Ouargla à travers les extraits de tiges, feuilles et fleurs.

Dans le domaine pharmaceutique, le principal intérêt de la chromatographie sur couche mince est de permettre la détermination de faibles concentrations d'impuretés dans les substances médicinales.

La chromatographie en phase gazeuse est un outil remarquable pour détecter les solvants résiduels et impuretés volatiles organiques. C'est une technique de séparation des différents composés d'un mélange dont la phase mobile est un gaz appelé gaz vecteur ou encore gaz porteur. Et la phase stationnaire est soit un liquide, soit un solide.

Etant très sensible, plusieurs auteurs l'utilisent couplée avec la spectrométrie de masse. Tseng et al ont ainsi identifié et quantifié plusieurs adultérants (le mazindol, le clobenzorex, la caféine, le diazépam et la phentermine) dans des médicaments traditionnels chinois ayant des propriétés amaigrissantes [57].

La GC-MS a également permis de détecter la présence d'amphétamine, de caféine et d'autres substances, mais aussi l'absence du principe actif annoncé, le fénethylline, dans des lots de Captagon® (Sherma, 2007 [58]). Bony et al (2013)

ont utilisé cette méthode pour l'établissement de profils chromatographiques de métabolites phytochimiques apolaires[8]. Il en est de même pour Lavigne V (1993) pour le dosage des composés soufrés volatils légers dans les vins [59], ainsi que Marque P, Lacharte G (1996) pour l'identification et le dosage des principales drogues amphétaminiques dans le sang total.

A Parmi les méthodes séparatives, l'HPLC reste la plus populaire parce qu'elle permet un choix plus large des phases mobiles, des phases stationnaires et des différents détecteurs.

Cette méthode a été utilisée par différents auteurs parmi lesquels on peut citer Bauer et al qui en 1980 ont analysé les alcaloïdes du quinquina. Ainsi que Gimet et al (1979) qui ont réalisé l'identification et le dosage des alcaloïdes en mélange dans une forme pharmaceutique.

De nombreux auteurs ont eu recours à l'HPLC couplée avec la MS. Celle-ci permet non seulement de détecter les adultérants, mais également de les identifier. Lau et al (2003) s'en sont servis pour détecter la caféine, la phénylbutazone et l'oxyphenbutazone présents en tant qu'adultérants dans des formulations à base de plantes d'Indonésie [60]. Bogusz et al (2006) ont également testé cette méthode sur un grand nombre de molécules (analgésiques, antibiotiques, antiépileptiques, aphrodisiaques, hormones, amaigrissants, anaboliques, psychotropiques).

Les limites de détection et de quantification obtenues sont excellentes, respectivement de l'ordre de quelques pg à quelques ng et de quelques ng à une dizaine de ng [61]

❖ La méthode HPLC est grande consommatrice de solvants. Certains auteurs ont développé l'électrophorèse capillaire qui nécessite moins de solvants pour l'analyse de contrefaçons [62](Jiang, et al., 2010), (Liang, et al., 2004) (Cianchino, et al., 2008). Mais elle reste peu usitée en comparaison avec l'HPLC [54,62,63]. Les méthodes séparatives sont souvent utilisées pour analyser sélectivement les principes actifs des échantillons. La présence de ces principes actifs est une condition nécessaire. Mais elle n'est pas suffisante pour classer un

médicament comme étant authentique. Car un médicament est une combinaison complexe d'un ou de plusieurs principe(s) actif(s) et d'excipients. La sélectivité des méthodes séparatives peut être alors problématique [64] L'autre inconvénient des méthodes séparatives est le temps nécessaire pour l'optimisation et l'analyse.

#### III.2.2 Méthodes spectrales

La spectroscopie d'absorption moléculaire dans l'ultraviolet, le visible et l'infrarouge, est largement utilisée pour l'identification et le dosage d'innombrables espèces inorganiques et organiques. La spectroscopie d'absorption ultraviolet-visible, est surtout employée en analyse quantitative. Dans les laboratoires d'analyses chimiques ou médicinales du monde entier, l'on y a probablement plus recours qu'à toutes les autres méthodes.

Krajewski B. et al (2006) ont utilisé cette méthode pour mesurer la concentration en polluant dans les eaux usées. Camut (2009) a mis en place un contrôle terminal des préparations d'anticancéreux injectables. Ngolua et al (2010), grâce à cette méthode, ont fait l'étude de la dénaturation thermique de l'hémoglobine S ; une approche du dépistage rapide.

# PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE

Notre travail est initié par le département de chimie analytique de l'UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny. Il a été réalisé au laboratoire de chimie analytique de l'UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny.

#### I MATERIEL ET METHODES

#### I.1 Matériel

#### I.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué du mélange de trois poudres de drogues végétales largement rencontrées en Côte d'Ivoire, et dans lesquelles plusieurs composés phytochimiques ont été identifiés, à savoir les écorces de *Voacanga africana* (Apocynaceae), les feuilles de *Combretum micranthum* (Combretaceae) et les feuilles de *Enantia polycarpa* (Annonaceae).

# I.1.2 Matériel analytique

#### I.1.2.1 Appareillage

- Spectrophotomètre UV visible 190 à 1000 nm (JENWAY)
- Étuve (Memmert)
- Chauffage à reflux : chauffe ballon, ballon à fond rond, réfrigérant
- Four à moufle (Nabertherm)
- Balance de précision (OHAUS, max= 400g; d= 0.0001)
- Évaporateur rotatif (HEIDOLPH)
- Bain marie (Memmert)
- Agitateur Vortex
- Chromatographie couche mince : cuve en verre, plaques CCM aluminium (silice 60F254) ; lampe Ultra-Violet (Fisher, UV 365 et 254 nm
- Agitateur magnétique

# I.1.1.1 Verreries, petits matériels et accessoires

- Éprouvettes
- Pipettes jaugées
- Tubes à essai
- Ballons à fond rond
- Flacons en verre
- Erlenmeyer
- Béchers
- Fioles jaugées (25ml, 50ml, 100ml, 200ml)
- Papiers filtres Whattman
- Micropipettes
- Spatules
- Moules de révélations en verre
- Cuves en quartz
- Cuve de migration en verre
- Creusets en porcelaine
- Papier pH

#### I.1.1.2 Produits et réactifs

- Eau distillé
- Méthanol
- Chloroforme
- Éthanol absolu
- Dichlorométhane
- Hexane
- Acétone
- Acétate d'éthyle
- Ammoniac hydroxyde

- Nitrate de bismuth basique
- Acide acétique cristallisable
- Iodure de potassium
- Acide chlorhydrique
- Acide sulfurique
- Diphenylboryloxyethanolamine
- Polyéthylèneglycol (PEG) 4000
- Potassium hydroxyde
- Chlorure de fer (III)
- Anhydride acétique
- Réactif de Folin Ciocalteu

Réactifs révélateurs (voir annexe 1)

#### I.2 Méthodes

#### I.2.1. Préparation des extraits

La préparation des extraits a été réalisée à partir de deux procédures d'extractions :

- extraction avec le mélange de solvants
- extractions successives par polarité croissante avec des solvants uniques.

La technique d'extraction utilisée était le chauffage à reflux.

#### I.2.1.1 Solvants

Le choix des solvants était basé sur ceux couramment utilisés pour l'extraction des composés phytochimiques [36] :

- Les solvants apolaires : l'hexane, le dichlorométhane, le chloroforme
- Les solvants de polarité intermédiaire : l'acétate d'éthyle et l'acétone
- Les solvants polaires : l'eau, le méthanol et l'éthanol

Les différents solvants sont utilisés seuls ou en mélange (binaire, ternaire, ou quaternaire), en fonction de leur polarité (du plus apolaire au plus polaire). Le choix des proportions pour le mélange des solvants est basé sur leur miscibilité; et également des solvants pour l'extraction des grands groupes de composés phytochimiques [20].

Pour notre étude, nous avons utilisé 26 solvants (voir tableau 4).

Tableau 4 : Différents solvants utilisés pour la préparation des extraits

Solvants (proportions)				
Hexane (100)				
Dichlorométhane (100)				
Chloroforme (100)				
Acétate d'éthyle (100)				
Éthanol (100)				
Acétone (100)				
Méthanol (100)				
Eau (100)				
Éthanol/eau (50/50)				
Acétone/eau (50/50)				
Hexane/Éthanol/Eau (12/76/12)				
Hexane/Méthanol/eau (7/86/7)				
Hexane/Acétone/eau (12/76/12)				
Dichlorométhane/Éthanol/eau (20/60/20)				
Chloroforme/Éthanol/Eau (20/60/20)				
Chloroforme/Acétone/Eau (12/76/12)				
Dichlorométhane/Méthanol/Eau (20/60/20)				
Chloroforme/Méthanol/Eau (20/60/20)				
Hexane/Acétate d'éthyle/Éthanol/Eau (14/14/58/14)				
Hexane/Acétate d'éthyle/Acétone/Eau (17/17/49/17)				
Hexane/Chloroforme/Méthanol/Eau (10/10/70/10)				
Hexane/Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau (9/9/73/9)				
Chloroforme/Acétate d'éthyle/Éthanol/Eau (17/17/49/17)				
Chloroforme/Acétate d'éthyle/Acétone/Eau (12/12/64/12)				
Chloroforme/Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau (18/18/46/18)				
Chloroforme/Acétone/Méthanol/Eau (20/20/40/20)				

#### I.1.1.2 Réalisation des extractions

#### **\*** Extraction avec les solvants

- Peser 1,7 g de chaque poudre (5,1 g);
- Extraire par chauffage à reflux avec 25 ml de solvant pendant 10 mn, puis filtrer sur papier filtre dans une fiole jaugée de 25 ml et compléter à 25 ml avec le même solvant.

#### **Extraction des alcaloïdes**

- Peser 1,7 g de chaque poudre (5,1 g);
- Humidifier avec 5 ml d'une solution d'ammoniac à 10%, extraire par chauffage à reflux (ou agitation sous ultrasons) avec 25 ml de méthanol pendant 10 mn, puis filtrer sur papier filtre Whattman et compléter à 25 ml avec le même solvant ;

# ❖ Extraction successive avec le mélange Chloroforme/Méthanol/Eau (20/60/20)

- Peser 1,7 g de chaque poudre (5,1 g);
- Extraire par chauffage à reflux avec 25 ml de chloroforme pendant 10 mn, puis filtrer sur papier filtre Whattman dans une éprouvette de 200 ml puis compléter à la graduation 25 ml avec le chloroforme;
- Extraire le marc obtenu (même poudre) par chauffage à reflux (ou agitation sous ultrasons) avec 75 ml de méthanol pendant 10 mn, puis filtrer sur papier filtre Whattman dans l'éprouvette de 200 ml puis compléter à la graduation 100 ml avec le méthanol;
- Extraire le marc obtenu (même poudre) par chauffage à reflux (ou agitation sous ultrasons) avec 25 ml d'eau pendant 10 mn, puis filtrer sur papier filtre Whattman dans l'éprouvette de 200 ml puis compléter à la graduation 125 ml avec de l'eau.
- Evaporer à sec l'ensemble des extraits sous évaporateur rotatif, et reprendre le résidu sec avec 25 ml du mélange chloroforme/méthanol/eau (20/60/20). Puis filtrer sur papier filtre Whattman et compléter à 25 ml avec le même solvant.

# ❖ Extraction successive avec le mélange Hexane/acétone/eau (12/76/12)

- Peser 1,7 g de chaque poudre (5,1 g);
- Extraire par chauffage à reflux (ou agitation sous ultrasons) avec 24 ml d'hexane pendant 10 mn, puis filtrer sur papier filtre Whattman dans une éprouvette de 200 ml puis compléter à la graduation 24 ml avec l'hexane ;
- Extraire le marc obtenu (même poudre) par chauffage à reflux (ou agitation sous ultrasons) avec 152 ml d'acétone pendant 10 mn, puis filtrer sur papier filtre Whattman dans l'éprouvette de 200 ml. Puis compléter à la graduation 176 ml avec l'acétone.
- Extraire le marc obtenu (même poudre) par chauffage à reflux (ou agitation sous ultrasons) avec 24 ml d'eau pendant 10 mn, puis filtrer sur papier filtre Whattman dans l'éprouvette de 200 ml puis compléter à la graduation 200 ml avec de l'eau ;
- Evaporer à sec l'ensemble des extraits sous évaporateur rotatif et reprendre le résidu sec avec 25 ml du mélange hexane/acétone/eau (12/76/12), puis filtrer sur papier filtre Whattman et compléter à 25 ml avec le même solvant.

#### I.2.1.2 Les différents extraits

Nous avons défini 29 procédés d'extraction, numérotés de 1 à 29 (voir **tableau** 5). Et pour chaque procédé, trois extractions ont été réalisées. Au total 87 extraits ont donc été obtenus.

Tableau 5 : Différents procédés d'extraction

N°	Type extrait	Type extrait		
1	CMW (20/60/20)	Chloroforme/Méthanol/Eau (20/60/20)		
2	CMW (20/60/20) sus	Chloroforme/Méthanol/Eau (20/60/20) extraction successive		
3	DMW (20/60/20)	Dichlorométhane/Méthanol/Eau (20/60/20)		
4	CEW (20/60/20)	Chloroforme/Éthanol/Eau (20/60/20)		
5	<b>DEW</b> (20/60/20)	Dichlorométhane/Éthanol/Eau (20/60/20)		
6	Malca (100)	Méthanol (100) extraction des alcaloïdes [20]		
7	AoW (50/50)	Acétone/Eau 50/50 extraction des composés phénoliques [65]		
8	EW (50/50)	Éthanol/Eau 50/50 extraction des composés phénoliques [65]		
9	<b>Dterp</b> (100)	Dichlorométhane (100) extraction des terpènes [20]		
10	Cterp (100)	Chloroforme (100) extraction des terpènes		
11	CaoW (12/76/12)	Chloroforme/Acétone/Eau (12/76/12)		
12	HMW (7/86/7)	Hexane/Méthanol/Eau (7/86/7)		
13	HEW (12/76/12)	Hexane/Éthanol/Eau (12/76/12)		
14	HaoW (12/76/12)	Hexane/Acétone/Eau (12/76/12)		
15	HaoW (12/76/12) sus	Hexane/Acétone/Eau (12/76/12) extraction successive		
16	M (100)	Méthanol (100)		
17	E (100)	Éthanol (100)		
18	Ae (100)	Acétate d'éthyle (100)		
19	Ao (100)	Acétone (100)		
20	W 100)	Eau (100)		
21	H (100)	Hexane (100)		
22	CaeMW (18/18/46/18)	Chloroforme/Acétate d'éthyle/Méthanol (Eau18/18/46/18)		
23	CaeEW (17/17/49/17)	Chloroforme/Acétate d'éthyle/Éthanol/Eau (17/17/49/17)		
24	CaeAoW (12/12/64/12)	Chloroforme/Acétate d'éthyle/Acétone/Eau (12/12/64/12)		
25	HaeMW (9/9/73/9)	Hexane/Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau (9/9/73/9)		
26	HaeEW (14/14/58/14)	Hexane/Acétate d'éthyle/Éthanol/Eau (14/14/58/14)		
27	HaeAoW (17/17/49/17)	Hexane/Acétate d'éthyle/Acétone/Eau (17/17/49/17)		
28	CaoMW (20/20/40/20)	Chloroforme/Acétone/Méthanol/Eau (20/20/40/20)		
29	HCMW (10/10/70/10)	Hexane/Chloroforme/Méthanol/Eau (10/10/70/10)		

# I.2.2 Détermination des caractères organoleptiques, des paramètres physiques et physicochimiques

#### I.2.2.1 Caractères organoleptiques

Il s'agit d'une analyse sensorielle des extraits obtenus, tout en appréciant leurs **couleurs**, leurs **aspects** (trouble, limpide, présence ou absence de dépôts)

# I.2.2.2 Paramètres Physiques

#### I.2.2.2.1 Détermination du résidu sec

#### **Principe**

Détermination de la masse du produit résultant de la dessiccation des extraits.

#### Mode opératoire

- Peser le creuset vide ;
- Introduire 5 ml d'extrait dans le creuset ;
- Évaporer à siccité à l'étuve pendant 3heures ;
- Refroidir au dessiccateur pendant 30 min ;
- Peser le creuset avec le résidu sec ;

## Expression des résultats

La quantité de résidu sec en % (m/v) est obtenue par la différence de poids du creuset avec le résidu sec, et le poids du creuset vide multiplié par 20.

#### I.2.2.2.2 Détermination des cendres

#### **Principe**

Il consiste à déterminer la quantité totale de minéraux présents dans nos extraits, par la mesure de la masse du produit résultant de l'incinération de la matière sèche.

#### Mode opératoire

- Reprendre le creuset avec le résidu sec ;
- Chauffer dans un four à moufle pendant 6h à 600°C
- Refroidir au dessiccateur pendant 30 min ;
- Peser le creuset avec la cendre.

## Expression des résultats

La quantité de cendres totales en % (m/v) est obtenue par la différence de poids du creuset avec la cendre, et le poids du creuset vide multiplié par 20.

# I.2.2.3 Caractéristiques phytochimiques

# I.2.2.3.1 Recherche des composés phytochimiques

Principe

Il s'agit de la recherche des groupes phytochimiques présents dans nos extraits, par chromatographie sur couche mince (CCM)

Conditions opératoires (voir tableaux 6, 7 et 8)

Plaque dimension 10×20 cm; dépôt 30 μl

> Expressions des résultats

Déterminer les facteurs de rétention (Rf) des taches distinctes et indiquer leur abondance (+, ++, ++++).

Le résultat de la recherche des groupes de composés phytochimiques est donné par le nombre de taches distinctes.

Tableau 6 : Recherche par CCM des groupes phytochimiques

	Phase mobile	Révélation	Interprétation (réaction positive)	
		Sans traitement visible	Tache jaune, rouge à bleu-violet (anthocyanes)	
		Sans traitement UV 254 nm	Tache sombre sur fond vert	
Analyse globale UV	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8)	Sans traitement UV 365 nm	Tache fluorescente :  alcaloïdes (indole, quinoléine, isoquinoléine, boldine) ; flavonoïdes, acides phénols ; coumarines (simple, nonsubstituée furanocoumarine, chromone) ; quinone (anthraquinone)	
Composés alcaloïdiques	Acétate d'éthyle /	Réactif de DRAGENDORF visible	Tâche brune, orangée	
Composés phénoliques	méthanol / eau (81 / 11 / 8)	Fast blue B visible	Tâche rouge-marron	
Composés terpéniques		Anisaldehyde sulfurique Visible	Tâche bleue, verte, rouge, violette marron	

Tableau 7 : Recherche CCM des groupes de composés phénoliques

	Phase mobile	Révélation	Interprétation (réaction positive)
Flavonoïdes Phénols acides		Réactif de NEU (NP/PEG) UV 365 nm	<ul> <li>- jaune orange vert sombre</li> <li>(Flavonoïde)</li> <li>- bleue (phénol acide carboxylique)</li> </ul>
Tanins	Acétate d'éthyle /	FeCl <sub>3</sub> / H <sub>2</sub> 0 galliques) Visible - Tache bleue sombre (tanged) galliques - Tache brune verdâtre (tanged)	
Quinones	méthanol / eau (81 / 11 / 8)		Visible : rouge (anthraquinone) jaune (anthrone)
Coumarines		Réactif de BORNTRÄGER Visible / UV 365nm	<ul> <li>Fluorescence rouge         <ul> <li>(naphthoquinone, anthraquinone)</li> <li>Fluorescence jaune (anthrone, anthranols)</li> </ul> </li> <li>Fluorescence bleu (coumarine)</li> </ul>

Tableau 8 : Recherche par CCM des groupes de composés terpéniques

	Phase mobile	Révélation	Interprétation (réaction positive)
Triterpènes et stéroïdes	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8)	Réactif de Liebermann UV 365nm	<ul> <li>Rouge pour les triterpènes de type oléanane et ursane</li> <li>Jaune orangée pour les triterpènes de type lupane</li> <li>Coloration jaune /jaune-vert pour les stéroïdes</li> </ul>

#### I.2.2.3.2 Dosage des grands groupes de composés phytochimiques

#### I.2.2.3.2.1 Dosage des polyphénols totaux

#### **Principe**

La méthode de dosage des polyphénols totaux se fait selon la méthode de FOLIN-CIOCALTEU.

#### Mode opératoire

Tous les extraits sont dilués au 1/5éme avant le dosage, et un essai à blanc est réalisé avec l'eau distillée.

- -Prélever 40 µl de solution, ajouter 2 ml d'eau distillée, puis 1 ml de réactif de Folin Ciocalteu à 2N
- -Laisser (le tout) en contact pendant 3min
- -Ajouter 6 ml de solution de Carbonate de sodium à 2%
- -Laisser (le tout) en contact pendant 30 minutes
- -Déterminer l'absorbance à 750nm contre un blanc

#### Expression des résultats

Le résultat du dosage des polyphénols totaux est donné par la valeur de l'absorbance déterminée.

# I.2.2.3.2.2 Dosage des terpènes totaux

# **Principe**

La méthode de dosage des terpènes totaux se fait selon la méthode spectrophotométrie, par réaction avec l'anisaldéhyde sulfurique.

# Mode opératoire

Un essai à blanc est réalisé avec de l'eau distillée.

 Introduire 5 ml de l'anisaldéhyde sulfurique 1% dans un tube à essai avec bouchon;

- Ajouter 1 ml de l'extrait ;
- Mélanger au vortex ;
- Refroidir dans un bain de glace ;
- Chauffer au bain-marie à 60°C pendant 20 mn;
- Lecture à 608 nm ;

## Expression des résultats

Le résultat du dosage des terpènes totaux est donné par la valeur de l'absorbance déterminée.

#### I.2.2.2.3 Dosage des alcaloïdes totaux

#### **Principe**

La méthode de dosage des alcaloïdes totaux se fait selon la méthode gravimétrique par réaction de précipitation, avec le réactif de DRAGENDORFF.

# Mode opératoire

- Introduire 5 ml de l'extrait dans un tube avec bouchon à vise ;
- Ajuster le pH entre 2 2,5 à l'aide de papier pH avec de l'acide chlorhydrique dilué;
- Ajouter 2 ml de réactif de DRAGENDORFF(DR), agiter et laisser en contact pendant 5 mn;
- Filtrer sur du papier filtre préalablement pesé et laver le précipité avec 2 ml d'alcool;
- Sécher et peser le papier filtre et le précipité ;

# Expression des résultats

La quantité d'alcaloïdes est donnée par la masse du précipité obtenue par la différence de poids du papier filtre avec le précipité et le poids du papier filtre.

#### I.2.3 Traitements des données

Les données obtenues sont traitées à l'aide du logiciel Excel 2013.

Le traitement des données des analyses qualitatives et quantitatives a été effectué en déterminant la valeur moyenne des résultats des trois extraits de chaque procédé et en triant les valeurs moyennes par ordre croissant.

L'analyse globale des données des paramètres a été réalisée en affectant à chaque procédé d'extraction, une valeur égale à la somme des valeurs de chaque paramètre des analyses qualitatives et quantitatives globales.

#### II RESULTATS

Nous avons réalisé trois séries d'extraction sur lesquelles nous avons effectué différentes analyses.

# II.1 Caractères organoleptiques

Le tableau 9 montre que les extraits ont :

- 3 types de couleurs (marron, jaune-brun, vert);
- des aspects troubles ou limpides avec présence ou absence de dépôt au repos;

Les extraits de couleurs jaune-brun à marron sont la plupart les extraits avec l'eau, le méthanol et les mélanges renfermant l'eau, les alcools ; (éthanol, méthanol).

Les extraits de couleur verte sont ceux réalisés avec les solvants organiques seuls apolaires et peu polaires, et les mélanges renfermant les solvants apolaires (hexane, dichlorométhane ; chloroforme).

Les extraits troubles avec présence de dépôt au repos, sont la plupart réalisés avec l'eau, le méthanol et les mélanges renfermant l'eau et les alcools ; (éthanol, méthanol).

Les extraits limpides sont ceux réalisés avec les solvants organiques seuls peu polaires, seuls apolaires et les mélanges renfermant les solvants apolaires.

**Tableau 9:** Les Caractères organoleptiques des 29 extraits

Type Extrait	Caractères		Type Extrait	Caractères Organoleptiques
M 100	Jaune-brun limpide sans		M 100	Jaune-brun limpide sans dépôt
HMW 7/86/7	Jaune-brun Trouble avec		Malca 100	marron limpide sans dépôt
CAeEW 17/17/49/17	Jaune-brun Trouble avec		CAeAoW 12/12/64/12	verte Limpide sans dépôt
HAeEW 14/14/58/14	Jaune-brun Trouble avec		Ao 100	verte Limpide sans dépôt
HAeAoW	Jaune-brun Trouble avec		Cterp 100	verte Limpide sans dépôt
CAoMW 20/20/40/20	Jaune-brun Trouble avec		E 100	verte Limpide avec dépôt
HCMW 10/10/70/10	Jaune-brun Trouble avec		H 100	verte Limpide avec dépôt
HAeMW 9/9/73/9	Jaune-brun Trouble avec		CAoW 12/76/12	verte Limpide sans dépôt
DMW 20/60/20	Jaune-brun Trouble avec		Ae 100	verte Limpide sans dépôt
CEW 20/60/20	Jaune-brun Trouble avec		Dterp 100	verte Limpide sans dépôt
Malca 100	marron limpide sans dépôt		HAoW 12/76/12	verte Limpide sans dépôt
EW 50/50	marron Trouble avec dépôt		HMW 7/86/7	Jaune-brun Trouble avec dépôt
AoW 50/50	marron Trouble avec dépôt		CAeEW 17/17/49/17	Jaune-brun Trouble avec dépôt
CMW 20/60/20	marron Trouble avec dépôt		HAeEW 14/14/58/14	Jaune-brun Trouble avec dépôt
W 100	marron Trouble avec dépôt		HAeAoW 17/17/49/17	Jaune-brun Trouble avec dépôt
CAeMW 18/18/46/18	marron Trouble avec dépôt		CAoMW 20/20/40/20	Jaune-brun Trouble avec dépôt
CMW sus 20/60/20	marron trouble avec dépôt		HCMW 10/10/70/10	Jaune-brun Trouble avec dépôt
CAeAoW 12/12/64/12	verte Limpide sans dépôt		HAeMW 9/9/73/9	Jaune-brun Trouble avec dépôt
Ao 100	verte Limpide sans dépôt		DMW 20/60/20	Jaune-brun Trouble avec dépôt
Cterp 100	verte Limpide sans dépôt		CEW 20/60/20	Jaune-brun Trouble avec dépôt
E 100	verte Limpide avec dépôt		EW 50/50	marron Trouble avec dépôt
H 100	verte Limpide avec dépôt		AoW 50/50	marron Trouble avec dépôt
CAoW 12/76/12	verte Limpide sans dépôt		CMW 20/60/20	marron Trouble avec dépôt
Ae 100	verte Limpide sans dépôt		W 100	marron Trouble avec dépôt
Dterp 100	verte Limpide sans dépôt		CAeMW 18/18/46/18	marron Trouble avec dépôt
HAoW 12/76/12	verte Limpide sans dépôt		CMW sus	marron trouble avec dépôt
HAoW 12/76/12 sus	verte Trouble avec dépôt		HAoW 12/76/12 sus	verte Trouble avec dépôt
HEW 12/76/12	verte Trouble avec dépôt		HEW 12/76/12	verte Trouble avec dépôt
DEW 20/60/20	verte Trouble avec dépôt		DEW	verte Trouble avec dépôt

# II.2 Paramètres physiques

## II.2.1 Résidus secs

Tableau 10 : Détermination du résidu sec des extraits

					résidu sec
					moyen
N°	Extrait type	Série 1	Série 2	Série 3	(%, m/v),
21	H 100	0,274	0,276	0,275	0,275
18	Ae 100	0,52	0,516	0,518	0,518
9	Dterp 100	0,58	0,516	0,548	0,548
19	Ao 100	0,57	0,584	0,577	0,577
10	Cterp 100	0,66	0,712	0,686	0,686
17	E 100	0,792	0,894	0,807	0,831
14	HAoW 12/76/12	1,16	1,036	1,098	1,098
24	CAeAoW 12/12/64/12	1,26	1,254	1,257	1,257
26	HAeEW 14/14/58/14	1,28	1,28	1,28	1,28
15	HAoW 12/76/12 sus	1,28	1,296	1,288	1,288
16	M 100	1,28	1,298	1,289	1,289
6	Malca 100	1,504	1,416	1,148	1,356
20	W 100	1,556	1,554	0,975	1,362
12	HMW 7/86/7	1,38	1,468	1,424	1,424
25	HAeMW 9/9/73/9	1,474	1,464	1,469	1,469
13	HEW 12/76/12	1,44	1,5	1,47	1,47
11	CAoW 12/76/12	1,44	1,51	1,475	1,475
29	HCMW 10/10/70/10	1,648	1,64	1,644	1,644
23	CAeEW 17/17/49/17	1,724	1,786	1,755	1,755
27	HAeAoW 17/17/49/17	1,906	2,02	1,591	1,839
22	CAeMW 18/18/46/18	1,914	1,878	1,749	1,847
5	<b>DEW 20/60/20</b>	1,82	1,902	1,861	1,861
1	CMW 20/60/20	1,98	1,98	2,104	2,021
2	CMW sus 20/60/20	2	2,208	1,98	2,063
3	DMW 20/60/20	2,2	2,25	2,225	2,225
4	CEW 20/60/20	2,22	2,25	2,235	2,235
28	CAoMW 20/20/40/20	2,5	2,202	2,351	2,351
8	EW 50/50	2,36	2,484	2,422	2,422
7	AoW 50/50	2,6	2,636	2,618	2,618

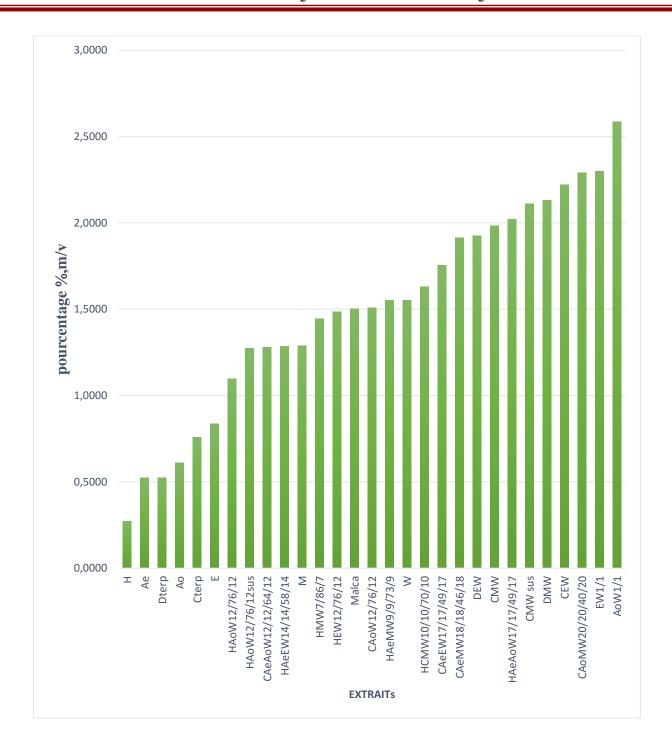


Figure 23: Résidu sec moyen des 29 types extraits

La **figure 23** et le **tableau 10** montrent que les procédés avec les mélanges de solvants, permettent d'extraire une masse plus élevée de composés qu'avec les solvants seuls.

Les mélanges acétone/eau (2.5867%) et éthanol/eau (2.298.%), permettent d'extraire une masse de composés plus importante, suivie des mélanges ternaires

obtenus par ajout d'un solvant apolaire tels que le chloroforme et le dichlorométhane.

Les procédés successifs permettent d'extraire une masse légèrement plus élevée que les procédés avec les mélanges de solvants (HAoW (1.0980%)< HAoW sus (1.2740%) et CMW (1.9840%)< CMW sus (2.1100%).

Les solvants seuls à savoir l'eau (1.5527%) et le méthanol (1.2887%), extraient une masse plus élevée de composés. Quant à l'hexane (0.2720%), il permet d'extraire une masse très faible de composés.

Les mélanges de solvants avec l'hexane, permettent d'extraire une masse de composés plus faible que les mélanges de solvants avec le chloroforme et le dichlorométhane.

## **II.2.2 Cendres totales**

Tableau 11 : Détermination des cendres totales pour 100 ml d'extrait

NIO	T	G/ 1 4	G/ L A		Moy
N°	Extrait type	Série 1	Série 2	Série 3	cendres
21	H 100	0,0040	0,0020	0,0030	0,0030
19	Ao 100	0,0040	0,0020	0,0040	0,0033
17	E 100	0,0192	0,0160	0,0100	0,0151
24	CAeAoW 12/12/64/12	0,0200	0,0220	0,0220	0,0213
26	HAeEW 14/14/58/14	0,0600	0,0560	0,0580	0,0580
10	Cterp 100	0,0792	0,0680	0,0420	0,0631
23	CAeEW 17/17/49/17	0,0680	0,0740	0,0720	0,0713
25	HAeMW 9/9/73/9	0,0940	0,0860	0,0900	0,0900
18	Ae 100	0,0970	0,0856	0,0924	0,0917
29	HCMW 10/10/70/10	0,1020	0,0840	0,0930	0,0930
9	Dterp 100	0,0852	0,1084	0,1040	0,0992
27	HAeAoW 17/17/49/17	0,1540	0,1320	0,1140	0,1333
20	W 100	0,4100	0,3940	0,4020	0,4020
6	Malca 100	0,4340	0,4160	0,4100	0,4200
12	HMW 7/86/7	0,7160	0,7120	0,7200	0,7160
11	CAoW 12/76/12	0,7560	0,7120	0,7220	0,7300
1	CMW 20/60/20	0,8000	0,7840	0,8040	0,7960
5	DEW 20/60/20	0,8440	0,8220	0,8340	0,8333
13	HEW 12/76/12	0,8600	0,8460	0,8500	0,8520
2	CMW sus 20/60/20	0,8940	0,8700	0,8820	0,8820
22	CAeMW 18/18/46/18	0,9100	0,8660	0,8760	0,8840
14	HAoW 12/76/12	0,9260	0,9180	0,9400	0,9280
3	DMW 20/60/20	1,0200	1,0220	1,0160	1,0193
4	CEW 20/60/20	1,0360	1,0240	1,0080	1,0227
16	M 100	1,0660	1,0520	1,0700	1,0627
15	HAoW 12/76/12sus	1,1700	1,1360	1,1440	1,1500
28	CAoMW 20/20/40/20	1,1640	1,1480	1,1440	1,1520
8	EW 50/50	1,2040	1,2000	1,2080	1,2040
7	AoW 50/50	1,2320	1,2260	1,2020	1,2200

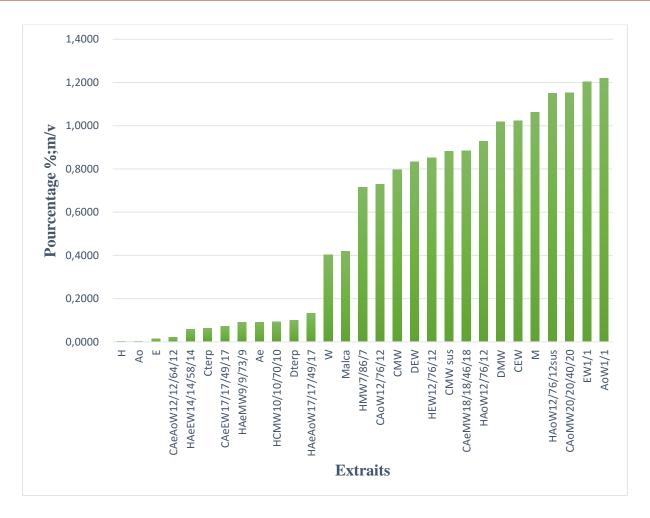


Figure 24 : Détermination des cendres totales pour 100ml d'extrait

La **figure 24** et le **tableau.11** montrent que les procédés avec les solvants polaires, permettent d'extraire une masse plus élevée de cendres que les solvants apolaires.

Les mélanges acétone/eau (1.2200%) et éthanol/eau (1.2040%), permettent d'extraire une masse de cendres plus importante.

Les procédés successifs permettent d'extraient une masse légèrement plus élevée que les procédés avec les mélanges de solvants (HAoW (0.9280%) < HAoW sus (1.1500%) et CMW (0.7960%) < CMW sus (0.8820%)

Les solvants seuls que sont l'eau (0.4020%) et le méthanol (1.0627%), permettent d'extraire une masse plus élevée de cendres par rapport à l'éthanol (0.0151%), au chloroforme (0.0631%), à l'acétate d'éthyle

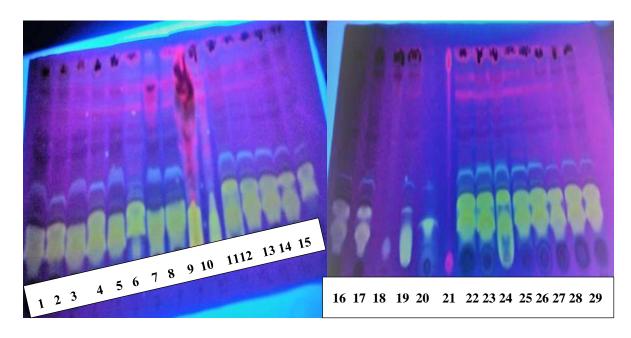
(0.0917%), à l'acétone (0.0033%), tandis que l'hexane (0.0030%) permet d'extraire une masse très faible de composés.

Les mélanges ternaires et quaternaires (chloroforme/acétone/méthanol/eau (1.1520%) et chloroforme/acétate d'éthyle/méthanol/eau (0.8840%)) permettent d'extraire une masse élevée de cendres.

## II.3 Paramètres phytochimiques

## II.3.1 Recherche des composés phytochimiques

# II.3.1.1 Recherche de composés phytochimiques qui absorbent à l'UV 365 nm

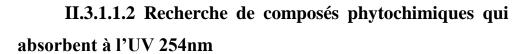


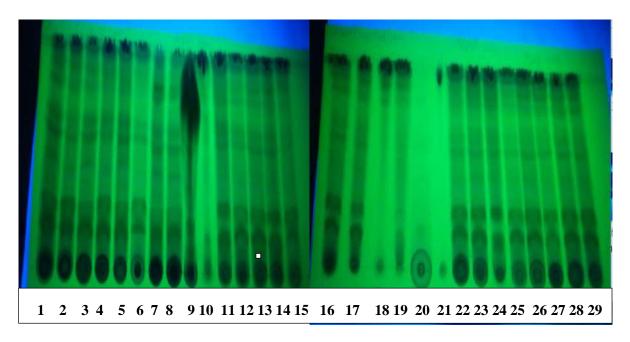
**Figure 25:** Chromatogramme de la recherche des composés qui absorbent à l'UV 365 nm

La figure 25 a indiqué la présence de composés qui absorbent à l'UV 365nm dans tous les extraits, excepté l'extrait avec l'hexane. Les extraits ont pratiquement le même profil chromatographique, à l'exception de ceux obtenus avec les solvants uniques (acétone, chloroforme, dichlorométhane, acétate d'éthyle, eau).

 $\textbf{Tableau 12}: \textit{Recherche des compos\'es qui absorbent \`a l'UV 365nm}$ 

Extraits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
						0.11	0.12	0.12	0.10	0.11	0.10	_	_	_	_	-	_	-	_	_	_	_	_	0.12	_	_	_	_	_
	0.19	0.19	0.18	0.2	0.19	0.20	0.20	0.20	0.19	0.18	0.20	0.20	0.19	0.20	0.20	0.20	0.20	0.19	0.24	0.21	_	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.21	0.21
	0.27	0.27	0.26	0.28	0.27	0.26	0.27	0.27	0.26	0.26	0.28	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	_	0.26	_	_	0.26	0.26	0.26	0.26	0.25	0.26	0.26	0.26
Rf	0.29	0.29	0.28	0.29	0.29	0.27	0.29	0.29	-	_	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.28	-	-	0.28	_	0.28	0.29	0.29	0.27	0.28	0.29	0.29	0.29
	0.35	0.34	0.35	0.35	0.36	0.34	0.36	0.36	-	_	0.36	0.36	0.36	0.35	0.35		0.35	_	0.35	_	_	0.35	0.35	0.35	0.36	0.35	0.35	0.35	0.35
	0.68	0.68	0.67	0.67	0.68	0.67	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.70	0.70	0.70	0.70	0.68	0.68	_	_	0.69	0.69	0.70	0.70	0.69	0.69	0.69	0.65
	0.85	0.85	0.85	0.86	0.84	0.85	0.84	0.85	0.84	0.85	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.85	0.85	_	_	0.85	0.85	0.85	0.86	0.85	0.85	0.85	0.85
	_	_	_	_	_	jaun	jaun	jaun	jaun	jaun	jaun	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	jaun	_	_	_	_	_
	jaun	_	jaun																										
	jaun	_	jaun	_	_	jaun																							
	bleu	_	_	bleu	_	_	bleu	_	bleu																				
Couleur															hlan														
	bleu	-	-	bleu	bleu	bleu	bleu	bieu	bleu	bleu	_	bleu	_	-	bleu														
	roug	_	roug																										
	roug		roug																										
	_	_	_	_	_	++	+++	+++	+++	+++	+++	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	+++	_	_	_	_	_
	+++	+++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++++	+++	++++	++	+++	+++	+++	+	+++	+	_	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Abondance	+++	+++	++++	++++	++++	+++	++	++	++	+	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	_	+	_	_	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	+	+	+	+	+	_	_	_	_	+	+	+	+	+	+	+	+
	++	++	++	++	++	+	++	++	_	_	++	++	++	+	++	+	+	_	+	+	_	++	++	++	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	_	_	++	++	++	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	_	+	++	++	++	++	++	++	++	++



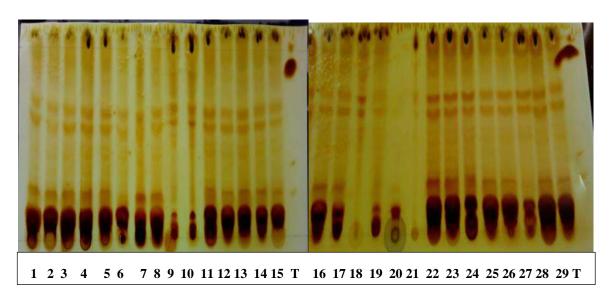


**Figure 26 :** Chromatogramme de la recherche des composés qui absorbent à l'UV 254 nm

La figure 26 a montré la présence de composés qui absorbent à l'UV 254nm. Ces composés sont présents dans tous les extraits, excepté l'extrait avec l'hexane. Les extraits ont pratiquement le même profil chromatographique, sauf ceux obtenus avec les solvants uniques (acétone, chloroforme, dichlorométhane, acétate d'éthyle, eau)

**Tableau 13:** Recherche des composés qui absorbent à l'UV 254 nm

Extraits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
	0.22	0.21	0.22	0.23	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	_	0.23	0.23	_	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23
	0.35	0.35	0.34	0.36	0.25	0.26	0.26	0.36	0.26	0.26	0.36	0.360	0.36	0.36	0.36	0.36	0.26		0.36		_	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
	0.33	0.33	0.34	0.30	0.33	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.300	0.30	0.30		0.30	0.30	_	0.30	_	_	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
	0.40	_	_	_	_	_	0.40	0.40	ı	_	-	_	_	_	_	_	ı	_	_	_	_	_	_	_	_	-	_	_	_
	0.52	0.51	0.50	0.52	0.52	_	0.52	0.52	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_			_	_	_	_	_	_
	0.59	0.58	0.58	0.59	0.59	0.58	0.58	0.59	-	-	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	-	_	-	_	0.59	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.59
	0.73	0.72	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.62	_	_	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63
	0.86	0.86	0.86	0.87	0.87	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	_	_	0.86	0.87	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86
															0.93														
	0.93	0.93	0.93	0.94	0.94	0.93	0.93	0.93	0.93	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	noir	0.93	0.93	0.92	0.92	_	-	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93
Couleur	noir	noir	noir	noir		noir	noir	noir	noir	noir	_	noir																	
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	_		+	+	_	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
											1		1		+++					'									
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++		+++	+++		+	-	_	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	+	_	_	_	-	_	+++	+++	-	_	_	-	-	-	-	_	-	-	_	-	_	-	-	-	-	-	-	-	_
	+++	+++	++	++	++	_	++	++	_	_	<del>  -</del>	_	-	-	++	_	_	-	-	-	_	-	-	_	-	-	_	_	_
	++	+++	++	++	++	+	++	++	-	_	++	++	++	++	TT	++	++	_	-	-	_	++	++	++	++	++	++	++	++
	+++	+++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	++	++++	++++	++	+++	++	_	++	_		++	++	_	_	_	_	_	_
abondan	TTT	Т	77	TT	TT	77	Т	TT	TT	TT	7.7	TT	7777	TTTT	11	777	TT	т	77	_	_		TT	Т	Т	Т	т	Т	Т
ce	++	++	++	++	++	+	++	++	+	+	++	++	++	+	++	+	-	_	+	-	_	++	++	+	++	++	++	++	++
			l	l	l		,								++				ĺ.								15		
l	++	++	++	++	++	+	+++	++	++	++	++	++	++	+		+	+	_	+	-	_	++	++	+	++	++	++b	++	++



## II.3.1.3 Recherche de composés alcaloïdiques

Figure 27: Chromatogramme de recherche des alcaloïdes

La figure 27 et le tableau 14 nous ont montré la présence d'alcaloïdes dans tous les extraits. La plupart des extraits présentent un profil chromatographique comparable, à l'exception des solvants apolaires (chloroforme, dichlorométhane, hexane), peu polaires (acétone, acétate d'éthyle) et l'eau. Les procédés avec l'hexane, l'eau et l'acétate d'éthyle, présentent une très faible abondance en alcaloïdes.

**Tableau 14 :** Recherche en composés alcaloïdiques avec le réactif de DRAGGENDOFF

Extraits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
	0.06	0.06	0.08	0.06	0.08	0.06	0.06	0.08	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	_	_	_	-	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
	0.15	0.15	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.12	0.12	0.15	0.15	0.15	0.14	0.14	0.14	0.14	_	_	0.15	_	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
	0.18	0.18	0.17	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.15							0.17		_	0.13	0.18	-	0.19	0.18	0.17	0.18	0.18	0.16	0.18	0.18
	0.24	0.23	0.22	0.21	0.21	0.21	0.21	0.22	_							0.23		_	0.24	-	-	0.25	0.25	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	_
	0.64	0.63	0.62	0.62	0.61	0.61	0.61	0.62	0.64							0.63					0.64	0.65	0.64	0.65	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64
Rf	0.69	0.68	0.67	0.66	0.66	0.66	0.66	0.67	0.68	0.69	0.68	0.68	0.68	0.68	0.69	0.68	0.68	0.68	0.68	-	0.68	0.69	0.69	0.69	0.68	0.68	0.69	0.69	0.69
	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	Brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	-	_	-	-	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun
	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	-	_	brun		brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun
		brun	brun	brun			brun			brun	-	brun	brun	-	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun							
		brun	- hansa	_ h.m.m	brun		brun				brun	_ h	brun	_	— h.m.m	brun	brun	brun	brun	brun	brun	brun	- herro						
Couleur		brun brun							brun brun			brun brun	_	brun brun	brun	brun brun													
													orun		+++				orun	_									
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	_	_	+	_	+++	+++	++	++	+++	++++	+++	+++
	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	T	_	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++		_	+	_	+++	++++	++++	++++	++++	++++		++++
	++	++	++	++	++	++	++	++		Τ	+	+	+	+	+	+	+		+	_	_	++	++	++	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++		++	_	_	+	+	+	+	+	+	+	_	+		_	++	+	+	++	+	+	+	+
Ahondanco		++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	++	+	+	+	+
Abondance	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	_	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Légende :- =absence, + = très légère, ++ = légère, +++ = important, ++++ = très important.

## II.3.1.4 Recherche des composés phénoliques

#### II.3.1.4.1 Recherche globale des composés phénoliques

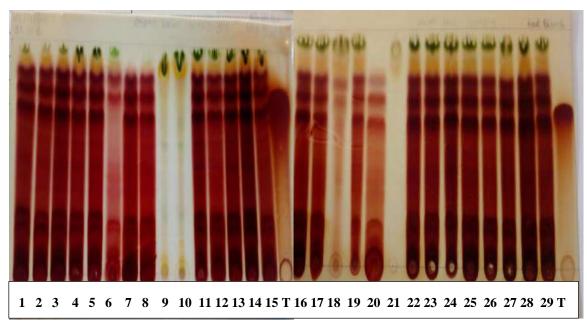


Figure 28 : Chromatogramme de recherche globale des composés phénoliques

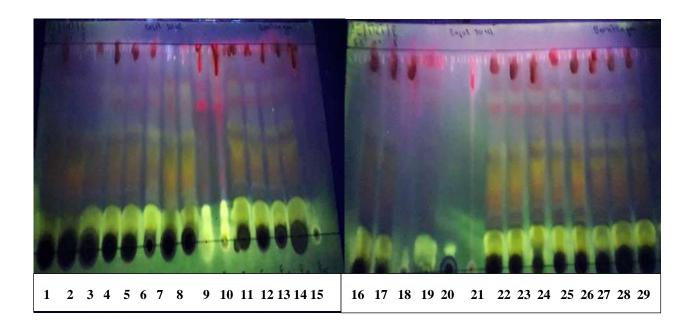
La figure 28 et tableau 15 nous ont indiqué la présence de composés phénoliques dans les extraits, excepté les extraits réalisés avec le chloroforme, le dichlorométhane et l'hexane. Les extraits renfermant les composés phénoliques ont un profil chromatographique comparable à ceux des procédés spécifiques des polyphénols (Ao/W, 7) et (E/W, 8), à l'exception des solvants apolaires (chloroforme, dichlorométhane, hexane) où nous notons une absence de composés phénoliques.

Tableau 15 : Recherche globale des composés phénoliques

Extrait	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
Rf	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.14	0.14	-	-	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.12	0.12	-	0.12	0.12	-	0.12	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
	0.21	0.21	0.21	0.2	0.2	0.19	0.19	0.19	-	-	0.19	0.21	0.2	0.21	0.21	0.20	0.20	-	-	_	-	0.21	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
	0.28	0.25	0.26	0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	-	ı	0.25	0.25	0.25	0.27	0.24	0.26	0.26	-	0.26	0.26	I	0.27	0.26	0.26	0.26	0.26	0.25	0.26	0.27
	0.31	0.31	0.31	0.32	0.31	0.32	0.31	0.31	-	-	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31			0.31	-	0.32	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31
	0.70	0.71	0.71	0.69	0.7		0.69	0.69	-	ı	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.65	0.64	0.63	0.63	0.61	ı	0.61	0.61	0.64	0.62	0.61	0.61	0.62	0.56
	0.83	0.82	0.82	0.8	0.80	0.80	0.80	0.80	_	1	0.81	0.81	0.8	0.81	0.81	0.73	0.72	0.72	0.72	0.72	ı	0.71	0.71	0.71	0.71	0.7	0.69	0.71	0.70
	0.88	0.88	0.88	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	-	ı	0.86	0.86	0.88	0.88	0.88	0.81	0.8	0.79	0.79	0.79	ı	0.79	0.77	0.79	0.79	0.79	0.77	0.79	0.8
Coule	roug	-	-	roug	-	roug																							
abond	++	++	++	++	++	++	++	++	-	_	++	++	++	++	++	++	++	-	++	++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ance	++	++	++	++	++	++	++	++	-	-	++	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++		-	++	++	++	++	++	+++	+++	-	++	++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	-	-	++	++	++	++	++	+++	+++	-	_	++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++	-	-	+++	+++	+++	++++	+++	+++	+++	+	+++	+++	_	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++
	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++++	++++			+++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	+	7777	TTT	TTT	+	777	+	+	-	777		+	+	+	+	+	+
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	_	+++	+++	+++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+				+		+	+				+	+	+	+	+	+

Légende: -= absence, += très légère, ++ = légère, +++ = important, ++++ = très important.

roug= rouge



**Figure 29:** Recherche des flavonoïdes avec le réactif de NEU à 365

La figure 29 et le tableau 16, nous indiquent la présence de flavonoïdes dans tous les extraits, excepté les extraits réalisés avec les solvants apolaires (chloroforme, dichlorométhane et l'hexane). Les extraits renfermant les flavonoïdes, ont pratiquement le même profil chromatographique sauf ceux obtenus avec les solvants uniques (eau, méthanol, éthanol, acétone, acétate d'éthyle).

**Tableau 16 :** Recherche des Flavonoïdes par CCM dans les extraits avec le réactif de NEU

Extraits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	<b>17</b>	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
	0.37	0.36	0.36	0.36	0.36	0.35	0.36	0.37	_	_	0.35	0.35	0.34	0.35	0.35	0.37	0.37	_	0.35	0.35	_	0.37	0.37	0.36	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38
Rf	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	-	_	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	_	0.45	0.45		0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
	oran	1	-	oran	-	oran	oran		oran																				
Couleur	oran	1	_	oran	_	oran	oran		oran																				
	+	++	++	++	++	++	++	++	_	_	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+	_	+	+	+	+	+	+	+	+
Richesse	+++	++	+++	+++	+++	+	++++	++++	-	-	+++	+++	+++	+++	++	++	++	-	+	+	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Légende: -= absence, += très légère, ++ = légère, +++ = important, ++++ = très important.

oran= orange

#### II.3.1.4.3 Recherche des tanins

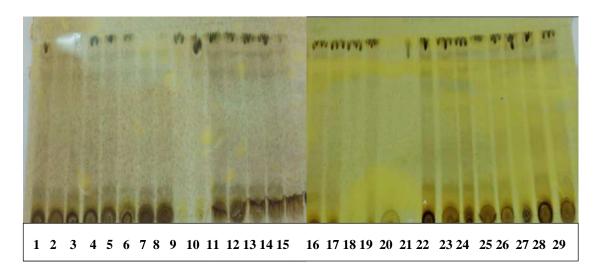


Figure 30: Chromatogramme de recherche des tanins

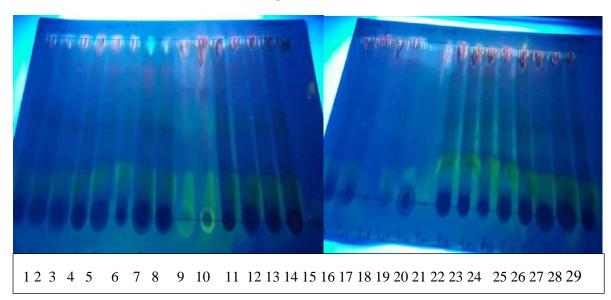
La figure 30 et tableau 17 nous indiquent la présence de tanins dans tous les extraits, excepté les extraits réalisés avec l'eau et les solvants apolaires (chloroforme, dichlorométhane et l'hexane). Les extraits renfermant les tanins ont pratiquement le même profil chromatographique, sauf ceux obtenus avec les solvants uniques (méthanol, éthanol, acétone, acétate d'éthyle).

**Tableau 17 :** Recherche des composés taniques ave le perchlorure de fer (fecl3/H2O)

Extraits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
	0.21	0.21	0.21	0.21	0.20	0.21	0.21	0.21	_	_	0.21.	0.21	0,21	0,21	0.20	0.21	0.21	0.21	0.21	_	_	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
Rf	0.88	0.88	0.87	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	_	-	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.88	0.86	0.86	0.86	_	_	0.86	0.86	0.86	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88
	BV	_	-	BV	BV	BV	BV	BV	BV	BV	BV	BV	_	_	BV														
Couleur	BV	_	_	BV	BV	BV	BV	BV	BV	BV	BV	BV	_	_	BV														
	++	++	++	++	++	++	+++	+++	_	-	++	++	++	++	+	+	+	+	+	_	_	++	++	++	++	++	++	++	++
Richesse	++	++	++	++	++	++	+++	+++	_	_	++	++	++	++	+	+	+	+	+	_	_	++	++	++	++	++	++	++	++

Légende : – =absence, + = très légère, ++ = légère, +++ = important, ++++ = très important.

BV : Brun-vert



II.3.1.4.4 Recherche des Quinones/Coumarines

Figure 31 : Chromatogramme de recherche des Coumarines/Quinones

La figure 31 et le tableau 18 nous indiquent la présence de dérivés quinoniques dans tous les extraits, excepté les extraits réalisés avec l'hexane et les solvants polaires et peu polaires (eau, méthanol, éthanol, acétone, acétate d'éthyle). Les extraits renfermant les dérivés quinoniques ont pratiquement le même profil chromatographique, sauf ceux obtenus avec les solvants apolaires uniques (chloroforme, dichlorométhane).

On note une absence de coumarines dans tous les extraits.

Tableau 18: Recherche des Coumarines/Quinones

Extraits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
	0.35	0.35	0.35	0.35	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	-	0.40	0.40	_	0.2	0.20	_	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
Rf	0.8	0.81	0.81	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.81	0.8	0.79	0.79	0.79	-	0.81	0.81	0.8	_	_	_	0.8	0.79	0.8	0.8	0.8	0.8	0.81	0.81
	jaun	-	jaun	jaun	_	jaun	jaun	_	jaun																				
Couleur	roug	-	roug	roug	roug	_	_	_	roug																				
	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	-	+	+	_	+	+	_	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
abondance	++	++	++	++	++	++	+++	+++	+	+	++	++	++	++	_	+	+	+	_	_	_	++	++	++	++	++	++	++	++

jaun=jaune; roug=rouge

## II.3.1.5 Recherche des composés terpéniques

## II.3.1.5.1 Recherche globale des composés terpéniques



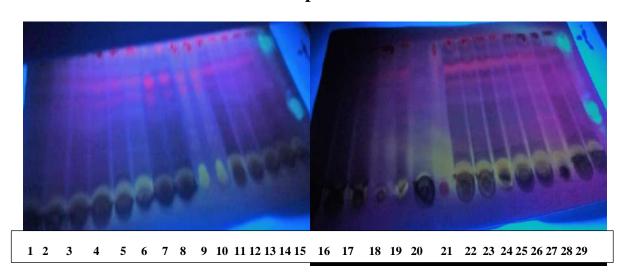
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29

Figure 32 : Chromatogramme de recherche des composés terpéniques

La figure 32 et le tableau 19 nous ont indiqué la présence de terpènes dans les extraits, excepté les extraits réalisés avec l'eau et l'hexane. Les extraits renfermant les terpènes ont des profils chromatographiques comparables, mais une abondance faible des taches au niveau des procédés spécifiques des terpènes avec le dichlorométhane (n°9) et le chloroforme (n°10).

**Tableau 19 :** Recherche des composés terpéniques

Extraits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
	0.30	0.29	0.28	0.28	0.29	0.29	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28	0.27	0.28	0.28	0.28	0.29	0.30	0.30	0.29	_	_	0.28	0.28	0.28	0.27	0.28	0.27	0.27	0.28
	0.37	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.35	0.36	0.37	0.37	0.35	035	0.35	0.35	0.35	0.36	0.37	0.37	0.36	_	_	0.35	0.36	0.36	0.36	0.36	0.35	0.35	0.36
	0.45	0.45	0.45	0.46	0.46	0.45	0.45	0.45	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	_	_	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46
	0.52	0.53	0.53	0.52	0.52	0.53	0.53	0.52	_	_	0.53	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	_	_	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.53	0.52
	_	_	_	_	_	_	_	_	-	_	_	_	_	_	_	0.61	0.62	0.61	_	_	_	0.63	0.63	0.62	0.61	0.61	0.61	0.62	0.62
Rf	0.77	0.76	0.75	0.75	0.75	0.73	0.73	0.75	_	_	0.72	0.71	0.71	0.72	0.72	0.72	0.72	_	_	_	_	0.69	0.71	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72
IXI	0.85	0.83	0.81	0.81	0.81	0.83	0.8	0.81	-	_	0.8	0.81	0.8	0.8	0.81	0.81	0.8	_	_	_	_	0.8	0.79	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
		0.92	0.89	0.89	0.89	0.92	0.92	0.92			0.90	0.90	0.91	0.91	0.91	0.89	0.91					0.91	0.87	0.87	0.87	0.87	0.85		0.85
									- 1.									- 1 4			_								
	violet	violet	violet	violet			violet	_	_	violet	violet	violet	violet	violet		violet													
	violet	_	=	violet																									
	violet	-	_	violet																									
	violet	_	_	violet	_	_	violet																						
Couleur	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	violet	violet	violet	violet	_	_	violet							
	marr	-	_	marr	_	_	_	_	marr																				
	marr	_	_	marr	_	_	_	_	marr																				
	violet	_	_	violet	_	_	_	_	violet																				
	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++	++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	_	_	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
			+++							++				+++		++	++	++	++			++	++		++	++	++	++	
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++		++	++	++	_	_	++	++	++	++	++	++		++
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Abondance	+	+	+	+	+	+	+	+	_	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	_	_	-	_	_	-	-	_	_	_	_	_	_	_	_	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	++	++	++	++	++	++	+	++	_	-	++	++	++	++	++	++	++	_	_	_	_	+	++	++	++	++	+++	+++	+++
	++	++	++	++	++	++	++	++	_	_	++	+++	++	++	++	++	++	-	-	_	_	+	++	++	++	++	++	++	++
	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+	+					+	+	+	+	+	+	+	+



II.3.1.5.2 Recherche des Triterpènes et stéroïdes

Figure 33: Chromatogramme de recherche des triterpènes et stéroïdes

La figure 33 et tableau 20 nous ont indiqué la présence de triterpènes et stéroides dans les extraits, excepté les extraits réalisés avec l'eau. Les extraits renfermant les triterpènes et stéroïdes ont pratiquement le même profil chromatographique, sauf ceux obtenus avec les solvants uniques polaires et peu polaires (méthanol, éthanol, acétone, acétate d'éthyle).

**Tableau 20 :** Recherche de triterpènes et stéroïdes

Extraits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	<b>17</b>	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.14	0.14	-	-	-	_	-	-	-	-	-	-	_	0.14	0.13	0.13	0.14	0.13	0.14	0.13	0.13
	0.77	0. 77	0.8	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.78	0.78	0.78	0.77	0.79	0.8	0.8	0.78	0.78	0.77	0.77	_	0.76	0.77	0.77	0.77	0.79	0.8	0.8	0.79	0.79
Rf	0.84	0.84	0.85	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.85	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.85	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.85	0.84	0.84	0.84	0.84
	jaune	jaune	jaune	jaune	jaune	jaune	jaune	jaune	jaune	jaune	1	_	-	-	_	-	_	_	_	_	_	jaune	jaune	jaune	jaune	jaune	jaune	jaune	jaune
	*01100	rougo	*01100	rougo	rougo	*01100	rougo	*01100	*01100	*01100	*01100	*01100	*01100	*01100	<b>*</b> 01100	*01100	rougo	*01100	rougo		*01100	*01100	*01100	rougo	*01100	*01100	*01100	*01100	rougo
	Touge	Touge	Touge	Touge	Touge	rouge	Touge	Touge	Touge	Touge	Touge	Touge	Touge	Touge	Touge	Touge	rouge	Touge	Touge	_	Touge	Touge	Touge	rouge	Touge	Touge	Touge	Touge	Touge
Couleur	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge
		+	+			+	-	+	+++	++	1	_					-	_	_				_		+	+	+	+	
	Т	Т	Т.	Т	Т	Т	Т.	Т	TTT	TT				_	_	_	_	_		_	_	+	Т.	Т.	Т	Т	Т.	Т.	T
	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	_	+	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	++
Abondance	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Légende : – =absence, + = très légère, ++ = légère, +++ = important, ++++ = très important.

## II.3.2 Dosage des grands groupes de composés phytochimiques

## II.3.2.1 Dosage des polyphénols totaux

Tableau 21 : Dosage des polyphénols totaux des extraits

		Phénol	Phénol	Phénol	Moy
Extraits	Extrait type	<b>E</b> 1	<b>E2</b>	<b>E3</b>	Phénol
9	Dterp 100	0,010	0,021	0,016	0,016
21	H 100	0,028	0,035	0,024	0,029
18	Ae 100	0,068	0,052	0,056	0,059
10	Cterp 100	0,054	0,083	0,070	0,069
19	Ao 100	0,086	0,090	0,088	0,088
20	W 100	0,155	0,124	0,122	0,134
15	HAoW 12/76/12sus	0,210	0,227	0,224	0,220
27	HAeAoW 17/17/49/17	0,221	0,234	0,238	0,231
6	Malca 100	0,216	0,261	0,236	0,238
23	CAeEW 17/17/49/17	0,302	0,294	0,298	0,298
24	CAeAoW 12/12/64/12	0,302	0,294	0,300	0,299
14	HAoW 12/76/12	0,270	0,347	0,310	0,309
5	<b>DEW 100</b>	0,316	0,322	0,320	0,319
13	HEW 12/76/12	0,340	0,302	0,325	0,322
3	DMW 20/60/20	0,350	0,304	0,329	0,328
29	HCMW 10/10/70/10	0,325	0,356	0,316	0,332
2	CMW SUS 20/60/20	0,344	0,320	0,335	0,333
16	M 100	0,323	0,344	0,340	0,336
25	HAeMW 9/9/73/9	0,331	0,347	0,340	0,339
17	E 100	0,325	0,413	0,314	0,351
12	HMW 7/86/7	0,339	0,375	0,360	0,358
26	HAeEW 14/14/58/14	0,332	0,372	0,380	0,361
11	CAoW 12/76/12	0,358	0,418	0,388	0,388
22	CAeMW 18/18/46/18	0,388	0,402	0,392	0,394
4	CEW 20/60/20	0,392	0,411	0,398	0,400
1	CMW 20/60/20	0,413	0,402	0,410	0,408
28	CAoMW 20/20/40/20	0,462	0,466	0,464	0,464
8	EW 50/50	0,489	0,499	0,496	0,495
7	AoW 50/50	0,563	0,536	0,542	0,547

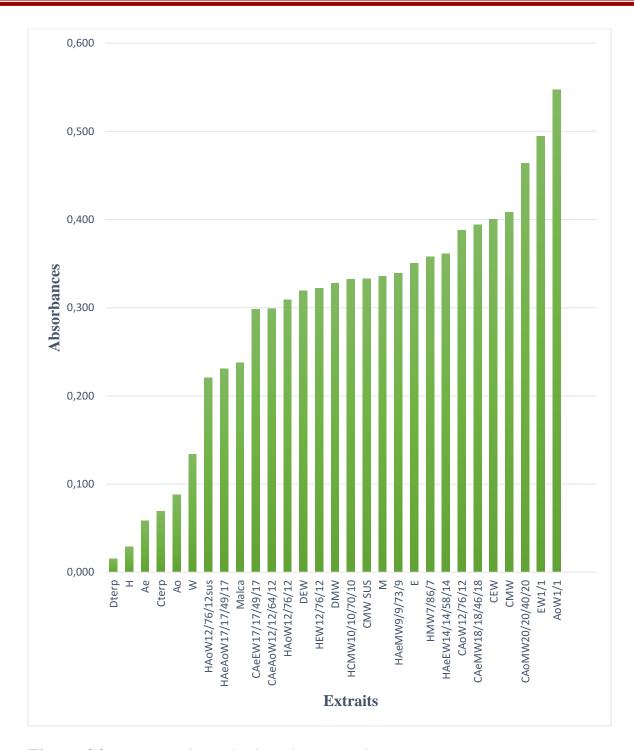


Figure 34 : Dosage des polyphénols totaux des extraits

La figure 34 et le tableau 21 montrent que les procédés avec les mélanges de solvants permettent d'extraire une masse plus élevée de composés qu'avec les solvants seuls excepté l'éthanol et le méthanol.

Les mélanges acétone/eau (0.547), éthanol/eau (0.495) et chloroforme/acétone/méthanol/eau, permettent d'extraire une quantité de composés phénoliques plus importante.

Les procédés successifs permettent d'extraire une quantité de composés phénoliques moins élevée que les procédés obtenus avec les mélanges de solvants (HAoW sus(0.220)< HAoW (0.309) et CMW sus(0.333)< CMW (0.408).

Les solvants seuls, permettent d'extraire une quantité faible de polyphénols excepté le méthanol et l'éthanol.

## II.3.2.2 Dosage des alcaloïdes

**Tableau 22 :** Dosage des alcaloïdes totaux des extraits

N°		Drag Alc	Drag Alc	Drag Alc	Dosage
EXT	Extrait type	<b>E1</b>	<b>E2</b>	<b>E3</b>	alcaloïdes
19	Ao 100	0,111	0,188	0,162	0,154
18	Ae 100	0,154	0,156	0,160	0,157
21	H 100	0,173	0,151	0,155	0,160
25	HAeMW 9/9/73/9	0,188	0,159	0,176	0,174
14	HAoW 12/76/12	0,163	0,184	0,183	0,177
10	Cterp 100	0,155	0,203	0,181	0,180
29	HCMW 10/10/70/10	0,157	0,2	0,192	0,183
11	CAoW 12/76/12	0,15	0,216	0,187	0,184
12	HMW 7/86/7	0,177	0,192	0,185	0,185
9	Dterp 100	0,158	0,211	0,196	0,188
8	EW 50/50	0,168	0,211	0,188	0,189
27	HAeAoW 17/17/49/17	0,19	0,188	0,190	0,189
17	E 100	0,186	0,198	0,188	0,191
15	HAoW 12/76/12sus	0,173	0,216	0,187	0,192
1	CMW 20/60/20	0,175	0,205	0,197	0,192
2	CMW sus 20/60/20	0,176	0,212	0,197	0,195
5	<b>DEW 20/60/20</b>	0,193	0,199	0,197	0,196
16	M 100	0,207	0,193	0,191	0,197
22	CAeMW 18/18/46/18	0,193	0,207	0,192	0,197
13	HEW 12/76/12	0,18	0,221	0,196	0,199
3	DMW 20/60/20	0,189	0,208	0,201	0,199
26	HAeEW 14/14/58/14	0,182	0,223	0,196	0,200
7	AoW 50/50	0,196	0,208	0,201	0,202
24	CAeAoW 12/12/64/12	0,201	0,215	0,197	0,204
6	Malca 100	0,198	0,215	0,201	0,205
20	W 100	0,215	0,202	0,198	0,205
4	CEW 20/60/20	0,203	0,208	0,206	0,206
28	CAoMW 20/20/40/20	0,222	0,211	0,209	0,214
23	CAeEW 17/17/49/17	0,234	0,224	0,219	0,226

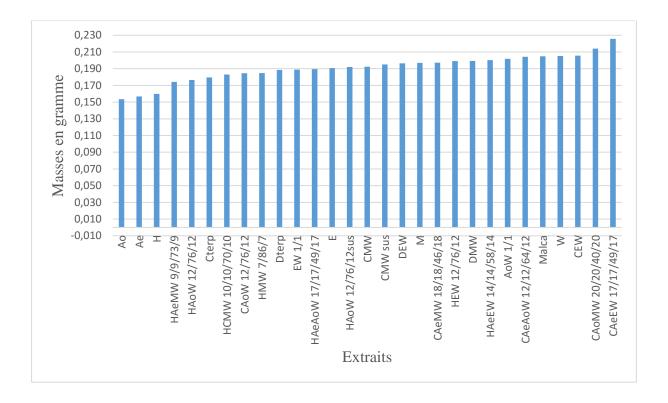


Figure 35: Dosage des alcaloïdes totaux des extraits

La figure 35 et le tableau 22 montrent que tous les procédés permettent d'extraire relativement la même quantité d'alcaloïdes, comparativement au procédé d'extraction des alcaloïdes (Malca).

## II.3.2.3 Dosage des terpènes

**Tableau 23 :** Dosage des terpènes totaux des extraits

N°					Terpene	
Extrait	Extraittype	Serie1	Serie 2 Serie 2		(Abs)	
20	W 100	0,067	0,060	0,057	0,061	
21	H 100	0,319	0,337	0,355	0,337	
8	EW 50/50	0,707	0,520	0,61	0,612	
6	Malca 100	0,565	0,660	0,77	0,665	
7	AoW50/50	0,730	0,730	0,699	0,720	
2	CMW sus 20/60/20	0,726	0,750	0,74	0,739	
15	HAoW12/76/12sus	0,813	0,710	0,712	0,745	
3	DMW 20/60/20	0,977	0,940	0,895	0,937	
18	Ae 100	1,077	0,900	0,99	0,989	
1	CMW 20/60/20	0,925	1,030	1,06	1,005	
19	Ao 100	1,021	1,040	1,002	1,021	
25	HAeMW9/9/73/9	1,030	1,060	1,045	1,045	
26	HAeEW14/14/58/14	1,115	1,110	1,108	1,111	
12	HMW7/86/7	1,141	1,153	1,132	1,142	
5	<b>DEW 20/60/20</b>	1,202	1,140	1,171	1,171	
16	M 100	1,182	1,170	1,179	1,177	
29	HCMW10/10/70/10	1,146	1,217	1,208	1,190	
17	E 100	1,242	1,195	1,179	1,205	
9	Dterp 100	1,206	1,260	1,235	1,234	
14	HAoW12/76/12	1,318	1,210	1,193	1,240	
22	CAeMW18/18/46/18	1,334	1,260	1,33	1,308	
13	HEW12/76/12	1,308	1,350	1,28	1,313	
28	CAoMW20/20/40/20	1,378	1,380	1,312	1,357	
11	CAoW12/76/12	1,340	1,361	1,375	1,359	
24	CAeAoW12/12/64/12	1,319	1,360	1,401	1,360	
27	HAeAoW17/17/49/17	1,433	1,509	1,586	1,509	
23	CAeEW17/17/49/17	1,668	1,450	1,609	1,576	
4	CEW 20/60/20	1,560	1,630	1,554	1,581	
10	Cterp 100	1,590	1,660	1,731	1,660	

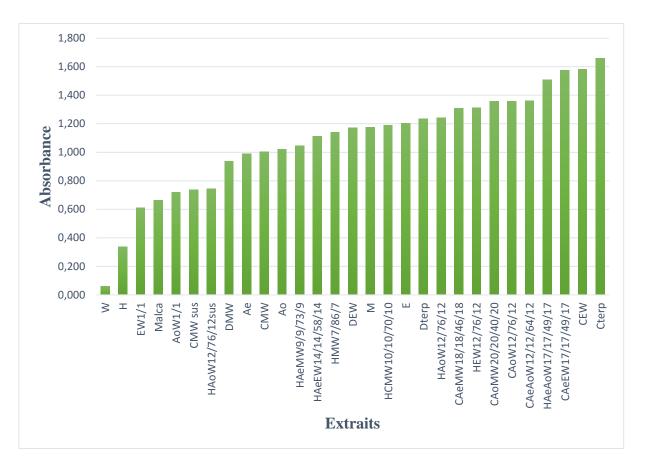


Figure 36 : Dosage des terpènes totaux des extraits

La figure 36 et le tableau 23 montrent que les procédés avec les solvants apolaires et peu polaires permettent d'extraire une quantité élevée de composés terpéniques excepté l'hexane.

Les procédés successifs extraient une quantité moins élévée que les procédés avec les mélanges de solvants (HAoW sus(0.758)< HAoW (1.240) et CMW sus(0.739)< CMW (1.005).

Le chloroforme, le chloroforme/éthanol/eau, le chloroforme/acétate d'éthyle/éthanol/eau permettent d'extraire une quantité élevée de composés terpéniques. L'eau est le solvant qui extrait la plus faible quantité de composés terpéniques.

# II.4 Analyse globale

Tableau 24: Analyse globale des données qualitatives et quantitatives

N° Ext	Extraittype	R. sec (%)	Cend. (%)	Alc (g)	Phénol (Abs)	Terpène (Abs)	CCM 254	CCM 365	CCM Al	CCM Phe	CCM Ter	Analyse Globale
7	AoW 1/1	2,62	1,22	0,20	0,55	0,72	8	7	6	7	7	40,31
8	EW 1/1	2,42	1,20	0,19	0,49	0,61	8	6	6	7	7	38,92
28	CAoMW 20/20/40/20	2,35	1,15	0,21	0,46	1,36	6	6	6	7	8	38,54
4	CEW	2,24	1,02	0,21	0,40	1,58	7	6	6	7	7	38,44
1	CMW	2,02	0,80	0,19	0,41	1,01	8	6	6	7	7	38,42
3	DMW	2,23	1,02	0,20	0,33	0,94	7	6	6	7	7	37,71
22	CAeMW 18/18/46/18	1,85	0,88	0,20	0,39	1,31	6	6	6	7	8	37,63
5	DEW	1,86	0,83	0,20	0,32	1,17	7	6	6	7	7	37,38
2	CMW sus	2,06	0,88	0,20	0,33	0,74	7	6	6	7	7	37,21
24	CAeAoW 12/12/64/12	1,26	0,02	0,20	0,30	1,36	6	7	6	7	8	37,14
11	CAoW 12/76/12	1,48	0,73	0,18	0,39	1,36	6	7	6	7	7	37,14
16	M	1,29	1,06	0,20	0,34	1,18	6	6	6	7	8	37,06
23	CAeEW 17/17/49/17	1,76	0,07	0,23	0,30	1,58	6	6	6	7	8	36,93
29	HCMW 10/10/70/10	1,64	0,09	0,18	0,33	1,19	6	6	6	7	8	36,44
13	HEW 12/76/12	1,47	0,85	0,20	0,32	1,31	6	6	6	7	7	36,16
25	HAeMW 9/9/73/9	1,47	0,09	0,17	0,34	1,05	6	6	6	7	8	36,12
26	HAeEW 14/14/58/14	1,28	0,06	0,20	0,36	1,11	6	6	6	7	8	36,01
27	HAeAoW 17/17/49/17	1,84	0,13	0,19	0,23	1,51	6	6	5	7	8	35,90
6	Malca	1,36	0,42	0,20	0,24	0,66	6	7	6	7	7	35,88
12	HMW 7/86/7	1,42	0,72	0,18	0,36	1,14	6	6	6	7	7	35,82
14	HAoW 12/76/12	1,10	0,93	0,18	0,31	1,24	6	6	6	7	7	35,75
15	HAoW 12/76/12 sus	1,29	1,15	0,19	0,22	0,75	6	6	6	7	7	35,60
17	E	0,83	0,02	0,19	0,35	1,21	6	6	6	7	8	35,59
19	Ao	0,58	0,00	0,15	0,09	1,02	5	5	4	5	4	24,84
10	Cterp	0,69	0,06	0,18	0,07	1,66	5	4	5	0	3	19,66
9	Dterp	0,55	0,10	0,19	0,02	1,23	5	4	5	0	3	19,08
18	Ae	0,52	0,09	0,16	0,06	0,99	3	3	2	3	5	17,81
20	W	1,36	0,40	0,21	0,13	0,06	1	2	2	6	0	13,16
21	Н	0,28	0,00	0,16	0,03	0,34	0	0	2	0	0	2,80

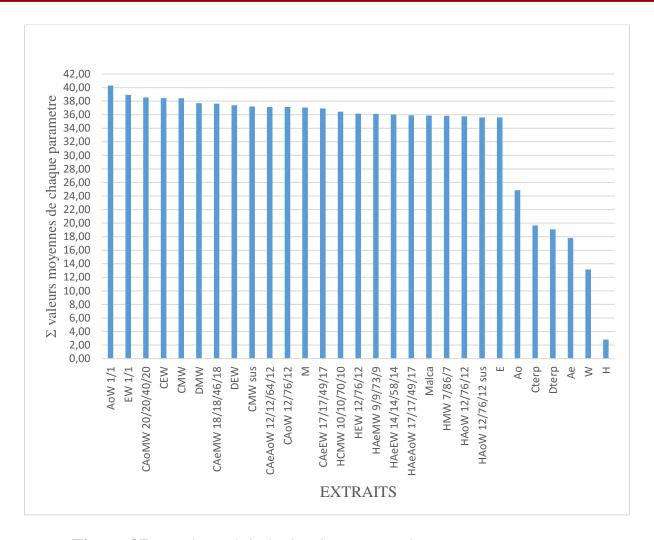


Figure 37: Analyse globale des données qualitatives et quantitatives

La figure 37 et le tableau 21 indiquent que les procédés utilisant les mélanges de solvants, ont des valeurs comparables plus élevées que les solvants uniques, excepté les alcools (méthanol et éthanol).

Les mélanges binaires acétone/eau et éthanol/eau sont les plus avantageux, mais pour les composés polaires et peu polaires.

Les solvants associant l'eau, les alcools et les solvants peu ou apolaires (acétate d'éthyle, acétone, chloroforme, dichlorométhane), permettent d'extraire qualitativement et quantitativement plus de composés phytochimiques.

Globalement, les procédés avec le chloroforme/acétone/méthanol/eau et chloroforme/éthanol/eau sont les plus avantageux.

#### III. DISCUSSIONS

Une évaluation efficace des produits à base de plantes, nécessite le développement de méthodes d'analyse globale des constituants pharmacologiques actifs et/ou chimiques caractéristiquement présents. Une méthode d'analyse globale requiert un procédé de préparation de l'échantillon qui va permettre d'extraire un plus grand nombre de composés phytochimiques (extraction globale des composés).

Notre étude avait pour objectif, de montrer les procédés permettant l'extraction de la majorité des composés d'une matrice végétale complexe.

## III.1 Matrice végétale

Le choix de notre matrice est basé d'une part sur la complexité, et d'autre part sur la présence des trois grands groupes de composés phytochimiques (alcaloïdes, polyphénols et terpènes). C'est dans ce cadre que nous avons choisi comme matrice, un mélange de trois drogues végétales dans lesquelles on a identifié la présence des grands groupes de composés phytochimiques.

Différentes études ont permis d'identifier les trois grands groupes dans les drogues végétales :

- Les feuilles de *Combretum micranthum* [7–10; 68].
  - des alcaloïdes : tel que la betaine ; la choline ; la combrétine et la strachydrine ; Pipéridine-flavane alcaloïdes ;
  - des composés phénoliques : (flavonoïdes ; acides phénoliques, tanins cathéchiques) ;
  - Terpènes : des triterpéniques et des stérols
- Les feuilles de *Voacanga africana* [32,66].

Celles-ci renferment des alcaloïdes tels que la voacamine, l'ibogaïne, la réserpine, la perakine, la voafoline.

Les écorces d'Enantia polycarpa [34] ;

On a isolé des alcaloïdes quinoliques (quinine, quinidine et dihydroquinidine), douées de propriétés antipaludiques [33]; des alcaloïdes isoquinoliques dont la berbérine et des protoberbérines.

#### III.2 Solvants d'extraction

Le choix des solvants était basé sur ceux couramment utilisés, pour l'extraction des composés phytochimiques [36].

- <u>Les solvants apolaires</u> : l'hexane, le dichlorométhane, le chloroforme ;
- Les solvants de polarité intermédiaire : l'acétate d'éthyle et l'acétone ;
- <u>Les solvants polaires</u> : l'eau, le méthanol et l'éthanol.

Nous nous somme basés sur les travaux de Gullberg et al [67] qui ont obtenu une meilleure extraction avec le mélange ternaire chloroforme/méthanol/eau (20/60/20). Nous avons proposé des mélanges de solvants. Le principe-fonction de leur polarité et miscibilité était un mélange ternaire avec le solvant le plus apolaire (hexane), le solvant le plus polaire (eau) et le troisième solvant de polarité intermédiaire. Tenant compte de la miscibilité, des mélanges quaternaires ont été proposés, surtout avec l'acétate d'éthyle.

On note également des solvants pour l'extraction des grands groupes de composés phytochimiques [20].

Pour notre étude, 26 solvants (seul, mélange binaire, ternaire et quaternaire) ont été utilisés (**tableau 4 page 66**).

Une analyse comparée a été réalisée entre le procédé d'extraction successive, et le procédé avec le mélange de solvants [Chloroforme/Méthanol/Eau (20/60/20) et Hexane/Acétone/Eau (12/76/12)].

Le chauffage à reflux facile à mettre en œuvre a été la technique d'extraction retenue pour tous les procédés. Nous avons donc réalisé 29 procédés d'extraction (tableau 5 page 69).

## III.3 Données qualitatives et quantitatives

## III.3.1 Caractères organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques des extraits sont fonctions des différents composés extraient par chaque procédé.

Les résultats du **tableau 9 à la page 78** indiquent deux types de couleurs : la couleur verte due à la forte présence de la chlorophylle, et la couleur jaune brun à marron qui est due à une absence ou une faible présence de la chlorophylle.

La chlorophylle composée de lipophile présente dans les feuilles (*Voacanga africana* et de *Combretum micranthum*), est généralement extraite par les solvants apolaires et peu polaires. Ce qui explique que :

- les extraits avec l'eau, le méthanol, et les mélanges renfermant l'eau, les alcools sont de couleur jaune brun à marron;
- et ceux avec les solvants organiques apolaires, peu polaire et les mélanges renfermant les solvants apolaires (l'hexane, le dichlorométhane; le chloroforme) sont de couleurs vertes.

On note également que la plupart des extraits avec les solvants organiques peu polaires et les mélanges renfermant les solvants apolaires, sont limpides. Les extraits avec l'eau, le méthanol et les mélanges renfermant l'eau et les alcools (éthanol, méthanol) sont troubles, avec présence de dépôt au repos. Ceci peut expliquer l'extraction par l'eau des mucilages solubles à chaud, et peu solubles à froid.

#### III.3.2 Résidu sec des extraits et cendres totales

La **figure 23** et le **tableau10** montrent que les procédés avec les mélanges de solvants, permettent d'extraire une masse plus élevée de composés, qu'avec les solvants seuls. Les mélanges acétone/eau (2.5867%) et éthanol/eau (2.298.%), permettent d'extraire une masse de composés plus importante, suivie des

mélanges ternaires obtenus par ajout d'un solvant apolaire tel que le chloroforme et le dichlorométhane.

Concernant les solvants seuls, l'eau (1.5527%) et le méthanol (1.2887%) permettent d'extraire une masse plus élevée de composés, et l'hexane (0.2720%) permet d'extraire une masse très faible de composés.

Les mélanges de solvants avec l'hexane permettent d'extraire une masse de composés plus faible que les mélanges de solvants avec le chloroforme et le dichlorométhane.

Ces résultats peuvent s'expliquer par la présence de l'eau dans le mélange. Car l'eau déstabilise les parois cellulaires et permet ainsi aux autres solvants de pénétrer plus profondément dans la matrice végétale et d'entrer au contact avec une quantité plus grande de composés phytochimiques [68,69] [70].

Les procédés successifs permettent d'extraire une masse légèrement plus élevée que les procédés avec les mélanges de solvants (HAoW (1.0980%)< HAoW sus (1.2740%) et CMW (1.9840%)< CMW sus (2.1100%). Cette différence peut être due au rapport solide/liquide lors des extractions successives (le volume de solvant était important). Car plus le volume est grand, plus le degré de contact entre la drogue et les solvants d'extraction est aussi grand. Ce qui va augmenter la capacité de pénétration ou de diffusion des solvants dans la drogue ; permettant ainsi aux solvants d'extraction d'entrer en contact avec un grand nombre de composés. D'où l'augmentation du pouvoir de solubilisation et des propriétés de transfert de matière des solvants [36,37] [70].

Concernant la matière minérale (**figure 24** et le **tableau 11**), les procédés avec les solvants polaires permettent d'extraire une masse plus importante que les solvants apolaires. Cela s'explique par leur solubilité dans les solvants polaires (eau, alcool).

Les procédés successifs extraient une masse légèrement plus élevée que les procédés avec les mélanges de solvants (HAoW (0.9280%) <HAoW sus (1.1500%) et CMW (0.7960%) < CMW sus (0.8820%)

### III.3.4 Composés phytochimiques

### III.3.4.1 composés absorbant à UV 254 et 365 nm

Les **figures 25** et 26 **pages 84** et **86** ont indiqué la présence de composés qui absorbent à l'UV 254 et 365 nm dans tous les extraits, excepté l'extrait avec l'hexane. Les extraits avec les mélanges de solvants et les alcools, ont pratiquement le même profil chromatographique, à l'exception de ceux obtenus avec les solvants uniques (l'acétone, le chloroforme, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, l'eau). Ceci pourrait s'expliquer par l'absorption UV de différents composés phénoliques et alcaloïdiques facilement extraits par les alcools et les mélanges de solvants, également l'absence d'absorption UV des composés terpéniques facilement extraits par les solvants apolaires et peu polaires [8].

# III.3.4.2 Composés alcaloïdiques

Les résultats de la **figure 27** et du **tableau 14** nous ont montré que tous les procédés permettent d'extraire relativement la même quantité en masse d'alcaloïdes, comparativement au procédé d'extraction des alcaloïdes (Malca). Les alcaloïdes proviennent en grande quantité de l'écorce d'*Enantia polycarpa* (la quinidine, l'isoquinolique [34]) et des feuilles de *Voacanga africana* (alcaloïdes indoliques) [32,66] qui comprennent des groupes isoprènes et sont donc des alcaloïdes indolo-terpéniques.

Qualitativement, on retrouve aussi des alcaloïdes polaires (extraits avec l'eau, alcool) et des alcaloïdes apolaires (hexane, dichlorométhane, chloroforme)[56].

### III.3.4.2 Composés phénoliques

Les **tableaux 15** et **21** ; et les **figures 28** et **34** nous ont indiqué la présence de composés phénoliques dans les extraits, excepté les extraits réalisés avec le chloroforme, le dichlorométhane et l'hexane. Les extraits renfermant les composés phénoliques, ont un profil chromatographique comparable à ceux des procédés spécifiques des polyphénols (Ao/W, n°7) et (E/W, n°8), à l'exception des solvants apolaires (chloroforme, dichlorométhane, hexane) où nous notons une absence de composés phénoliques. Les procédés successifs permettent d'extraire une quantité moins élevée que les procédés avec les mélanges de solvants (HAoW sus (0,220) < HAoW (0,309) et CMW sus (0,333) < CMW (0,408).

Il faut noter que la quantité des polyphénols varie en fonction du solvant utilisé. Ce qui est en parfaite concordance avec les travaux de N'Guessan et al [56], Katalinic et al, [71], Mulinacci et al [72] et Koffi et al [73]; confirmant que l'éthanol en combinaison avec l'eau, permet une meilleure extraction des polyphénols totaux. L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols [65] par modulation de la polarité du solvant organique [74]. Cette augmentation est peut être due à l'affaiblissement des liaisons hydrogène dans les solutions aqueuses. Elle pourrait également être due à l'augmentation de la basicité et de l'ionisation des polyphénols dans de telles solutions [75].

La solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupement hydroxyles de poids moléculaire et de la longueur de la chaine carbonique de squelette de base [74]. La nature du solvant est très importante pour l'extraction des molécules d'intérêt et si possible, de façon sélective. Le solvant doit avoir une affinité importante pour les molécules ciblées, et posséder une grande capacité de dissolution [70]. Ce qui démontre l'abondance des flavonoïdes et des tanins dans les extraits avec les solvants polaires et peu polaires (*figures 29 et 30 pages 92 et* 

94) contrairement à plus d'abondance des quinones dans les solvants avec les solvants apolaires (*figure 31 page 97*.).

## III.3.4.4 Composés terpéniques

Les figures 32 ; 36 et les tableaux 19; 23 nous ont indiqué la présence de composés terpéniques dans les extraits, excepté les extraits réalisés avec l'eau et l'hexane. Les extraits renfermant les terpènes ont des profils chromatographiques comparables, mais une abondance faible des taches au niveau des procédés spécifiques des terpènes avec le dichlorométhane (n°9) et le chloroforme (n°10). Car les composés terpéniques sont des composés apolaires solubles dans les solvants organiques apolaires [75].

# III.4 Analyse globale

L'analyse globale des données des différents paramètres a été réalisée en affectant à chaque procédé d'extraction une valeur égale à la somme des valeurs de chaque paramètre des analyses qualitative et quantitative globales.

Les résultats (tableau 24 page 109 et figure 37 page 110) indiquent que les procédés utilisant les mélanges de solvants, ont des valeurs comparables relativement plus élevées que les solvants uniques, excepté les alcools (méthanol et éthanol). Ceci démontre l'avantage du mélange de solvants.

Les procédés d'extraction avec les mélanges de solvants étaient plus avantageux que les procédés d'extraction successive.

On remarque un plus grand avantage avec les solvants associant l'eau, les alcools et les solvants peu ou apolaires (acétate d'éthyle, acétone, chloroforme, dichlorométhane).

Comparativement à la masse de matière totale extraite, les caractères hydrophiles et lipophiles, les procédés avec le chloroforme/acétone/méthanol/eau et chloroforme/éthanol/eau sont les plus avantageux.

En nous basant sur le nombre de solvants utilisés, nous proposons le procédé utilisant le mélange ternaire chloroforme/éthanol/eau (20/60/20) comme procédé standard pour l'extraction globale de composés phytochimiques pour l'évaluation analytique de produits à base de plantes.



L'objectif de notre étude consistait à proposer des procédés d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytiques des produits à base de plantes, afin d'obtenir un procédé d'extraction capable d'extraire le maximum de composés phytochimiques en utilisant un mélange complexe de drogues végétales constitués d'écorce de *Voacanga africana* (Apocynacées), feuilles de *Combretum micranthum* (Combrétacées) feuilles de *Enantia polycarpa* (Annonacées).

Notre méthodologie était basée sur l'analyse qualitative et quantitative des extraits obtenus à partir de procédés utilisant divers solvants. Nous avons testé 29 procédés d'extractions à partir de 26 solvants.

Les résultats de l'analyse qualitative et quantitative des extraits obtenus, nous permettent de retenir :

- Les solvants associant l'eau, les alcools et les solvants peu ou apolaires (acétate d'éthyle, acétone, chloroforme, dichlorométhane) permettent une meilleure extraction :
- Les procédés d'extraction avec les mélanges de solvants étaient plus avantageux que les procédés d'extraction successive ;
- les procédés avec le chloroforme/acétone/méthanol/eau et chloroforme/éthanol/eau permettent de réaliser une meilleure extraction qualitative et quantitative des composés phytochimiques.

Au vu de ces différents résultats, nous proposons donc le procédé utilisant le mélange ternaire chloroforme/éthanol/eau (20/60/20) comme procédé standard pour l'extraction globale de composés phytochimiques pour l'évaluation analytique de produits à base de plantes.

# REFERENCES BIBLIGRAPHIQUES

- 1. OMS. Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relative à la médicine traditionnelle. Organisation Mondiale de la Santé. 2000;
- 2. Sahoo N, Manchikanti P, Dey S. Herbal drugs: standards and regulation. Fitoterapia. 2010;81(6):462-71.
- 3. WHO. Quality assurance of pharmaceuticals: a compendium of guidelines and related matérials. 1997;1:248.
- 4. Gbortsu F, Gbortsu p. Medecine et médicaments traditionnels en Afrique. http://www.missionsafricaines.org/medecine et médicaments.html. 2008.
- 5. UEMOA. Lignes directrices pour l'homologation des compléments nutritionnels dans les états membres de l'UEMOA. Annexe à la décision N° 06/2010/CM/UEMOA. 2010;
- 6. Adjanohoun E, Aké Assi L. Contribution au rencement des plantes médicinales de Cote D'Ivoire. 1993;27-45.
- 7. Cardenas J. Kinkéliba (Combretum micranthum ): propriétés, bienfaits de cette plante en phytothérapie. Phytotherapie. 2017;
- 8. Bony NF. Stratégie analytique des tradimédicaments: établissement de profils chromatographiques des métabolites phytochimiques apolaires [PhD Thesis]. Paris 11; 2013.
- 9. Karou D, Dicko MH, Simpore J, Traore AS. Antioxydant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. Afr J Biotechnol. 2005;4(8):823-8.
- 10. Benoit F, Valentin A, Pelissier Y, Diafouka F, Marion C, Kone-Bamba D, et al. In Vitro Antimalarial Activity of Vegetal Extracts Used in West African Traditional Medicine. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. Am J Trop Med Hyg. 1996;54(1):67-71.
- 11. Ancolio C, Azas N, Mahiou V, Ollivier E, Di Giorgio C, Keita A, et al. Antimalarial activity of extracts and alkaloids isolated from six plants used in traditional medicine in Mali and Sao Tome. Phytother Res. 2002;16(7):646-9.

- 12. Olajide O, Makinde JM, Okpako DT. Evaluation of the anti-inflammatory property of the extract of Combretum micranthum G. Don. (Combretaceae). Inflammopharmacology. 2003;11(3):293-8.
- 13. Chika A, Bello SO. Antihyperglycaemic activity of aqueous leaf extract of Combretum micranthum (Combretaceae) in normal and alloxan-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology129 (1). 2010;34-7.
- 14. Ferrea G, Canessa A, Sampietro F, Cruciani M, Romussi G, Bassetti D. In vitro activity of a Combretum micranthum extract against herpes simplex virus types 1 and 2. Antiviral Research 21:317-325. Antiviral Research 21. 1996;317-25.
- 15. Quevauvillier A, Foussard-Blanpin O, Pottier J. La vobtusine, alcaloïde de Voacanga africana. 4ème. 1965;821-5.
- 16. Labarre J, Gillo L. A propos des propriétés cardiotoniques de la voacangine et de la voacanginine. 1955;194.
- 17. Ambe ASA, Camara D, Ouattara D, Yapo CY, Soumahoro A, Zirihi GN, et al. Etude ethnobotanique, évaluation in vitro de l'activité antifongique et cytotoxique des extraits de Enantia polycarpa (DC) Engl. et Diels (Annonaceae). Int J Biol Chem Sci. 1 jany 2016;10(1):23-34-34.
- 18. Bruneton J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes medicinales. 4ème. paris: Lavoisier; 2009.
- 19. Lugasi A., Hovari J., Sagi K.V., Biro L. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. 2003;47(1-4):119-25.
- 20. Wagner H, Bladt S. Plant drug analysis: a Thin Layer Chromatography atlas. 2ème. Berlin: Springer; 1996.
- 21. Gavot A. Support des cours sur les métabolites secondaires. Université de Rennes; 2009.
- 22. Hale A.L. Screening potato genotype for antioxidant activity, identification of the responsible compounds and differniating russet norkotah strains using aflp and microsatellite marker analysis.office of graduate of texas A et M university genetics. 2003;260.
- 23. Berthod A, Billardello B et Geoffroy S. Polyphenols in countercurrent chromatography. An exemplr of large scale separational.analysis.EDP sciences, Wiley-VCH/; 1999;27:750-7.

- 24. Cowan, Marjorie, Murphy. Plants products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999;12(4):564-82.
- 25. Waksmundzka-Hajnos M, Sherma J, Kowalska T. Thin layer chromatography in phytochemistry. 2008;99.
- 26. Bruneton, J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales. 3ème. Paris; 2008. 1120 p. (Lavoisier Technique & Documentation).
- 27. Welch CR. Chemistry and pharmacology of Kinkéliba (Combretum micranthum), a west African medicinal plant. Ph D Graduate Program in Medicinal Chemistry. 2010;
- 28. Olschwang D, Bassene E, Colonna JP. Tradition africaine et analyse scientifique: l'utilisation du kinkéliba (Combretum micranthum G. Don) en Afrique de l'Ouest. Epistème. 1991;2:74–82.
- 29. Paris R, Moyse-Mignon H. Une Combretacee africaine, le Kinkeliba (Combretum micranthum G. Don.). Bull Sci Pharmacol. 1942;181-6.
- 30. D'Agostimo M, Biagi C, De Feo V, Zollo F, Pizza C. Flavonoids of Combretum micranthum. Fitoterapia. 1990;LXI(5):477.
- 31. Bassene E, Olschwang D, Pousset J-L. Plantes medicinales africaines XXIII: Flavonoïdes du Combretum micranthum, G. Don (Kinkeliba). Plantes Med Phytother. 1987;XXI(2):173-6.
- 32. Bouquet A, Debray M. Plantes médicinales de la Côte d'Ivoire. Paris: ORSTOM; 1974. 231 p. (Travaux et documents de l'O.R.S.T.O.M; no 32).
- 33. Neuwinger H. African Ethnobotany. Poisons and Drugs. Chemistry, Pharmacology, Toxicology, Weinheim. Champman & Hall. 1996;942.
- 34. Kamanzi A. Plantes médicinales de Côte-d'Ivoire: investigations phytochimiques guidées par des essais biologiques. [Thèse de Doctorat d'Etat]. [Cote d' Ivoire ,Abidjan]: Université de Cocody-Abidjan, UFR Biosciences; 2002.
- 35. Boussetta N. Intensification de l'extractiondes polyphénols par électrotechnologies pour la valorisation des marcs de Champagne. [Thèse de Doctorat d'Etat]. Université de technologie de Compiègne; 2010.
- 36. Handa S, Khanuja S, Longo G, Rakesh D. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology. 2008;21-5.

- 37. Jones W, Kinghorn A. Extraction of plant secondary metabolites. 2 ème. 2006;323-51.
- 38. Bouzid W, Yahia M, Abdeddam M, Aberkane M., Ayachi A. Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobiene des extraits de l'aubepine monogyne. 2011;12(1).
- 39. Bonnaillie C, Salacs M, Vassiliova E, Saykoval I. Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (Arachis hypogaea L) Revue de génie industriel. 2012;7:35-45.
- 40. Goetz P. Plaidoyer pour la tisane médicinale. In: Phytothérapie. 2004. p. 8-15.
- 41. Benzeggouta N. Etude de l'Activité Antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. [Mémoire de Magister]. Université Mentouri Constantine.; 2005.
- 42. Baba-Aïssa F. Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. In EDAS Algérie; 2000.
- 43. Kraft K, Hobbs C. Guide to Herbal Medicine. 2004;16.
- 44. Goetz P, Busser C. La Phytocosmétologie Thérapeutique. Springer-Verlag France. 2007;53-4.
- 45. Gao M, Liu C-Z. Comparaison of techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of Saussurea medusa Maxim. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 21(8-9). 2005;1461-3.
- 46. Roberts, M.F. et Vink, M. Alkaloids. Biochemistry, ecology, and medicinal applications, Plenum Press. 1998;
- 47. Pétrier C, Gondrexon N, Boldo P. Ultrasons et Sonochimie (AF6310). Editions Techniques de l'Ingénieur. 2008;
- 48. Draye M., Estager J., Malacria M, Goddard J.-P, Ollivier C. Sonochimie Organique (K1250). Editions Techniques de l'Ingénieur. 2009;
- 49. Wang L, Weller C.L. Recent Advances in Extraction of Nutraceuticals from Plants, Trends in Food Science and Technology, 17,. 2006;300-12.
- 50. Chemat F., Huma Z.E, Khan M.K. Applications of Ultrasound in Food Technology: Processing, Preservation and Extraction, Ultrasonics Sonochemistry. 2011;18.

- 51. Adam F, Abert-Vian M., Peltier G, Chemat F. "Solvent-free" Ultrasound-Assisted Extraction of Lipids from Fresh Microalgae Cells: A Green, Clean and Scalable process, Bioresource Technology. Bioresour Technol. 2012;114:457-65.
- 52. Goula A.M. Ultrasound-Assisted Extraction of Pomegranate Seed Oil Kinetic Modeling. J Food Eng. 2013;117:492-8.
- 53. Both S, Chemat F, Strube J. Extraction of Polyphenols from Black Tea Conventional and Ultrasound Assisted Extraction, Ultrasonics Sonochemistry. 2014;21:1030-4.
- 54. Liang Y-Z, Xie P, Chan K. Quality control of herbal medicines. J Chromatogr B. 2004;812(1-2):53-70.
- 55. Galtier P, Eeckhoutte C, Alvinerie M. Isolement par chromatographie sur couche mince de l'ochratoxine a obtenue à partir de milieux liquides faiblement concentrés en toxine. Ann Rech Vét. 1974;5(2):155-66.
- 56. N'guessan A., Dago D., Mamyrbékova-Békro J, Békro Y. CCM d'extraits sélectifs de 10 plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle en Côte d'Ivoire. Eur J Sci Res EuroJournals. 2011;66(4):575-85.
- 57. Tseng MC, al. GC/MS Analysis on Anorectics Adulterated in Traditional Chinese Medicines. Journal of Food and Drug Analysis. 8° éd. 2000;315-30.
- 58. Sherma J. Analysis of counterfeit drugs by thin layer chromatography. Acta Chromatographica. 2007;5-20.
- 59. Lavigne-Cruège V, Boidron J-N, Dubourdieu D. Dosage des composés soufrés volatils légers dans les vins par chromatographie en phase gazeuse et photométrie de flamme. OENO One. 1993;27(1):1–12.
- 60. Lau A-J, Holmes MJ, Woo S-O, Hwee-Ling. Analysis of adulterants in a traditional herbal medicinal product using liquid chromatography-mass spectrometry-mass spectrometry. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2003;401-6.
- 61. Bogusz M.J, et al. Application of LC-ESI-MS-MS for detection of synthetic adulterants in herbal remedies. Journal of Pharmaceutical Analysis. 2006;554-64.
- 62. Jiang Y. et al. Recent analytical approaches in quality control of traditional Chinese medicines. Rev Anal Chim Acta. 2010;657. 9-18.

- 63. Cianchino V. et al. Analysis of potential adulteration in herbal medicines and dietary supplements for the weight control by capillary electrophoresis. Food Chem. 2008;1075-81.
- 64. Rodionova O.Y., Pomerantsev A.L. NIR-based approach to counterfeit-drug detection. Trends in analytical chemistry. 2010;29.795-803.
- 65. Sripad.G, Prakash .V, Narasinga Rao. Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. 1982;4:145-52.
- 66. Hussain H, Hussain J, Al-Harrasi A, Green IR. Chemistry and biology of the genus *Voacanga*. Pharm Biol. sept 2012;50(9):1183-93.
- 67. Gullberg J, Jonsson P, Sjöström M, Moritza T. Design of experiments: an eYcient strategy to identify factors inXuencing extraction and derivatization of Arabidopsis thaliana samples in metabolomic studies with gas chromatography/mass spectrometry. Analytical Biochemistry. 2004;331 283-295.
- 68. Mahmoudi S, Mahmoudi N, Khali M. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynara scolymus L.). 2012;35-9.
- 69. Badiaga M. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali [PhD Thesis]. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II; 2011.
- 70. Tiwari P, Kumar B, Kaur M. Phytochemical screening and Extraction. Int Pharm Sci. 2011;1:98-106.
- 71. Katalinic V, Mozina S, Skroza D, Generalic I, Abramovic H, M. Milos, et al. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 Vitis vinifera varieties grown in Dalmatia (Croatia). J. Food. Chem. 2010;119:715-23.
- 72. Mulinacci N, Prucher D, Peruzzi M, Romani A, Pinelli P, Giaccherini C, et al. Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compound content. J Pharm Biomed Anal. 2004;34:349-57.
- 73. Koffi E, Sea T, Dodehe Y, Soro S. Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. Anim Plant Sci. 2010;5:550-8.
- 74. Zohra M, Fawzia A. Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from tamarix aphylla(L.)Karst. 2011;2:609-15.

75. Penchev P.I. Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. [Thèse de Doctorat]. [Université de Toulouse, France.]; 2010.

# **ANNEXE**

# Préparation des réactifs

### Réactif de DRAGENDORFF selon MUNIER et MACHEBOEUF

Solution a: Dissoudre 0,85 g de nitrate de bismuth basique dans 10 ml d'acide acétique cristallisable et 40 ml d'eau.

Solution b: Dissoudre 8 g d'iodure de potassium dans 20 ml d'eau.

Solution de réserve: Mélanger des volumes égaux des solutions a et b (cette solution se conserve bien en flacon sombre). Solution de vaporisation : mélanger 1 ml de solution de réserve, 2 ml d'acide acétique cristallisable et 10 ml d'eau. Intensifier la coloration des spots en pulvérisant après avec une solution aqueuse à 5% de nitrite de sodium.

Fast Blue B / NaOH (réactif phénol et amine conjugable)

Juste avant l'emploi, dissoudre 50mg de sel bleu solide B (Fast blue B) dans 10ml d'eau et vaporiser. Après séchage pulvériser avec NaOH 0,1M.

Chlorure de fer (III) (réactif phénol et acide hydroxamique)

Solution de chlorure de fer (III) 5 % dans l'acide chlorhydrique 0,5 M. Coloration Phenols (Bleu à vert), Acides hydroxamiques (rouge)

Anisaldehyde sulfurique: Ajouter successivement 0,5 ml d'anisaldehyde, 10 ml d'acide acétique glacial, 85 ml de méthanol et 5 ml acide sulfurique concentré. Vaporiser avec 10 ml et chauffer 10 mn à 100-110°C. Coloration: Visible (bleu, vert, rouge et marron) et UV 365nm

Réactif de NEU: NP/PEG (réactif des flavonoïdes)

- Solution 1 : Solution méthanolique à 1% de Diphenylboryloxyethanolamine (Naturel Product NP)
- Solution 2 : Solution éthanolique à 5% de Polyethylèneglycol (PEG) 4000
- La plaque est vaporisée avec 10 ml de la solution 1, suivie immédiatement par 8 ml de la solution 2. Après séchage visualiser les taches à la lumière UV-365. Une intense fluorescence se produit immédiatement ou après 15 minutes on observe une coloration jaune orange vert sombre (Flavonoïde), Coloration bleue (phénol acide carboxylique)
- Fer (III) Chlorure (Tannin) Solution aqueuse à 10% de Fer (III) Chlorure. Vaporiser 5 à 10 ml et observer dans la visible coloration bleue noire.
- Réactif de BORNTRÄGER: Potassium hydroxyde ethanolique (Quinone, Coumarine) Solution éthanolique 10 % de potassium hydroxyde Vaporiser 10 ml et observer dans le visible ou UV 365nm avec ou sans chauffage. Coloration: Anthraquinones (Rouge); Anthrones (Jaune UV 365). Coumarines (Bleu UV365).
- **Réactif de LIEBERMANN BURCHARD**: Mélange à volume égal (5 ml) d'acide sulfurique et d'anhydride acétique. A cette solution, on rajoute 50 ml d'éthanol absolu. La préparation est effectuée à froid dans de la glace. Après pulvérisation, la plaque est chauffée à 100°C pendant 10 minutes. On observe à la lumière UV à 365 nm:
  - Coloration rouge pour les triterpènes de type oléanane et ursane
  - Coloration jaune orangée pour les triterpènes de type lupane
  - Coloration jaune /jaune-vert pour les stéroïdes.

### **RESUME**

Les produits à base de plantes constituent un vaste réservoir de substances naturelles de composés phytochimiques pharmacologiquement actifs, des phytonutriments et des substances toxiques. L'évaluation de la qualité pharmaceutique de ces produits à base de plantes s'avère très difficile. Car ce sont des mélanges complexes de plusieurs plantes ou dérivés de plantes souvent inconnues. Aussi, la préparation des matières premières sont très variables.

Une méthode d'analyse globale requiert un procédé de préparation de l'échantillon qui va permettre d'extraire un plus grand nombre de composés phytochimiques.

Notre travail avait pour objectif général de proposer un procédé d'extraction globale de composés phytochimiques, pour l'évaluation analytique des produits à base de plantes. Notre méthodologie était basée sur l'analyse qualitative et quantitative des extraits obtenus à partir de procédés utilisant divers solvants. Nous avons testé 29 procédés d'extraction à partir de 26 solvants.

Les résultats des analyses organoleptiques, physiques, physico-chimiques et phytochimiques des extraits obtenus, nous permettent de retenir que :

- Les solvants associant l'eau, les alcools et les solvants peu ou apolaires (acétate d'éthyle, acétone, chloroforme, dichlorométhane), permettent une meilleure extraction ;
- Les procédés d'extraction avec les mélanges de solvants étaient plus avantageux que les procédés d'extraction successive ;
- Les procédés avec le chloroforme/acétone/méthanol/eau et chloroforme/éthanol/eau, permettent de réaliser une bonne extraction qualitative et quantitative des composés phytochimiques.

En conclusion, nous proposons le procédé utilisant le mélange ternaire chloroforme/éthanol/eau, comme procédé standard pour l'extraction globale de composés phytochimiques pour l'évaluation analytique de produits à base de plantes.

Mots clés : extraction globale, composés phytochimiques, produits à base de plantes