REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE UNION - DISCIPLINE - TRAVAIL

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

Année: 2015 - 2016

THESE N°......

Présentée en vue de l'obtention du

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

TAHOUO Sekpa Florent

PROCEDURES D'EXTRACTION GLOBALE DES COMPOSES PHYTOCHIMIQUES POUR L'EVALUATION ANALYTIQUE DES MEDICAMENTS A BASE DE PLANTES

Soutenue publiquement le

Composition du jury

Président : Monsieur **KOUADIO Kouakou Luc**, Professeur titulaire

Directeur de thèse : Monsieur MA.LAN Kla Anglade, Professeur titulaire

Assesseurs : Monsieur **KOFFI Armand Angely**, Maître de conférence agrégé

: Monsieur ABROGOUA Danho pascal, Maître de conférence agrégé

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

I-HONORARIAT

Directeurs/Doyens Honoraires : Professeur RAMBAUD André

Professeur FOURASTE Isabelle

Professeur BAMBA Moriféré

Professeur YAPO Abbé †

Professeur MALAN Kla Anglade

Professeur KONE Moussa †

II- ADMINISTRATION

Directeur Professeur ATINDEHOU Eugène Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie Professeur Ag INWOLEY Kokou André

Sous-Directeur Chargé de la Recherche
Secrétaire Principal
Documentaliste
Professeur Ag OGA Agbaya Serge
Madame NADO-AKPRO Marie Josette
Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert

Intendant Monsieur GAHE Alphonse Responsable de la Scolarité Madame DJEDJE Yolande

III- PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

1- PROFESSEURS TITULAIRES

MmeAKE MichèleChimie Analytique, BromatologieMATINDEHOU EugèneChimie Analytique, BromatologieMmeATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L.Biochimie et Biologie Moléculaire

M DANO Djédjé Sébastien Toxicologie. Mme KONE BAMBA Diéneba Pharmacognosie

MM KOUADIO Kouakou Luc Hydrologie, Santé Publique

MALAN Kla Anglade Chimie Anal., contrôle de qualité

MENAN Eby Ignace Parasitologie - Mycologie

MONNET Dagui Biochimie et Biologie Moléculaire

Mme SAWADOGO DuniM YOLOU Séri FernandHématologieChimie Générale

2- MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM ABROGOUA Danho Pascal Pharmacie Clinique

AHIBOH Hugues

Biochimie et Biologie moléculaire

Mme AKE EDJEME N'guessan Angèle

Biochimie et Biologie moléculaire

MM AMARI Antoine Serge G. Législation

AMIN N'Cho Christophe Chimie analytique DEMBELE Bamory Immunologie

GBASSI K. Gildas Chimie Physique Générale

INWOLEY Kokou André Immunologie

KOFFI Angely Armand Pharmacie Galénique

MmeKOUAKOU-SIRANSY GisèlePharmacologieMMKOUASSI DinardHématologie

LOUKOU Yao Guillaume Bactériologie-Virologie

OGA Agbaya Stéphane Santé publique et Economie de la santé

OUASSA Timothée Bactériologie-Virologie

OUATTARA Mahama Chimie organique, Chimie thérapeutique YAPI Ange Désiré Chimie organique, chimie thérapeutique

YAVO William Parasitologie - Mycologie ZINZENDORF Nanga Yessé Bactériologie-Virologie

3- MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

M DIAFOUKA François Biochimie et Biologie de la Reproduction

4-MAITRES ASSISTANTS

Mme AFFI-ABOLI Mihessé Roseline Immunologie

M ANGORA Kpongbo Etienne Parasitologie - Mycologie
Mme BARRO KIKI Pulchérie Parasitologie - Mycologie
MM BONY François Nicaise Chimie Analytique
CLAON Jean Stéphane Santé Publique

DALLY Laba Pharmacie Galénique
DJOHAN Vincent Parasitologie -Mycologie

MmeFOFIE N'Guessan Bra YvettePharmacognosieMmeIRIE N'GUESSAN AmenanPharmacologie

M KASSI Kondo Fulgence Parasitologie-Mycologie Mmes KONATE Abibatou Parasitologie-Mycologie KOUASSI AGBESSI Thérèse Bactériologie-Virologie

M MANDA Pierre Toxicologie

Mmes POLNEAU VALLEE Sandrine Mathématiques-Statistiques

SACKOU KOUAKOU Julie Santé Publique SANGARE Mahawa Biologie Générale

SANGARE TIGORI Béatrice Toxicologie

VANGA ABO Henriette Parasitologie-Mycologie

M YAYO Sagou Eric Biochimie et Biologie moléculaire

5-ASSISTANTS

MM ADJAMBRI Adia Eusebé Hématologie
ADJOUNGOUA Attoli Léopold Pharmacognosie
Mme AKA-ANY-GRA Armelle Adjoua S. Pharmacie Galénique
M AMICHIA Attoumou Magloire Pharmacologie

Mmes ALLOUKOU-BOKA Paule-Mireille Législation

APETE Sandrine Bactériologie-Virologie

AYE YAYO Mireille Hématologie

MM BROU Amani Germain Chimie Analytique
BROU N'Guessan Aimé Pharmacie clinique
CABLAN Mian N'Ddey Asher Bactériologie-Virologie
COULIBALY Songuigama Chimie Thérapeutique

Mme DIAKITE Aïssata ToxicologieM DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Pharmacologie

Mme DOTIA Tiepordan Agathe Bactériologie-Virologie

M EFFO Kouakou Etienne Pharmacologie Mme HOUNSA Annita Emeline Epse Alla Sante Publique MM KABRAN Tano Kouadio Mathieu Immunologie

KACOU Alain Chimie Thérapeutique

KAMENAN Boua Alexis Thierry Pharmacologie KOFFI Kouamé Santé publique

KONAN Konan Jean Louis Biochimie et Biologie moléculaire Mme KONE Fatoumata Biochimie et Biologie moléculaire

MM KOUAKOU Sylvain Landry Pharmacologie

KOUAME Dénis Rodrigue Immunologie
KPAIBE Sawa Andre Philippe Chimie Analytique
LATHRO Joseph Serge Bactériologie-Virologie

N'GBE Jean Verdier Toxicologie

N'GUESSAN Alain Pharmacie Galénique

Mme N'GUESSAN-BLAO Amoin Rebecca J. Hématologie

M N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul Chimie Thérapeutique Mmes N'GUESSAN Kakwokpo Clémence Pharmacie Galénique OUAYOGODE-AKOUBET Aminata Pharmacognosie

SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle Biochimie et Biologie moléculaire

M TRE Eric Serge Chimie Analytique

Mmes TUO Awa Pharmacie Galénique

VAO ATTIA Akiesi Pégina Santé publique

YAO ATTIA Akissi Régine Santé publique M YAPO Assi Vincent De Paul Biologie Générale

6- ATTACHES DE RECHERCHE

Mme ADIKO N'dri Marcelline Pharmacognosie M LIA Gnahoré José Arthur Pharmacie Galénique

7- IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa Professeur Titulaire Feu YAPO Abbé Etienne Professeur Titulaire

Feu COMOE Léopold 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

IV- ENSEIGNANTS VACATAIRES

1-PROFESSEURS

MM ASSAMOI Assamoi Paul Biophysique
DIAINE Charles Biophysique
OYETOLA Samuel Chimie Minérale
ZOUZOU Michel Cryptogamie

2-MAITRES DE CONFERENCES

MM KOUAKOU Tanoh Hilaire Botanique et Cryptogamie

SAKO Aboubakar Physique (Mécanique des fluides)

Mme TURQUIN née DIAN Louise Biologie Végétale

M YAO N'Dri Athanase Pathologie Médicale

3- MAITRE-ASSISTANT

M KONKON N'Dri Gilles Botanique, Cryptogamie

4- NON UNIVERSITAIRES

MM. AHOUSSI Daniel Ferdinand Secourisme

DEMPAH Anoh Joseph Zoologie

GOUEPO Evariste Techniques officinales

Mme KEI-BOGUINARD Isabelle Gestion

MM 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 du département

Professeurs ZINZENDORF Nanga Yessé Maître de Conférences Agrégé

OUASSA Timothée Maître de Conférences Agrégé

Docteurs KOUASSI AGBESSI Thérèse Maître- assistante

CABLAN Mian N'Dédey Asher Assistant
DOTIA Tiepordan Agathe Assistante
LATHRO Joseph Serge Assistant
APETE yah sandrine épse TAHOU Assistante

II- BIOCHIMIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE, BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION ET PATHOLOGIE MEDICALE

Professeur MONNET Dagui Professeur Titulaire

Chef du Département

Professeurs HAUHOUOT épse ATTOUNGBRE M. L. Professeur Titulaire

AHIBOH Hugues Maître de Conférences Agrégé

AKE EDJEME N'Guessan Angèle Maître de Conférences Agrégé

DIAFOUKA François Maître de Conférences

Docteurs YAYO Sagou Eric Maître-assistant

KONAN Konan Jean Louis Assistant
KONE Fatoumata Assistante
KOFFI Akissi Joelle épse SIBLI Assistante

III- BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Professeur SAWADOGO Duni Professeur Titulaire

Chef du Département

Professeurs INWOLEY Kokou André Maître de Conférences Agrégé

KOUASSI Dinard Maître de Conférences Agrégé
DEMBELE Bamory Maître de Conférences Agrégé

Docteurs SANGARE Mahawa Maitre-assistante

> AFFI-ABOLI Mihessé Roseline Maître-Assistante

ADJAMBRI Adia Eusebé Assistant **AYE YAYO Mireille** Assistante KABRAN Tano K. Mathieu Assistant KOUAME Dénis Rodrigue Assistant N'GUESSAN-BLAO R. S. Assistante YAPO Assi Vincent De Paul

IV-CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE. **TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE**

Assistant

Professeur ATINDEHOU Eugène Professeur Titulaire

Chef du Département

Professeur Titulaire Professeurs MALAN Kla Anglade

> Professeur Titulaire AKE Michèle Dominique Professeur Titulaire YOLOU Séri Fernand

Professeurs Maître de Conférences Agrégé AMIN N'Cho Christophe

> GBASSI K. Gildas Maître de Conférences Agrégé

Docteurs **BONY Nicaise François** Maître-assistant

> **BROU** Amani Germain Assistant **KPAIBE** Sawa Andre Philippe Assistant TRE Eric Serge Assistant

CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE

Professeur YAPI Ange Désiré Maître de Conférences Agrégé

Chef du Département

Professeur **OUATTARA** Mahama Maître de Conférences Agrégé

Docteur **KACOU** Alain **Assistant**

> N'GUESSAN Deto Jean-Paul Assistant **COULIBALY Songuigama** Assistant

VI- PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE

Professeur MENAN Eby Ignace H. Professeur Titulaire

Chef du Département

Professeur YAVO William Maître de Conférences Agrégé

Docteurs BARRO KIKI Pulchérie Maître-assistante

DJOHAN Vincent Maître-assistant

KASSI Kondo Fulgence Maître-assistant

VANGA ABO Henriette Maître-assistante

ANGORA Kpongbo Etienne Maître-Assistant

KONATE Abibatou Maître-Assistante

VII- PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE, COSMETOLOGIE, GESTION ET LEGISLATION PHARMACEUTIQUE

Professeur KOFFI Armand A. Maître de Conférences Agrégé

Chef du Département

Professeur AMARI Antoine Serge G. Maître de Conférences Agrégé

Docteurs DALLY Laba Ismaël Maître-assistant

AKA-ANY Grah Armelle A.S.

N'GUESSAN Alain

BOKA Paule Mireille épse A.

N'GUESSAN Kakwopko C.

TUO Awa Nakognon

Assistante

Assistante

Assistante

VIII- PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE, CRYPTOGAMIE,

Professeur KONE BAMBA Diénéba Professeur Titulaire

Chef du Département

Docteurs ADJOUNGOUA Attoli Léopold Assistant

FOFIE N'Guessan Bra Yvette Maître-Assistante

OUAYOGODE-AKOUBET Aminata Assistante

IX- PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE, ET PHYSIOLOGIE HUMAINE

Professeurs KABLAN Brou Jérôme Maître de Conférences Agrégé

Chef du Département

ABROGOUA Danho Pascal Maître de Conférences Agrégé KOUAKOU SIRANSY N'doua G. Maître de Conférences Agrégé

Docteurs IRIE N'GUESSAN Amenan G. Maître-assistante

AMICHIA Attoumou M. Assistant
DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Assistant
EFFO Kouakou Etienne Assistant
KAMENAN Boua Alexis Assistant
KOUAKOU Sylvain Landry Assistant
BROU N'GUESSAN Aime Assistant

X- PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur ATINDEHOU Eugène Professeur Titulaire

Chef de Département

Docteur POLNEAU VALLEE Sandrine Maître-assistante

XI- SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE

Professeur KOUADIO Kouakou Luc Professeur Titulaire

Chef du département

DANO Djédjé Sébastien Professeur Titulaire

OGA Agbaya Stéphane Maître de Conférences Agrégé

Docteurs CLAON Jean Stéphane Maître-assistant

MANDA Pierre Maître-assistant
SANGARE TIGORI B. Maître-assistante
SACKOU KOUAKOU J. Maître-assistante

DIAKITE Aissata Assistante
HOUNSA-ALLA Annita Emeline Assistante
YAO ATTIA Akissi Régine Assistante
N'GBE Jean Verdier Assistant
KOFFI Kouamé Assistant



JE DEDIE CETTE THESE

A L'ETERNEL MON DIEU

Je veux dire merci au Seigneur de tout mon cœur.

Oui, je veux remercier le Seigneur sans oublier un seul de ses bienfaits.

Seigneur merci pour tout ce qui arrive dans notre vie, particulièrement en ce jour bénit où je m'apprête à faire un pas décisif dans ma vie.

Aujourd'hui j'ose vous demander une chose comme le fait le roi Salomon dans le temps : la sagesse d'un bon pharmacien qui saura appliquer la science qu'il a apprise dans le plus grand respect des principes fondamentaux de la vie.

Je veux dire merci au Seigneur de tout mon cœur.

Oui, je veux remercier le Seigneur sans oublier un seul de ses bienfaits.

Oh oui, je le louerai éternellement.

.

Gloire à DIEU.

A mon père, Feu GNALLA TAHOUO BERNARD

In – Memoriam

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour lui.

Rien au monde ne vaut ses efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit des sacrifices qu'il a consentis pour mon éducation et ma formation.

Que son âme repose en paix.

A ma mère SEHI KAH MADELEINE

Je sais que je suis une fierté pour toi, un motif de satisfaction et de bonheur à l'égard de cet enfant qui est sorti de ton sein.

Mère, je te remercie énormément pour les sacrifices consentis à l'égard de tes enfants.

Je t'aime et je t'adorerai pendant toute mon existence sur terre.

Tu as été une mère digne, combattante, effectuant des voyages de nuit rien que pour me scolariser au prix de ta vie.

Je ne pense même pas pouvoir honorer cette dette, car je sais combien elle est lourde pour moi.

DIEU que tu as adopté saura te rendre au centuple tes bienfaits et qu'il te bénisse et te garde pour nous aussi longtemps que possible.

Amour maternel, que le Seigneur te donne longue vie.

.

A ma très chère épouse NINI, mère de mes enfants, docteur TAHOUO KOULATE ANNE-MARIE

Quand je t'ai connu, j'ai trouvé la femme de ma vie, mon âme sœur et la lumière de mon chemin.

Ton encouragement et ton soutien étaient la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments pénibles, de solitude et de souffrance.

Merci d'être toujours à mes côtés, par ta présence, par ton amour dévoué et ta tendresse, pour donner du goût et du sens à notre vie de famille.

Ma vie à tes cotés est remplie de belles surprises.

Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.

Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.

Que dieu bénisse notre union pour un long commun serein.

En témoignage de mon amour, de mon admiration et de ma grande affection, je te prie de trouver dans ce travail l'expression de mon estime et mon sincère attachement.

Je prie dieu le tout puissant pour qu'il te donne bonheur et prospérité.

Je t'aime.

A mon fils, TAHOUO ATEHANKA ELIE-PHINEE

Tu es source de grande joie pour moi.

Ta présence me rend encore plus responsable.

La vie c'est la persévérance et humilité. Tu dois prendre le relais dans l'avenir.

Premier né d'une union sacrée, tu dois être capable de nous apporter le bonheur et la joie

J'espère, avec l'aide de Dieu, que je continuerai de t'offrir l'amour, l'éducation et les moyens nécessaires à ton épanouissement.

Saches que seul le travail paie avec JESUS.

Je t'aime.

A ma fille, TAHOUO nantie floranne jemima

Tu es pour moi un miracle.

Ta vie sera un témoignage très édifiant.

La vie c'est le courage, la dévotion mais surtout l'humilité.

J'espère, avec l'aide de Dieu, que je continuerai de t'offrir l'amour, l'éducation et les moyens nécessaires à ton épanouissement.

Saches que seul le travail paie avec JESUS.

Je t'aime.

A ma fille, TAHOUO nemonhi prunelle précieuse

Je t'aime et je t'aimerai toujours.

Tu es pour moi une victoire et une bienheureuse.

J'espère, avec l'aide de Dieu, que je continuerai de t'offrir l'amour, l'éducation et les moyens nécessaires à ton épanouissement.

Saches que seul le travail paie avec JESUS.

Je t'aime.

A Monsieur GNALLA ANTOINE ET MME

Pieux, vertueux et modèle de persévérance, vous avez toujours incarné à mes yeux, la bonté, la sagesse et l'honnêteté.

Vous avez été un second père et une seconde mère pour moi et vous m'avez toujours entretenu comme si j'étais votre propre fils.

Puisse Dieu vous prêter une très longue vie afin que vous puissiez savourer le fruit de toutes vos bonnes actions.

Vos soutiens et vos conseils m'ont permis d'avoir le moral et de finir ce travail avec courage et en beauté.

Que Dieu te bénisse.

A Monsieur et Mme djike

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. C'est à travers vos encouragements que j'ai opté pour cette noble profession, et c'est à travers VOS critiques que ie me suis réalisée. que vous avez J'espère avoir répondu aux espoirs fondés moi. Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle de infini amour. Vous résumez si bien le mot parents qu'il serait superflu d'y ajouter quelque chose. Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant le chemin de vos enfants.

Que Dieu te bénisse.

A mes frères et sœurs

Vous avez été toujours à mes côtés dans les moments difficiles.

Soyons toujours solidaires, aimons nous les uns les autres.

Bâtissons dans l'union la famille TAHOUO et honorons la mémoire de notre père.

Que le Seigneur vous protège

A ma belle famille

Vous m'avez accueilli à bras ouverts dans votre famille.

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous, Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. Les mots me manquent pour exprimer ma profonde reconnaissance à la famille

KOULATE dont l'amour, la patience et le sacrifice s'inscrivent à chaque page de ce document.

Merci à vous tous.

A tous ceux que j'ai omis involontairement

Ce travail est le vôtre.

Que Dieu vous bénisse.



Au LABORATOIRE DE CONTROLE DE MEDICAMENT DU LABORATOIRE NATIONAL DE SANTE PUBLIQUE Et Directeur le Pr MALAN

Merci de m'avoir ouvert les portes de votre laboratoire et de m'y avoir guidée dans la réalisation de mon travail.

Je tiens à remercier également les pharmaciens, les techniciens et les stagiaires dont la disponibilité et la franche collaboration ne m'ont jamais fait défaut. Merci infiniment.

Aux ENSEIGNANTS DU DEPARTEMENT DE CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

Merci à vous pour l'apport technique, les orientations, le suivi et les conseils à nous prodiguer tout au long de ce travail de thèse.

A Dr BONY Nicaise

Votre encadrement nous a été d'une aide précieuse dans l'aboutissement de ce travail. Soyez-en remercié. Que Dieu vous donne de toujours progresser dans votre carrière d'enseignant-chercheur.

A la 29eme promotion des étudiants de l'UFR des sciences pharmaceutiques biologiques

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères, sœurs et des amis sur qui je peux compter.

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A tous ceux que j'ai omis involontairement

A tous ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis involontairement de citer.

A Tous Mes enseignants tout au long de mes études.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

À tous ceux qui ont cette pénible tâche de soulager les gens et diminuer leurs souffrances.

Ce travail est le vôtre.

Que Dieu vous bénisse.

•



A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Monsieur le Professeur MENAN EBY HERVE

- ✓ Professeur Titulaire de Parasitologie et Mycologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny d'Abidjan,
- ✓ Chef du Département de Parasitologie- Mycologie- Zoologie-Biologie Animale,
- ✓ Docteur en Pharmacie diplômé de l'Université de Cocody,
- ✓ Docteur ès Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université de Montpellier I,
- ✓ Directeur du Centre de Diagnostic et de Recherche sur le SIDA et les maladies opportunistes (CeDReS),
- ✓ Biologiste à l'Hôpital militaire d'Abidjan,
- ✓ Officier supérieur des Forces Armées Terrestres de Cote d'Ivoire,
- ✓ Ancien interne des Hôpitaux d'Abidjan (Lauréat du concours 1993),
- ✓ Lauréat du prix PASRES-CSRS des trois meilleurs chercheurs ivoiriens 2011,
- ✓ Président de la société ivoirienne de parasitologie (SIPAM),
- ✓ Secrétaire Général adjoint de la Société Africaine de Parasitologie,
- ✓ Vice-président du Groupe scientifique d'Appui au PNLP,
- ✓ Membre de la Commission Nationale Permanente de Biologie
- ✓ Médicale (CNPBM),
- ✓ Membre du groupe français des "Experts de Biologie du VIH " ESTHER.

Cher Maître,

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant avec spontanéité de présider le jury de notre thèse.

Nous avons eu le privilège de bénéficier de vos qualités d'enseignant tout au long de notre cursus universitaire.

Nous vous sommes infiniment reconnaissants. Que ce travail soit le gage de notre respect et de notre grande admiration pour vos qualités pédagogiques indéniables!

Que Dieu vous bénisse

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE Monsieur le Professeur 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
- > 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 de l'ordre national de cote d'ivoire ;
- Commandeur de l'ordre de l'enseignement supérieur
- Chevalier dans l'ordre de la Santé Publique
- Expert de l'OMS.

Cher Maître.

Vous nous avez impressionné par vos qualités scientifiques et humaines qui font de vous un grand maitre, ce travail je l'espère aura répondu a vos exigences de scientifique averti. Votre disponibilité et votre sympathie à notre égard nous honorent et nous rendent encore plus fier d'être l'un de vos disciples.

Soyez assuré de notre haute considération et de notre profonde gratitude.

Que Dieu vous comble de toutes ses grâces!

A NOTRE MAITRE ET JUGE Monsieur le Professeur ABROGOUA Danho Pascal

- Maître de Conférences Agrégé de Pharmacie Clinique et Thérapeutique (UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny)
- Docteur en pharmacie diplômé de l'Université de Cocody
- Docteur de l'Université de Lyon en Pharmacie Clinique (France)
- Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan
- Pharmacien Hospitalier au CHU de Cocody
- Responsable de l'enseignement de Pharmacie clinique et thérapeutique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (*Université Félix Houphouët-Boigny*)
- Titulaire du Master en Pharmaco-économie de l'Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lyon (France)
- Titulaire des DESS de Toxicologie et de Contrôle qualité des médicaments (*UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny*)
- Membre du comité pédagogique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (*Université Félix Houphouët-Boigny*)
- Membre de la Société Française de Pharmacie Clinique (SFPC).
- Membre de la Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique (SFPT).
- Membre associé de l'Association Nationale des Enseignants de Pharmacie Clinique de France (ANEPC).
- Membre de la Société Ivoirienne de Toxicologie (SITOX).

Cher Maître,

Votre présence dans ce jury nous honore.

Votre esprit critique et votre grand savoir permettront de parfaire ce travail,

Veuillez agréer, cher Maître, l'expression de notre profond respect.

Que Dieu vous bénisse

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le Professeur OUATTARA MAHAMA

- Docteur es Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Montpellier I
- Professeur Agrégé de Pharmacie Chimique
- > Pharmacien
- ➤ Sous Directeur de la Direction de la Pharmacie et du Médicament de Côte d'Ivoire, Chargé de la Promotion de l'Industrie Pharmaceutique
- Expert des référentiels de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) et de Distribution (BPD) des médicaments (UEMOA, l'OMS)
- ➤ Inspecteur des Bonnes Pratiques de Fabrication et de Distribution des Médicaments (UEMOA, OMS)
- ➤ Lauréat du prix de Recherche Santé 2003 du Ministère de la Recherche Scientifique de la République de Côte d'ivoire.
- ➤ Thématique de recherche lauréate du Prix Scientifique KOUAME Egnankou 2013 des UFR Sciences de la Santé ;
- ➤ Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM)
- ➤ Membre du Réseau de Substances Bioactives Ouest Africain (ReSBOA)
- ➤ Membre de la Société de Chimie Thérapeutique de France (SCt France)

Cher Maître,

Cher maître,

C'est avec une grande joie que nous vous avons compté parmi le jury de notre thèse. Cet honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce modeste travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre respect, notre admiration et nos remerciements.

Que Dieu vous bénisse.

ABREVIATION

AlCl₃: chlorure d'aluminium

EAG : équivalent acide gallique BAW : butanol-acetic acid-water

Bar: barometre

Cmb : complètement miscible

CCM : chromatographie sur couche mince

CHCl : chloroforme Cm : centimètre

DCM: dichlorométhane

EMB : éosine bleu de méthylène

EtOH : éthanol

Fe₃Cl₃: Trichlorure ferrique

g : gramme

HCl : acide chlorhydrique
HEs : huiles essentielles
H₂SO₄ : acide sulfurique
HFC : hydrofluorocarbone

kHz : kilo HEINZ

KOH : Potassium hydroxyde ethanolique

LNSP : laboratoire national de la santé publique LCM : laboratoire de contrôle de médicaments

l : litre
m : mètre
mb : miscible
MeOH : méthanol

mg : milligramme
ml : millilitre
mn : minute
mm : millimètre
OH : hydroxyle
nm : nanomètre

OMS : organisation mondiale de la santé

Rf : facteur de rétention (rapport frontal)

UFR : Unité de Formation et de Recherche

UV : ultraviolet

° : degré

°C : degré Celsius

μ : micron

μ**g** : microgramme

μl : microlitre

LISTE DES FIGURES	XXIX
LISTE DES TABLEAUX	XXX
LISTE DES PHOTOS	XXXI
Introduction	1
PREMIERE PARTIE: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	4
CHAPITRE I : MEDICAMENTS A BASE DE PLANTES	5
I-1-définitions	6
I-2-classification des composes phytochimiques	8
CHAPITRE II : EVALUATION ANALYTIQUE	37
II-1-méthodes de préparation d'échantillon	38
II-1-1-nature du solvant	38
II-1-2-procédure d'extraction	41
II-1-3- méthodes d'extraction	41
II-2-méthodes d'analyses	51
CHAPITRE III: DROGUES VEGETALES	56
III-1- Combretum micranthum G. Don. (Combretaceae)	57
III-2- Mitracarpus scaber Zucc. (rubiaceae)	61
III-3-Sida acuta Burm f. (Malvaceae)	66
DEUXIEME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE	68
CHAPITRE I: MATERIEL ET METHODES	70
I-1-matériel	71
I-2-méthodes	72

ANNEXES	123
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	116
CONCLUSION	113
III-3-2- déterminations de la teneur en polyphenols totaux	111
III-3-1- recherche globale des composés	110
III-3- caractéristiques phytochimiques	110
III-2- rendement des extraits	109
III-1-caractères organoleptiques	109
CHAPITRE III : DISCUSSIONS	108
II-3-2- déterminations de la teneur en groupes phytochimiques	106
II-3-1- recherche des groupes phytochimiques	84
II-3- caractéristiques phytochimiques	84
II-2- rendement des extraits	83
II-1-caractères organoleptiques	82
CHAPITRE II : RESULTATS.	81
I-2-2-3-2-détermination de la teneur en groupes phytochimiques	78
I-2-2-3-1-recherche des groupes phytochimiques	75
I-2-2-3-caractéristiques phytochimiques	75
I-2-2-rendement des extraits	75
I-2-2-1- caractères organoleptiques	74
I-2-2-analyse des extraits	74
I-2-1-préparation des échantillons	72

LISTES DES FIGURES

- Figure 1a : Structures des tanins condensés
- Figure 1b : Structures des tanins hydrolysables
- Figure 2 : Alcaloïdes vrais
- Figure 3 : Pseudo-alcaloïdes
- Figure 4 : Proto-alcaloïdes
- Figure 5 : Quelques dérivés de l'acide hydroxybenzoique
- Figure 6 : Quelques dérivés de l'acide hydroxycinnamique
- Figure 7 : Structure de base de coumarine
- Figure 8 : Structures des quinones
- Figure 9 : Structure de base des flavonoïdes
- Figure 10 : Structures de quelques classes de flavonoïdes
- Figure 11 : Structure générale des anthocyanes
- Figure 12 : Synthèse des composés terpénique
- Figure 13 : Etapes de la macération
- Figure 14 : Montage de soxhlet
- Figure 15 : Montage d'un système de chauffage à reflux
- Figure 16 : développement chromatographique d'une plaque
- Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique
- Figure 18: Courbe d'étalonnage de linalol
- Figure 19: Rendements des extraits
- Figure 20: Teneurs des échantillons en polyphenols
- Figure 21: Teneurs des échantillons en terpènes

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1 : Miscibilité des solvants d'extraction des composés phytochimiques avec
- l'eau
- Tableau 2 : solvants et composés phytochimiques
- Tableau 3 : éléments de la chromatographie sur couche mince (groupes phytochimiques)
- Tableau 4 : éléments de la chromatographie sur couche mince (groupes phenoliques)
- Tableau 5 : caractères organoleptiques des extraits
- Tableau 6 : richesse de l'extrait A en alcaloïdes
- Tableau 7 : richesse de l'extrait B en alcaloïdes
- Tableau 8 : richesse de l'extrait C en alcaloïdes
- Tableau 9 : richesse de l'extrait A en polyphenols
- Tableau 10 : richesse de l'extrait B en polyphenols
- Tableau 11 : richesse de l'extrait C en polyphenols
- Tableau 12 : richesse de l'extrait A en flavonoïdes
- Tableau 13 : richesse de l'extrait B en flavonoïdes
- Tableau 14 : richesse de l'extrait C en flavonoïdes
- Tableau 15 : richesse de l'extrait A en tanins
- Tableau 16: richesse de l'extrait B en tanins
- Tableau 17 : richesse de l'extrait C en tanins
- Tableau 18 : richesse de l'extrait A en quinones/coumarines
- Tableau 19 : richesse de l'extrait B en quinones/coumarines
- Tableau 20 : richesse de l'extrait C en quinones/coumarines
- Tableau 21 : richesse de l'extrait A en terpènes
- Tableau 22 : richesse de l'extrait B en terpènes
- Tableau 23 : richesse de l'extrait C en terpènes

LISTE DES PHOTOS

- Photo 1 : feuilles de Combretum micranthum G. Don (Combretaceae)
- Photo 2: Mitracarpus scaber zucc
- Photo 3: Sida acuta Burm .f (Malvaceae)
- Photo 4 : après révélation avec réactif de DRAGENDORF
- Photo 5 : après révélation avec Fast blue B (visible)
- Photo 6 : après révélation avec AlCl₃ à UV 365 nm
- Photo 7 : après révélation avec FeCl₃/ H₂0Visible
- Photo 8 : après révélation avec Réactif de BORNTRAGER à 365 nm
- Photo 9 : après révélation avec Anisaldehyde sulfurique visible



Les médicaments à base de plantes, élément essentiel des soins de santé partout dans le monde depuis les premiers jours de l'espèce humaine, sont encore largement utilisés et ont une importance considérable dans le commerce international.

La reconnaissance de leur valeur clinique, pharmaceutique et économique continue de croître.

Du fait de leur énorme expansion les autorités sanitaires et le grand public accordent beaucoup d'importance à l'innocuité et à l'efficacité ainsi qu'au contrôle de la qualité des médicaments à base de plantes [1].

L'évaluation de la qualité de ces médicaments est difficile, car ils contiennent des composés qui diffèrent largement dans leur nature chimique et la quantité [2,3].

Ces phytomedicaments constituent un vaste réservoir de substances naturelles, qui sont des composés phytochimiques pharmacologiquement actifs, des phytonutriments et les substances toxiques.

Ces substances sont d'un grand intérêt en raison de leurs multiples applications en médecine humaine mais leur étude et leurs utilisations optimales requièrent une extraction globale.

L'extraction consiste à séparer les composés phytochimiques d'un organisme végétal à l'aide de solvants sélectifs et selon des procédures standards [62],

L'extraction globale consiste en l'isolement d'un grand nombre de composés phytochimiques en seul étape [8].

Trois procédures d'extraction pour la préparation de nos échantillons:

- -Une extraction par mise en contact du matériel végétal et le mélange chloroformeméthanol-eau,
- -Une extraction successive du matériel végétal avec le chloroforme et le mélange méthanol-eau,
- Une extraction successive du matériel végétal avec le chloroforme, le méthanol et l'eau.

L'extraction d'un grand nombre de composés phytochimiques en une seule étape constitue un bon outil pour l'évaluation de la qualité des médicaments à base de plantes.

C'est ce qui a motivé l'orientation de nos travaux de recherche dans ce domaine. Dans le souci d'apporter des solutions aux problèmes d'évaluation de la qualité des médicaments à base de plantes, Il est nécessaire de comparer la procédure d'extraction par mise en contact direct avec un solvant ou mélange de solvants et la procédure d'extraction successive avec des solvants de polarité croissante.

Notre étude qui se situe dans un cadre d'évaluation analytique des médicaments à base de plantes a pour objectif de proposer des procédures d'extraction globale, simples et efficaces des composés phytochimiques.

Les objectifs spécifiques étant d':

- Appliquer les procédures d'extraction à l'étude de la drogue végétale.
- Analyser quantitativement et qualitativement des extraits obtenus.
- Evaluer l'efficacité des procédures d'extraction par l'analyse comparée des résultats qualitatifs et quantitatifs obtenus.

Pour présenter notre étude, nous proposons un plan en deux parties :

- Une première partie bibliographique dans laquelle nous traiterons les généralités sur les médicaments à base de plantes et l'évaluation analytique des médicaments à base de plantes.
- Une seconde partie expérimentale qui rendra compte de la méthodologie, des résultats, et de la discussion qui en découle.

Procédures d'extraction globale	des composés phytochimiques pour médicaments a base de plantes	l'évaluation analytique des
PREMIERE PA	ARTIE	
Etude bibliograph	ique	
TAHOUO Sekpa Florent		

Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments a base de plantes	

<u>CHAPITRE 1 :</u> MEDICAMENTS A BASE DE PLANTES

I-1-Définitions

I-1-1-Médicaments à base de plantes

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, gommes, huiles grasses, huiles essentielles et toutes autres substances de cette nature. Les médicaments à base de plante peuvent contenir outre les principes actifs, des excipients.

Les médicaments contenant les produits végétaux associés à des principes actifs chimiquement définis, isolés de plantes ne sont pas considérés comme des médicaments à base de plante [10].

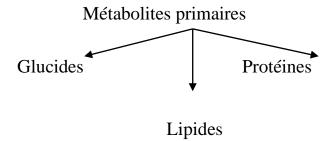
I-1-2-Composés phytochimiques

Les composés phytochimiques sont les molécules issues du métabolisme des végétaux (métabolites). On distingue deux classes de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires [12,13] .Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme :

Les glucides représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois cellulaires (cellulose).

Les lipides constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires.

Les aminoacides représentent une source primaire de construction des protéines



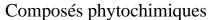
Les composés phytochimiques secondaire ne sont pas nécessaires et vitaux pour la cellule ou l'organisme. Ces molécules sont présentes en très grand nombre et d'une variété structurale extraordinaire. Elles ont de nombreuses applications pharmaceutiques.

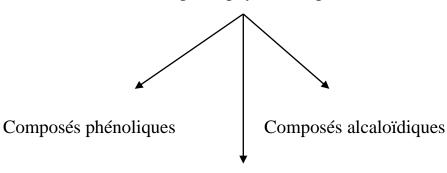
Ces molécules sont reparties en trois grands groupes.

Les composés phénoliques,

Les composés alcaloïdiques,

Les composés terpéniques.





Composés terpéniques

I-2-Classification

Il existe plusieurs critères de classification des composés phytochimiques mais dans notre étude ces composés sont classés selon la polarité en trois grands groupes [14].

I-2-1-composés phytochimiques polaires

Ce sont les composés très hydrophiles qui sont extraits par un solvant très polaire tel que l'eau.

<u>I-2-1-1-Tanins</u>

Les tanins sont des polyphenols que l'on trouve dans de nombreux végétaux. Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation [24].

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides [25].

Les tanins sont divisés en deux groupes :

- -Les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères)
- -Les tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucose.

❖ Les tanins condensés (flavan-3-ols)

Les tanins condensés, appelés aussi polyphénols ou proanthocyanidine sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique [26].

La structure complexe des tanins condensés est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation. Les formes naturelles monomériques des flavan-3-ols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétrique C2 et C3 et par le niveau d'hydroxylation du noyau B .On distingue ainsi les catéchines (dihydroxylées) des gallocatéchines (trihydroxylées) [27].

Figure 1a : Structures des tanins condensés

Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters de glucides ou d'acide phénols, ou de dérivés d'acides phénols ; la molécule glucidique est en général du glucose, mais dans certains cas des polysaccharides. Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins (en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau, en formant des solutions colloïdales [27].

Les tanins hydrolysables sont constitués d'un noyau central le glucose et de chaînes latérales (en position 1, 2, 3, 4 ou 6 sur le glucose) comprenant 1 à n monomère(s) d'acide phénol. Des liaisons carbones à carbone entre noyaux (liaisons biphényle réalisées par couplage oxydatif), conduisent à des molécules ramassées plus rigides de solubilité diminuée dites les tanins éllagiques [27].

Figure 1b : Structures des tanins hydrolysables

I-2-1-2-Saponosides

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, les saponosides doivent leur nom au fait que, comme le savon, elles produisent ' de la mousse quand on les plonge dans l'eau.

Les saponosides existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpenoides.

La structure chimique des stéroïdes est similaire a celle de nombreuses hormones humaines (œstrogène, cortisone), et de nombreuses plantes qui en contiennent ont un effet sur l'activité hormonale.

Elles sont souvent expectorantes et facilitent l'absorption des aliments [68].

I-2-1-3-Polysaccharides

Ce sont des unités complexes de molécules de sucre liées ensemble que l'on trouve dans toutes les plantes.

Du point de vue de la phytothérapie, les polysaccharides les plus importants sont les mucilages « visqueux » et les gommes, présents dans les racines, les feuilles et les graines. Le mucilage et la gomme absorbent de grandes quantités d'eau, produisant une masse gélatineuse qui peut être utilisée pour calmer et protéger les tissus enflammés, par exemple quand la peau est sèche et irritée ou la paroi des intestins enflammée et douloureuse.

Certains polysaccharides, comme les glucomannanes et les pectines, sont utilisés en cosmétologie. **[68].**

I-2-1-4-Minéraux

De nombreuses plantes médicinales sont très riches en minéraux.

Les plantes, notamment celles issues de l'agriculture biologique, tirent les minéraux du sol et les transforment en une structure aisément assimilable par l'organisme.

Dans de nombreux cas, les minéraux contenus dans une plante participent activement à son activité thérapeutique dans l'organisme [68].

I-2-1-5-Vitamines

Bien qu'elles soient souvent négligées, de nombreuses plantes médicinales sont particulièrement riches en vitamines. [68].

I-2-2-Composes phytochimiques peu polaires

Ce sont les composes peu hydrophiles qui sont extraits par un solvant peu polaire tel que le méthanol :

I-2-2-1-Alcaloïdes

I-2-2-1-1-Définition des alcaloïdes

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. MEISNER au début du XIX ^e siècle pour désigner les substances naturelles réagissant comme des bases. Toute fois, 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 définir de manière simple « un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe » [28,29]. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique [31, 32]. On distingue généralement :

❖ Les alcaloïdes vrais, qui sont d'un point de vue de la biosynthèse dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle : exemple la strychnine dérivée du tryptophane (figure 2)

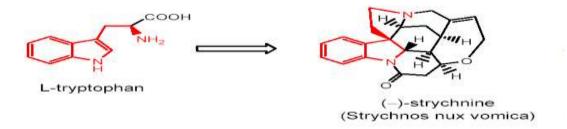


Figure 2 : Alcaloïdes vrais

❖ les pseudo-alcaloïdes, qui dérivent d'acides aminés mais pour lesquels l'azote est en dehors des structures cycliques (exemple : la colchicine)(figure 3)

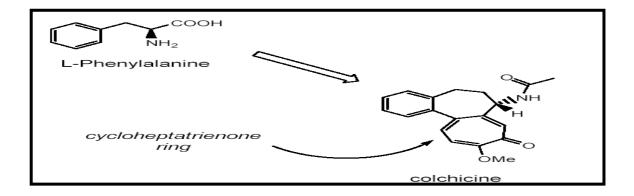


Figure 3: pseudo-alcaloides

Les **proto-alcaloïdes** sont des aminés simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique (exemple : la caféine) [28-29]. (Figure 4)

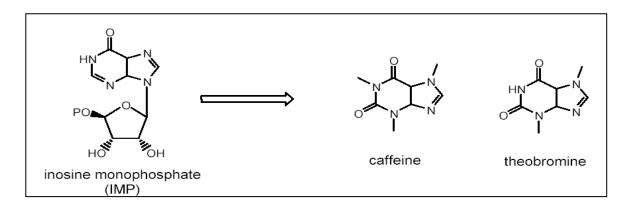
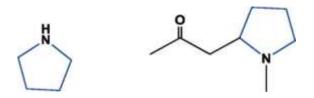


Figure 4: Proto-alcaloïdes

I-2-2-1-2-Classification

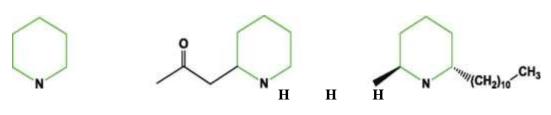
Vouloir proposer une classification pour les alcaloïdes demeure une tâche ardue, en raison du grand nombre de composés connus et surtout à cause de la diversité structurale. Une des classifications possibles concerne le nombre de cycles contenant l'atome d'azote.

I-2-2-1-Alcaloïdes avec un seul cycle contenant l'atome d'azote



Hygrine

Cycle pyrrolidinique

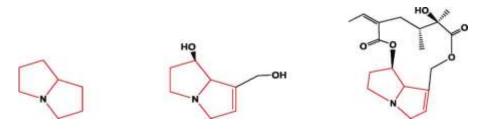


Cycle pipéridinique

Isopelletierine

Solénopsine A

I-2-2-1-2-Alcaloïdes avec deux cycles contenant l'atome d'azote

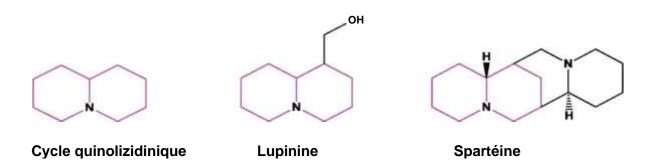


Cycle pyrrolizidinique

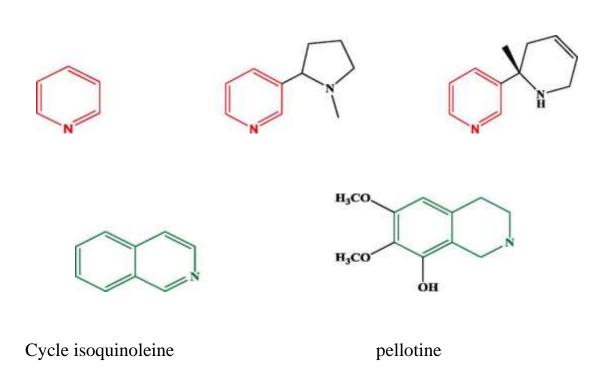
Rétronécine

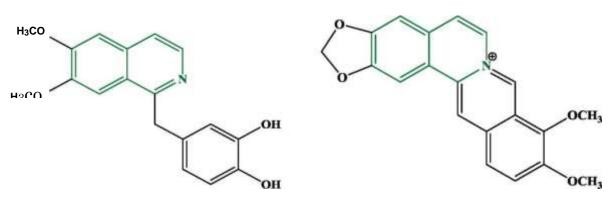
Sénécionine

Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments a base de plantes



I-2-2-1-2-3- Alcaloïdes avec hétérocycles aromatiques



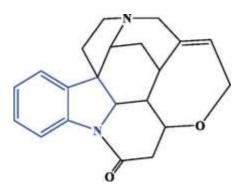


Papaverine Berbérine

Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments a base de plantes

Cycle indolique

Ajmaline



Strychnine

I-2-2-1-3-Propriétés pharmacologiques des alcaloides

Les alcaloïdes sont recherchés pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés : [12,13]

Les alcaloïdes qui agissent au niveau du système nerveux central sont soient dépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine); les alcaloïdes qui interviennent au niveau du système nerveux autonome sont sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques (yohimbine), parasympathomimétiques (ésérine, pilocarpine), anticholinergiques (atropine, hyoscyamine), ganglioplégiques (spartéine, nicotine).

Il est important de préciser l'existence des alcaloïdes utilisés dans d'autres domaines comme des curarisants, d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'antifibrillants (quinidine), d'antitumoraux (vinblastine, ellipticine), d'antimalariques (quinine) et d'amoebicides (émétine).

Les alcaloïdes jouent aussi le rôle d'antibiotique comme la cyclosérine, la mytomycine

I-2-2-Acides phénoliques

Ils ne possèdent pas de squelette flavane. Ils peuvent être associés à la lignine, présents sous forme d'ester, ou bien localisés dans la partie de la feuille insoluble dans l'alcool [19]. On distingue : Les dérivés de l'acide benzoique (contitués d'un squelette à sept carbones). Les dérivés d'esters hydroxycinnamiques (constitués d'une structure de type C6-C3) [19].

I-2-2-1-Acides benzoïques

Les acides benzoïques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbones. Ils sont principalement représentés par les acides p-hydroxybenzoïques, protocatéchiques, vanilliques, galliques, syringiques, salicyliques, o-hydroxybenzoïques et gentisiques. Les acides protocatéchiques et galliques (Figure 5) ont probablement une origine et des fonctions différentes dans la plante. Le premier est très largement répandu, le second est plus rare, on le rencontre dans la nature surtout sous forme de dimère [20].

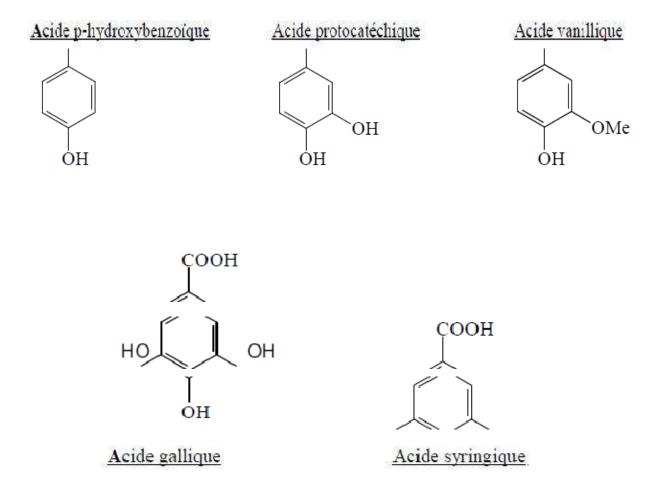


Figure 5 : Quelques dérivés de l'acide hydroxybenzoïque

I-2-2-2-Acides cinnamiques

Ces acides possèdent une structure du type C6-C3. Les composés les plus fréquents sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide fertarique et l'acide cinnamique (Figure 6). [20].

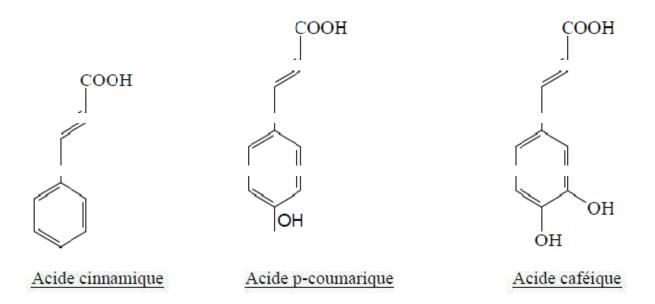


Figure 6 : Quelques dérivés de l'acide hydroxycinnamique

I-2-2-3-Coumarines

Les coumarines sont parmi les composes phénoliques les plus connus (Figure 7). Elles sont substituées en C-7 par un hydroxyle.

La 7-hydroxycoumarine, connue sous le nom d'ombelliférone, est le précurseur des coumarines 6,7-di-et 6, 7,8-trihydroxylées.

Les coumarines, de differents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxyles [21]. Les coumarines sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du coeur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées [22].

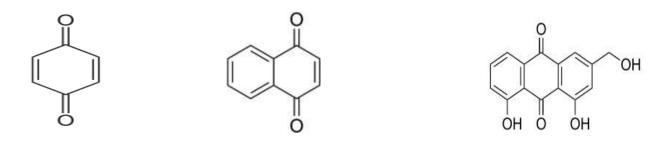
Figure 7 : Structure de base de Coumarine

I-2-2-4-Quinones

Les quinones sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides [23].

Ce 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).

Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments a base de plantes



1,4-benzoquinone 1,4-naphtoquinone aloe émodine (anthraquinone)

Figure 8 : Structures des quinones

I-2-2-5-Flavonoïdes

Structure

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, présentent le même élément structural de base (sauf exceptions : chalcones, aurones, isoflavones), à savoir quinze atomes de carbone constitués de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (noyau 2-phényl-1- benzopyrane) (Figure 9)

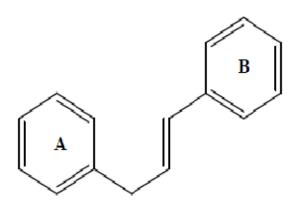


Figure 9 : Structure de base des flavonoïdes

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavanols, flavones, flavonols, flavanones,

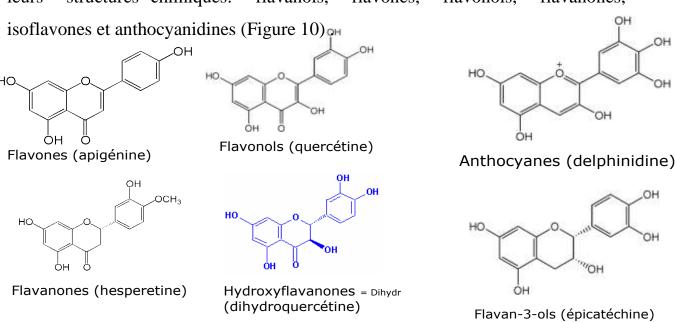


Figure 10 : Structure de quelques classes de flavonoïdes

I-2-2-6-Anthocyanes

Les anthocyanes terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et 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. A 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. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont du aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle [27].

Structures

Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé 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 anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment (Figure 11) [27].

Figure 11 : Structure générale des anthocyanes

I-2-2-7-propriétés pharmacologiques des composés phenoliques

Les composés phénoliques sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et antibactériennes. Les composés phénoliques avec des structures très variées possèdent diverses propriétés pharmacologiques [12,13] :

- Phénols simples : antipyrétiques, antiseptiques, anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzyme ;
- Acides phénoliques : antibactériens, antifongiques, antioxydants ; Coumarines : veinotoniques et vasculoprotecteurs, anti-œdémateuses 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 ;

Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments a base de plantes

- 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. On retrouve de nombreuses

phytoalexines des légumineuses (phaséolline du haricot, glyceolline du soja);

- Anthocyanes : diminuent la fragilité et la perméabilité des capillaires. Ils sont

veinotoniques, anti-œdémateux, antioxydant 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 anti-diarrhéique ;

- 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.

I-2-3-Composés phytochimiques apolaires

Ce sont les composes lipophiles qui sont extraits par un solvant apolaire tel que le

chloroforme.

I-2-3-1-ComposéesTerpéniques

<u>I-2-3-1-1-Définition</u>

Les composes terpeniques formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta-carbonées ramifiées dérivées du 2-méthyl butadiène, appelées unités isopréniques [40].

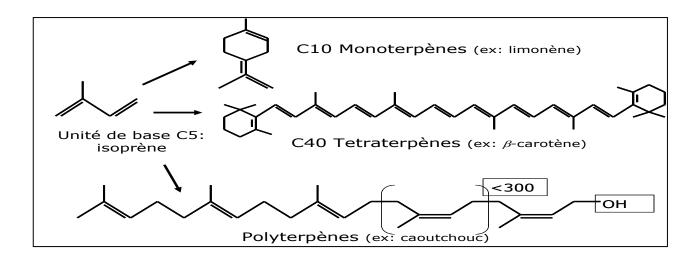


Figure 12 : synthèse des composes terpéniques

I-2-3-1-2- Classification des composes terpènes

La synthèse d'une grande variété de terpènes, cycliques et non cycliques, dans les plantes, fait intervenir un nombre variable d'éléments isopréniques. Suivant le nombre entier d'unités pentacarbonés (C5) x n ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène, on peut faire la classification suivante :

Pour n = 2 les monoterpènes (C10)

Pour n = 3 les sesquiterpènes (C15)

Pour n =4 les diterpènes (C20)

Pour n = 5 les sesterpènes (C25)

Pour n =6 les triterpènes (C30) et n=8 le caoutchouc naturel : les polyterpènes

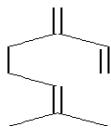
I-2-3-1-2-1- Monoterpènes (C10)

Ces terpènes proprement dits sont des hydrocarbures en $C_{10}H_{16}$. Ils peuvent être acycliques, monocycliques, bicycliques.

I-2-3-1-2-1-1 monoterpènes acycliques

***** Hydrocarbures

Ils ont tendance à se cycliser, d'où leur mode habituel de représentation.



Mycène

A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales, surtout alcool et aldéhyde.

Alcools

Le géraniol se rencontre dans les essences de rose, de Citronnelle, de Géranium rosat.

Aldéhydes

Le citral, correspondant au géraniol, se trouve dans les essences de Citron, Lemon-grasse, Mélisse, Verveine odorante.

I-2-3-1-2-Terpènes monocycliques

On distingue:

Les dérivés des hydrocarbures en Ci₀H₁₆ contenant deux doubles liaisons.

Ils sont tous liquides. Dans ce groupe, on rencontre :

- -Le d-limonène de l'essence de Citron et d'autres Rutacées
- -Le limonène inactif ou dipentène des aiguilles de Pin
- -Les phellandrènes de l'Angélique, du Fenouil amer, de certains Eucalyptus
- -Les terpinènes
- -La carvone, dérivé cétonique, un constituant des essences de Carvi, de Menthe douce.

Les dérivés des hydrocarbures en C₁₀H₁₈ contenant une double liaison

Les terpinéols, très répandus à l'état libre et estérifié dans les huiles essentielles (Néroli, Petit grain, Camphrier).

La pulégone (cétone de la Menthe Pouillot). La pipéritone (de divers Eucalyptus).

Les dérivés des hydrocarbures en C₁₀H₂₀

Les menthanes, hydrocarbures saturés, n'existent pas à l'état naturel, mais on trouve les dérivés correspondants :

Le menthol (le menthol naturel est le 1-menthol).

La menthone (cétone) dans les essences de Menthe.

A ce groupe des terpènes monocycliques, on peut rattacher un oxyde :

Le cinéol ou eucalyptol, très abondant dans les essences d'Eucalyptus, de Cajeput, de Niaouli, et très répandu dans le règne végétal. C'est un étheroxyde interne résultant de la déshydrogénation d'un diol, la cis 1,8-terpinéol.

L'ascaridol est le seul peroxyde terpénoïde naturel connu. C'est le principe actif de l'essence de Chénopode vermifuge.

I-2-3-1-2-1-3- Terpènes bicycliques

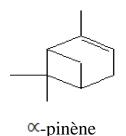
Ils sont présents dans un grand nombre d'essences surtout chez les Conifères. Les hydrocarbures ont une double liaison et un pont, le deuxième cycle ayant 2,3 ou 4 atomes de carbones communs avec le premier [40]:

Les pinènes a et P (celui-ci est encore appelé nopinène) sont les constituants principaux des essences de térébenthines

Les fenchènes Le camphène Le bornéol, alcool secondaire, se trouve dans les essences d'Aspi, de Romarin, de Muscade, etc.

La cétone correspondante est le camphre (le dérivé naturel retiré du bois de Camphrier est le camphre droit) La fenchone (Fenouil)

Lathuyone (des essences d'Absinthe, de Tanaisie, de Thuya)



I-2-3-1-2-2- Sesquiterpènes

Ce sont des hydrocarbures de formule $C_{15}H_{24}$ (n=3), soit une fois et demie (sesqui) la molécule des terpènes vrais (en $C_{10}H_{16}$) [40].

I-2-3-1-2-2-1-Composés acycliques

On peut citer le farnésène et le farnésol (alcool correspondant du farnésène, essence de Tilleul, baumes du Pérou et de Tolu). Le nérolidol, isomère du farnésol (essence de Néroli, baume du Pérou).

I-2-3-1-2-2-Composés monocycliques

Le zingibérène (du Gingembre)

L'humulène (du Houblon)

∝-Humulène

I-2-3-1-2-2-3-Composés tricycliques

Les santalènes (du Santa), les santalols, alcools correspondants des santalènes.

On peut rattacher aux sesquiterpènes, en raison de leur structure, des lactones comme la santonine, l'hélénine, substances non volatiles mais sublimables.

Un groupe particulier de sesquiterpènes est représenté par les azulènes, composés instables dont le nom vient de leur coloration bleue et qui sont importants en pharmacognosie en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires. Ces composés, non saturés, sont constitués par deux cycles penta- et heptacarbonés ; on trouve dans ce groupe le guaïazulène (du Gaïac), les vétivazulènes, le chamazulène (des essences de Camomille et de Matricaire)

<u>I-2-3-1-2-3-Diterpènes</u>

Ce sont des dérivés des hydrocarbures en C₂₀H₃₂ (n=4). Ces composés, à point d'ébullition élevé, se rencontrent surtout dans les résines [40].

I-2-3-1-2-3-1-Composés acycliques

Le phytol est un alcool non saturé, estérifié dans les chlorophylles, la vitamine K1. La vitamine A, peut être rattachée aux diterpènes.

I-2-3-1-2-3-2-Composés tricycliques

Les acides résiniques des Conifères : acide dextro- et lévopimariques, ce dernier est isomérisé par la chaleur en acide abiétique. Les gibbérellines sont aussi des acides diterpéniques. Les alcaloïdes des Aconits sont rattachés aux diterpènes.

I-2-3-1-2-4-Triterpènes

Ces composés en C₃₀ (n=6) sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre, estérifié, ou sous forme hétérosidique.

<u>I-2-3-1-2-4-1-Composés aliphatiques</u>

Le squalène se trouve dans l'insaponifiable d'huiles végétales (Olive, Lin, Arachide). C'est un intermédiaire dans la biogenèse des triterpènes cycliques et des stéroïdes.

I-2-3-1-2-4-2-Composés tétracycliques

L'euphol, l'euphorbol dans les résines d'Euphorbia resinifera

Le butyrospermol de beurre de Karité, dans l'insaponifiable de graisses

Les acides éburicoïque, polyporénique chez des champignons (Polypores)

Le lanostérol du suint de mouton, retrouvé sous le nom de cryptostérol dans la Levure de bière.

I-2-3-1-2-4-3-Composés pentacycliques

Ils sont très fréquents chez les plantes. On les classe en trois groupes suivant les alcools en $C_{30}H_{50}$ dont ils dérivent.

∝-Amyrine : On trouve dans ce groupe :

L'acide ursolique, très répandu surtout chez les Ericacées (Busserole),

les Labiées, l'acide quinovique des écorces de Quinquina.

P-Amyrine : C'est le constituant prtincipal de la résine d'Elémi de Manille L'acide oléanolique (Olivier, Aubépine).

L'acide glycyrrhétique (uni à l'acide glycuronique dans la glycyrhizine de la Réglisse) et de nombreuses génines d'hétérosides plutôt classées dans les saponosides : gypsogénine des Caryophyllacées, hédéragénine (du Lierre), aescigénine (du Marron d'Inde), primulagénine (des racines de Primevères), etc Lupéol : Extrait initialement des gousses de Lapin, il se trouve dans la gutta, divers latex.

I-2-3-1-2-5-Tétraterpènes

Ce groupe de composés en C40 (8 unités d'isoprène) est constitué par : Les caroténoïdes, pigments jaunes très répandus chez les animaux et les végétaux, possédant des propriétés particulières.

I-2-3-1-2-6-Polyterpènes

Ce sont des macromolécules, composées d'un grand nombre d'unités d'isoprène ; dans le règne végétal ; on trouve : Le caoutchouc de poids moléculaire 150 000 environ. La gutta, de poids moléculaire 100 000 environ.

I-2-3-2-Stérols

Les stérols ont une structure stéroidique 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).

I-2-3-2-1-Stérols non hétérosidiques

La plupart des stérols libres sont représentés par les phytostérols

Sitostérol stigmastérol lanosterol

campestérol brassicastérol

I-2-3-2-Stérols hétérosidiques

- Saponosides stéroidiques
- Hétérosides cardiotoniques

dioscine

Les glycosides cardiotoniques constituent un groupe bien individualisé et d'une grande homogénéité tant structurale que pharmacologique. Ce sont des glycosides stéroides qui possèdent une structure tétracyclique 10,13-diméthylcyclopentanoperhydrophénantrène. La partie osidique peut être constituée d'un ose, ou ce qui est très fréquent, d'un oligosaccharide. Deux structures généralement rencontrées : cardénolide et bufadiénolide

Digitoxine

proscillaridine

I-2-3-3-Propriétés pharmacologiques des terpènes et stérols

Les terpénoïdes et stéroïdes possèdent diverses propriétés pharmacologiques [12,13]:

- *Monoterpènes* : constituants majoritaires des huiles essentielles, et 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 antiamariles la thérapeutique contemporaine n'utilise pas les lactones sesquiterpéniques.
- *Diterpènes*: propriétés anti-hypertensives, antirétrovirales, antitumorales, antiinflammatoires et analgésiques. Ils sont utilisés comme anticonceptionnel, et pour favoriser l'accouchement. Plusieurs diterpènes sont des toxiques violents.
- Saponosides: anti-inflammatoires, anti-œdémateuses, antimycosiques.
- *Cucurbitacines* : particulièrement toxiques, et possèdent des propriétés purgatives drastiques.
- Hétérosides cardiotoniques : activité sur le cœur à plusieurs niveaux :
 - niveau sinusal, une diminution de l'automaticité avec un effet chronotrope négatif;
 - niveau auriculaire, une diminution de la conduction et de l'excitabilité;
 - niveau nodal, une diminution de la conduction avec effet chronotrope négatif;
 - ♣ niveau ventriculaire, un raccourcissement des périodes réfractaires avec dépression de la conduction et de l'automatisme.
- Phytostérols sont hypocholestérolémiants.
- Tétraterpènes ont des propriétés anti-oxydantes.

CHAPITRE II : EVALUATION ANALYTIQUE DE LA QUALITE DES MEDICAMENTS A BASE DE PLANTES

II-1-Méthodes de préparation des échantillons

La préparation de l'échantillon est une étape indispensable pour l'évaluation de la qualité des médicaments à base de plantes.

Les paramètres de base qui influent sur la qualité de cette préparation sont [8,69]:

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

II-1-1- Nature du solvant

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 physicochimique : La polarité, la solubilité des constituants cibles, l'innocuité, la facilité d'élimination et la pureté du solvant [42,43].

On classe en général les solvants en fonction de leur polarité et leur capacité à extraire certaines molécules. L'extraction d'une molécule se fera toujours par solvant de même polarité. Les solvants polaires tels que l'eau, l'acétate d'éthyle, le méthanol, l'éthanol ou l'acétone permettrons d'isolement de molécules polaires : terpenoides phenols, lactons, alcaloïdes , protéines , acide amines , gommes , mucilage. Les solvants apolaires comme l'hexane, le toluène, le chlorure de methylene,le chloroforme vont extraire les carbures , lipides, sterols, huiles essentielles ,cires ,resine, et chlorophylle [14].

 $\begin{tableau}{ll} \textbf{Tableau} & \textbf{I}: miscibilité des solvants d'extraction des composés phytochimiques avec l'eau [42]. \end{tableau}$

Solvants	Polarité	Point d'ébullition	Miscibilité avec
		(C°)	H2O
			% (v/v)
Acide acétique	polaires	116-117	cmb
Méthanol		64,7	cmb
Ethanol		78	cmb
1-propanol		91	mb
2-propanol		82,4	mb
2-butanol		79,5	19
Acétone		56	cmb
Acétate d'éthyle		77	80
Ether d'éthylique		34,6	1,2
Ether de pétrole		30-50	0,01
dichlorométhane		39,7	1, 3
chloroforme		61	cmb
Tétrachlorure de		76,77	0,8
carbone			
toluène		110,6	0,06
benzène	\rfloor	80	0,01
cyclohexane		80,7	0,01
hexane	apolaire	69	0,01

mb: miscible; cmb: complètement miscible

Tableau II: Solvants et composés phytochimiques [30].

solvants	Composés phytochimiques
Eau	-Anthocyanes
	-Amidons
	-Tanins
	-Saponines
	-Terpénoïdes
	-Polypeptides
	-Lectines
Ethanol	- Stérols
	-Polyphenols
	-Alcaloïdes
	-Terpénoïdes
	-Polyacétylène
Méthanol	- Anthocyanes
	-saponines
	-Alcaloïdes
	-Terpénoïdes
	-Xanthoxylline
	-totarol
	-Quassinoides
	-Lactones
	-Flavones
	-Phenones
Chloroforme	-Terpénoïdes
	-Flavonoides
Ether	-Alcaloïdes
	-Terpénoïdes
	-Coumarine
	-Acide gras
Acetone	-Phenol
	-Flavonols

II-1-2-procédures d'extractions

Le choix de la procédure d'extraction est basé sur les caractéristiques physicochimiques des composes à extraire.

Deux procédures d'extraction sont généralement utilisées [42,43] :

- Extraction par mise en contact avec un solvant : 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 redissout dans le solvant.
- Extraction successive avec des solvants de polarité croissante : d'un solvant apolaire à un solvant polaire afin d'assurer une extraction optimale des composés de polarités différentes.

II-1-3-Méthodes d'extraction

II-1-3-1-Définitions

Extraction

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme végétal selon diverses techniques. [33].

Il s'agit dans notre étude d'extraire des substances (composes phytochimiques) présente dans un solide (mélange de poudres de feuilles sèches) pour la faire passer dans un solvant liquide (chloroforme, méthanol et eau).

***** Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide est la plus simple des méthodes de séparation.

Elle consiste à faire passer des métabolites (solutés) dissous dans une phase liquide, dans une seconde phase liquide non miscible avec la première [59].

***** 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. [60].

II-1-3-2- Différents méthodes d'extraction

Le choix de la méthode d'extraction est basé sur des données préalables sur les caractéristiques physicochimiques des métabolites à extraire. On distingue de nombreuses méthodes d'extraction (solide-liquide) des composés phytochimiques : des méthodes conventionnelles et des méthodes nouvelles [34].

II-1-3-2-1-Méthodes conventionnelles

Parmi les méthodes conventionnelles, on trouve la macération, l'infusion, la digestion, la décoction, la percolation, hydro-alcoolique par fermentation, entrainement à la vapeur d'eau, Extraction à chaud en continu (Soxhlet) et chauffage sous reflux [36, 42,43].

II-1-3-2-1-1-Macération

Dans ce processus, le médicament brut est placé dans un récipient avec le solvant et on laisse reposer à la température ambiante pendant une période d'au moins 3 jours en agitant fréquemment jusqu'à ce que la matière soluble soit dissoute. Le mélange est alors tendu, le marc (la matière solide humide) est pressé, et les liquides combinés sont clarifiées par filtration ou décantation après repos [36].

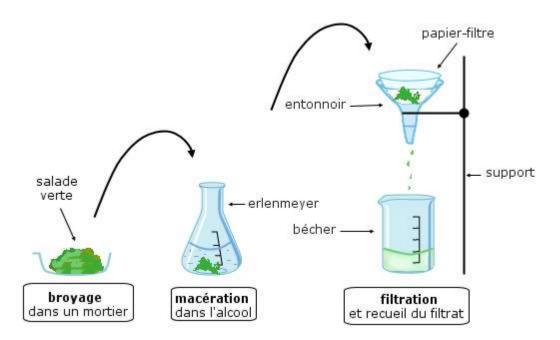


Figure 13 : Etapes de la macération

II-1-3-2-1-2- Infusion

L'infusion est préparée par macération de la drogue brute pour une courte période de temps avec de l'eau bouillante. Ce sont des solutions diluées des constituants facilement solubles de médicaments bruts [36].

II-1-3-2-1-3-Digestion

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

II-1-3-1-4-Décoction

Dans ce procédé, le médicament brut est bouilli dans un volume donné d'eau pour un temps défini; il est ensuite refroidi et filtré ou tendues. Ce procédé est adapté à l'extraction de constituants, stables à la chaleur solubles dans l'eau [36].

II-1-3-2-1-5-Percolation

Ceci est la procédure la plus fréquemment utilisée pour extraire des ingrédients actifs dans la préparation de teintures et les extraits fluides. Un percolateur (un étroit récipient ouvert en forme de cône aux deux extrémités) est généralement utilisé. Les ingrédients solides sont humidifiées avec une quantité appropriée de la dissolvant spécifiée et on laisse reposer pendant environ 4 h dans un récipient, après quoi la masse est emballé et le haut du percolateur est fermé. Dissolvant additionnelle est ajoutée pour former une couche superficielle au-dessus de la masse, et 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. Dissolvant supplémentaire est ajoutée au besoin, jusqu'à ce que les mesures percoler environ les trois quarts du volume requis du produit fini. Le marc est ensuite pressé et le liquide exprimé est ajouté à la percolation. Dissolvant suffisante est ajoutée pour produire le volume requis, et le liquide mixte est clarifiée par filtration ou par décantation suivie debout [36].

II-1-3-2-1-6- Extraction hydro-alcoolique par fermentation

Certaines préparations médicinales de l'Ayurveda adoptent la technique de fermentation pour extraire les principes actifs. Le procédé d'extraction consiste à faire tremper le médicament brut, sous la forme soit d'une poudre ou d'une décoction (kasaya), pour une période de temps spécifique, au cours de laquelle il est soumis à la fermentation de l'alcool et génère in situ; ce qui facilite l'extraction des principes actifs contenus dans la matière végétale. L'alcool ainsi produit sert également comme un agent de conservation. Si la fermentation doit être effectuée dans un récipient en terre, il ne devrait pas être nouveau: l'eau doit d'abord être amenée à ébullition dans le récipient. Dans la fabrication à grande échelle, des cuves en bois, pots en porcelaine ou récipients métalliques sont utilisés à la place des vases de terre. Quelques exemples de ces préparations sont karpurasava, kanakasava, dasmularista. Dans l'Ayurveda, cette méthode n'est pas encore standardisée mais, avec le degré extraordinairement élevé de progrès dans la technologie de fermentation, il ne devrait pas être difficile à standardiser cette technique d'extraction pour la production d'extraits de médicaments à base de plantes [36].

II-1-3-2-1-7-Extraction par entrainement à la vapeur d'eau

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse le libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange (eau+huile essentielle). Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique.

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale. Puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [33].

II-1-3-2-1-8- Extraction à chaud en continu (Soxhlet)

Un extracteur soxhlet est une pièce de verrerie utilisée pour extraire les molécules aromatiques de la plante. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvants passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant.

Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés soluble.

La taille du corps en verre étant limitée, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extrait [33].

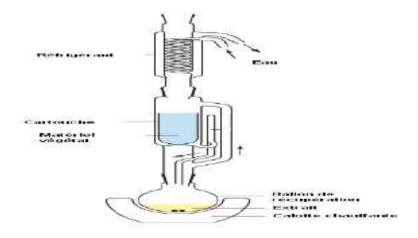
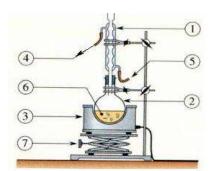


Figure 14: montage soxhlet

II-1-3-2-1-9-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 récondense les vapeurs qui retombent dans le ballon, permettant au

solvant d'être ainsi recyclé (figure 15). Le chauffage (augmentant solubilité et transfert de matière), l'ébullition (agitation) et le reflux permettent une extraction efficace avec un appareillage relativement simple [42]. Le chauffage à reflux est utilisé pour extraire efficacement des composés phytochimiques [55,56]



- 1 : réfrigérant a boule
- 2: Ballon
- 3 Chauffe ballon
- 4 Sortie d'eau
- 5 : Entrée d'eau
- 6: Echantillon + solvant
- 7 : Support élévateur

Figure 15 : Montage d'un système de chauffage à reflux.

II-1-3-2-2-Méthodes nouvelle

Dans la catégorie des méthodes nouvelles on peut citer l'extraction à ultrasons, contre-courant, technique phytonique, micro-onde, accélérée par solvants, fluide supercritique, solide-liquide à moyenne pression) [37, 38, 39, 67,68].

II-1-3-2-2-1-Extraction assistée par ultra-sons

L'extraction assistée par ultrasons consiste à utiliser des ultrasons à des fréquences allant de 20 kHz à 2000 kHz, engendrant de très hautes températures (augmentation solubilité et diffusivité) et des pressions (amélioration de la pénétration et du transfert de matière) entre la matrice végétale et le solvant.

Un inconvénient de la procédure est l'effet délétère de l'énergie ultrasonore (plus de 20 kHz) sur les principes actifs végétaux par la formation de radicaux libres et dégradation des composés. Son application à grande échelle est limitée en raison des coûts plus élevés [57].

L'extraction assistée par ultrasons est cependant une méthode efficace pour extraire des composés bioactifs des plantes, phytonutriments, huiles essentielles, stéroïdes, triterpénoïdes et lipides [57-58].

II-1-3-2-2-Extraction par contre-courant

Dans l'extraction à contre-courant, matière première humide est pulvérisé à l'aide des agents de désintégration de disques dentés pour produire une fine boue. Dans ce processus, la matière à extraire est déplacé dans une direction (généralement sous la forme d'une fine boue) dans un extracteur cylindrique d'où elle vient en contact avec le solvant d'extraction.

Plus les mouvements à partir de matériaux, le plus concentré de l'extrait devient. Extraction complète est ainsi possible, lorsque les quantités de solvant et de matériau ainsi que leurs débits sont optimisés. Le processus est très efficace, nécessitant peu de temps et ne présentant pas de risque de haute température. Enfin, l'extrait suffisamment concentré qui sort à une extrémité de l'extracteur tandis que le marc (pratiquement exempt de solvant visible) se situe hors de l'autre procédé d'extraction. Des avantages significatifs: Une quantité unitaire de la matière végétale peut être extraite avec beaucoup petit volume de solvant par rapport à d'autres méthodes comme la macération, décoction, la percolation. Elle se fait couramment à la température ambiante, ce qui épargne les constituants thermosensibles de l'exposition à la chaleur qui est utilisé dans la plupart des autres techniques. Comme la pulvérisation du médicament se fait dans des conditions humides, la chaleur générée au cours de broyage est neutralisé par de l'eau [36].

II-1-3-2-2-3-Technique phytonique

Une nouvelle base de solvant sur l'hydrofluorocarbone-134a et une nouvelle technologie pour optimiser ses propriétés remarquables dans l'extraction de matières végétales offrent des avantages environnementaux significatifs et les prestations de santé et de sécurité par rapport aux procédés traditionnels pour la production d'huiles de haute qualité naturelle parfumées, des arômes et des extraits biologiques.

Les produits principalement extraites par ce processus sont des éléments parfumés d'huiles essentielles et d'extraits biologiques ou phytopharmaceutiques qui peuvent être utilisés directement sans la poursuite du traitement physique ou chimique.

Les propriétés de la nouvelle génération de fluorocarbone solvants ont été appliquées à l'extraction de matières végétales. Le noyau du solvant est le 1,1,2,2-tétrafluoroéthane, mieux connu sous le nom hydrofluorocarbone-134a (HFC-134a). Ce produit a été développé pour remplacer les chlorofluorocarbures. Le point de ce solvant d'ébullition est de -25 ° C. Il n'est pas inflammable ou toxique. Contrairement chlorofluorocarbones, il ne détruit pas la couche d'ozone. Il a une pression de vapeur de 5,6 bar à la température ambiante. Selon la plupart des normes c'est un mauvais solvant. Par exemple, il ne se mélange pas avec les huiles minérales ou de triglycérides et il ne se dissout pas les déchets végétaux.

Le procédé est avantageux en ce que les solvants peuvent être personnalisés: en utilisant des solvants modifiés avec le HFC-134a, le processus peut être très sélectif dans l'extraction d'une classe spécifique de phytoconstituents.

De même, d'autres solvants modifiés peuvent être utilisés pour extraire un spectre plus large de composants. Les produits biologiques fabriqués par ce procédé ont extrêmement faible de solvant résiduel. Les résidus sont invariablement moins de 20 parties par milliard et sont souvent en deçà des niveaux de détection. Ces solvants sont ni acide ni basique et, par conséquent, avoir des effets potentiels de réaction seulement minime sur les matières botaniques. La seule utilité nécessaire pour faire fonctionner ces systèmes est de l'électricité et, même alors, ils ne font aucun consomment beaucoup d'énergie. Il n'y a pas de place pour l'évacuation des solvants. Même si certains solvants ne s'échappent, ils ne contiennent pas de chlore et ne posent donc aucun danger pour la couche d'ozone. La biomasse des déchets de ces plantes est sec et "respectueux de l'environnement" à manipuler [36].

II-1-3-2-4-Extraction assistée par micro-onde

C'est une technique récente développée dans le but d'extraire des produits naturels comparables aux HEs et aux extraits aromatiques. 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 (33)

II-1-3-2-2-5-Extraction accélérée par solvants

L'extraction accélérée par solvants est une technique qui utilise les solvants conventionnels à des températures (50 – 200 °C) et des pressions 100 – 150 bar) élevées. La pression est maintenue assez élevée pour maintenir le solvant à l'état liquide à température élevée. Pendant l'extraction accélérée par solvants, le solvant reste toujours en dessous de ses conditions critiques [38]. Les avantages de cette technique devant les techniques conventionnelles sont les suivants : on évite les échauffements locaux et on consomme de plus petites quantités de solvant en comparaison à l'extraction par Soxhlet et par batch avec agitation. Ses inconvénients sont liés à sa non sélectivité, ce qui impose des procédures supplémentaires de nettoyage des extraits [37, 38].

Les températures opératoires élevées peuvent mener à une dégradation des solutés thermolabiles [38].

II-1-3-2-2-6- Extraction au CO2 supercritique

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique : le CO₂ sous pression et à température supérieure à 31 °C, le gaz carbonique se trouve dans un état «supercritique », la matière végétale est chargé dans l'extracteur puis le CO₂ est introduit sous pression et réfrigéré. Le mélange est recueilli dans un vase d'expansion. La pression y étant réduite, le CO₂ reprend ainsi sa forme gazeuse et est complètement éliminé. L'extrait végétal est isolé, les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine sans trace résiduelle de solvant (33)

II-1-3-2-2-7-Extraction solide-liquide à moyenne pression

Il existe également d'autre techniques extractives, moins répandues, comme, par exemple, l'extraction solide-liquide à moyenne pression dont le principe est le suivant : le solvant, alimenté par une pompe, traverse sous une certaine pression (~10 bar) une colonne remplie de matériel à extraire [39]

II-2- METHODES D'ANALYSES

Diverses techniques analytiques sélectives et sensibles sont utilisées pour l'analyse des extraits de plantes. Les techniques de séparation sont les plus utilisées, telles que la chromatographie sur couche mince , chromatographie liquide, chromatographie en phase gazeuse , l'électrophorèse capillaire , qui sont associés à différentes méthodes de détection : absorption dans l'ultra-violet , fluorescence, diffusion de la lumière , d'aérosol chargé , spectrométrie de masse et résonance magnétique nucléaire . [45, 46,47].

II-2-1-CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE

II-2-1-1-Définition

La chromatographie est une méthode permettant de séparer les constituants d'un mélange de par leurs différences d'interactions entre une phase stationnaire et une phase mobile.

II-2-1-2-Principe

Cette technique repose principalement sur des phénomènes d'adsorption et d'interaction. La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium.

Après que l'échantillon ait été déposé, les substances migrent essentiellement par Capillarité. La vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la phase stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile.

Le constant de migration caractéristique de chaque espèce chimique dans un système de phase stationnaire /phase mobile donné est appelée facteur de rétention R (rapport entre la distance parcourue par la tache et la distance parcourue par le front du solvant de puis la ligne de dépôt) la comparaison des Rapports frontaux entre les taches d'extrait avec des témoins connus permet l'identification de la nature des composés [70].

II-2-1-3-Application

Dans le domaine pharmaceutique, le principal intérêt de la chromatographie en couche mince est de permettre la détermination, de faibles concentrations

d'impuretés dans les substances médicinales. Lorsqu'on l'utilise à des fins d'identification, cette technique permet de comparer le comportement chromatographique de la substance à identifier avec celui d'une substance étalon qui est généralement un spécimen authentique du produit à examiner.

Grâce à la grande variété des couches que l'on utilise en association avec divers solvants, on peut faire varier le pouvoir séparateur d'une manière presque infinie et c'est ce qui rend la CCM aussi utile en Pharmacie, pour ce qui est des déterminations quantitatives, elles peuvent être effectuées directement sur la plaque soit après récupération du produit sur la plaque en grattant la tâche et en utilisant un solvant approprié pour l'extraire de l'adsorbant. Après récupération, le dosage peut se faire par une méthode suffisamment sensible telle que la spectrophotométrie UV/Visible, soit directement, soit après dérivatisation ou réaction chimique [70].

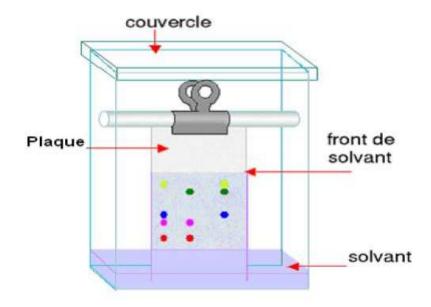


Figure 16 : Développement chromatographique d'une plaque

II-2-2-SPECTROPHOTOMETRIE UV-VISIBLES

II-2-2-1-Définition

La spectroscopie d'absorption moléculaire dans 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 et est probablement plus utilisée que toutes les autres méthodes dans les laboratoires d'analyses chimiques ou médicinales du monde entier.

II-2-2-Absorption par les composés organiques

L'absorption de rayonnement par les molécules organiques dans le domaine de longueurs d'onde compris entre 180 et 780 nm (nanomètre) résulte des interactions des photons qui participent directement à la formation de la liaison `et qui sont donc associés à plus d'un atome) avec ceux qui sont localisés sur des atomes tels que l'oxygène, le soufre, l'azote et les halogénures. Les longueurs d'onde d'absorption d'une molécule organique dépendent de l'énergie de liaison de ses différents électrons. Les électrons qui forment des liaisons simples carbonecarbone ou carbone-hydrogène absorbent à des longueurs d'onde au dessous de 180 nm (l'ultraviolet lointain) et ceux compliqués dans les doubles ou triples liaisons absorbent à des longueurs d'onde au dessus de 181 nm jusqu'à 780 nm (l'ultraviolet proche et le visible). Les groupements fonctionnels organiques insaturés qui absorbent dans l'ultraviolet et le visible sont appelés des chromophores.

II-2-2-3-Avantages

La spectroscopie d'absorption ultraviolet-visible présente les avantages ci-après :

- un vaste champ d'application,
- une grande sensibilité,
- une grande sélectivité,
- une bonne exactitude,
- une facilité de mise en œuvre.

II-4-2-4-Applications qualitatives et quantitatives

Pour les applications qualitatives, la spectrophotométrie dans l'ultraviolet détecte les groupements chromophores ou des atomes tels que le soufre ou les halogénés par l'apparition d'un ou plusieurs pics dans le domaine de 200 à 400 nm. Les spectres dans l'ultraviolet ne présentent cependant pas de structures suffisamment fines pour permettre l'identification certaine d'un analyste, mis ils doivent être complétés par d'autres données physiques ou chimiques fournies par d'autres méthodes spectroscopiques [70].

Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments a base de plantes

CHAPITRE III:

DROGUES VEGETALES

III-1- Combretum micranthum G. Don. (Combretaceae)

III-1-1- Botanique

Combretum micranthum G Don ou kinkeliba en guéré, est très fréquent en cote d'ivoire. Il s'agit d'une espèce à port arbustif, buissonnant ou sarmenteux. Elle se reconnaît facilement par ses vieux rameaux grisâtres et ses jeunes rameaux rougeâtres à extrémités effilées et fortes. De taille généralement comprise entre 2 et 4 mètres, l'espèce forme souvent des buissons qui peuvent être compacts et presque impénétrables. Les jeunes rameaux sont souvent écailleux, ce qui leur confère une couleur rouille.

Les feuilles opposées, portent des dogmaties sur la face inférieure et sont bien luisantes sur la face supérieure. Les formes sont assez variables, souvent elliptiques ou ovo elliptiques avec un limbe mesurant environ 3 à 8 cm de long et de 2 à 4 cm de large. En dehors des dogmaties situées sur la face inférieure et des nervures quelque fois pubescentes, l'espèce est glabrescente, toutefois de nombreux points écailleux sont bien visibles sur la face inférieure et sur le pétiole. A l'état sec les feuilles prennent une coloration rouille qui est une caractéristique de l'espèce.

Les inflorescences, axillaires de 2 à 4 cm de long en moyenne apparaissent dans les parties terminales des rameaux et portent 25 à 30 petites fleurs chacune. Les axes sont pubescents et bien recouverts d'écailles rouille. Elles mesurent de 2 à 5 mm de haut. Elles portent des écailles sur toute leur surface extérieure avec une parie intérieure fortement influencée par la corolle bien blanche (à 4 pétales) et un disque glandulaire rougeâtre portant de longs poils. L'ovaire est infère et l'androcée formée de 8 étamines à anthère de couleur jaune et crème. Les fruits sont bien reconnaissables non seulement par leurs dimensions bien réduites mais également par leur coloration rouille surtout dans la zone médiane (en raison de, la forte présence des écailles rouilles).

Les graines sont de couleur rouille et mesurent 6 à 8 mm de long sur 2 à 3 mm de large. [24].





Photo 1 : feuilles de Combretum micranthum G. Don (Combretaceae).

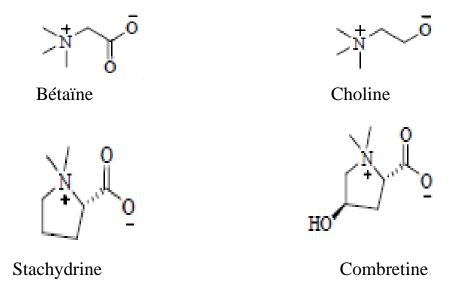
III-1-2- Composition phytochimique

Des études phytochimiques ont permis d'isoler de nombreuses substances responsables des différentes activités de *C. micranthum* appartenant aux trois grands groupes phytochimiques :

III-1-2-1- Alcaloïdes

Différents étude ont permis d'identifier des alcaloïdes [25;26,29,31].

- Ammonium quaternaire;



- Pipéridine-flavane alcaloïdes [26].

 $\label{eq:Kinkeloide} \begin{array}{llll} Kinkeloide \ A_1 &; \ \ R\ 1=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3, \ R4, \ R5=H \\ Kinkeloide \ A_2 &; \ \ R\ 2=2\text{-piperidinyl}, \ R1, \ R3, \ R4, \ R5=H \\ Kinkeloide \ B_1 &; \ R1=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3, \ R5=H, \ R4=OH \\ Kinkeloide \ B_2 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R1, \ R3, \ R5=H, \ R4=OH \\ Kinkeloide \ C_1 &; \ R1=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H, \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_1 &; \ R1=2\text{-piperidinyl}, \ R1, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_2 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_2 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_2 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_2 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_2 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_3 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_4 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_5 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_6 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_8 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_8 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_8 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_8 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ Kinkeloide \ D_8 &; \ R2=2\text{-piperidinyl}, \ R2, \ R3=H \ R4, \ R5=OH \\ K1 &; \ R1 &; \ R2 &; \ R1 &; \ R2 &; \ R1 &; \ R2 &; \ R1 &; \ R1 &; \ R2 &; \ R1 &; \ R1 &; \ R2 &; \ R1 &; \ R1 &; \ R2 &; \ R1 &; \ R1 &; \ R2 &; \ R1 &; \ R1 &; \ R2 &; \ R1 &; \ R1 &; \ R2 &; \ R1 &; \ R1 &; \ R2 &; \ R1 &; \ R2 &; \ R1 &; \ R1 &; \ R2 &; \ R1 &; \ R2 &; \ R2 &; \ R2 &; \$

III-1-2-2- Composés phénoliques

Différents composées phénoliques ont été identifiés [25,31,32]:

- Acide phénols

$$H_3CO$$
 OCH_3
 OCH_3

Acide gallique

- Flavonoïdes

Vitexine

orientine

myricétine-3-O-glycoside

(+)-catéchine

- Tanins

Des tanins catéchiques (combrétanin)

III-1-2-3- Composés terpéniques

Des triterpéniques et stérols [23,35].

III-1-3-propriétés thérapeutiques

Le Kinkeliba possède des propriétés antioxydantes liées aux polyphénols (13-14%); des feuilles de Kinkeliba ont une activité microbicide contre *Shigella dysenteriae*, *Salmonella parathyphi B*. et *Staphylococcus aureus* et une activité microbiostatique contre *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Salmonella thyphi*, *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella ozenae.il possede egalement* une activité antipaludique grace à ses feuilles ; l'utilisation traditionnelle des feuilles Kinkéliba contre la fièvre paludéenne ; des feuilles de kinkeliba possedent aussi les propriétés antidiabétiques ; une activité anti -inflammatoire et une activité antivirale contre les virus herpès simplex 1 et 2. [26,29, 31]

III-2- Mitracarpus scaber Zucc

III-2-1- botanique

Mitracarpus scaber Zucc, ou kpodrouwin en guéré est une herbe annuelle de 10 à 50 cm de hauteur. Les tiges sont ramifiées, évasées, rondes et pubérulentes.

Les feuilles sont lancéolées, elles mesurent 3 à 6 cm de long sur 1cm de large. Elles sont subacutes, glabres dessous et scabres ou lisses dessus.

Les fleurs sont blanches, situées à l'aisselle des feuilles et entourées de stipules [35].





Photo 2: Mitracarpus scaber zucc

III-2-2- Composition phytochimique

Ces études phytochimiques ont permis d'isoler de nombreuses substances responsables des différentes activités de *Mitracarpus scaber* appartenant aux trois grands groupes phytochimiques :

III-2-2-1- Alcaloïdes

Un alcaloïde a été identifié [88,89].

2-azaanthraquinone 2-aza 9-10 anthraquinone benzoisoquinoline 5-10 dione

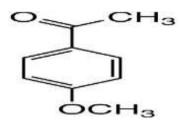
III-2-2-2- Composés phénoliques

- Phénols acides

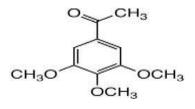
Acide gallique

Acide eudesmique

- Phénones [28].



4-méthoxyacétophénone



3, 4,5-triméthoxyacétophénone

- Flavonoïdes [83].

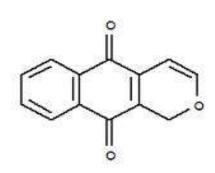
Rutine

kaempférol-3-O-rutinoside

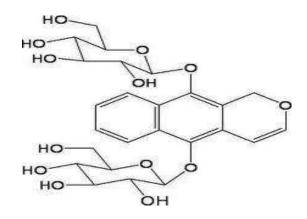
- Coumarines [28].

Psoralène

- Naphtoquinone [37,38]



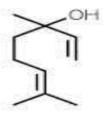
Pentalongine



Harounoside

III-2-2-3 Composés terpéniques

- Monoterpènes [30].



Linalol

terpinéol

- Triterpènes [28;34;39]

acide oléanolique

acide ursolique

- Stérols [27].

ß-sitostérol

III-2-3 Données pharmacologiques

Mitracarpus scaber a été surtout étudiés pour ses propriétés antibactériennes et antifongiques [40,41, 42].

D'autres études effectuées ont permis de mettre en évidence des propriétés antiinflammatoires et antibactériennes de *Mitracarpus scaber*; il présenté également une activité contre certains germes pathogènes associés au SIDA [43,44]. *Mitracarpus* possède une activité anti radicalaire, justifiant en partie la propriété hépatoprotectrice de la plante, utilisées aussi pour la beauté et la luminosité de la peau [45,46,47].

III-3-Sida acuta Burm f. (Malvaceae)

III-3-1-Botanique

Sida acuta Burm f, skonplipinhi est une plante herbacée annuelle, dressée et ramifiée dès la base. Elle pousse en peuplant les endroits humides. Les feuilles stipulées et oblongues sont d'un vert sombre. Le limbe présente une marge dentée et un apex aigu. A la base des feuilles se trouvent deux stipules linéaires. La fleur isolée au sommet d'un mini pédoncule est d'un calice à cinq lobes et d'une corolle jaunâtre ou blanche plus ou moins jaune à la base. Les fruits sont bruns et anguleux





Photo 3: Sida acuta Burm .f (Malvaceae)

III-3-2-composition phytochimique

Les travaux sur la chimie de S. acuta ont permis de montrer la présence de :[50,51]

- -acides gras cyclopropenoides,
- -heraclenol,
- bêta-sistostérol,
- -acanthoside B
- daucoglycoside .
- phytoecdystréroïdes
- -Quidoline
- -Cryptolepine

III-3-3-pharmacologie

La plante est utilisée pour soigner l'asthme, les inflammations rénales, la fièvre, les maux de tête, les ulcères et les parasitoses [54,56]. En Afrique de, utilisé pour soigner beaucoup de maladies telles le paludisme, les infections rénales, les diarrhées [57].

Les premiers travaux sur la chimie de S. acuta montrent la présence d'acides gras cyclopropenoides dans les gaines de la plante [49]. Plus tard, sept nouveaux composés dont l'heraclenol, le bêta-sistostérol, l'acanthoside B et le daucoglycoside ont été isolés de la plante [50]. En ce qui concerne les propriétés pharmacologiques de la plante, il a été fait cas d'une activité antivenimeuse modérée contre le venin de Bothrops atrox [52,55]. et d'une activité quinone réductase [53]. La cryptolépine, (5-méthylindolo (2-3b)-quinoline) est un alcaloïde naturel qui a été isolé pour la première de Cryptolepis triangularis [51].

Procédures d'extraction globale des comp médicame	oosés phytochimiques pour l'évaluation analytique des ents a base de plantes
DEUXIEME PART	LIE
Etude Expérimentale	
•	
TAHOUO Sekpa Florent	
	Page 68

CADRE DE L'ETUDE

Notre travail initié par le département de chimie analytique de l'UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques de l'université Félix Houphouët-Boigny a été réalisé au département de chimie analytique et au laboratoire de contrôle des médicaments (LCM) du laboratoire national de la sante publique (LNSP) du 28 avril 2014 au 10 avril 2015.

Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments a base de plantes

CHAPITRE I:

MATERIEL ET METHODES

I-1-MATERIEL

I-1-1- Matériel Végétal

Nous avons utilisé un mélange de poudres de feuille de Sida acuta (Malvaceae), feuille de *Combretum micranthum* (Combretaceae), feuille de *Mitracarpus scaber* (Rubiaceae) largement rencontrées en Côte d'Ivoire, dans lesquelles plusieurs composés phytochimiques ont été recherchés et identifiés

I-1-2- Matériel Analytique

I-1-2-1- Appareils

- Spectrophotomètre UV-visible
- Centrifugeuse
- Balance de précision
- pH-mètre
- Etuve
- Appareil à ultrasons
- Appareil de chromatographie sur couche mince

I-1-2-2-Verrerie et petits matériels

- Spatule
- Un erlenmeyer
- Un bécher
- Papiers filtre watchman
- Eprouvettes
- Micropipettes
- Plaque en aluminium

I-1-2-3- Produits et réactifs

- Chloroforme
- Méthanol
- Eau distillée
- Toluène
- Diéthylamine
- Acétate d'éthyle
- Revelateurs(chlorure d'aluminium, Borntrager, Liebermann, Dragendoff et Chlorure de fer (III)), anisaldehyde sulfurique 1% et Folin ciocalteu à 2N

I-2-METHODE

Notre méthode de travail a été inspiré des travaux de **Jonas Gull berg et coll**., les solvants utilisés pour l'extraction globale sont de polarité différente, un solvant apolaire le chloroforme pour extraire les composés apolaires, un solvant très polaire l'eau pour extraire les composés les plus polaires et un solvant de polarité intermédiaire le méthanol pour extraire tous les autres les composés.

I-2-1-Préparation des extraits

Trois extraits ont été préparés en fonction des procédures d'extraction A, B et C.

Extraction par mise en contact avec un mélange de solvants (procédure A)

- Peser 2 g du mélange de poudre
- Introduire dans un erlenmeyer de 250ml.
- Ajouter le mélange de solvants d'extraction.
- Mettre sous ultrason pendant quinze minutes.
- Filtrer à l'aide de papier filtre Whatman dans une fiole jaugée de 100ml.
- Compléter avec le même solvant d'extraction jusqu'à 100ml.

- Centrifuger à 3000 tours pendant 10 minutes dans des tubes à essaie.
- Récupérer le surnageant dans un bocal en verre.

> Extraction successive avec un solvant apolaire et un solvant hydroalcoolique (procédure B)

- Peser 2 g du mélange de poudre
- Introduire dans un erlenmeyer de 250ml.
- Ajouter 20ml de Chloroforme
- Mettre sous ultrason pendant quinze minutes.
- Filtrer à l'aide de papier filtre Whatman dans une fiole jaugée de 100ml.
- Compléter avec le chloroforme à 20ml
- Remettre le Marc dans l'erlenmeyer de 250ml.
- Ajouter 80ml du mélange Méthanol-Eau (75-25).
- Mettre sous ultrason pendant quinze minutes.
- Filtrer à l'aide d'un papier filtre Whatman dans la fiole jaugée de 100ml
- Compléter avec le mélange Méthanol-Eau à 100ml
- Centrifuger à 3000 tours pendant 10 minutes dans des tubes à essaie.
- Récupérer le surnageant dans un bocal en verre.

> Extraction successive avec des solvants de polarité croissante (procédure C)

- Peser 2 g du mélange de poudre
- Introduire dans un erlenmeyer de 250ml.
- Ajouter 20ml de Chloroforme
- Mettre sous ultrason pendant quinze minutes.
- Filtrer à l'aide de papier filtre Whatman dans une fiole jaugée de 100ml et Compléter avec le chloroforme à 20ml

- Remettre le Marc dans l'erlenmeyer de 250ml.
- Ajouter 60ml de méthanol.
- Mettre sous ultrason pendant 15minutes.
- Filtrer à l'aide d'un papier filtre Whatman dans la fiole jaugée de 100ml et compléter avec le méthanol à 80ml.
- Remettre le Marc dans l'erlenmeyer de 250ml.
- Ajouter 20ml d'eau
- Mettre sous ultrason pendant quinze minutes.
- Filtrer à l'aide papier filtre Whatman dans la fiole jaugée de 100ml.
- Compléter avec l'eau à 100ml.
- Centrifuger à 3000 tours pendant dix minutes.
- Récupérer le surnageant dans un bocal en verre.

I-2-2-Analyse des extraits

Apres la préparation des extraits nous avons procédé à leur analyse,

A cet effet les paramètres suivant ont été étudiés :

I-2-2-1- Caractères organoleptiques

> Principe

Il s'agit de l'analyse sensorielle des caractéristiques des extraits obtenus.

➤ Mode opératoire

Observer l'extrait puis apprécier la couleur, l'odeur et le dépôt.

I-2-2-Rendement des extraits

> Principe

Le rendement exprimé en pourcentage est déterminé par le rapport poids matériel végétal et extrait sec qui est obtenu après évaporer à siccité d'une quantité de la préparation à une température adéquate pendant certain un temps jusqu'à poids constant.

➤ Mode opératoire

- Placer le creuset dans une étuve réglée à 45 °C pendant 2 heures pour bien le sécher.
 - -Laisser refroidir le creuset dans un dessiccateur pendant 30 minutes.
 - -Peser le creuset vide ;
 - -Prélever 5 ml de l'extrait ;
 - -Introduire l'extrait dans le creuset;
 - -Evaporer à siccité dans l'étuve pendant 3 heures à 105 C°
 - -Sortir le creuset de l'étuve et laisser refroidir dans le dessiccateur durant 30
 - -minutes.
 - -Peser la capsule immédiatement après la sortie du dessiccateur.

I-2-2-3-Caractéristiques phytochimiques

I-2-2-3-1-Recherche des groupes phytochimiques

> Principe

Il s'agit d'un screening des groupes phytochimiques par chromatographie sur couche mince.

> Mode opératoire

Les éléments de cette méthode chromatographique sont consignés dans le tableau 1et 2. (*Plant Drug Analysis 1984*)

Tableau III : éléments de la Chromatographie sur Couche Mince(groupes phytochimiques)

	Phase mobile	Révélation	Interprétation (réaction positive)	
Composés alcaloïdiques	Toluène / acétate d'éthyle / diéthylamine (70 / 20 / 10) n-Butanol— Acide acétique glacial— Eau (50 – 10 – 40)	Sans traitement UV 365 nm	- Bleu, bleu-vert (Indole, quinoléine, isoquinoléine) - Jaune (isoquinoléine) - violet (boldine)	
		Réactif de DRAGENDORF	Tâche brune, orangée	
Composés phénoliques	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8) n-Butanol— Acide acétique glacial— Eau (50 – 10 – 40)	Sans traitement UV 365 nm	 - jaune, bleu, vert (flavonoïde, acide phénol) - bleu, bleu-vert, jaune, marron (coumarines) - rouge marron, jaune (anthraquinone) 	
		FeCl ₃ / HCl (5%)	Tâche grise, bleue, bleu-violette et rouge-marron Phenols (Bleu à vert) Acides hydroxamiques (rouge)	
		Fast blue B visible	rouge	
Composés terpéniques	Toluène / acétate d'éthyle (93 / 7)	Sans traitement UV 365 nm	Pas de fluorescence	
	Toluène - Acétone (80 – 20)	Anisaldehyde sulfurique Visible / UV 365nm	Visible: bleu, vert, rouge, violet, marron Fluorescence sous UV 365 nm:	

Tableau IV: éléments de la Chromatographie sur Couche Mince (polyphonols)

			Jaune (visible)
Flavonoïdes Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8) ou n-Butanol— Acide acétique glacial— Eau (50 – 10 – 40)	•	AlCl ₃ Visible ;UV 365 nm	Fluorescence bleue brune
	Réactif de NEU (NP/ PEG) UV 365 nm	- Tache orange, jaunevert, verte (flavone, flavonol, flavanone) - Fluorescence bleue (phénol acide carboxylique)	
Anthocyanes	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8) ou n-Butanol— Acide acétique glacial— Eau (50 – 10 – 40)	Visible	Tache jaune, rouge à bleu-violet,
Tanins	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8) ou n-Butanol— Acide acétique glacial— Eau (50 – 10 – 40)	FeCl ₃ / H ₂ 0 Visible	 Tache bleue sombre (tanins galliques) Tache brune verdâtre (tanins condensés)
Coumarines	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8) ou Toluène - Chloroforme - Acétone	UV 365nm	- Bleue, bleue-vert (coumarine simple) - Jaune, maron ou bleue (furanocoumarine) - Jaune-vert (coumarine nonsubstituée) - bleu pâle, jaunemaron (chromone)
	(40 – 25 – 35)	Réactif de BORNTRÄGER UV 365nm	Fluorescence bleu
Quinones	Acétate d'éthyle / méthanol / eau (81 / 11 / 8) ou Toluène - Chloroforme - Acétone (40 - 25 - 35)	Réactif de BORNTRÄGER UV 365nm	- Fluorescence rouge (naphthoquinone, anthraquinone) - Fluorescence jaune (anthrone, anthranols)

I-2-2-3-2-Détermination de la teneur en groupe phytochimique

I-2-2-3-2-1-détermination de la teneur en polyphenols totaux

> Principe

Le dosage a été effectué selon la méthode colorimétrique de Folin Ciocalteu.

➤ Mode d'emploi

La courbe d'étalonnage est établie à l'aide de différentes concentrations de l'acide gallique à partir d'une solution mère.

Les résultats obtenus sont exprimés en µg équivalent d'acide gallique par ml (µgEAG/ml) en utilisant l'équation de la régression linaire de la courbe d'étalonnage tracé d'acide gallique.

Le spectrophotomètre UV-Visible a permis de quantifier la teneur en polyphénols totaux.

Les étapes de cette quantification sont :

- -Prélever 0,1ml de solution, ajouter 1ml d'eau distillée puis 0,5 de réactif de folin ciocalteu à 2N ;
- -Laisser en contact pendant 3mn;
- -Ajouter 3ml de solution de carbonate de sodium à 2%;
- -Centrifuger pendant 15mn;
- -Déterminer l'absorbance à 750nm.

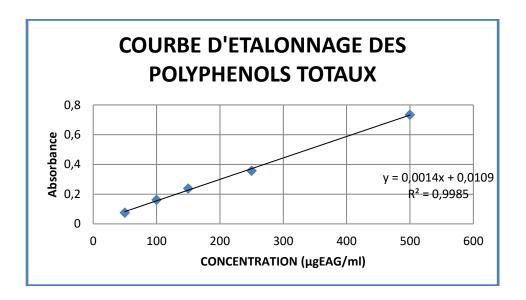


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

<u>I-2-2-3-2-Détermination de la teneur en terpènes</u>

> Principe

Le dosage des terpènes totaux a été effectué avec l'anisaldehyde sulfurique 1%.

➤ Mode d'emploi

La courbe d'étalonnage établie à l'aide de différentes concentrations de linalol à partir d'une solution mère.

Le spectrophotomètre UV-Visible a permis de quantifier la teneur en terpenes totaux dans les extraits.

Les résultats obtenus sont exprimés en µg équivalent linalol par ml (µgEL/ml) en utilisant l'équation de la régression linaire de la courbe d'étalonnage tracé d'acide gallique.

Les étapes de cette quantification sont :

- -Introduire 5 ml de anisaldehyde sulfurique 1% dans un tube à hémolyse ;
- -Ajouter 5 ml de l'extrait;
- -Mélanger au vortex ;

- -Refroidir dans un bain de glace ;
- -Chauffer au bain marré à 60° pendant 20 mn ;
- -Lecture à 608 nm;

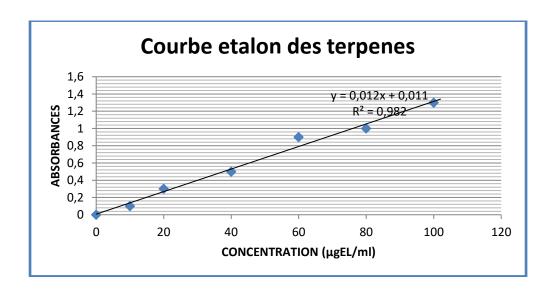


Figure 18 : Courbe d'étalonnage de linalol

Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments a base de plantes

RESULTATS

II-1-CARACTERES ORGANOLEPTIQUES

L'appréciation des caractères organoleptiques des extraits nous a permis de constater que les extraits ont les mêmes caractères organoleptiques sauf la couleur ainsi nous avons remarqué que les extraits A est de couleur marron alors que l'extrait B et C sont de couleur brun verdâtre, nous ont remarqué aussi que les extraits A et B ont moins de dépôt que l'extrait C.

Tableau V : Caractères organoleptiques des extraits

		CARACTERES ORGANOLEPTIQUES
E	A1	Liquide marron d'odeur caractéristique du produit
X		avec moins de dépôt
T	A2	Liquide marron d'odeur caractéristique du produit
R		avec moins de dépôt
A	A3	Liquide marron d'odeur caractéristique du produit
I		avec moins de dépôt
T	A4	Liquide marron d'odeur caractéristique du produit
A		avec moins de dépôt
	A5	Liquide marron d'odeur caractéristique du produit
		avec moins de dépôt
	A6	Liquide marron d'odeur caractéristique du produit
		avec moins de dépôt
Е	B1	Liquide brun verdâtre d'odeur caractéristique du
X		produit avec moins de dépôt
T	B2	Liquide brun verdâtre d'odeur caractéristique du
R		produit avec moins de dépôt
A	В3	Liquide brun verdâtre d'odeur caractéristique du
I		produit avec moins de dépôt
T	B4	Liquide brun verdâtre d'odeur caractéristique du
В		produit avec moins de dépôt
	B5	Liquide brun verdâtre d'odeur caractéristique du
		produit avec moins de dépôt
	6	Liquide brun verdâtre d'odeur caractéristique du
		produit avec moins de dépôt
Е	C1	Liquide brun verdâtre d'odeur caractéristique du

X		produit avec plus de dépôt							
T	C2	Liquide brun verdâtre d'odeur caractéristique du							
R		produit avec plus de dépôt							
A	C3	Liquide brun verdâtre d'odeur caractéristique du							
I		produit avec plus de dépôt							
T	C4	Liquide brun verdâtre d'odeur caractéristique du							
C		produit avec plus de dépôt							
	C5	Liquide brun verdâtre d'odeur caractéristique du							
		produit avec plus de dépôt							
	C6	Liquide brun verdâtre d'odeur caractéristique du							
		produit avec plus de dépôt							

II-2-RENDEMENT DES EXTRAITS

Les résultats ont été exprime en pourcentage.

Les rendements comme le montre la **Figure 19** sont variables selon les extraits et les procédures d'extraction. Cependant, le meilleure rendement est celui de l'extrait A suivi de B et C avec des pourcentages 42,5%, 35,5%, 25,5 % respectivement.

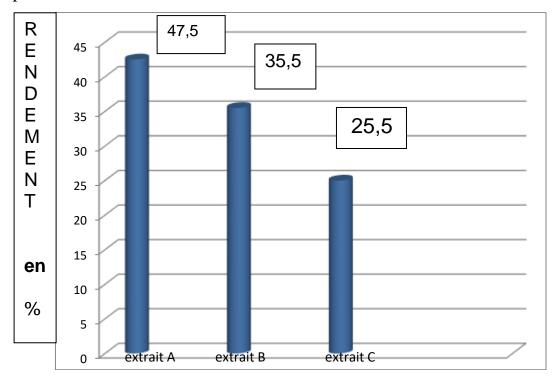


Figure 19: Rendements moyens des extraits

II-3-CARACTERISTIQUES PHYTOCHIMIQUE

II-3-1-recherche des groupes phytochimique

II-3-1-1-Composés alcaloïdiques

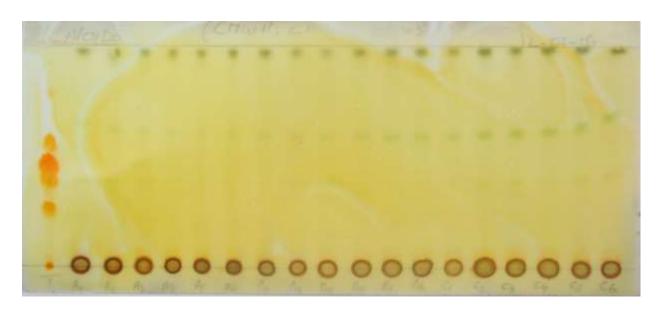


Photo 4 : après révélation avec réactif de DRAGENDORF

Le chromatogramme (la photo 4) n'a montré aucune tache orangée après révélation avec le **réactif de DRAGENDORF** qui est un révélateur spécifique des alcaloïdes, l'absence des taches orangées suppose que les alcaloïdes n'ont pas été détectés par la chromatographie sur couche mince.

Tableau VI: richesse de l'extrait A en composés phytochimiques

		rf	couleur	richesse	Composés possibles
	A1	0,67	vert	+	Composés non
E					identifié
X	A2	0,67	vert	+	Composés non
T					identifié
R	A3	0,67	vert	+	Composés non
A					identifié
I	A4	0,67	vert	+	Composés non
T					identifié
	A5	0,67	vert	+	Composés non
A					identifié
	A6	0,67	vert	+	Composés non
					identifié

Tableau VII : richesse de l'extrait B en composés phytochimiques

		rf	couleur	richesse	Composés possibles
	B1	0,67	vert	++	Composés non identifié
E					
X	B2	0,67	vert	++	Composés non identifié
T					
R A	B3	0,67	vert	++	Composés non identifié
I	D. 4	0.45			
T	B4	0,67	vert	++	Composés non identifié
	B5	0,67	vert		Composés non identifié
	ВЭ	0,07	Vert	++	Composes non identifie
В	B6	0,67	vert	++	Composés non identifié
		, , ,			

Tableau VIII : richesse de l'extrait C en composés phytochimiques

		rf	couleur	richesse	Composés possibles	
	C1	0,67	vert	++	Composés ne	on
E					identifié	
X	C2	0,67	vert	++	Composés ne	on
T					identifié	
R	C3	0,67	vert	++	Composés ne	on
A					identifié	
I	C4	0,67	vert	++	Composés ne	on
T					identifié	
	C5	0,67	vert	++	Composés ne	on
C					identifié	
	C6	0,67	vert	++	Composés ne	on
					identifié	

^{- =}absence, += très légère, ++ = légère, +++ = important, ++++ = très important

II-3-1-2 Composés phénoliques

II-3-1-2-1 Composés phénoliques globaux

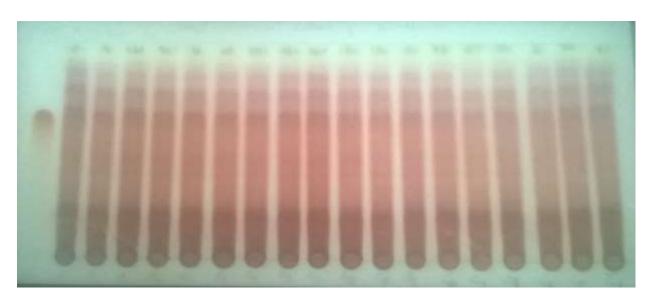


Photo 5 : après révélation avec Fast blue B (visible)

Le chromatogramme (photo 5) montre, après révélation avec **Fast blue B** le révélateur spécifique des polyphenols dans le visible, des taches de rapports frontaux différents (tache rouges de rf=0,35; rf=0,70 rf=0,5; rf=0,85; rf=0,90). Ces taches pourraient être des composés phénoliques de type flavonoïdes tannins quinones et coumarines. Ces composés sont plus important au niveau de l'extrait B qu'au niveau de l'extrait A et C.

Tableau IX : richesse de l'extrait A en composés phytochimiques (polyphenols)

		rf	couleur	richesse	Composés
					possibles
	A1	0,35	Rouge	+	Flavonoïdes
		0,70	Rouge	+	Tanins
		0,85	Rouge	++	Quinones
E		0,90	Rouge	++	coumarines
X	A2	0,35	Rouge	++	Flavonoïdes
T		0,70	Rouge	++	Tanins
R		0,85	Rouge	++	Quinones
A		0,90	Rouge	++	coumarines
I	A3	0,35	Rouge	++	Flavonoïdes
T		0,70	Rouge	++	Tanins
		0,85	Rouge	++	Quinones
		0,90	Rouge	++	coumarines
A	A4	0,35	Rouge	++	Flavonoïdes
		0,70	Rouge	++	Tanins
		0,85	Rouge	++	Quinones
		0,90	Rouge	++	coumarines
	A5	0,35	Rouge	++	Flavonoïdes
		0,70	Rouge	++	Tanins
		0,85	Rouge	++	Quinones
		0,90	Rouge	++	coumarines
	A6	0,35	Rouge	++	Flavonoïdes
		0,70	Rouge	++	Tanins
		0,85	Rouge	++	Quinones
		0,90	Rouge	++	coumarines

Tableau X : richesse de l'extrait B en composés phytochimiques (polyphenols)

		rf	couleur	richesse	Composés
					possibles
	B1	0,35	Rouge	++++	Flavonoïdes
		0,70	Rouge	++++	Tanins
		0,85	Rouge	++++	Quinones
E		0,90	Rouge	++++	coumarines
X	B2	0,35	Rouge	++++	Flavonoïdes
T		0,70	Rouge	++++	Tanins
R		0,85	Rouge	++++	Quinones
A		0,90	Rouge	++++	coumarines
I	B3	0,35	Rouge	++++	Flavonoïdes
T		0,70	Rouge	++++	Tanins
		0,85	Rouge	++++	Quinones
		0,90	Rouge	++++	coumarines
В	B4	0,35	Rouge	++++	Flavonoïdes
		0,70	Rouge	++++	Tanins
		0,85	Rouge	++++	Quinones
		0,90	Rouge	++++	coumarines
	B5	0,35	Rouge	++++	Flavonoïdes
		0,70	Rouge	++++	Tanins
		0,85	Rouge	++++	Quinones
		0,90	Rouge	++++	coumarines
		0,35	Rouge	++++	Flavonoïdes
	B6	0,70	Rouge	++++	Tanins
		0,85	Rouge	++++	Quinones
		0,90	Rouge	++++	coumarines

Tableau XI: richesse de l'extrait C en composés phytochimiques (polyphenols)

		rf	couleur	richesse	Composés
					possibles
	C1	0,35	Rouge	+++	Flavonoïdes
		0,70	Rouge	+++	Tanins
		0,85	Rouge	+++	Quinones
Е		0,90	Rouge	+++	coumarines
X	C2	0,35	Rouge	++	Flavonoïdes
T		0,70	Rouge	++	Tanins
R		0,85	Rouge	++	Quinones
A		0,90	Rouge	++	coumarines
I	C3	0,35	Rouge	++	Flavonoïdes
T		0,70	Rouge	++	Tanins
		0,85	Rouge	++	Quinones
		0,90	Rouge	++	coumarines
	C4	0,35	Rouge	+	Flavonoïdes
		0,70	Rouge	+	Tanins
		0,85	Rouge	+	Quinones
		0,90	Rouge	+	coumarines
	C5	0,35	Rouge	+	Flavonoïdes
		0,70	Rouge	+	Tanins
		0,85	Rouge	+	Quinones
		0,90	Rouge	+	coumarines
	C6	0,35	Rouge	+	Flavonoïdes
		0,70	Rouge	+	Tanins
		0,85	Rouge	+	Quinones
		0,90	Rouge	+	coumarines

-=absence, += très légère, ++ = légère, +++ = important, ++++ = très important

II-3-1-2-2 composés flavonoïdes

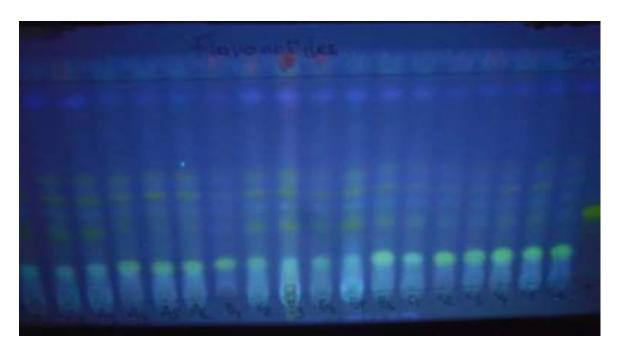


Photo 6: après révélation avec AlCl₃ à UV 365 nm

Le chromatogramme (photo 6), après révélation avec **AlCl₃ à UV 365 nm** le révélateur spécifique des flavonoïdes a montré des taches de rapports frontaux différents (tache bleues de rf=0,96, rf=41 et taches jaunes de rf =0, 37,rf=0,43, rf =0,55). Ces taches pourraient être des flavonoïdes, elles sont plus importantes dans l'extrait A et B que l'extrait C

Tableau XII : richesse de l'extrait A en composés phytochimiques (flavonoïdes)

		rf	couleur	richesse	Composés
					possibles
	A1	0,25	Jaune	+++	Flavonol
		0,29	Bleue	+++	acide phénol
		0,36	Jaune	+++	flavonol
Е		0,41	Bleue	+++	acide phénol
X		0,52	Jaune	+++	flavonol
T		0,89	bleu	+++	hydroquinone
R	A2	0,25	Jaune	+++	Flavonol
A		0,29	Bleue	+++	acide phénol
I		0,36	Jaune	+++	flavonol
T		0,41	Bleue	+++	acide phénol
		0,52	Jaune	+++	flavonol
		0,89	bleu	+++	hydroquinone
A	A3	0,25	Jaune	+++	Flavonol
		0,29	Bleue	+++	acide phénol
		0,36	Jaune	+++	flavonol
		0,41	Bleue	+++	acide phénol
		0,52	Jaune	+++	flavonol
		0,89	bleu	+++	hydroquinone
	A4	0,25	Jaune	+++	Flavonol
		0,29	Bleue	+++	acide phénol
		0,36	Jaune	+++	flavonol
		0,41	Bleue	+++	acide phénol
		0,52	Jaune	+++	flavonol
		0,89	bleu	+++	hydroquinone
	A5	0,25	Jaune	+++	Flavonol
		0,29	Bleue	+++	acide phénol
		0,36	Jaune	+++	flavonol
		0,41	Bleue	+++	acide phénol
		0,52	Jaune	+++	flavonol
		0,89	bleu	+++	hydroquinone
	A6	0,25	Jaune	+++	Flavonol
		0,29	Bleue	+++	acide phénol
		0,36	Jaune	+++	flavonol
		0,41	Bleue	+++	acide phénol
		0,52	Jaune	+++	flavonol
		0,89	bleu	+++	hydroquinone

Tableau XIII : richesse de l'extrait B en composés phytochimiques (flavonoïdes)

		rf	couleur	richesse	Composés
					possibles
	B1	0,25	Jaune	++++	Flavonol
		0,29	Bleue	++++	acide phénol
		0,36	Jaune	++++	flavonol
Е		0,41	Bleue	++++	acide phénol
X		0,52	Jaune	++++	flavonol
T		0,89	bleu	++++	hydroquinone
R	B2	0,25	Jaune	++++	Flavonol
A		0,29	Bleue	++++	acide phénol
I		0,36	Jaune	++++	flavonol
T		0,41	Bleue	++++	acide phénol
		0,52	Jaune	++++	flavonol
		0,89	bleu	++++	hydroquinone
В	В3	0,25	Jaune	++++	Flavonol
		0,29	Bleue	++++	acide phénol
		0,36	Jaune	++++	flavonol
		0,41	Bleue	++++	acide phénol
		0,52	Jaune	++++	flavonol
		0,89	bleu	++++	hydroquinone
	B4	0,25	Jaune	++++	Flavonol
		0,29	Bleue	++++	acide phénol
		0,36	Jaune	++++	flavonol
		0,41	Bleue	++++	acide phénol
		0,52	Jaune	++++	flavonol
		0,89	bleu	++++	hydroquinone
				++++	
	B5	0,25	Jaune	++++	Flavonol
		0,29	Bleue	++++	acide phénol
		0,36	Jaune	++++	flavonol
		0,41	Bleue	++++	acide phénol
		0,52	Jaune	++++	flavonol
		0,89	bleu	++++	hydroquinone
				++++	
	B6	0,25	Jaune	++++	Flavonol
		0,29	Bleue	++++	acide phénol
		0,36	Jaune	++++	flavonol
		0,41	Bleue	++++	acide phénol
		0,52	Jaune	++++	flavonol
		0,89	bleu	++++	hydroquinone
				++++	

Tableau XIV : richesse de l'extrait en composés phytochimiques (flavonoïdes)

		rf	couleur	richesse	Composés
					possibles
	C1	0,25	Jaune	++	Flavonol
		0,29	Bleue	++	acide phénol
		0,36	Jaune	++	flavonol
E		0,41	Bleue	++	acide phénol
X		0,52	Jaune	++	flavonol
T		0,89	bleu	++	hydroquinone
R	C2	0,25	Jaune	++	Flavonol
A		0,29	Bleue	++	acide phénol
I		0,36	Jaune	++	flavonol
T		0,41	Bleue	++	acide phénol
		0,52	Jaune	++	flavonol
		0,89	bleu	++	hydroquinone
C	C3	0,25	Jaune	++	Flavonol
		0,29	Bleue	++	acide phénol
		0,36	Jaune	++	flavonol
		0,41	Bleue	++	acide phénol
		0,52	Jaune	++	flavonol
		0,89	bleu	++	hydroquinone
	C4	0,25	Jaune	++	Flavonol
		0,29	Bleue	++	acide phénol
		0,36	Jaune	++	flavonol
		0,41	Bleue	++	acide phénol
		0,52	Jaune	++	flavonol
		0,89	bleu	++	hydroquinone
	C5	0,25	Jaune	++	Flavonol
		0,29	Bleue	++	acide phénol
		0,36	Jaune	++	flavonol
		0,41	Bleue	++	acide phénol
		0,52	Jaune	++	flavonol
		0,89	bleu	++	hydroquinone
	C6	0,25	Jaune	++	Flavonol
		0,29	Bleue	++	acide phénol
		0,36	Jaune	++	flavonol
		0,41	Bleue	++	acide phénol
		0,52	Jaune	++	flavonol
		0,89	bleu	++	hydroquinone

-=absence, += très légère, ++= légère, +++= important, ++++= très important

II-3-1-2-3 composés Tanins

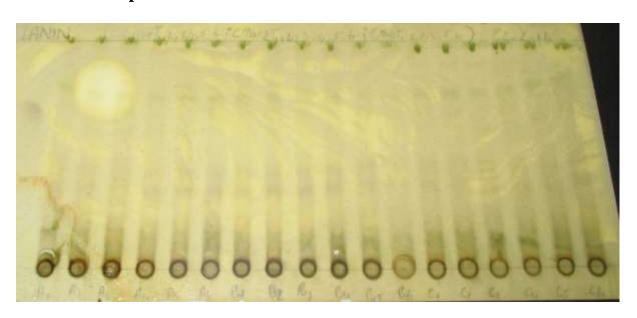


Photo 7 : après révélation avec FeCl₃/ H₂0Visible

Sur le chromatogramme (photo 7) on observe après révélation avec **FeCl**₃/ **H**₂**0** le révélateur spécifique des tanins dans le visible, des taches de rapports frontaux différents (tache bleues sombres de rf=0,19, de rf=0, 81, taches brunes de rf=0,40 et rf=0,50). Ces taches pourraient être des tanins de type hydrolysable (bleues sombres) et condensé (brunes). Les tanins hydrolysables sont présents avec une intensité plus importante que les tanins condensés dans l'extrait C, et inversement dans les extraits A et B.

Tableau XV: richesse des extraits en composés phytochimiques (tannins)

		rf	couleur	richesse	Composés
					possibles
	A1	0,19	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++++	Tanin condensé
		0,50	Brun	++++	Tanin condensé
Е		0,81	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
X					
T	A2	0,19	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
R		0,40	Brun	++++	Tanin condensé
A		0,50	Brun	++++	Tanin condensé
I		0,81	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
T					
	A3	0,19	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++++	Tanin condensé
A		0,50	Brun	++++	Tanin condensé
		0,81	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
	A4	0,19	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++++	Tanin condensé
		0,50	Brun	++++	Tanin condensé
		0,81	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
	A5	0,19	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++++	Tanin condensé
		0,50	Brun	++++	Tanin condensé
		0,81	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
	A6	0,19	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++++	Tanin condensé
		0,50	Brun	++++	Tanin condensé
		0,81	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable

Tableau XVI : richesse des extraits en composés phytochimiques (tannins)

		rf	couleur	richesse	Composés possibles
	B1	0,19	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	· · ++++	Tanin condensé
		0,50	Brun	++++	Tanin condensé
E		0,81	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
X		0,01			
T	B2	0,19	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
R		0,40	Brun	++++	Tanin condensé
A		0,50	Brun	++++	Tanin condensé
I		0,81	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
T					
	В3	0,19	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++++	Tanin condensé
В		0,50	Brun	++++	Tanin condensé
		0,81	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
	B4	0,19	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++++	Tanin condensé
		0,50	Brun	++++	Tanin condensé
		0,81	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
	B5	0,19	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++++	Tanin condensé
		0,50	Brun	++++	Tanin condensé
		0,81	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
	B6	0,19	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++++	Tanin condensé
		0,50	Brun	++++	Tanin condensé
		0,81	Bleues sombres	++	Tanin hydrolysable

Tableau XVII: richesse des extraits en composés phytochimiques (tannins)

		rf	couleur	richesse	Composés possibles
	C1	0,19	Bleues sombres	++++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++	Tanin condensé
		0,50	Brun	++	Tanin condensé
E		0,81	Bleues sombres	++++	Tanin hydrolysable
X					
T	C2	0,19	Bleues sombres	++++	Tanin hydrolysable
R		0,40	Brun	++	Tanin condensé
A		0,50	Brun	++	Tanin condensé
I		0,81	Bleues sombres	++++	Tanin hydrolysable
T					
	C3	0,19	Bleues sombres	++++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++	Tanin condensé
C		0,50	Brun	++	Tanin condensé
		0,81	Bleues sombres	++++	Tanin hydrolysable
	C4	0,19	Bleues sombres	++++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++	Tanin condensé
		0,50	Brun	++	Tanin condensé
		0,81	Bleues sombres	++++	Tanin hydrolysable
	C5	0,19	Bleues sombres	++++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++	Tanin condensé
		0,50	Brun	++	Tanin condensé
		0,81	Bleues sombres	++++	Tanin hydrolysable
	G (0.10	D1 1		m · 1 · 1 · 1 · 1 · 1
	C6	0,19	Bleues sombres	++++	Tanin hydrolysable
		0,40	Brun	++	Tanin condensé
		0,50	Brun	++	Tanin condensé
		0,81	Bleues sombres	++++	Tanin hydrolysable

-=absence, += très légère, ++= légère, +++= important, ++++= très important

II-3-1-2-4 quinones/coumarines

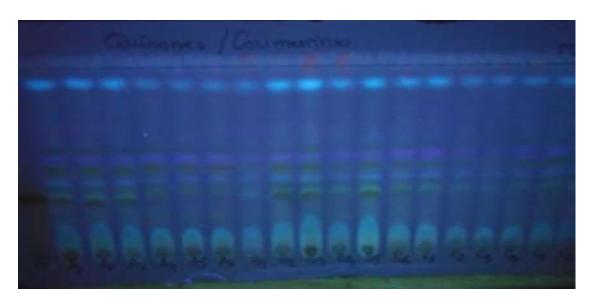


Photo 8 : après révélation avec Réactif de BORNTRAGER à 365 nm

Sur le chromatogramme (la photo 8) on observe après révélation avec le Réactif de BORNTRAGER à 365 nm qui est un révélateur spécifique des quinones et coumarines, des taches de rapports frontaux différents (tache bleues de rf=0,90, jaunes-vert de rf=0,37de rf=0,47, marron de rf=0,49, bleue pale de rf=0,39) ces fluorescences pourraient être des coumarines et des quinones.

Tableau XVIII : richesse des extraits en composés phytochimiques (quinones/coumarines)

		rf	2011212	richagas	Composés possibles
	A 1		couleur	richesse	Composés possibles
	A1	0,31	Jaune	++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
E		0,50	violet	++++	Furanocoumarine
X		0,54	bleu clair	++	Coumarine simple
T		0,92	rouge	++	Naphtoquinone
R		0,98		++	anthraquinone
A	A2	0,31	Jaune	++	Anthrone,
I		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
T		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	++++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	++	Coumarine simple
A		0,92	rouge	++	Naphtoquinone
		0,98		++	anthraquinone
	A3	0,31	Jaune	++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	++++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	++	Coumarine simple
		0,92	rouge	++	Naphtoquinone
		0,98		++	anthraquinone
	A4	0,31	Jaune	++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	++++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	++	Coumarine simple
		0,92	rouge	++	Naphtoquinone
		0,98		++	anthraquinone
	A5	0,31	Jaune	++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	++++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	++	Coumarine simple
		0,92	rouge	++	Naphtoquinone
		0,98	130080	++	anthraquinone
	A6	0,31	Jaune	++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	' ' ++++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	++	Coumarine simple
		0,92	rouge	++	Naphtoquinone
		0,92	Touge		anthraquinone
		0,90		++	anunayumone

Tableau XIX : richesse des extraits en composés phytochimiques (quinones/coumarines)

		rf	conlaur	richassa	Composés possibles
	D1		couleur	richesse	Composés possibles
	B1	0,31	Jaune	++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
E		0,50	violet	+++	Furanocoumarine
X		0,54	bleu clair	++	Coumarine simple
T		0,92	rouge	++	Naphtoquinone
R		0,98		+++	anthraquinone
A					
I	B2	0,31	Jaune	++	Anthrone,
T		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	+++	Furanocoumarine
В		0,54	bleu clair	++	Coumarine simple
B		0,92	rouge	' '	Naphtoquinone
		0,98	Touge		
		0,70		++	anthraquinone
	B3	0,31	Jaune	++	Anthrone,
	D 3	0,31	Bleu pale		anthranone
			Marron	+++	Chromone
		0,47		++	
		0,50	violet	+++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	+++	Coumarine simple
		0,92	rouge	+++	Naphtoquinone
		0,98		+++	anthraquinone
	B4	0,31	Jaune	++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	+++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	+++	Coumarine simple
		0,92	rouge	+++	Naphtoquinone
		0,98		+++	anthraquinone
		- 2			
	B5	0,31	Jaune	++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	+++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	+++	Coumarine simple
		0,92	rouge	+++	Naphtoquinone
		0,92	Touge	+++	anthraquinone
		0,70			anunaquinone
	B6	0,31	Jaune	++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	+++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	++	Coumarine simple
		0,92	rouge	++	Naphtoquinone
		0,98	10050	++	anthraquinone
		0,70			ununuquinono
		<u> </u>		l	

Tableau XX : richesse des extraits en composés phytochimiques (quinones/coumarines)

		rf	couleur	richesse	Composés possibles
	C1	0,31	Jaune	++++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	++++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
E		0,50	violet	+++	Furanocoumarine
X		0,54	bleu clair	+++	Coumarine simple
T		0,92	rouge	++++	Naphtoquinone
R		0,98		++++	anthraquinone
A	C2	0,31	Jaune	++++	Anthrone,
I		0,41	Bleu pale	++++	anthranone
T		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	+++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	+++	Coumarine simple
C		0,92	rouge	++++	Naphtoquinone
		0,98		++++	anthraquinone
	C3	0,31	Jaune	++++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	++++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	+++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	+++	Coumarine simple
		0,92	rouge	++++	Naphtoquinone
		0,98		++++	anthraquinone
	C4	0,31	Jaune	++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	+++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	++++	Coumarine simple
		0,92	rouge	++++	Naphtoquinone
		0,98		++++	anthraquinone
	C5	0,31	Jaune	++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	+++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	++++	Coumarine simple
		0,92	rouge	++++	Naphtoquinone
		0,98		++++	anthraquinone
	C6	0,31	Jaune	++	Anthrone,
		0,41	Bleu pale	+++	anthranone
		0,47	Marron	++	Chromone
		0,50	violet	+++	Furanocoumarine
		0,54	bleu clair	++++	Coumarine simple
		0,92	rouge	++++	Naphtoquinone
		0,98		++++	anthraquinone

-=absence, += très légère, ++ = légère, +++ = important, ++++ = très important

II-3-1-3 Composés terpéniques

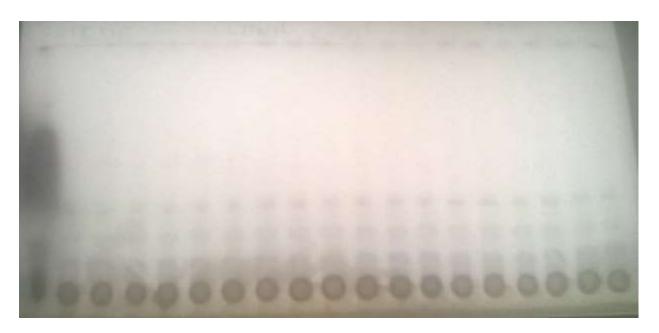


Photo 9: après révélation avec ANISALDEHYDE SULFURIQUE visible.

Le chromatogramme (Photo 9) montre des taches grises de rf=0,21 ;rf 0,33 ;rf=0,41, après révélation de la plaque avec l'anisaldehyde sulfurique qui le révélateur des terpènes.

Ces tache peuvent être des terpènes de type monoterpene, diterpene triterpene, elles sont plus importantes dans les extraits B et C que l'extrait A,

Tableau XXI : richesse des extraits en composés terpéniques

		rf	couleur	richesse	Composés
					possibles
	A1	0,21	Marron	++	Monoterpene
		0,33	Marron	++	Diterpène
		0,41	Marron	++	Tri-terpène
Е	A2	0,21	Marron	++	Monoterpene
X		0,33	Marron	++	Diterpène
T		0,41	Marron	++	Tri-terpène
R	A3	0,21	Marron	++	Monoterpene
A		0,33	Marron	++	Diterpène
I		0,41	Marron	++	Tri-terpène
T	A4	0,21	Marron	++	Monoterpene
		0,33	Marron	++	Diterpène
		0,41	Marron	++	Tri-terpène
A	A5	0,21	Marron	++	Monoterpene
		0,33	Marron	++	Diterpène
		0,41	Marron	++	Tri-terpène
	A6	0,21	Marron	++	Monoterpene
		0,33	Marron	++	Diterpène
		0,41	Marron	++	Tri-terpène

Tableau XXII : richesse des extraits en composés terpéniques

		rf	couleur	richesse	Composés
					possibles
	B1	0,21	Marron	+++	Monoterpene
		0,33	Marron	+++	Diterpène
		0,41	Marron	+++	Tri-terpène
E	B2	0,21	Marron	+++	Monoterpene
X		0,33	Marron	+++	Diterpène
T		0,41	Marron	+++	Tri-terpène
R	В3	0,21	Marron	+++	Monoterpene
A		0,33	Marron	+++	Diterpène
I		0,41	Marron	+++	Tri-terpène
T	B4	0,21	Marron	+++	Monoterpene
		0,33	Marron	+++	Diterpène
		0,41	Marron	+++	Tri-terpène
В	B5	0,21	Marron	+++	Monoterpene
		0,33	Marron	+++	Diterpène
		0,41	Marron	+++	Tri-terpène
	B6	0,21	Marron	+++	Monoterpene
		0,33	Marron	+++	Diterpène
		0,41	Marron	+++	Tri-terpène

Tableau XXIII : richesse des extraits en composés terpéniques

		rf	couleur	richesse	Composés
					possibles
	C1	0,21	Marron	+++	Monoterpene
		0,33	Marron	+++	Diterpène
		0,41	Marron	+++	Tri-terpène
E	C2	0,21	Marron	+++	Monoterpene
X		0,33	Marron	+++	Diterpène
T		0,41	Marron	+++	Tri-terpène
R	C3	0,21	Marron	+++	Monoterpene
A		0,33	Marron	+++	Diterpène
I		0,41	Marron	+++	Tri-terpène
T	C4	0,21	Marron	+++	Monoterpene
		0,33	Marron	+++	Diterpène
		0,41	Marron	+++	Tri-terpène
С	C5	0,21	Marron	+++	Monoterpene
		0,33	Marron	+++	Diterpène
		0,41	Marron	+++	Tri-terpène
	C6	0,21	Marron	+++	Monoterpene
		0,33	Marron	+++	Diterpène
		0,41	Marron	+++	Tri-terpène

^{- =} absence, + = très légère, ++ = légère, +++ = important, ++++= très important

II-3-2-Détermination de la teneur en groupes phytochimiques

II-3-2-1-Détermination de la teneur en polyphenols

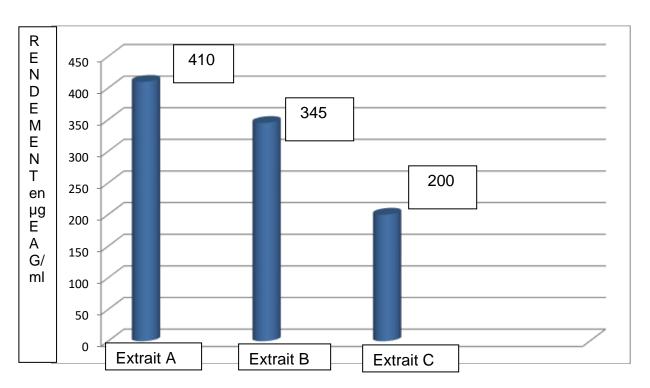
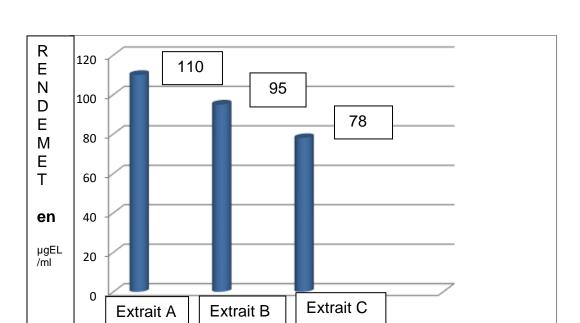


Figure 20: teneurs en polyphenols totaux des extraits

La détermination de la teneur en polyphenols totaux dans extraits A B et C a donner des teneurs variables. On constate que l'extrait A contient la plus grande teneur en polyphenols totaux qui est 410 µg EAG/ml suivi de l'extrait B avec une teneur 345 µg EAG/ml, puis l'extrait A qui renferme la plus faible teneur en polyphenols totaux avec 200µg EAG/ml.



II-3-2-2-Détermination de la teneur en terpènes

Figure 21: la teneur des extraits en terpènes totaux

La détermination de la teneur en terpènes totaux dans extraits A B et C à enregistrer des teneurs qui varient selon les procédures d'extraction.

On remarque que l'extrait A contient la plus importante teneur en terpènes totaux qui est 110 µg EL/ml suivi de l'extrait B avec une teneur 95 µg EL/ml, puis l'extrait A qui renferme la plus faible teneur en terpènes totaux avec C 78 µg EL/ml.

Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments a base de plantes

DISCUSSIONS

Selon la littérature [65] l'utilisation de solvants de polarité croissante permet d'extraire plusieurs classes de métabolites secondaires de la plante mais pour le choix des trois solvants d'extraction utilisés pendant notre étude (chloroforme, méthanol et eau), nous avons été guidés par les travaux de Jonas Gullberg et coll [7].

La matrice est un élément clé dans les études photychimiques c'est pourquoi nous avons mélangé trois poudres de feuilles, pour rendre notre matrice complexe, dans les quelles différentes classes de composés phytochimiques ont été recherché et identifiées [48, 51,52].

III-1-CARACTERES ORGANOLEPTIQUES

Nous avons observé une différence dans la couleur de nos extraits, avec une couleur marron pour l'extrait A et brun verdâtre pour Les extraits B et C. Cette différence de couleur peut être due à la forte présence de la chlorophylle dans les extraits B et C car lors de l'extraction des composés phytochimiques certains pigments telle que la chlorophylle souvent extraite en très grande proportion des feuilles [7].

Nous avons aussi observé dans les extraits un dépôt au fond des tubes, ce dépôt était plus épais dans l'extrait C que les extraits A et B, ces dépôts pourraient être des mucilages qui ont été éliminés par centrifugation.

III-2-RENDEMENTS DES EXTRAITS

D'après nos résultats, le meilleur rendement est obtenu avec l'extrait A. Ce rendement peut être dû au rapport solide/liquide puisque lors de cette extraction le volume de solvant était important (100ml) 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 par conséquent l'augmentation du pouvoir de solubilisation et des propriétés de transfert de matière des solvants.

III-3-CARACTERISTIQUES PHYTOCHIMIQUES

III-3-1- Recherche globale des composés phytochimiques

III-3-1-1-Composés alcaloïdiques

Les alcaloïdes n'ont pas été détectés par la chromatographie sur couche mince, cela peut être dû à la sensibilité de l'appareil car l'utilisation d'une matrice complexe composé d'un mélangé de poudres de drogues végétales dans lesquelles plusieurs classes de composes ont été identifies [49,50,51,52]; et les solvants de polarité croissante qui assure l'extraction de plusieurs classes de composes phytochimiques avec le chloroforme est couramment utilise pour l'extraction des composes apolaires, méthanol pour les composes peu polaire et l'eau pour les composes polaires [65] peut justifier la présence des alcaloïdes dans nos extraits.

III-3-1-2- Composés phénoliques

Les polyphenols de types flavonoïdes, tanins quinones et des coumarines sont plus importants dans l'extrait B que les extraits A et C, cela peut être due au mélange méthanol-eau puis que les polyphenols ont en majorité une très grande affinité pour les solvants polaires et sont en générale plus solubles dans les mélanges hydro-alcooliques [66].

III-3-1-3-flavonoïdes

Les flavonoïdes de types des flavone, flavonol et flavanones (fluorescences jaunes) et phénol acide carboxylique (fluorescences bleues) sont plus importants dans l'extrait A et B, cela peut être dû à l'addition de l'eau aux solvants organiques qui augmente leur solubilité et leur polarité [41].

III-3-1-4-Tanins

Les tanins hydrolysables sont présents avec une intensité plus importante que les tanins condensés dans l'extrait C, et inversement dans les extraits A et B, cela est due à la solubilité des tannins dans l'eau qui varie en fonction de leur poids moléculaire et de leur degré de polymérisation [64].

III-3-1-5-coumarines

Les coumarines simples sont plus dans l'extrait C et les furanocoumarines, pyranocoumarine dans l'extrait A cela est due à leur nature chimique car ce sont des forme genines (entités dépourvues de reste osidique) qui sont soluble dans les solvants organiques ou mélange de solvants organiques en effet la présence d'un sucre modifie les propriétés de la molécule en particulier sa solubilité dans l'eau [59].

III-3-1-6-quinones

La présence des anthrone et des anthranols dans l'extrait C et des naphthoquinone et anthraquinone dans B peut être due leur nature chimique car ces sont des forme genines (entités dépourvues de reste osidique) qui sont soluble dans les solvants organiques ou mélange de solvants organiques en effet la présence d'un sucre modifie les propriétés de la molécule en particulier sa solubilité dans l'eau [59].

III-3-1-7-Détermination de la teneur en polyphenols totaux

La détermination de la teneur moyenne en polyphenols totaux dans les extraits A B et C à donné la teneur moyenne la plus élevée au niveau de l'extrait A.

Cette valeur est due au mélange de solvants qui assure l'extraction d'un grand nombre de composés phytochimiques [65], ces résultats sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs qui ont révélé que les solvants mixtes sont très efficaces à extraire les composés[41], l'utilisation de solvants mixtes aboutit à un fort enrichissement des extraits en composés. La supériorité des solvants mixtes seraient dues à l'augmentation de la solubilité des composés dans les extraits obtenus par des solvants mixtes comparés à ceux obtenus par des solvants purs [42],

III-3-1-8- Composés terpéniques

Les monterpenes, diterpènes et des triterpenes sont plus importants dans les extraits B et C, cela est due à l'utilisation du chloroforme seul qui assure une extraction importante des composes phytochimiques apolaires [62].

III-3-1-9-Détermination de la teneur en terpènes totaux

La détermination de la teneur moyenne en terpènes totaux dans les extraits A B et C à donné la teneur moyenne la plus élevée au niveau de l'extrait.

Cette valeur est due au mélange de solvants qui assure l'extraction d'un grand nombre de composés phytochimiques [65], ces résultats sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs qui ont révélé que les solvants mixtes sont très efficaces à extraire les composés[41], l'utilisation de solvants mixtes aboutit à un fort enrichissement des extraits en composés. La supériorité des solvants mixtes seraient dues à l'augmentation de la solubilité des composés dans les extraits obtenus par des solvants mixtes comparés à ceux obtenus par des solvants purs [42],

Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments a base de plantes

CONCLUSION

L'objectif de ce travail visait l'extraction d'un plus grand nombre de composés phytochimiques en une seule étape.

Dans un premier temps, nous avons effectué une recherche bibliographique qui porte sur quelques axes principaux :

-les médicaments à base de plantes qui constitue un réservoir de substances naturelles : nous avons classé ces composés en fonction de la polarité un paramètre physicochimique important dans le choix d'un solvant ou d'un mélange de solvants.

-les méthodes d'évaluation analytique de ces médicaments : la suite de la recherche bibliographique concerne les différents paramètres qui influencent la préparation de l'échantillon la nature du solvant, la procédure d'extraction et la méthode.

Dans notre travail, nous avons:

- d'abord appliquer les procédures d'extraction à l'étude de la drogue végétale.
- Ensuite analyser quantitativement et qualitativement des extraits obtenus.
- Enfin évaluer l'efficacité des procédures d'extraction par l'analyse comparée des résultats qualitatifs et quantitatifs obtenus.

Ces différentes étapes nous ont permis de savoir que :

☐ Au plan qualitatif
L'extraction successive avec un solvant apolaire et un mélange hydro-alcooliqu a permis d'isoler plus de composés phytochimiques.
☐ Au plan quantitatif

L'extraction par mise en contact du matériel végétal avec le mélange chloroformeméthanol-eau à la plus grande teneur en composés phytochimiques.

Considérant l'ensemble des résultats obtenus, l'extraction successive avec le chloroforme et le mélange méthanol/eau est la meilleur, cette assertion concorde avec les résultats de Jonas Gullberg et coll.

Mais la différence entre **l**'extraction par mise en contact avec un mélange de solvants et l'extraction successive avec un solvant apolaire et un mélange hydro-alcoolique est négligeable. Cependant **l**'extraction par mise en contact avec un mélange de solvants en termes temps d'extraction, de rendement, et de simplicité de réalisation est meilleure.

Une perspective pourrait consister à réaliser d'autres extractions pour évaluer la capacité d'extraction de chaque solvant.

Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments a base de plantes

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Stratégie de l'OMS pour la médicine traditionnelle pour 2002- 2005. Genève 2002
- 2-Borris R.P., 1996. Natural products research: perspectives for a major pharmaceutical company. Journal of Ethnopharmacology 51: 29-38.;
- 3-Moerman D.E., 1996. An analysis of the food plants and drugs plants of native North America. Journal of Ethnopharmacology 52: 1-22.
- 4-WHO, Guidelines for registration of traditional medicines in the who african region, World Health Organization, Geneve, 2010.
- 5-A. Booker, D. Johnston, M. Heinrich, Value chains of herbal medicines research needs and key challenges in the context of ethnopharmacology, Journal of Ethnopharmacology, 140 (2012) 624633.
- 6-N. Sahoo, P. Manchikanti, S. Dey, Herbal drugs: Standards and regulation, Fitoterapia, 81 (2010) 462-471.
- 7-Jonas Gullberg, Pär Jonsson, Anders Nordström, Michael Sjöström, and Thomas Moritz, Design of experiments: an efficient strategy to identify factors influencing extraction and derivatization of *Arabidopsis thaliana* samples in metabolomic studies with gas chromatography/mass spectrometry, Analytical Biochemistry 331 (2004) 283–295
- 8-Ncube n.s., Afolayan a.j., Okoh a.i., Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. African Journal of Biotechnology 2008; Volum 7 Number 12: 1797-1806
- 9-jones william p. and kinghorn a. douglas, Extraction of Plant Secondary Metabolites, Methods in Biotechnology, Vol. 20, Natural Products Isolation, 2nd edition.
- 10-OMS Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relative à la médicine traditionnelle. Genève, Organisation Mondiale de la Santé 2000.
- 11-J. Vercauteren Plan du cours de Pharmacognosie Formation Commune de Base édition 2011
- 12-Bruneton J (2009) Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 4 edn. Tec & Doc Lavoisier,

- 13-Waksmundzka-Hajnos M, Sherma J, Kowalska T (2008) Thin layer chromatography in phytochemistry, vol 99. CRC Press, Boka Raton
- 14-R.Anton,Max Wichtl,Plantes therapeutiques,Tradiction,Pratique officinale,Science et Therapeutique.Ed Tec et Doc.p32-33(2003)
- 19- Barboni, T. (2006). Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse, p26.
- 20-Ribereau ,G.P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux, Dunod, Paris, p254.
- 21-Igor Passi, L.B. (2002). Etude des activités biologique de Fagara zanthoxyloïdes, lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, p 133.
- 22-Gonzalez, A. G; Estevez-Braun, A. (1997). Coumarins, Nat. Prod. Reprod, 14: 465-475.
- 23-Kansole, M.M.R. (2009). Etude ethnobotanique, phytocuimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de Leucas martinicansis (Jacquin) R. Brown,
- 24-Hemingway, R.W. (1992). Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: Lpant polyphenols: synthesis, proprieties, significande. Laks P.E, Hemingway R.W New York.
- 25-Cavin, A. (1999). Investigation phytochimique de trios plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires: Tinos poracispa (Menispermacées), Merremia emarginata (Convolvalacées) et Oropea enneanda (Annonacées). Thèse de doctorat Lausanne, p 241.
- 26- Guingard, J. (1996). Biochimie végétale, Ed. Lavoisier, Paris, p 175-192. UE PHR.
- 27- Bessas, A; Benmoussa, L; Kerarma, M. (2007). Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie
- Rubiaceae. S.R. J.D. **28-**Hemingway, and Phillipson, Alkaloids ofthe M.H. In:J.D.Phillipson and Zenk (Eds.), Indole and *Biogenetically* RelatedAlkaloids. Academic Press, (1980) London, pp. 62-90.

- **29-** Bruneton J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris, 4^{eme} Edition Lavoisier (**2009**).
- 30-Cowan Marjorie Murphy. Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews 1999; Volum 12 Number 4: 564-582.
- **31-**Roberts, M.F. et Vink, M. *Alkaloids. Biochemistry, ecology, and medicinal applications*, Plenum Press, New York (1998).
- **32-** Waller, G.R. and Nowacki, E.K. *Alkaloids Biology and Metabolism in plants*. Plenum Press, New York, **(1978)** 294 p.
- 33-S. S. Herodez, M. Hadolinb, M. Skergeta and Zeljko Knez, Solvent extraction study of antioxidants from Balm (Melissa officinalis L.) leaves, Food Chemistry, 80 (2003) 275–282.
- 34-M.D. Luque de Castro and L.E. Garcia-Ayuso, Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future, Analytica Chimica Acta 369 (1998) 110.
- 36- Handa Sukhdev Swami, Khanuja Suman Preet Singh, Longo Gennaro, Rakesh Dev Dutt. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International centre for science and high technology, Trieste, 2008, 21-25
- 37-D. Grigonis, P.R. Venskutonis, B. Sivik, M. Sandahl and C.S. Eskilsson, Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (Hierochloë odorata), The Journal of Supercritical Fluids, 33 (3) (2005) 223-233.
- 38-T. S. Reighard and S. V. Olesik, Bridging the Gap Between Supercritical Fluid Extraction and Liquid Extraction Techniques: Alternative Approaches of the Extraction of Solid and Liquid Environmental Matrices, Critical Reviews in Analytical Chemistry, 26 (2&3) (2006), 1-39.
- 39-A. P. Carnat, A. Carnat, D. Fraisse, L.Ricoux and J. L. Lamaison, The aromatic and Polyphenolic composition of lemon balm (Melissa officinalis L. subsp.Officinalis) tea, Pharmaceutica Acta Helvetiae, 72 (5)(1998), 301-305
- 40-Paris R.R, Moyse H., 1965, Précis de matière médicale, Tome 1, Masson et Cie, Editeurs.

- 42-Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD (2008) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology,
- 43-Jones WP, Kinghorn AD (2005) Extraction of plant secondary metabolites. In: Sarker SD, Latif Z, Gray AI (eds) Natural Products Isolation, vol 20. Methods in Biotechnology. Humana Press, Totowa, pp 323-351
- 44-G. Sripad, V. Prakash and M. S. Narasinga Rao. Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. J. Biosci. Vol. 4. (1982). pp. 145-152.
- 45-Liang Y-Z, Xie P, Chan K (2004) Quality control of herbal medicines. Journal of Chromatography B 812 (1-2):53-70
- 46-Jing D, Deguang W, Linfang H, Shilin C, Minjian Q (2011) Application of chemometrics in quality evaluation of medicinal plants. Journal of Medicinal Plants Research 5 (17):4001-4008
- 47-Halket JM, Waterman D, Przyborowska AM, Patel RKP, Fraser PD, Bramley PM (2005) Chemical derivatization and mass spectral libraries in metabolic profiling by GC/MS and LC/MS/MS. Journal of Experimental Botany 56 (410):219-243.
- 48- . Adjanohoun E, Aké Assi L (1979) Contribution au recencement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire, vol 1. Centre Nationale de Floristique, Université d'Abidjan-Cocody, Abidjan.
- 49. Perrey F, Staub H, Goetz P (2004) Monographie médicalisée : Kinkeliba, *Combretum micranthum* G. Don ou *Combretum raimbauldii* (Combrétacées). Phytothérapie 3:82-84
- 50. Welch CR (2010) Chemistry and pharmacology of Kinkéliba (*Combretum micranthum*), a west African medicinal plant. Ph D Graduate Program in Medicinal Chemistry, University of New Jersey, New Brunswick
- 51. Ekpendu TOE, Adesomoju AA, Ekundayo O, Okogun JI, Laakso I (1993) Constituents of the volatile oil of *Mitracarpus scaber* Zucc. Flavour and Fragrance Journal 8 (5):269-271
- 52. Makambila-Koubemba M-C, Mbatchi B, Ardid D, Gelot A, Henrion C, Janisson R, Abena AA,Banzouzi J-T (2011) Pharmacological studies of ten medicinal plants used for analgesic purposes in Congo Brazzaville. International Journal of Pharmacology 7:608-615

- 53-N. Dohou et coll 2003, screening phytochimique d'une endémique ibéromarocaine, thymelaea lythroides, bull. soc. pharm. bordeaux, 2003, 142, 61-78
- 54-mamadou BADIGA(2012) Etude ethnobotanique ,phytochimique et activites biologiques de Nauclea latifolia Smith ,une plante africaine recolte au MALI. these en chimie organique ,bamako .
- 55-Gao M, Liu C-Z (2005) Comparison of techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of Saussurea medusa Maxim. World Journal of Microbiology and Biotechnology 21 (8-9):1461-1463
- 56- Plesa C, Hadaruga D, Hadaruga N, Branic A, Ardelean A, Lupea A (2011) Juniperus communisand Juniperus virginiana hydrophobic extracts: a multivariate analysis approach. Revista de Chimie 62 (9):941-946
- 57-Wang L, Weller CL (2006) Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends in Food Science & Technology 17 (6):300-312
- 58- Melecchi MIS, Martinez MM, Abad FC, Zini PP, do Nascimento Filho I, Caramão EB (2002) Chemical composition of Hibiscus tiliaceus L. flowers: A study of extraction methods. Journal of Separation Science 25 (1-2):86-90
- 59-Bouzid w.,M.yahia 1,M.Abdeddam,M.C.Aberkane et Ayachi (2011),Evaaluation de lactivité antioxydant et antimicrobiene des extraits de l'aubepine monogyne
- 60 -Clémentine Bonnaillie, Mathieu Salacs, Elena Vassiliova, Ilonka Saykova, Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (Arachis hypogaea L) Revue de génie industriel 2012, 7, 35-45
- 61-HENEMAN Karrie, ZIDENBERG-CHERR Sheri, Some facts about phytochemicals, Nutrition and Health Info Sheet, 2008, p. 1
- 62-TIWARI Prashant, KUMAR Bimlesh, KAUR Mandeep, KAUR Gurpreet, KAUR Harleen, Phytochemical screening and Extraction: A Review, Internationale Pharmaceutica Sciencia, 2011, Volum 1, Chapter 1, p. 98
- 63-Hildebert Wagner, Sabine Bladt, Eva Maria Zgainski. Springer-Verlag, 1984 .*Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. Front Cover.
- 64- Séverine BRUNET ;2008, Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants, thèse doctorat de l'université de Toulouse, Pathologie et Nutrition

- **65-** Green RJ (2004). Antioxidant Activity of Peanut Plant Tissues. Masters Thesis. North Carolina State University. USA
- 66- MAHMOUDI Souhila et coll ., 2012, etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynara scolymus L.)
- 67. Huie C (2002) A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. Analytical and Bioanalytical Chemistry 373 (1-2):23-30
- 68. Wang L, Weller CL (2006) recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends in Food Science & Technology 17 (6):300-312
- 69- Nadia BOUSSETTA, 2010, Intensification de l'extraction des polyphénols par électrotechnologies pour la valorisation des marcs de Champagne, thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur de l'UTC université de technologie de Compiègne, Génie des procédés industriels
- 70-GOBBI RABIA et KHEBBAZ WARDA, 2014, traçabilité de l'identification des métabolites secondaires végétaux.
- 71-Z. Mohammedi and F. Atik. Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from Tamarix aphylla (L.) karst. Inter. J. Pharma. Bio. Sci. Vol. 2. (2011). pp. 609-615.
- 72-Trabelsi N, Megdiche W, Ksouri R, Falleh H, Oueslati S, Bourgou S, Hajlaoui H, Abdelly C (2010)Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte Limoniastrum monopetalumleaves. Food Sci Tech 43: 632-639.

Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments a base de plantes

ANNEXES

ANNEXE 1

Préparation du Réactif de Dragendorf selon Munier

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.

ANNEXE 2

Préparation du Réactif de Chlorure de Fer III (FeCl₃) dans l'acide chlorhydrique (HCl)

Pour la préparation de ce réactif, il faut avant, préparer l'acide chlorhydrique à 0,5 N. Ensuite, dissoudre 5g de chlorure de fer III dans la solution d'acide chlorhydrique à 0,5 N.

Ainsi est donc obtenu le réactif de chlorure de fer III.

ANNEXE 3

Préparation du Réactif d'Anisaldéhyde sulfurique

Ajouter successivement 0,5 ml d'anisaldéhyde, 10 ml d'acide acétique glacial, 85 ml de méthanol et 5 ml d'acide sulfurique concentré.

ANNEXE 4

Préparation du Réactif d'Aluminium chlorure (AlCl₃)

Il s'agit donc d'une solution de chlorure d'aluminium à 1% dans l'éthanol.

ANNEXE 5

Préparation du Réactif de Fer(III) chlorure (FeCl₃)

Il s'agit d'une solution aqueuse à 10% de Fer(III) Chlorure.

ANNEXE 6

Préparation du Réactif de BORNTRAGER Potassium hydroxyde ethanolique (KOH)

C'est une solution éthanoïque à 10% de potassium hydroxyde.

ANNEXE 7

Préparation du Réactif de Liebermann Bouchard

Pour la préparation de ce réactif, il faut procéder à un mélange à volume égal d'acide sulfurique et d'anhydride acétique (5 ml). A cette solution, on ajoute 50 ml d'éthanol absolu. La préparation est effectuée à froid dans un bac contenant de la glace.

ANNEXE 8

Préparation du Réactif d'Antimoine(III) chlorure-acide acétique cristallisable

Dissoudre 20 g de chlorure d'antimoine(III) dans un mélange de 20 ml d'acide acétique cristallisable et de 60 ml de chloroforme. Pulvériser la plaque. Traitement complémentaire : Chauffer pendant 5 minutes à 100° C

RESUME

Les médicaments à base de plantes, élément essentiel des soins de santé partout dans le monde depuis les premiers jours de l'espèce humaine, sont encore largement utilisés et ont une importance considérable dans le commerce international.

La reconnaissance de leur valeur clinique, pharmaceutique et économique continue de croître.

Du fait de leur énorme expansion les autorités sanitaires et le grand public accordent beaucoup d'importance au contrôle de la qualité des médicaments à base de plantes.

Mais le contrôle de la qualité de ces médicaments est difficile, car ils contiennent des composés qui diffèrent largement dans leur nature chimique et la quantité.

L'extraction d'un plus grand nombre de composés phytochimiques en une seule étape constitue un bon outil pour l'évaluation de la qualité des médicaments à base de plantes.

Dans le souci d'apporter des solutions aux problèmes de contrôle de la qualité des médicaments à base de plantes, nous avons jugé utile de comparer la procédure d'extraction par mise en contact direct avec un solvant ou mélange de solvants et la procédure d'extraction successive avec des solvants de polarité croissante.

Notre objectif général est de proposer des procédures d'extraction globale, simples et efficaces des composés phytochimiques.

Cette étude nous a permis de savoir que :

-Au plan qualitatif

L'extraction successive avec un solvant apolaire et un mélange hydro-alcoolique a permis d'isoler plus de composés phytochimiques.

-Au plan quantitatif

L'extraction par mise en contact du matériel végétal avec le mélange chloroformeméthanol-eau à la plus grande teneur en composés phytochimiques. Considérant l'ensemble des résultats obtenus, l'extraction successive avec le chloroforme et le mélange méthanol/eau est la meilleure.

Mais la différence entre ces deux procédures est négligeable. Cependant l'extraction par mise en contact avec un mélange de solvants en termes temps d'extraction, de rendement, et de simplicité de réalisation est meilleure.

Mots clés : phytomédicaments, évaluation, procédure, extraction globale