

MINISTERE DE L'EDUCATION

UNIVERSITE DE BAMAKO

FACULTE DE MEDECINE DE

PHARMACIE

ET D'ODONTOSTOMATOLOGIE

BP :1805 BAMAKO

REPUBLIQUE DU MALI
UN PEUPLE-UN BUT-UNE FOI

Année universitaire 2002-2003

N°

**CONTRIBUTION A L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE
TRADITIONNELLEMENT UTILISEE COMME POISON D'EPREUVE AU
GABON: LE STRYCHNOS ICAJA BAILLON (MBUNDU) ; LOGANIACEE**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 11/12/03

Devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie

Par

Mlle REINE-RAÏSSA AWORET SAMSENY

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

JURY

PRESIDENT

Pr Moussa Harama

MEMBRES

Dr Samba Diop

Dr Fanta Traoré

CODIRECTEUR

Dr Drissa Diallo

DIRECTEUR

Pr Gassita

**“ Le jour où je t’ai invoquée, tu m’as exaucée, tu
m’as rassurée, tu as fortifié mon âme.
Quand je marche au milieu de la détresse, tu me
rends la vie, tu étends ta main sur la colère de mes
ennemis, et ta droite me sauve.”**
(Psaume 138 verset 3 et 7)

DEDICACES

A la mémoire de mon arrière-grand-mère, **Emilie**
Okèlè dont la sagesse m'a toujours éclairée

▶ A mes parents **Pierre Louis Aworet Taïka** et **Christiane Okili Samseny** : merci pour m’ avoir donné la vie et soutenu tout au long de mes études, merci pour vos précieux conseils, sans votre soutien ce travail n’ aurai pu voir le jour. Puisse Dieu vous accorder longue vie pour goûter aux fruits de vos efforts.

▶ A mes grands-mères **Simone Ininda** et **Denise Idembet** : témoignage de ma très grande affection

▶ A ma grand-mère **Christine Djandja**, ma Tante **Pierrette Makosso** et mon oncle **Armand Ntchougoussono** : merci pour votre soutien. Sans vous je n’ aurai pu entamer mes études au Mali

▶ A mon oncle **Guy Mbesot** : merci pour ta disponibilité et ton soutien tout au long de mes études.

▶ A mes sœurs **Muriel** et **Olivia** : merci pour votre participation, puissiez-vous enfin trouver un emploi à la hauteur de vos espérances.

▶ A mes sœurs **Ornella** et **Emiliana** : sachez que seule votre volonté vous permettra d’ aller plus loin dans vos études.

▶ A mon frère **Denis** : malgré toutes les difficultés rencontrées, je suis allée jusqu’ au bout de mon rêve. Qu’ il en soit de même pour toi. Seules la persévérance, la confiance en soit et l’ amour de ce qu’ on fait permettent de surmonter tous les problèmes. Reprend courage car il n’ est jamais trop tard pour bien faire.

▶ Au benjamin **Valery** : tu es certes encore très jeune, mais sache que les bonnes habitudes se prennent dès à présent.

▶ A **Gilou** : merci pour ta participation, tu rends toujours service avec spontanéité. Puisse tu un jour comprendre que toi seul est l’ artisan de ton avenir.

▶ A mon grand-père le Dr **Edmond Duboze** : merci pour ta disponibilité, ta collaboration et tes précieux conseils.

▶ A vous **Stéphane, Bede, Alain et Iness** : j'adresse également mes vifs remerciements pour votre disponibilité.

▶ A toi **Bernard-Landry** : merci pour ton soutien tout au long de mes études universitaires, pour ta disponibilité et tes conseils. Ce travail nous l'avons réalisé pratiquement ensemble et malgré ton propre mémoire à préparer tu as toujours trouvé du temps à m'accorder.

▶ A mon enfant à venir, c'est avec joie que je clôture cette étape universitaire pour m'ouvrir à celle de mère et t'accueillir dans ce monde.

▶ A mon pays le Gabon qui m'a fait bénéficier d'une bourse d'études au Mali, toute ma reconnaissance et tous mes remerciements.

▶ A ma deuxième patrie le Mali, qui m'a accueillie et où j'ai pu réaliser mon rêve d'initier mes études pharmaceutiques.

▶ A tous mes camarades auprès de qui j'ai partagé avec plaisir ces quelques années dans une enrichissante diversité culturelle que représentait notre promotion.

▶ A tout ceux qui m'ont apportée leur soutien durant mon séjour en terre malienne, j'adresse mes plus vifs remerciements.

NOS REMERCIEMENTS LES PLUS SINCERES

▶ Au Directeur de l'IPHAMETRA (Institut de Pharmacopée et de Médecine Traditionnelles), Mme **Nzé** qui nous a facilité l'accès à l'Institut

▶ A M. **Ignounga**

▶ A M. **Mathouet** pour sa disponibilité

▶ Au conservateur de l'Herbier National du Gabon, le Dr **Bourobou**

▶ A tous les chercheurs, les techniciens et le personnel de l'Herbier et de l'IPHAMETRA

▶ A M. **Mintsa**

▶ A tout mes professeurs de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie de l'Université de Bamako, témoignage de mon profond respect et de ma gratitude

▶ A **Michel Frédérich**, collaborateur scientifique à l'Université de Liège, pour nous avoir fourni la bibliographie

▶ A M.**Kassim Coulibaly** ainsi qu'à tout le personnel de la DMT et du service animalier du CNAM

AUX MEMBRES DU JURY

A notre maître et Président du jury

Professeur Moussa Harama, chargé des cours et TP de chimie organique, des cours et TP de chimie analytique quantitative, responsable de l'enseignement de chimie organique. Nous avons suivi avec un intérêt tout particulier vos cours. Aujourd'hui vous avez bien voulu accepté de juger notre travail. Veuillez agréer l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre maître et juge

Dr Samba Diop, Ms.c Ph.D en éthologie-écologie humaine, Anthropologie et Ethique publique au département de Santé publiques Biostatistique-épidémiologie et Anthropologie médicale à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie de l'Université de Bamako. Vous nous faites un grand honneur en acceptant de siéger à ce jury. Nous sommes touchés de la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de participer à ce jury. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre maître et juge

Dr Kamissoko Fanta Traoré, Ph.D en Maladies Tropicales et Pathologies Transmissibles, maître assistant au DEAP. Nous sommes honorés de la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de participer au jury de cette thèse. Votre simplicité, votre esprit de collaboration et vos valeurs morales constituent pour nous une source d'inspiration. Nous vous prions, cher maître, d'accepter l'expression de notre profond respect.

A notre maître et codirecteur de thèse

Docteur DRISSA DIALLO, Chef du Département de Médecine Traditionnelle de l'I.N.R.S.P

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de codiriger notre travail. L'occasion nous est donnée de vous exprimer notre gratitude pour la qualité de votre enseignement qui nous restera toujours profitable.

Nous vous prions d'agréer l'expression de notre gratitude pour la formation professionnelle que vous nous avez dispensé. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

A notre maître et directeur de thèse

Professeur Jean Noël Gassita, Pharmacien, Professeur de pharmacognosie et de pharmacologie. Tout au long de ce travail vous nous avez montré la confirmation de votre connaissance du domaine des plantes. Par votre dévouement pour la recherche vous avez contribué de manière objective à l'élaboration de cette thèse, en nous faisons bénéficier de vos conseils et de votre expérience. Veuillez trouver ici l'expression de nos remerciements les plus chaleureux.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	13
1. Motivations	
2. Objectifs	
LIEU D'ETUDE : LE GABON	15
1.Situation géographique	15
2. La végétation	17
3.La population	17
4.Situation économique	19
PREMIERE PARTIE : ETUDE BOTANIQUE	
I. ETUDE BOTANIQUE	21
1.Généralités sur la famille des Loganiacées	21
2.Strychnos <i>icaja</i>	21
2.1 Description botanique	21
2.2 Répartition géographique et habitat	28
2.3 Noms locaux	28
3. Contrôle botanique	29
3.1 Matériel végétal	29
3.2 Echantillons conservés à l'Herbier	29
3.3 La plante	31
II EPREUVE DU MBUNDU	34
1. L'ordalie	34
2. Usages	35

DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX ANTERIEURS ET PERSONNELS

I TRAVAUX ANTERIEURS SUR LE STRYCHNOS <i>icaja</i> du CONGO-ZAÏRE	38
1. Toxicologie	44
2. Pharmacologie	46
3. Essais antipaludiques	46
II TRAVAUX PERSONNELS SUR LE STRYCHNOS <i>icaja</i> DU GABON	50
1. RECHERCHES CHIMIQUES PRELIMINAIRES	50
PROTOCOLE UTILISE	50
1.1 Alcaloïdes	50
1.1.1 Solution à analyser	50
1.1.2 Caractérisations	50
1.1.2.1 Réactions de précipitation	51
1.1.2.2 Alcaloïdes des solanacées mydriatiques	51
1.2 Substances polyphénoliques	51
1.2.1 Les tanins	51
1.2.1.1 Solution à analyser	51
1.2.1.2 Caractérisations	51
1.2.2 Les flavonoïdes	52
1.3 Dérivés anthracéniques	53
1.3.1 Solution à analyser	53
1.3.2 Caractérisations	53
1.4 Stérols et terpènes	54
1.4.1 Extrait	54
1.4.2 Caractérisations	54
1.5 Hétérosides cardiotoniques	55
1.5.1 Solution à analyser	55
1.5.2 Caractérisation	55
1.6 Saponosides	56
1.6.1 Décocté à 1%	56

1.6.2 Caractérisations	56
1.7 Composés réducteurs	56
1.8 Oses et holosides	57
1.9 Mucilages	57
1.10 Coumarines	
1.11 Détermination de la teneur en eau : méthode pondérale	57
1.12 Détermination de la teneur en substances extractibles par l'eau	58
1.13 Détermination du poids de l'extrait sec	58
2. EXTRACTION ET DOSAGE DES ALCALOÏDES TOTAUX	58
3. IDENTIFICATION DES ALCALOÏDES PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE	58
3.1 Séparation des constituants	59
3.2 Essai de séparation par chromatographie préparative	59
3.2.1 Couche mince de silice (Kieselgel G.Merk)	59
3.2.2 Couche mince de silice tamponnée à la soude	60
4. ESSAI DE TOXICITE AIGUË CHEZ LA SOURIS	60
TROISIEME PARTIE :RESULTATS	
1. COLLECTE DES DONNEES	
2. ENQUÊTES PERSONNELLES AUPRES DE CERTAINS TRADIPRATICIENS	62
3. RECHERCHES PRELIMINAIRES	66
3.1 Poudre de feuilles	66
3.2 Poudre de racines	67
3.3 Poudre de tiges	68
3.4 Détermination de la teneur en eau : méthode pondérale	69
3.5 Détermination de la teneur en substances extractibles par l'eau	69
3.6 Détermination du poids de l'extrait sec	69

4. IDENTIFICATION DES ALCALOÏDES TOTAUX PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE	70
5. ESSAI DE TOXICITE AIGUË CHEZ LA SOURIS	72
6. PHOTO DES TESTS	73
-COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS	77
-CONCLUSIONS	79
-BIBLIOGRAPHIE	81
-TABLEAUX D'ILLUSTRATIONS	84
- PHOTOS D'ILLUSTRATIONS	85

Abréviations

CCM : Chromatographie sur couche mince

CF₁, OF₁ : Carworth Farms souche 1, dénomination Oncins France

DL₅₀ : Dose létale 50

DL₉₀ : Dose létale 90

IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50

IC₉₀ : Concentration inhibitrice 90

FCA : Fraction du *Plasmodium falciparum*

F32 : Fraction du *Plasmodium falciparum*

KB : Lignée cellulaire humaine du cancer

WI : Fibroblastes humains

Nb : Nombre d'expériences

PIB : Prix intérieur brut

SI : Index de sélectivité

Sc : Sous cutanée

SNC : Système nerveux central

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le Gabon est situé à cheval sur l'équateur. Il a une superficie de 267.667 kilomètres carrés avec une forêt qui recouvre 80% du territoire. Cette forêt contient de multiples essences qui sont utilisées par les populations à des fins thérapeutiques pour prévenir ou guérir certaines affections. La majorité de ces populations a foi en la médecine traditionnelle, certaines personnes l'utilisent en toute exclusivité tandis que d'autres l'adoptent en complément de la médecine moderne. Elle concerne le traitement des affections courantes et présente une alternative aux échecs de la médecine moderne. En plus de ces utilisations, beaucoup attribuent des propriétés magico-médicales à certaines espèces qui sont utilisées non seulement lors des différentes cérémonies rituelles (mariage, deuil, initiation, etc.) mais également pour traiter des affections telles que les envoûtements, les sortilèges, le mauvais œil, etc. D'une façon générale la médecine traditionnelle est autant utilisée aujourd'hui qu'elle ne l'était autrefois; ce en dépit de l'essor de la médecine moderne, et surtout depuis l'apparition de "maladies dites incurables". D'où notre intérêt pour le *Strychnos icaja* qui est une plante fréquemment utilisée par les populations qui lui attribuent des propriétés thérapeutiques et magico-médicales (Neuwinger, 1996). Le *Strychnos icaja* a fait l'objet de plusieurs études notamment sur les alcaloïdes : l'icajine ; la vomicine ; le 19,20- α -époxinovacine ; 19,20- α -époxy,15-hydroxynovacine ; la strychnine ; l'isostrychnine ; le bisnordihydrotoxiferrine ; la sungucine ; l'isosungucine ; 18-hydroxysungucine ; 18-hydroxyisosungucine ont été isolés des racines de *Strychnos icaja* du Congo par Frédérick et al en 2000.

1. MOTIVATIONS

Ce travail a été motivé par :

- L'absence sur le plan national de travaux phytochimiques et pharmacologiques sur le *Strychnos icaja* du Gabon
- L'utilisation de la racine du *Strychnos icaja* dans le traitement des hémorroïdes
- L'emploi de la racine comme poison d'épreuve et comme protection

2. OBJECTIFS

2.1 Objectif général

Notre objectif général sera d'évaluer la composition chimique du *Strychnos icaja* et de réaliser un essai de toxicité aiguë chez la souris.

2.2 Objectifs spécifiques

Nos objectifs spécifiques seront :

- de recenser les différents usages traditionnels
- de déterminer la teneur en alcaloïdes totaux des feuilles, des tiges et des racines
- d'identifier les groupes chimiques présents dans le *Strychnos icaja*
- de déterminer la toxicité aiguë chez la souris d'un extrait aqueux des racines

LIEU D 'ETUDE : LE GABON

1- Situation géographique

Le Gabon est situé au centre du continent africain, sa côte Ouest débouche sur l'océan atlantique. Il est limité :

- Au Nord-Ouest par la Guinée-Équatoriale,
- Au Nord par le Cameroun,
- A l'Est et au sud par le Congo

Il est situé à cheval sur l'équateur avec une superficie de 267 667 km². Les critères de distinction des régimes climatiques du Gabon sont fonction de la distribution et du rythme des précipitations. On distingue trois principaux types de climat selon les régions :

- Le climat équatorial
- Le climat équatorial de transition de la zone centrale,
- Le climat équatorial du sud-ouest et du littoral centre atlantique.

Le climat essentiellement tropical chaud, humide et pluvieux est caractérisé par deux saisons bien nettes :

- La saison des pluies, la plus chaude (d'octobre en mai)
- La saison sèche (de mai en septembre).

(Reitsma, 1988)



FIGURE n°1 :CARTE ADMINISTRATIVE DU GABON

■ Principales villes du Gabon

www.Ndong.com/gabon_fr/cartes/cartes.html

2. La végétation

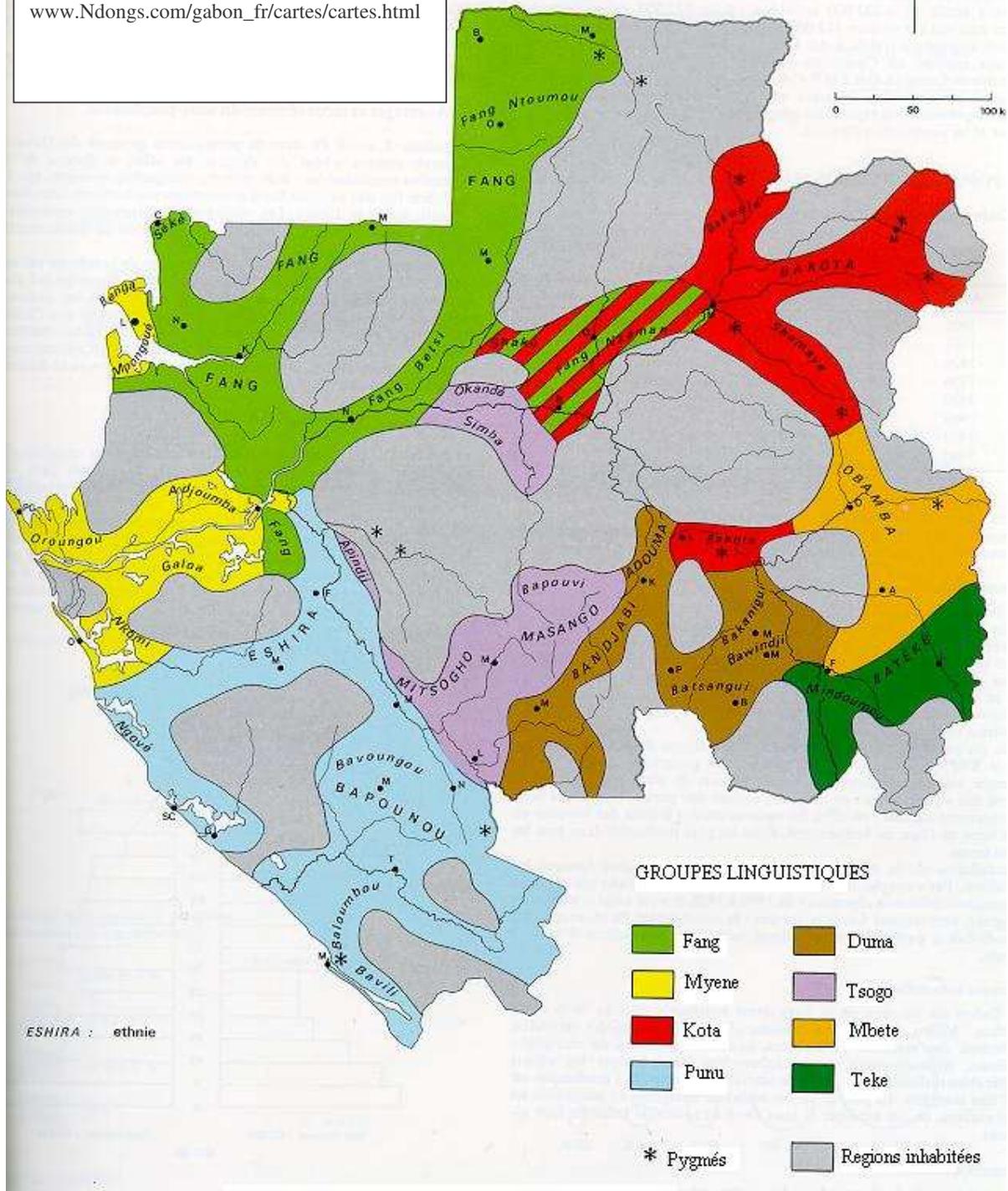
La forêt couvre 85% de la surface du Gabon avec 15% de savanes. A l'exception de marges à l'est et au sud du pays, cette forêt est sempervirente. C'est une forêt secondaire jeune que l'on observe le plus souvent aux abords des pistes, sur des terrains anciennement défrichés. Tandis que sur le littoral la mangrove couvre de vastes superficies de vases marines, là où la mer est peu profonde et peu agitée, dans le nord-est et dans le delta de l'*ogoué* on rencontre des grandes étendues de forêt inondée ou marécageuse (Reitsma, 1988). Quant aux savanes et aux formations herbeuses assimilées, elles forment des "plaines" qui ponctuent le littoral, la partie moyenne de l'*ogoué* (Lopé) ou couvrent de plus vastes domaines au sud (plaines schisto-calcaires du synclinal de la Nyanga) et au sud-est (Haut Ogooué).

3. La population

Le Gabon fait partie des pays les moins peuplés de l'Afrique. Sa population, estimée à 1.225.000 habitants (année 1999), se compose d'une soixantaine d'ethnies où les Fang prédominent. Cette population se concentre dans les grandes agglomérations (Libreville, Port-Gentil), les zones de Franceville et la région agricole du Woleu-Ntem. Certaines régions sont pratiquement inhabitées (Mont de cristal, marécages du delta de l'Ogooué). Ce déséquilibre est dommageable car des zones entières de ce pays richement doté en ressources naturelles restent ainsi inexploitées. La croissance des villes est spectaculaire. La capitale, Libreville compte 400 000 habitants, Port-Gentil 164 000 habitants, Franceville 75 500 habitants (année 1999). 96,2 % des Gabonais sont chrétiens dont 65,2 % catholiques, 18,8 % protestants, 12,1 % fidèles appartenant aux églises dites pentecôtistes et charismatiques. Les adeptes des religions traditionnelles sont estimés à 2,9 % et les musulmans à 0,8 %.

La langue administrative officielle est le français. Les principales langues parlées sont : le Fang, l'Omyènè, l'Ipunu, le Bandjabi, le Téké etc. (Réf 19).

FIGURE N°2 :
 CARTE ETHNOLINGUISTIQUE
www.NdongS.com/gabon_fr/cartes/cartes.html



4- Situation économique

Le Gabon bénéficie d'un revenu par habitant deux fois plus élevé que la plupart des pays de l'Afrique subsaharienne. L'économie gabonaise dépendait pendant assez longtemps de l'exploitation du bois et du manganèse jusque dans les années 1970, puis du pétrole lors de sa découverte au large des côtes gabonaises mais depuis l'exploitation, au large des côtes gabonaises le secteur pétrolier occupe plus de 50% du PIB de l'économie gabonaise. On note une légère augmentation de ce taux en 1991 et le Gabon doit continuer de faire face aux variations incessantes du prix du pétrole, du bois, du manganèse et de l'uranium. En dépit d'une abondance de richesses naturelles et d'une population peu nombreuse, le Gabon à une faible économie du fait d'une gestion fiscale précaire. Les richesses naturelles sont représentées par le pétrole, le bois, le charbon, le phosphate, l'or, le gypse, le calcaire, le molybdène, le tungstène, le lithium, le cuivre, le plomb, le fer, etc. Les exportations concernent le pétrole, le bois, le cacao, l'huile de palme et l'huile d'arachide. La dévaluation du franc CFA de 50 % du 12 janvier a provoqué une spirale inflationniste de 35 %, ce taux est tombé à 6 % en 1996 (www.Ndong.com/gabon_fr/cartes/cartes.html).

.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BOTANIQUE

I- ETUDE BOTANIQUE

1. Généralités sur la famille des Loganiacées

La famille des Loganiacées comprend 7 genres : *Anthocleista*, *Mitreola*, *Mostuea*, *Nuscia*, *Spigelia*, *Strychnos*, *Usteria*. Se sont des arbres, des arbustes ou des lianes aux feuilles presque toujours opposées, simples ; les stipules peuvent être présentes ou absentes. Les inflorescences sont paniculées, corymbeuses ou parfois capituliformes. Les fleurs bisexuées sont généralement actinomorphes, subactinomorphes (*Mostuea*) ou zygomorphes (*Usteria*). Les sépales valvaires ou imbriqués possèdent une corolle tubuleuse avec 4 à 16 lobes, contortés, imbriqués ou valvaires. Les étamines insérées sur la corolle sont au même nombre que les lobes de la corolle et alternant avec eux. Exceptionnellement une seule (*Usteria*) présente des anthères à deux loges s'ouvrant par une fente longitudinale. L'ovaire supère a 1 à 4 loges avec un style simple ; les ovules sont en petit nombre ou nombreuses, rarement une seule, elles sont axiles ou presque basilaires. Les fruits sont des capsules, des baies ou des drupes. Les graines parfois ailés présentent un embryon droit, situé au milieu d'un endosperme charnu ou cartilagineux (Aubreville A et Jean F 1972).

2. *Strychnos icaja*

2.1 Description botanique

La liane peut atteindre une hauteur de 20 à 40 m et une longueur de 20 à 100 m avec une tige de 4 à 15 cm de diamètre. L'écorce grise pâle à brun foncé présente de grandes lenticelles assez minces et de couleur bois crème aux rameaux souvent ramifiés en ombrelle (lenticelle ou non) et de petits rameaux glabres non-lenticelles, cylindriques, sillonnés ou non à l'état sec ; les vrilles sont solitaires et généralement situées dans l'ombrelle de ramification des rameaux (Figures n°4p23 ; n°8p25 ; n°9p26). Les feuilles sont à pétiole glabre de 4 à 12 mm de longueur et le limbe habituellement vert foncé est luisant sur les deux faces, coriace, ou parcheminé au soleil, papyracé ou mince-coriace à l'ombre même sur le vif, elliptique, étroitement elliptique, étroitement ové ou parfois ové de 5 – 15 x 2 – 7 cm (chez les jeunes plants en sous-bois forestier jusqu'à 23 x 13 cm) il est acuminé, apiculé ou, à l'ombre, caudé au sommet, cuné ou arrondi à la base, glabre sur les deux faces. Une paire de nervures

secondaires courbées le long de la marge atteint le sommet. La nervation tertiaire réticulée est proéminente sur les deux faces pour des feuilles sèches (Figures n°10p26; n°11p27). Les inflorescences axillaires sont groupées ensemble, lâches, pauci ou multiflores, de 3 à 7 x 2 à 6 cm. Le pédoncule et les rameaux minces sont glabres comme les pédicelles et les fleurs sont 4-mères. Les sépales vertes-pâles sont soudées sur les 2/5 de leur hauteur et sont largement ovées à suborbiculaires, de 0,4 à 1 x 0,4 à 1 mm, arrondies, obtus ou subtronquées, à peine, ou non ciliées et sont glabres sur les deux faces. La corolle dans le bouton mûr mesure 2,2 à 2,5 mm de longueur, elle est jaune-verdâtre ou blanche-jaunâtre, et glabre sur les deux faces ou à l'intérieur pubescente à la base de lobes ; le tube est court et large ; les lobes oblongs à presque ovés sont 2,5 fois plus longs que le tube de 1,6 à 1 x 1 à 1,2 mm, aigus, étalés. Les étamines exsertes, insérées à la gorge de la corolle, à filet court sont 0,5 à 1 fois plus longues que l'anthère ; l'anthère est suborbiculaire et glabre. Le pistil glabre, de 1 à 1,4 mm de longueur avec une ovaire globuleuse, longue de 0,5 à 0,6 mm avec 2 loges ; le style court de 0,4 à 0,8 mm de longueur possède un petit stigmate qui peut contenir 3 à 9 ovules par loge. Les fruits non mûrs vert-foncés puis jaune-foncés sont petits, tendres, et subglobuleux, de 2,5 à 3 cm de diamètre et contiennent une graine à paroi pince avec une graine ellipsoïde de 16 à 2 x 15 à 20 x 9 à 15 mm et un testa laineux, caduc, collant à la pulpe (Figure n°13p29) (Aubreville A et Jean F 1972)



FIGURE n°3 : Photo du feuillage d'un *Strychnos icaja*



FIGURE n°4 : Photo de l'ensemble de la liane d'un *STRYCHNOS icaja* adulte, récoltée dans la Forêt Classée de MONDAH.



FIGURE n°5: Photo des jeunes plants de STRYCHNOS icaja récoltés dans la Forêt Classée de MONDAH.



FIGURE n°6: Photo d'une pousse de STRYCHNOS icaja dans son milieu naturel (Forêt Classée de la MONDAH au Gabon), premières feuilles



FIGURE n°7: Photo d'une plant de STRYCHNOS icaja en pleine croissance dans la Forêt Classée de la MONDAH au Gabon.

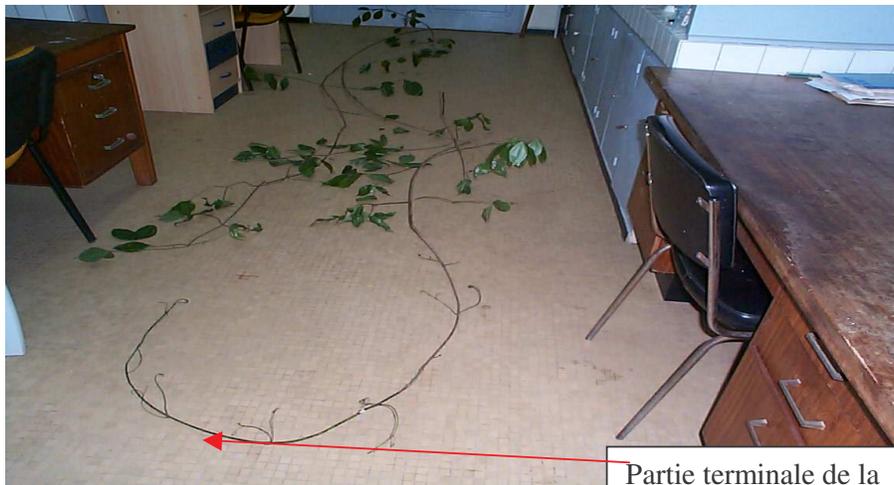


FIGURE n°8: Photo de la partie terminale du STRYCHNOS icaja



FIGURE n°9: Photo d'un élément d'accrochage d'un *Strychnos icaja*



FIGURE n°10 : Photo des dimensions des jeunes feuilles de *Strychnos icaja*



FIGURE n°11 : Photo d'un zoom sur les feuilles d'un *Strychnos icaja* adulte



FIGURE n°12 : Photo de la racine d'un *Strychnos icaja* adulte

2.2 Répartition géographique et habitat

Le *Strychnos icaja* Baillon se rencontre dans les forêts d'Afrique Centrale (Congo, Cameroun, Rwanda, Gabon). C'est une plante des forêts denses et secondaires (Réf 3)

2.3 Noms locaux

le *Strychnos icaja* Baillon, est connu sous les noms vernaculaires :

- *Ikaza* (Mpongwè)
- *Ikadja kwai* (Benga)
- *Kasé* (Bakèlè)
- *Mbundu* (Galoa, Nkomi, Oroungu, Ngowé, Eshira, Bavarama, Bavoungou, Bapunu, Balumbu, Bavili, Baduma, Banzabi, Loango, Masangu, Mindumu)
- *Mbondo* (Ivéa, Bavové, Bakota)
- *Moléla* (Apindji)
- *Mvéya* (mitsogo)
- *Bilon* (Fang)

(Walker A, Sillans R 1961)

3. Contrôle botanique

3.1 Matériel végétal

La récolte a été effectuée entre janvier et mai 2003. Les plantes ont été récoltées dans la forêt de la Mondah du Cap Estérias. L'identification du matériel végétal a été faite sur le terrain et à l'Herbier National du Gabon. Les spécimens des espèces étudiées y sont disponibles. Le séchage a lieu à l'ombre à la température ambiante, pendant 2 à 3 semaines. La pulvérisation a été faite après séchage des plantes récoltées. Nous avons utilisé un broyeur à fléaux (modèle SK 100) pour avoir de la poudre grossière. L'étude a porté sur la plante entière et nous avons broyé séparément les feuilles, les tiges et les racines.

3.2 Echantillons conservés à l'Herbier

Dans la collection Herbier National du Gabon, il y a 4 échantillons conservés :

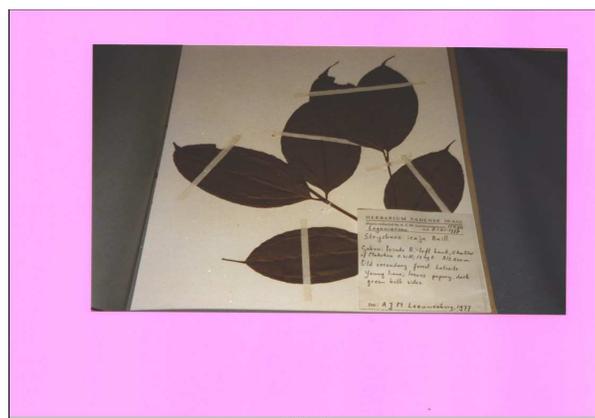
-Echantillon n°1 :Ogooué –Lolo, Chantier SFM ;10km de la route, Maesen et Al.5907

FIGURE n°13 :Photo de l'échantillon n°5907



-Echantillon n°2 :Rivière Ivindo ,11km SSW de Makokou ,A.J.M.Leuwenberg.11470

FIGURE n°14 :Photo de l'échantillon n°11470



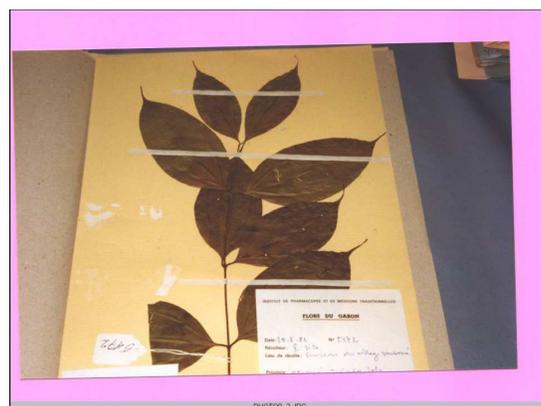
-Echantillon n°3 : Forêt secondaire ,10km NNW de Libreville ,J.M.et B.Reitsma.2137

FIGURE n°15 :Photo de l'échantillon n°2137



-Echantillon n°4 : Ogooué-lolo, Environ du village Kouboué, Forêt des abeilles, R.Sita.5172

FIGURE n°16 :Photo de l'échantillon n°5172



Les échantillons 2137 et 11470 (page 30) proviennent de forêts secondaires, le 5907 (page 29) provient du Chantier SFM et le 5172 (page 30) de la Forêt des Abeilles. Ils présentent tous des feuilles opposées pointues au sommet. L'échantillon 2137 présente de nombreuses inflorescences axillaires groupées. Les échantillons 2137 et 5907 présentent des crochets. L'échantillon 5907 porte un petit fruit.

3.3 La plante

Nous avons réussi à récolter des graines en germination que nous avons mises en pot pour observer leur croissance (Figures n°17, 18, 19 pages 32 et 33). Nous avons également réussi à récolter une plante adulte qui présentait les dimensions et caractéristiques suivantes :

- Racines : couleur rouge, 99 cm de longueur, 13 cm de diamètre, très peu de racines secondaires ;
- Liane : rouge pour les parties en contact avec le sol, 9,5 cm de diamètre ; 30,32 m de longueur



FIGURE n°17 : Photo d'un *STRYCHNOS icaja* 1 mois après la mise en pot.

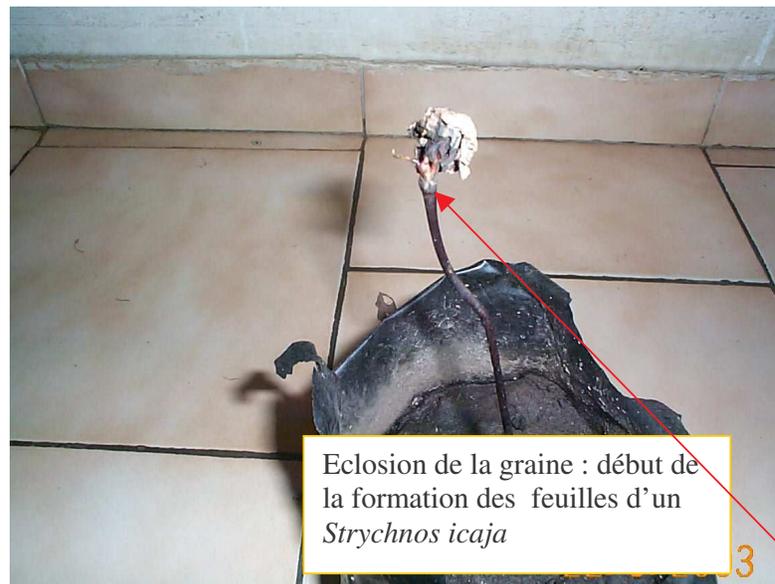


FIGURE n°18 : Photo du début de germination des feuilles du *STRYCHNOS icaja*, après dépérissement du cocon de protection de la graine, 2 mois après la mise en pot.



FIGURE n°19 : Photo de la pépinière du *STRYCHNOS icaja*, premières feuilles
[au 31 janvier 2003]



FIGURE n°20 : Photo d'une jeune plante de *STRYCHNOS icaja*.

II. L'épreuve du *mbundu*

1. L'ordalie

Autrefois, au Gabon, comme dans d'autres pays d'Afrique, il y avait diverses ordalies, dont la plus importante était « l'épreuve du poison ». On la faisait subir aux personnes soupçonnées de vol, crime ou maléfice ; elle semble remonté à une époque fort lointaine. Le *mbundu* est un poison d'épreuve pour prouver l'innocence ou la culpabilité d'un accusé. On fait tremper dans l'eau, des râpures de la racine. Au bout de dix minutes, le liquide prend une couleur rougeâtre et se fermente : c'est le moment choisi pour faire boire la drogue à l'accusé. En cas de culpabilité l'effet est rapide : malaise dans la région cardiaque et dans la tête, yeux exorbités, enflure du visage, épaissement de la langue, torpeur générale suivie presque toujours de mort. A faibles doses cette drogue ne conduit pas à la mort ; elle est simplement enivrante et diurétique .A fortes doses, malgré l'apparition des symptômes décrits précédemment, la mort peut être évitée. Pour rendre le *mbundu* moins actif, on passait au préalable la racine au feu, mais le plus souvent celui qui donnait à boire la drogue forçait plus ou moins la dose selon qu'il était payé par l'une des parties en conflit. Selon Monseigneur A.R.Walker, si l'accusé parvient à uriner, il est déclaré innocent. En 1858, PAUL BELLONI DU CHAILLU relate le cas de trois femmes accusées par un *nganga* (guérisseur) d'avoir causé la mort d'un homme :elles furent contraintes de boire le *mbundu* et moururent de façon atroce (Walker A et Sillans R, 1995).

D'après le Père NEU, il faut en plus que le sang sorte par le nez, la bouche et les oreilles, pour que l'on soit sûr d'une heureuse issue. D'après lui l'accusé devait entièrement vider sa coupe et puis, selon le désir du *nganga*, marcher sur un arbre couché à terre, traverser un courant d'eau ou atteindre un point fixé d'avance. S'il arrivait à l'endroit indiqué sans tomber, il était sauvé, sinon il était déclaré coupable et mis à mort, parfois par les proches parents du défunt, ou bien on le vendait comme esclave. Il s'en tirait quelquefois en payant le prix du sang. Si l'accusé buvait la mixture en cachette, c'est-à-dire à l'insu de son accusateur, cela ne comptait pas. Il fallait que celui qui accusait un individu, fut présent pour formuler son accusation en termes explicites : « tu as fait ceci ou cela ». L'administrateur G. Le TESTU, qui étudia les coutumes *Bapunu* dans la Nyanga, précisait il y a une quarantaine d'année, qu'aussitôt après l'absorption du breuvage toxique, on faisait prendre un contre poison dans la composition duquel entrait, paraît-il les excréments humains avec les œufs de poule et de la poudre de chasse ou selon le Père. NEU, du jus de canne à sucre (Walker et Silans, 1995).

Certaines populations gabonaises ont encore foi dans *l'épreuve du poison*. En effet actuellement on continue à faire boire le *mbundu* par procuration : à une poule ou à un mille-pattes. Pour ce dernier on le plonge dans un bol empli de macération de cette écorce toxique. Si l'animal meurt on est reconnu coupable et on doit payer une amende. Mais on admet cependant que l'épreuve du *mbundu* n'est pas toujours une preuve de culpabilité, c'est-à-dire qu'il « n'exprime pas toujours la vérité ». Ainsi, MAVUNGO, esclave du village de BWALE-IVEA (en amont des chutes SAMBA), accusé d'avoir « mangé » quelqu'un fut condamné à boire le poison qui ne lui fit aucun effet. Il fut déclaré innocent et vécut encore quelques années après l'épreuve qu'il avait subit. Avant de l'enterrer on lui ouvrit le ventre, comme c'était la coutume générale dans la région, et l'on y trouva une quantité de « bouts de chair » ce qui prouvait d'après la croyance des "Naturels", que le défunt avait « mangé » plus d'une personne dans ses « sorties nocturnes », ce qui tendait à prouver que l'épreuve du *mbundu* n'exprime pas toujours la vérité (Réf 24).

2. Usages

Les écorces de racines sont employées comme poison de flèche par certaines tribus pygmées du Cameroun. Ils les utilisent aussi dans le traitement du paludisme (Neuwinger H.D, 1996). Les écorces de racine sont utilisées en bain de siège contre les hémorroïdes. La poudre d'écorce de racine sèche est aussi mélangée à l'huile de palme contre les hémorroïdes en application locale. La poudre d'écorce de racine sèche, mélangée à de l'huile de palme, est appliquée localement sur les zones atteintes dans les dermatoses cutanées sèches ou suintantes (Adjanohoun et al, 1984). Elle serait aphrodisiaque à faibles doses. Elle est aussi utilisée comme vomitif, pour "laver le ventre" et contre les otites. En plus de son utilisation en thérapeutique la racine est fréquemment utilisée par les populations pour ses propriétés pharmacomagiques. Le *mbundu* est considéré comme le juge originel, d'où son utilisation comme poison d'épreuve et si pendant qu'on déterre la racine elle se rompt, on est considéré comme impur. La racine est placée dans les maisons comme en haut de la porte d'entrée, contre les mauvaises influences, les sorciers. Si une personne animée de mauvaises intentions pénètre chez vous, elle sera fulminée. On peut aussi l'utiliser en prononçant des incantations pour châtier un coupable ou pour punir une personne non appréciée.

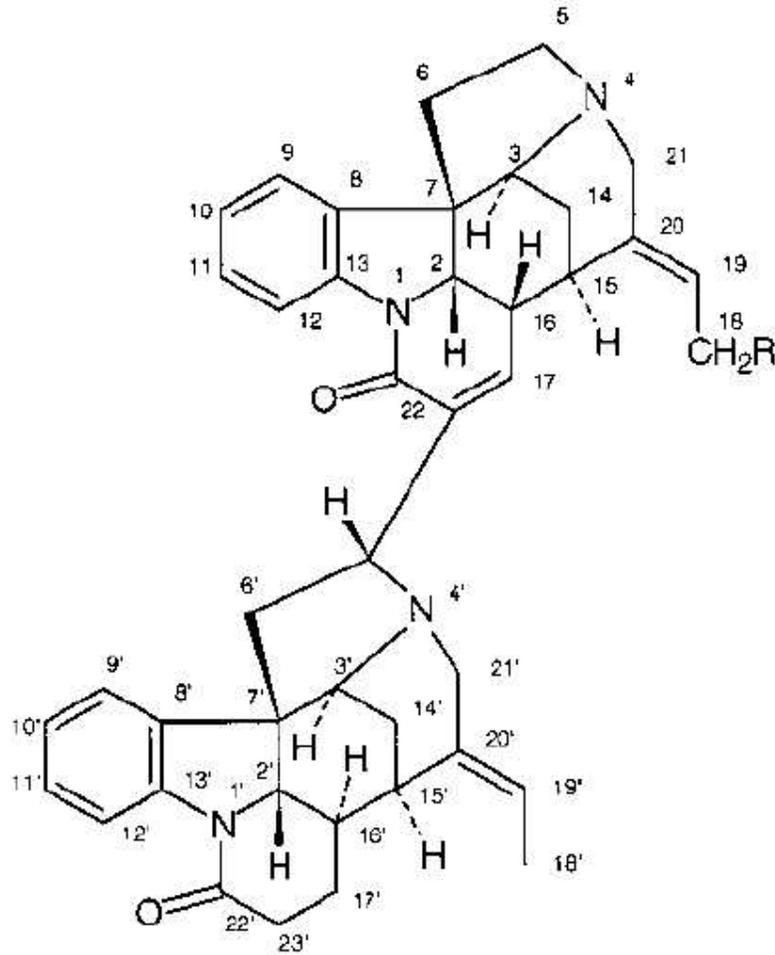
**DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX ANTERIEURS ET
PERSOPNNELS**

I. TRAVAUX ANTERIEURS SUR LE *STRYCHNOS icaja* du CONGO -ZAÏRE

Le *Strychnos icaja* est la seule espèce de *Strychnos* africain contenant de la **strychnine**. Ses racines étaient autrefois utilisées pour la préparation de poison de flèche et d'épreuve. Cette toxicité était attribuée aux alcaloïdes mono indoles **strychnine** et **hydroxystrychnine** isolés des racines par Sandberg et Al.(1970). Malgré cette toxicité certaines tribus pygmées du Cameroun traitent la malaria avec les racines de *Strychnos icaja*. Parmi les travaux les plus anciens figurent ceux de Denoël et collaborateurs qui ont trouvé jusqu'à 10 et 16 % d'alcaloïdes dans les écorces de tiges et de racines et 1 à 2 % dans les feuilles. Ils ont mis en évidence plusieurs bases A, B, C, D et E ; la première semblant très proche de la Strychnine (Denoël, 1950). Les racines ont été aussi étudiées chimiquement par Kambou et Al (1980), qui isolèrent trois monomères tertiaires (**icajine** : **19,20- α -époxy-novacine** ; le **19,20- α -époxy-15-hydrinovacine**) et deux dimères tertiaires (**bisnordihydrotoxicoferrine** et un composé nouveau, le **sungucine**). Récemment Frédéric et Al. (2000-2001) dans leur recherche de nouveaux composés antipaludiques issus des espèces de *Strychnos* africains, ont isolé trois nouveaux dérivés du **sungucine** (1), appelés : **isosungucine** (2), **18-hydroxysungucine** (3) et le **18-hydroxyisosungucine** (4) du *Strychnos icaja*. Ces composés en particulier le **18-hydroxyisosungucine** sont modérément actifs contre le *Plasmodium falciparum*.

Au cours de ce travail ils ont isolé en plus de la **strychnohexamine** (6), un alcaloïde trimérique indolomonoterpénoïde original, le **strychnogucine C** (5) un nouvel alcaloïde bisindolomonoterpénique, la **proto strychnine** (7), la **génostrychnine** et la **pseudo strychnine**, le **strychnogucine A** et le **strychnogucine B**. Ces trois composés (**génostrychnine**, les composés 7 et 8) sont déjà connus pour être présents dans différentes espèces de *Strychnos* telles que *Strychnos nux-vomica* et *Strychnos ignatii* (Basser et Al. ,1979 ; Bisset, 1976 ; Datta et Bisset, 1990). La **pseudo strychnine** (8) a aussi été auparavant décrite dans les feuilles de *Strychnos icaja* (Bisset et Al. , 1973). La découverte de la **proto strychnine** dans le *Strychnos icaja* est vraiment importante du point de vue bio synthétique. Effectivement, la **proto strychnine** est une clé intermédiaire dans l'hypothèse du chemin bio synthétique proposé par Heimberger et Scott(1973), qui est le dernier intermédiaire après la formation de la **strychnine** et de l'**iso strychnine**. Jusqu'alors, la **proto strychnine** (et l'**iso strychnine**) a été la seule décrite dans le *Strychnos nux vomica* et *Strychnos ignatii*.

La découverte de la **proto strychnine** et récemment de l'**iso strychnine** (Frédérich et Al, 2000) dans le *Strychnos icaja*, confirme l'hypothèse de biosynthèse. L'alcaloïde 6 appelé **strychnohexamine**, a été le premier alcaloïde trisindolique monoterpénoïde naturellement rencontré qui a été isolé jusqu'ici. Sa structure a été décrite récemment (Philippe et Al, 2003). Quoiqu'un autre alcaloïde trimérique indolomonoterpénique ait été auparavant obtenu par des méthodes biotechnologiques, la **strychnohexamine** est le premier isolé directement à la source de la plante. En effet l'ancien composé trimérique était un dérivé de la Tabersonine et était formé dans des micro-traces (moins de 1mg) après incubation de la Tabersonine avec une mixture d'enzymes obtenues de plantes matures de *Catharantus roseus* (Schübel et Al, 1989).

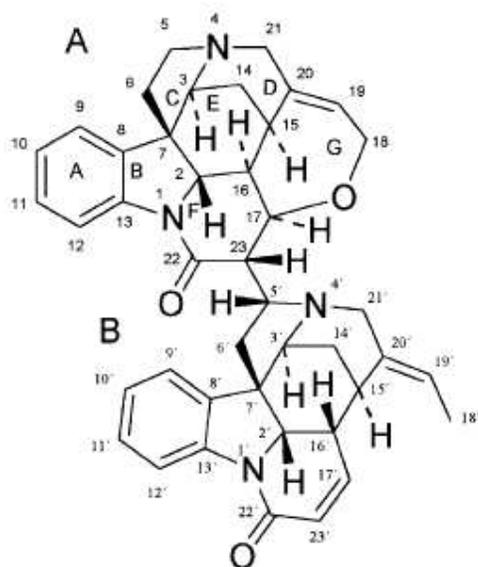


Sungucine (1) R = H; Δ^{17-23}

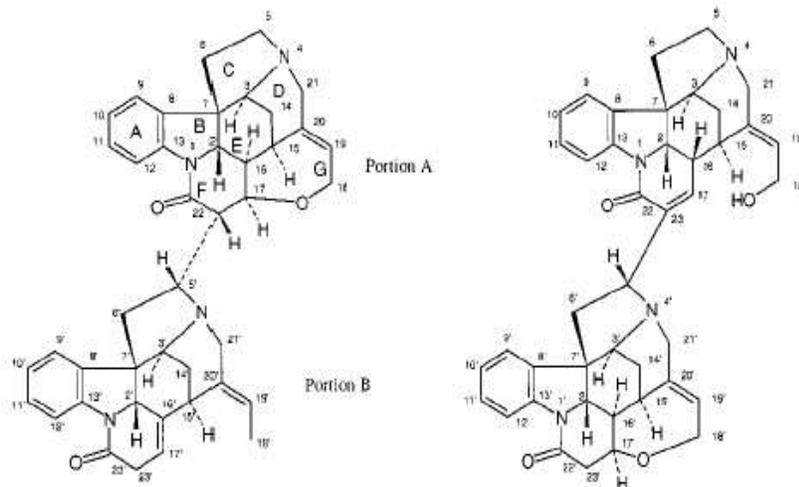
Isosungucine (2) R = H; $\Delta^{16'-17'}$

18-Hydroxyisosungucine (4) R = OH; $\Delta^{16'-17'}$

18-Hydroxysungucine (3) R = OH

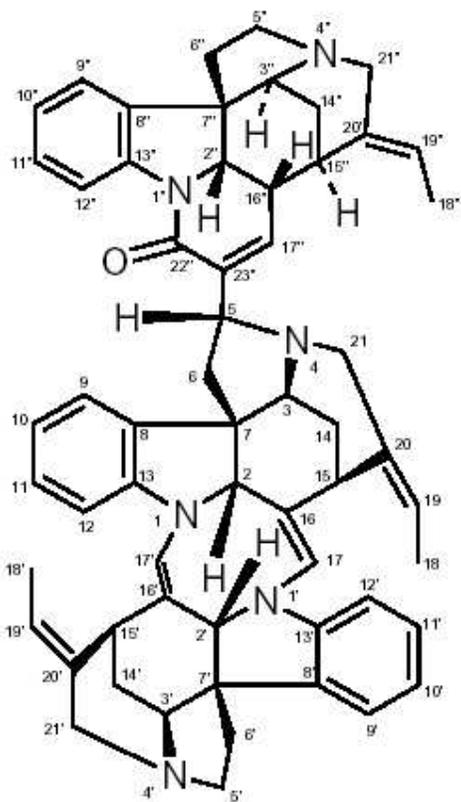


Strychnogucine C (5)

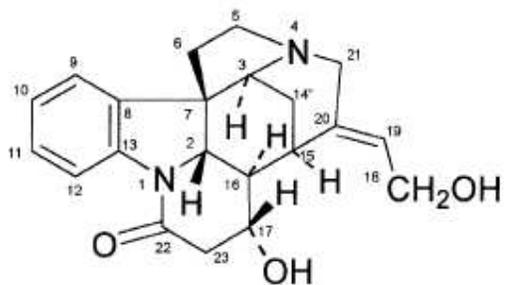


Strychnogucine A

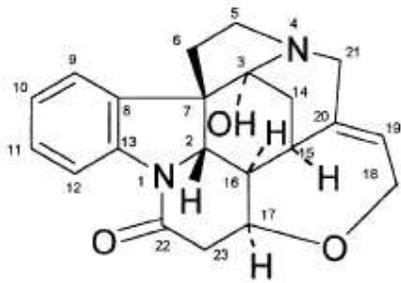
Strychnogucine B



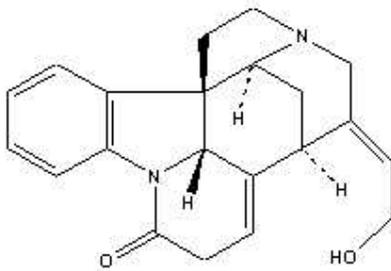
Strychnohexamine(6)



Protostrychnine (7)



Pseudostrychnine (8)



Isostrychnine(9)

1. Toxicologie

Sandberg et Al (1969) montra que la strychnine a un effet convulsivant dans toutes les parties testées de la plante (racine, bois, écorce de tiges, feuilles) ; cet effet est très marqué, mais plus fortement dans les racines. Ainsi un extrait éthérique alcalin des racines contenant la majeure fraction des alcaloïdes, à la dose de 50mg /kg, cause de fortes convulsions toniques chez le rat et la mort après 13 minutes. La fraction contenant uniquement la strychnine et la 12-hydroxystrychnine, produit des convulsions toniques à une dose de 10mg /kg et la mort après 5 minutes (Sandberg et Al, 1969). La fraction la plus active des écorces de tiges ou des racines à 50mg/kg cause la mort après 5 minutes (Sandberg et Al. ,1969). Kambu et Al. (1980) étudièrent l'effet des alcaloïdes totaux quaternaires sur un extrait aqueux des racines et trouvèrent un effet de paralysant musculaire prononcé et une haute cardiotoxicité chez les animaux d'expérience (cœur isolé de rat, diaphragme du rat, muscle de grenouille et de poule). La paralysie du muscle progresse doucement et a lieu après une certaine période de latence. C'est irréversible après un contact de 30 minutes. La fraction quaternaire cause un sévère effet inotrope négatif et chronotrope négatif sur le cœur isolé de rat, lequel conduit après 5 minutes en un irréversible effet cardiaque. Des effets cardiaques similaires ont été observés par Bortignon et Al (1968).

Ils observèrent l'effet inotrope négatif et chronotrope négatif chez le lapin et le cochon guinéen, le cœur le moins sensible de grenouille montre uniquement un effet inotrope positif. L'expérience montre clairement que l'extrait aqueux des écorces de racine de *Strychnos icaja* à part un effet convulsivant dominant, a aussi une action opposée laquelle paralyse la jonction neuromusculaire et le muscle du cœur. Jusque-là, le *Strychnos icaja* est considéré comme la seule espèce africaine avec exclusivement les effets convulsivants comme la Strychnine ; seule la strychnine, le 12-hydroxystrychnine et le 3-hydroxystrychnine (pseudo strychnine) sont responsables de la forte toxicité du *Strychnos icaja* et de ses effets comme poison de chasse (Réf 16).

Alcaloïde	Convulsion clonique	Convulsion tonique Flexion	extension	DC ₅₀ mg /kg	DL ₅₀ sc. mg /kg
Strychnine	+	+	+	0,43	0,47
12hydroxystrychnine	+	+	+	0,54	0,56
3hydroxystrechnine(pseudo strychnine)	+	+	+	1,10	1,21
10methoxystrychine	+	+	+	8,28	8 ,70
10 ,11-dimethoxystrychine(β colubrine)	+	+	+	55,0	60,0
strychnine-n-oxide	+	+	-	78,7	80,0
icajine	+	+	-	46 ,5	60,3
vomicine	-	-	-	42,6	74,2
15-hydroxycajine	-	-	-	>220	>220
19,20-αepoxy,15-hydroxycajine	-	-	-	>300	>300
19,20-αepoxyvomicine	+	-	-	>100	>100
19,20-α-epoxy,15-hydroxyvomicine	-	-	-	>280	>280

Tableau .I :activité DC₅₀ convulsivante, toxicité aiguë DL₅₀ de quelques alcaloïdes de *Strychnos icaja* lors d'une administration sous cutanée chez la souris selon Sandberg et Kristianson (1970)

2. Pharmacologie

La strychnine se range parmi les analeptiques ; ceux-ci sont des médicaments qui à faibles doses augmentent l'activité de certaines fonctions du SNC et stimulent les centres respiratoires et vasomoteurs dans la moelle oblongata. A doses élevées, ils peuvent causer des attaques. La strychnine est un puissant convulsivant de la moelle épinière ; les fonctions du cortex cérébral et des centres subcorticaux ne sont pas influencés. Au début, la conscience est pleinement conservée et le patient est vivement perspicace à tous les stimuli. La dose thérapeutique de 1 à 3mg cause une augmentation du réflexe spinal, la tension des muscles striés s'élève. Il n'y a pas d'effet sur la respiration et la circulation. La strychnine était auparavant prescrite comme un stimulant tonique pour les patients fatigués et anesthésiés. La dose de 5 à 10 mg augmente le réflexe spinal considérablement, les muscles sont tendus, les mouvements peuvent être difficiles. Les hautes doses (30 à 300 mg) provoquent l'anxiété, la dyspnée, des convulsions toniques (non cloniques) qui conduisent à l'hypothermie, une sévère acidose et finalement pour finir la paralysie du muscle (tétanie). La strychnine est facilement absorbée par l'intestin et l'hypoderme et disparaît rapidement du sang vers les tissus et se répartit doucement, dans l'organisme de façon égale. Jusqu'à 15% sont éliminés inchangés dans les urines, le reste est principalement métabolisé dans le foie (Réf 16).

La convulsion causée par la strychnine peut être supprimée et le poison inactivé en grande partie par les barbituriques ou le barbiturique anesthésique (traitement symptomatique). A présent le Diazépam est le plus utilisé comme agent contre les convulsions dues à la strychnine (Jackson et Al., 1971). Depuis, à long terme, le traitement est impossible, les muscles relaxants centraux sont usés. Un antidote est aussi le poison curare de flèches du muscle relaxant ou les alcaloïdes purs obtenus de là **d-tubocurarine**, **c-curarine**, **c-toxiferrine** et dérivé, mais comme relaxant musculaire périphérique il nécessite la respiration artificielle (Réf 16).

3 . Essais antipaludiques

L'activité antipaludique *in vitro* contre les quatre souches de *Plasmodium falciparum* (Frédérich et al. 2000) des composés 10 et 11 en comparée avec celle de la **Chloroquine**, la **Quinine**, la **sungucine** (1), l'**iso Sungucine** (2), et le **18- hydroxyisosungucine** (4) est

montrée dans le **tableau II** (page 48). Quand ils sont comparés avec d'autres dérivés **sungucine**, seul le composé 11 possède une activité intéressante sur le *Plasmodium falciparum*. Le **strychnogucine C** présente une IC 50 entre 10 et 20 μM , lequel est notamment moins actif que d'autres types d'alcaloïdes **sungucine**. La cyclisation de l'anneau G dans la portion inférieure de la molécule accroît l'activité antipaludique, en comparaison avec l'**hydroxyisosungucine**. Ceci est la confirmation que la présence de la cyclisation dans le cercle G de la partie supérieur de la molécule (portion A) comme dans le **strychnogucine A** ou en présence d'une double chaîne 17'-23' comme dans le **sungucine**, a un impact négatif sur l'activité antipaludique, **tableau III**. Ainsi, le **strychnogucine B** (11) est le composé le plus actif de la série, avec 12 à 120 temps d'activité supérieure que le composé 1, pour le FCA et F32 du *Plasmodium falciparum* (tableau III page 49). Le **strychnogucine B** (11) est cytotoxique contre la lignée cellulaire humaine KB du cancer et contre les fibroblastes humains WI38 (Tableau III). Cependant, les cellules KB et les fibroblastes WI38 sont moins sensibles au composé 11 que les composés 1 et 2. Le **strychnogucine B** (11) présente une activité 25 à 180 fois supérieures contre la lignée du *Plasmodium falciparum* que la lignée cellulaire humaine cancéreuse, ainsi indiquant une bonne sélectivité (Réf 10).

TABLEAU II

Activité antipaludique des composés 1 à 11, de la Quinine, et de la Chloroquine sur la lignée FCA du *Plasmodium falciparum* (Frédérich et Al 2000).

Composé	IC ₅₀ (μM)	IC ₉₀ (μM)	Nb
STRYCHNOGUCINE A (10)	2.310+-0.304	6.980	2
STRYCHNOGUCINE B (11)	0.617+-0.067	3.785	2
STRYCHNOGUCINE C(5)	16.057+-0.764	33.535	2
SUNGUCINE (1)	7.816+-1.137	26.256	3
ISOSUNGUCINE (2)	1.135+-0.252	7.059	2
18-HYDROXYISOSUNGUCINE (4)	0.847+-0.141	4.348	4
STRYCHNOHEXAMINE(6)	1.097+-0.099	4.296	3
BISNORDIHYDROTOXIFERRINE	2.796+-1.078	16.409	3
CHLOROQUINE	0.020+-0.002	0.119	9
QUININE	0.269+-0.006	1.913	3

Nb=Nombre d'expériences

TABLEAU III

Activités cytotoxiques sur les lignées cellulaires du cancer humain et Index de Sélectivité antiprotozoaire des composés 1, 2, 4 et 11 (Lansiaux et Al 2002).

	KB IC ₅₀	WI38 IC ₅₀	KB/FCA SI	KB/W2 SI	WI38/FCA SI	WI38/W2 SI
STRYCNOGUCINE B(11)	>15	15.5	>24.3	>176	25.12	182.4
SUNGUCINE (1)	6.2	6.0	0.8	0.6	0.8	0.6
ISOSUNGUCINE (2)	9	9.2	6.8	34.0	7.0	34.7
18-HYDROXYISOSUNGUCINE (4)	16.2	16.8	19.1	115.7	19.83	120
USUMBARENSINE	9.7	4.62	14.8	36.6	3.1	7.8
EMETINE	0.056	ND	ND	ND	ND	ND

ND=Non déterminé

Emétine =Référence

L'index de sélectivité (SI) est défini comme le ratio de la cytotoxicité pour toute l'activité antipaludique

II. TRAVAUX PERSONNELS SUR LE *STRYCHNOS icaja* DU GABON

1. RECHERCHES CHIMIQUES PRELIMINAIRES

PROTOCOLE UTILISE

Les études analytiques ont été effectuées à partir des techniques standards de l'Institut de Pharmacopée et de Médecine Traditionnelles (IPHAMETRA) de Libreville.

1.1 Alcaloïdes

1.1.1 Solution à analyser

La drogue utilisée concerne la plante entière (poudre de feuilles, de tige et de racines pour tous les essais). Introduire 10 g de drogue sèche et grossièrement pulvérisée dans un enlenmeyer de 250 ml. Ajouter de l'acide sulfurique dilué (H_2SO_4 concentré au 1/20 avec de l'eau distillée) dans le rapport 5 : 1 à 10 : 1 (volume d'acide : poids de la plante) puis boucher. Agiter et laisser macérer 24 h à la température du laboratoire. Filtrer sur papier et laver à l'eau de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat.

N.B. s'il s'agit de faire une caractérisation rapide, une bonne agitation pendant 15 minutes suffit.

1.1.2 Caractérisations

1.1.2.1 Réactions de précipitation

Dans 2 tubes à essais, introduire 1 ml de filtrat précédent.

Dans le tube n° 1 : ajouter 5 gouttes de réactif de Wagner

Dans le tube n° 2 : ajouter 5 gouttes de réactif de Dragendorff

Classer les résultats suivant :

précipité abondant	: ++ ++
Précipitation moyenne	: +++
Louche	: +
Test négatif	: 0

Un test négatif permet de conclure à l'absence d'alcaloïde sous toute forme (alcaloïdes vrais ou alcaloïdes quaternaires). Dans le cas d'un test positif, il faut confirmer la présence d'alcaloïdes par une extraction :

-Introduire 25 ml de filtrat précédent dans une ampoule à décanter.

-Alcaliniser par l'ammoniaque (ammoniaque officinale diluée au ½ avec de l'eau distillée) jusqu'à pH : 8-9

-Ajouter du chloroforme et agiter sans former d'émulsion, puis après décantation, extraire la phase organique. Faire cette opération 3 fois au total. Réunir les phases organiques et sécher sur sulfate de sodium anhydre.

-Filtrer et partager ensuite en parties égales dans 2 capsules. Mettre à évaporer au bain-marie jusqu'à siccité.

-Reprendre le résidu contenu dans la 1^{ère} capsule par 2 ml d'acide chlorhydrique dilué (au ½ par de l'eau distillée). Partager cette solution entre 2 tubes à essais et essayer de nouveau les révélateurs généraux des alcaloïdes (réactif de Dragendorff et réactif de Wagner).

1.1.2.2 Alcaloïdes des solanacées mydriatiques

Le résidu sec contenu dans la seconde capsule est repris par 1 ml d'acide nitrique fumant. Evaporer au bain-marie bouillant jusqu'à siccité. Après refroidissement, introduire dans la capsule 10 ml d'acétone pure et ajouter goutte à goutte une solution fraîchement préparée de KOH à 5% dans l'éthanol. En présence d'alcaloïdes de solanacées mydriatiques (esters de l'acide tropique et du tropanol), il se développe une coloration violette (réaction de Vitali-Morin).

1.2 Substances polyphénoliques

1.2.1 Les tanins

1.2.1.1 Solution à analyser : infusé à 5%

-Projeter 5 g de poudre de drogue sèche dans 100 ml d'eau bouillante, contenue dans un erlenmeyer de 250ml.

-Arrêter l'ébullition et couvrir à l'aide d'un verre de montre et laisser infuser 15 à 30 minutes.

-Filtrer sur papier et rincer avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 100 ml de filtrat.

1.2.1.2 Caractérisations

On peut diviser les tanins en deux groupes :

-les tanins Galliques : ils se colorent en bleu-noir par le chlorure ferrique

-les tanins Catéchiqes : (polymères des catéchols) : qui par oxydation et condensation conduit aux phlobaphènes (rouge) et se colorent en brun-vert par le chlorure ferrique.

-Introduire dans un tube à essai 5 ml d'infusé à 5%, ajouter 1 ml de solution aqueuse diluée de FeCl_3 à 1% en présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre. Pour caractériser la présence de tanins catéchiqes, ajouter à 5 ml d'infusé à 5% 1 ml d'acide chlorhydrique concentré ; porter à ébullition. En présence de tanins catéchiqes il y a formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique. La différenciation des tanins (catéchiqes et galliqes) est obtenue par la réaction de STIASNY ; à 30 ml d'infusé à 5% ajouter 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 30% + 5 ml HCl concentré) chauffer au bain-marie à 90°C. L'obtention de précipité montre la présence de tanins catéchiqes. Filtrer et saturer le filtrat d'acétate de sodium pulvérisé. Ajouter quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 à 1%. Le développement d'une teinte bleu-noire indique la présence de tanins galliqes non précipités par le réactif de Stiasny. Les tanins peuvent être aussi précipités par addition de gélatine salée à 1% à l'infusé.

1.2.2 Les flavonoïdes

A 5 ml d'infusé présentant une coloration plus ou moins foncée, ajouter 5 ml de H_2SO_4 , puis 5 ml de NH_4OH . Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacée en milieu basique, on peut conclure à la présence d'anthocyane.

Réaction de la cyanidine

Introduire dans un tube à essai 5 ml d'infusé, ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (alcool à 95°, eau distillée, acide chlorhydrique à parties égales en volume 5ml) puis quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool iso amylique. L'apparition d'une coloration rose-orangée (Flavones) ou rose-violacée (Flavonones) ou rouge (Flavonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool iso amylique, indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques. La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les aurones, les catéchines et les isoflavones. Effectuer la réaction de la cyanamide sans ajouter de magnésium et chauffer quelques minutes au bain-marie. En présence de leucoanthocyane, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée ; Les catéchols donnent une teinte brun rouge.

1.3. Dérivés anthracéniques

1.3.1 Solution à analyser

- Extrait chloroformique

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

-Hydrolysât

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

1.3.2 Caractérisations

-Anthracéniques libres

Introduire dans un tube à essai 1 ml d'extrait chloroformique préparé précédemment. Ajouter 1 ml de NH_4OH dilué, puis agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'antraquinones libres.

- Anthracéniques combinés

.O-hétérosides

-Prélever 5 ml d'hydrolysât préparé précédemment et agiter avec 5 ml de chloroforme. Soutirer la phase organique et l'introduire dans un tube à essai. Garder la phase aqueuse.

-Ajouter à la phase organique 1 ml de NH_4OH dilué et agiter. La présence d'antraquinones est révélée par la coloration rouge plus ou moins intense. Si la réaction est négative ou faiblement positive, rechercher les *O-hétérosides* à génine réduite. Pour cela, prélever 5 ml d'hydrolysât préparé précédemment et ajouter 3 à 4 gouttes de FeCl_3 à 10%.

-Chauffer pendant 5 minutes au bain-marie. Refroidir sous courant d'eau. Agiter avec 5 ml de chloroforme.

-Soutirer la phase chloroformique et l'introduire dans un tube à essai. Ajouter 1 ml de NH_4OH dilué et agiter.

En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment (c'est-à-dire sans addition de FeCl_3 à 10%).

.C-hétérosides

-Reprendre la phase aqueuse qui a été conservée par 10 ml d'eau et ajouter 1 ml de FeCl_3 à 10 %. Maintenir le tube à essai dans un bain-marie bouillant pendant 30 minutes. Refroidir sous courant d'eau.

-Agiter avec 5 ml de CHCl_3 . Soutirer la phase chloroformique et la recueillir dans un tube à essai. Ajouter 1 ml de NH_4OH dilué et agiter. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de c-hétérosides.

. Réaction de Brissemoret et Combes : différenciation des quinones

-Introduire 1 g de poudre dans un erlenmeyer de 250 ml et humecter avec H_2SO_4 dilué à 10%.

-Ajouter 20 ml d'un mélange à volume égal d'éther et de chloroforme.

-Mélanger et laisser en macération pendant 24 h.

-Filtrer et placer 5 ml de filtrat dans une capsule

-Laisser évaporer à l'air.

-Reprendre le résidu par quelques gouttes d'éthanol à 95°.

-Ajouter goutte à goutte une solution aqueuse d'acétate de nickel à 5%.

-Selon la nature de la quinone on obtient une coloration variable :

. Benzoquinones : coloration bleue et précipité

. Naphthoquinones : coloration violette et précipité

. Anthraquinones : coloration rouge sans précipité

1.4. Stérols et terpènes

1.4.1 Extrait

-Introduire dans un tube à essai 1 g et 20 ml d'éther.

-Boucher et agiter, laisser en contact pendant 24 heures.

-Après ce temps, filtrer et compléter à 20 ml.

1.4.2 Caractérisations

. Réaction de Liebermann-Burchard ::

-Evaporer jusqu'à sec dans une capsule 10 ml d'extrait.

-Dissoudre le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique, puis 1 ml de chloroforme.

-Recueillir dans deux tubes à essai ; l'un servira de référence.

A l'aide d'une pipette, ajouter 1 à 2 ml d'acide concentré au fond du tube à essai. Ne pas agiter. A la zone de contact des deux liquides, il y a formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et de triterpènes.

. Caractérisation chimique des caroténoïdes

- Evaporer 5 ml d'extrait dans une capsule jusqu'à sec.
- Ajouter 2 à 3 gouttes de solution saturée de $SbCl_3$ dans le chloroforme ou le tétrachlorure de carbone. Il se développe en présence de caroténoïde une coloration bleue devenant rouge par la suite.

1.5 Hétérosides cardiotoniques

1.5.1 Solution à analyser

- Introduire 1 g de poudre dans un tube à essai.
- Ajouter 10 ml d'alcool à 60° et 5 ml d'une solution d'acétate neutre de plomb à 10%.
- Porter au bain-marie bouillant pendant 10 minutes.
- Filtrer sur coton.

1.5.2 Caractérisation

- Agiter le filtrat avec 10 ml de chloroforme dans un tube à essai.
- Eviter la formation d'émulsion.
- Laisser décanter et soutirer à l'aide de la pipette la phase chloroformique et la partager entre 3 tubes à essai.
- Evaporer au bain-marie bouillant jusqu'à sec.
- Reprendre les résidus par 0,4 ml d'isopropanol.
- Ajouter dans :
 - . Le tube n° 1 : 1 ml de réactif de Baljet
 - . Le tube n° 2 : 1 ml de réactif de Kedde
 - . Le tube n° 3 : 1 ml de réactif de Raymond-Marthoud.
- Introduire dans chaque tube 2 gouttes de KOH à 5% dans l'éthanol. En présence de cardénolides, les colorations suivantes se développent :

- . Tube n° 1 : orangé
- . Tube n° 2 : rouge violacé
- . Tube n° 3 : violet fugace.

1.6 Saponosides

1.6.1 Décocté à 1%

- Porter à l'ébullition dans un erlenmeyer de 250 ml, 100 ml d'eau distillée.
- Y projeter 1 g de poudre et maintenir une ébullition modérée pendant 15 minutes.
- Filtrer, et après refroidissement ajuster à 100 ml.

1.6.2 Caractérisation

Dans une série de 10 tubes à essai de 160 x 16 mm, numérotés de 1 à 10, répartir successivement 1,2...10ml de décocté à 1% préparé ; ajuster le volume dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée ; agiter chaque tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de 2 agitations par seconde ; ensuite laisser reposer pendant 15 minutes et mesurer ensuite la hauteur de la mousse dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de mousse est de 1 cm indique la valeur de l'indice de mousse Im

$$Im = \frac{1000}{n^{\circ} \text{ du tube}}$$

1.7 Composés réducteurs

Introduire 5 ml de décocté aqueux à 10 % dans une capsule et évaporer au bain-marie jusqu'à sec. Ajouter au résidu 1 ml de réactif de Fehling (Réactif A+Réactif B : mélange extemporané). L'obtention d'un précipité rouge-brique indique la présence de composés réducteurs.

1.8 Oses et holosides

Introduire 5 ml de décocté aqueux à 10 % dans une capsule et évaporer au bain-marie jusqu'à sec. Ajouter au résidu 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré. Après 5 minutes, ajouter 3 à 4 gouttes d'alcool saturé avec thymol. Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides.

1.9 Mucilages

Introduire 1 ml de décocté à 10% dans un tube à essai et ajouter 5 ml d'alcool absolu. L'obtention d'un précipité floconneux, par mélange, indique la présence de mucilages.

1.10 Coumarines

Evaporer 5 ml d'extrait éthérique (macération pendant 24 h) dans une capsule et à l'air libre.

Ajouter au résidu 2 ml d'eau chaude.

Partager la solution entre 2 tubes à essais.

Ajouter au contenu de l'un des tubes 0,5 ml de NH₄OH à 25%.

Mélanger et observer la fluorescence sous UV 366 nm.

Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

1.11 Dosage de la teneur en eau : méthode pondérale

.Principe

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

. Mode opératoire :

Opérer en utilisant les verres de montre préalablement chauffés, après refroidissement les peser et utiliser au total 5 verres de montre. La masse du verre de montre vide est égale à la tare. Prendre 1 à 2 g de poudre dans les différents verres de montre, peser pour obtenir ainsi la masse totale avant étuve. Placer les différents verres de montre à l'étuve à 110° pendant 24 heures, puis peser, c'est la masse totale après étuve. Partant de ces données, calculer le pourcentage d'eau sachant que :

- Masse drogue essai = masse totale avant étuve – tare
- Masse eau = masse totale avant étuve – masse totale après étuve

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

1.12 Détermination de la teneur en substance extractibles par l'eau

- Introduire 1g de poudre et 20 ml d'eau, procéder à une décoction de 15 minutes.
- Laisser refroidir 20 minutes et filtrer.
- Peser 1 ballon d'évaporation à vide=n (ou la capsule vide)
- Mettre le filtrat dans ce ballon (ou la capsule vide) évaporer à sec
- Peser le ballon (ou la capsule)=n'

$$\text{Substance extractible par l'eau} : \frac{(n' - n)100}{1}$$

1.13 Détermination du poids de l'extrait sec

- Peser 10g de poudre de drogue(pE)
 - Ajouter 100ml d'eau distillée et faire bouillir l'ensemble dans un erlenmeyer de 250ml
 - La durée d'ébullition est de 15 minutes à 100°C
 - Laisser refroidir pendant 15 minutes, filtrer et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.
 - Peser une capsule vide (C0) et ajouter les 100 ml de décocté.
 - Evaporer à sec à l'étuve à 110°C
 - Peser de nouveau la capsule (C1)
- .S=poids de l'extrait sec
 .Poids de l'extrait sec S=C1-C0

2. EXTRACTION ET DOSAGES DES ALCALOÏDES TOTAUX

Procéder par le protocole décrit au chapitre 1.1.1page 50 mais avec 100g de drogue (poudre des feuilles, des tiges et des racines). Ensuite alcaliniser le filtrat avec l'ammoniaque jusqu'à pH8-9 et mettre dans une ampoule à décanter. Ajouter du chloroforme et agiter sans former d'émulsion. Après décantation soutirer la phase organique. Reprendre cette opération jusqu'à

ce que la liqueur alcaline ne donne plus de précipité avec le réactif de Dragendorff. Réunir les phases organiques et sécher sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et transférer dans un ballon d'évaporation taré pour sécher au rotavapor sous pression réduite.

$P0$ =Masse du ballon vide / $P1$ =Masse du ballon après évaporation

La masse des alcaloïdes = $P1-P0$

3. IDENTIFICATION DES ALCALOÏDES PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

3.1 Séparation des constituants

Nous avons utilisé la chromatographie sur couche mince pour la séparation des alcaloïdes contenus dans les feuilles, les tiges et les racines. Plusieurs systèmes de solvant ont concerné notre screening, nous avons retenu ceux avec lequel la migration des composés a été la meilleure. Nous avons utilisé des plaques avec des supports en verre : plaque de silice silicagel G F254. Sur des plaques de format 20x20 cm, nous avons déposé les substances à séparer à environ 1cm du bord inférieur à l'aide d'une micro pipette. Après le dépôt et l'évaporation du solvant de dilution de l'extrait, les plaques sont ensuite placées dans une cuve de développement dans laquelle se trouve un solvant approprié jusqu'à une hauteur de 0,50cm environ du bord inférieur. Auparavant nous nous sommes assurés que l'atmosphère dans la cuve était saturée. La migration du solvant d'éluion entraîne les substances contenues dans l'extrait de plante en formant des taches qui caractérisent les substances existantes la révélation a été faite à l'UV à 254nm et 366nm et à l'aide des réactifs caractéristiques du groupe de substance recherché.

RF =Distance parcourue par la substance/Distance parcourue par le front de solvant

3.2 Essai de séparation par la chromatographie préparative

3.2.1 Couche mince de silice (Kieselgel G.Merk) non tamponnée

-Kieselgel G.Merk 30mg

-Eau distillée 60ml

Cette formule est utilisée pour 5 plaques de 20x20 cm d'une épaisseur de 0,25mm.

L'étalement se fait à l'aide de l'appareil de Desaga ; les plaques sont laissées 12 heures à la température du laboratoire ; elles sont ensuite activées pendant 1 heure à l'étuve à 100°-105°C

3.2.2 Couche mince de silice tamponnée à la soude

60g de Kieselgel G.Merk sont mélangés dans une fiole conique avec 120 ml d'une solution aqueuse de soude au 1/20. L'étalement se fait sur des plaques de verres de (20x20cm) selon une épaisseur de 0,50mm. Les plaques sont alors abandonnées 24 heures à la température du labo, puis portées à l'étuve pendant 1 à 2 heures.

4. Essais de toxicité aiguë chez la souris

Ils ont été effectués sur l'extrait aqueux des racines. L'extrait aqueux des racines a été obtenu par macération de 100 g de poudre de racine dans 500 ml d'eau pendant 24h. Après filtration on recueille le résidu pour une nouvelle macération de 24h et le lendemain on procède de même. Les filtrats sont réunis et congelés, puis lyophilisés. Nous avons utilisé des souris blanche de 5 mois de la lignée CF₁, OF₁ pesant environ 21 g. Il y avait 5 lots de souris dont un lot de souris mâle et le reste des souris femelle. Elles ont été mises à jeun depuis 18h. On leur administre par voie orale, en solution, les extraits à des concentrations croissantes allant de 50 mg à 1 g.

TROISIEME PARTIE : RESULTATS

1. COLLECTE DES DONNEES

Les informations recueillies sur les plantes proviennent de l'enquête ethnobotanique (Adjanohoun et al, 1984), des Plantes Utiles du Gabon (Réf 25) et du livre African Ethnobotany (Réf 16). Les enquêtes se sont déroulées sur 3 lieux : Libreville, Lambaréné et le Cap Estérias. Au total 20 personnes ont été enquêtées. Durant ces entretiens nous avons demandé aux personnes enquêtées quelles étaient les utilisations traditionnelles du *Strychnos icaja*.

2. Enquête personnelle auprès des tradithérapeutes et de certains utilisateurs

Les entrevues réalisées auprès de certains tradithérapeutes (de décembre 2002 à janvier 2003 à Libreville, Lambaréné et au Cap Estérias) nous ont permis de savoir que parmi les usages les plus courants l'utilisation contre les hémorroïdes et la plus importante. Le *Strychnos icaja* est la plante toute désignée pour éviter les influences néfastes des sorciers et autres esprits mauvais. Tous ceux qui l'utilisent pour ses propriétés magico-médicales sont unanimes quant à la protection quasi totale qu'elle assure ; ils se sentent rassurés c'est pourquoi ils mettent la racine à l'entrée de leur maison comme en haut de la porte d'entrée ; soit ils l'enterrent aux quatre coins de leur concession ou la mettent dans leur voiture et d'autres plus suspicieux la porte sur eux comme talisman. Pour eux la plante représente le juge originel, c'est la plante qui depuis les temps immémoriaux a le pouvoir de juger les hommes et de les punir. Pour trouver cette plante il faut se rendre dans la forêt profonde. Il est très difficile de récolter la liane car une fois qu'elle s'enroule au sommet des grands arbres, il n'est plus possible de la reconnaître, sauf si elle a fait une ramification qui est encore sous forme d'arbuste. Les utilisateurs du *Strychnos icaja* affirment qu'il faut prononcer certaines paroles et parler à la plante au moment où on déterre la racine si on veut éviter qu'elle se rompt. Il est vrai en effet que le mbundu s'administrait par voie orale aux personnes suspectées de maléfices, mais dans certains rituels il fallait déterrer la racine sans qu'elle se rompt sinon on était considéré comme impur.

Au cours de nos entrevues nous nous sommes exposées à la réticence des tradipraticiens. Le seul usage qu'ils acceptaient de dévoiler était celui de protection. Tout d'abord dès que nous leur disions que nous étions étudiante ils craignaient que nous profitions de leur connaissance

pour faire des découvertes et nous enrichir sur leur dos. Ensuite le fait d'avoir pour interlocuteur une femme les rendaient de plus en plus sceptiques quant à l'utilisation qui allait être faite de la plante ; la plante est très toxique donc certains craignent qu'on ne l'utilise pour tuer un conjoint , une rivale ou pour nous suicider. Et lorsque nous avons essayé de les interroger par l'intermédiaire d'un homme, s'il n'était pas initié ou s'il l'était mais encore novice il y avait le même réticence. Lorsque nous cherchions des personnes qui connaissaient où trouver la plante en abondance il y avait aussi une méfiance due au fait que la racine est très recherchée pour se vendre dans les marchés. En effet au cours de notre passage dans les marchés nous avons vu des femmes qui vendaient uniquement les racines du *Strychnos icaia*. Néanmoins malgré les difficultés rencontrées nous avons pu obtenir quelques recettes.

Recette n°1 :

Indication : Traitement des hémorroïdes

Composition :

-STRYCHNOS *icaia* (*Mbundu*) : écorces des racines

-Kaolin rouge

Les écorces des racines sont mélangées avec le kaolin préalablement humecté d'eau. On réalise des suppositoires et on les fait sécher. Utilisé quotidiennement la maladie disparaît au bout d'une semaine.

Recette n°2 :

Indication : Traitement des otites

Composition :

-STRYCHNOS *icaia* (*Mbundu*) : écorces des racines

-Bananier : feuille

Les écorces de racines sont mises à macérer quelques instants dans l'eau. Elles sont ensuite récupérées et introduites dans un entonnoir réalisé avec un morceau de feuille de bananier préalablement passé sur le feu. On met quelques gouttes dans les oreilles jusqu'à la guérison.

NB : On peut utiliser d'autres feuilles à la place de celles de bananier.

Recette n°3 :

Indication : Douleurs dentaires

Composition :

-STRYCHNOS *icaia* (*Mbundu*) : écorce des racines

-CAPSICUM *frutescens* (*Ntogolo* : piment) : fruits

Ecraser le piment et les mélanger avec les écorces de racine ensuite appliquer le mélange sur la dent cariée.

Recette n°4 :

Indication :Traitement des urétrites masculines traînantes ou qui ne guérissent pas (*Ozomba we're ndjuka go mana*)

Composition :

-STRYCHNOS *icaja* (*Mbundu*) : râpures internes

-AFRAMONUM *melegueta* (*Ntogolo y'egoro ou enone*) : 5 graines réduites en poudre

-CITRUS *limonum* (*Alosi* : citron) : jus de fruit

Mélanger le tout et laisser macérer une ou deux heures, ensuite filtrer pour obtenir un liquide sans particules solides. Le liquide est à administrer une fois en injection intra-urétrale à l'aide d'une seringue (sans l'aiguille). C'est très douloureux pour le patient, mais le traitement permettrait de guérir l'urétrite avec l'évacuation de débris plus ou moins solides (décapage) – *Ye ko'gunya ogu*-selon l'expression traditionnelle.

NB : *Ozomba*=Blennorragie-chaude pisse En fait il s'agit d'une urétrite sans spécificité.

Recette n°5

Indication :Douleurs rhumatismales dans l'arthrose

Composition :

-STRYCHNOS *icaja* (*Mbundu*) : râpures de l'écorce

-SOLANUM *mamosum* (*Mbum'ilombè*) : fruits

-SOLANUM *torvum* (*Mbuma y'abambo*) : fruits et feuilles

-SPARGANOPHORUS *vaillantii* (*Ekage-Mbene*) : tiges+feuilles

-ACANTHUS *montanus* (*Mfalyamfa*) : feuilles

NB : Cette dernière sert aussi ici d'herbe à scarifier.

-CITRUS *limonum* (*Olosi* : citron) : jus du fruit.

-COSTUS *lucanusianus* (*Okosa*) : suc de la tige écrasée

-L'eau qui reste après la pluie dans le creux d'un tronc d'arbre ou d'un rocher (*Aningo m'eriga*).

Les râpures d'écorces, de feuilles, de tiges, de fruits sont écrasés assez finement et mélangés au jus de citron et au suc de *Costus* dans un pot. On fait des scarifications sur les zones

malades (articulations ou autres) avec une branche d'*Acanthus* dont on fouette la peau et on applique matin et soir cette pâte jusqu'à l'amélioration des douleurs arthrosiques.

NB : Autrefois on utilisait comme pot (*Etoro*) le fruit de *STRYCHNOS aculeata* (*Igèmbè*)

Recette n°6

Indications : Difficulté à enfanter

Composition :

-*STRYCHNOS icaja* : râpures de l'écorce de racine en dose infime

-*BUCHHOLZIA coriacea* (*Oignon des gorilles*) : fruits

Les écorces sont écrasées avec l'oignon des gorilles, on ajoute de l'eau, on laisse macérer puis on filtre et on administre en lavements.

3. RECHERCHES CHIMIQUES PRELIMINAIRES

3.1 Poudre de feuilles

TABLEAU IV : Caractérisations des feuilles

RECHERCHE			RESULTATS	
			coloration	interprétation
ALCALOÏDES	Réactifs de WAGNER et DRAGENDORFF	Sel	Précipité rouge-brique / orange	+ + + +
		Base	Précipité rouge-brique orange	+ + + +
	Solanacées mydriatiques		0	0
	pourcentage			2,5g
TANINS	Réaction avec FeCl ₃		vert-noirâtre	+ + + +
	Réaction avec HCl		précipité	+ + + +
	Réaction de Stiasny	Catéchiques	précipité	+ + + +
		Galliques	brune	0
FLAVONOÏDES	Génines flavoniques			+ + + +
	Hétérosides Flavoniques			+ + + +
ANTRACENOSIDES	Libres (Borntrager)		Absence de coloration	0
	Combinés	O-hétérosides	Absence de coloration	0
		C-hétérosides	Absence de coloration	0
Coumarines (fluorescence UV 366)			Aucune Fluorescence	0
Caroténoïdes (Carr et Price)				0
Composés Réducteurs				+++
Mucilages			Précipité Floconneux	+ + +
Saponosides	<u>Mousse</u>			
	Indice de mousse			142,85
Stérols et triterpènes : hétérosides triterpéniques	Anneau brun		Surnageant vert foncé	+ + +
Hétérosides cardiotoniques	Hétérosides cardiotoniques	Keede		+ + +
		Baljet	orange	+ + +

3.2 Poudre de tiges

TABLEAU V :Caractérisations des tiges

RECHERCHE			RESULTATS	
			coloration	interprétation
ALCALOÏDES	Réactifs de WAGNER et DRAGENDORFF	Sel	Précipité rouge-brique / orange	+ + + +
		Base	Précipité rouge-brique orange	+ + + +
	Solanacées mydriatiques			0
	pourcentage			1,5792
TANINS	Réaction avec FeCl ₃		Bleue-noirâtre	+ + + +
	Réaction avec HCl		Absence de précipité	0
	Réaction de Stiasny	Catéchiques		0
		Galliques	Teinte noirâtre	+ + + +
FLAVONOÏDES	Génines flavoniques			+ + + +
	Hétérosides Flavoniques			+ + + +
ANTRACENOSIDES	Libres (Borntrager)		Absence de coloration	0
	Combinés	O-hétérosides	Absence de coloration	0
		C-hétérosides	Absence de coloration	0
Coumarines (fluorescence UV 366)			Aucune Fluorescence	0
Caroténoïdes (Carr et Price)				0
Composés Réducteurs				+ + +
Mucilages			Précipité Floconneux	+ +
Saponosides	Mousse			
	Indice de mousse			125
Stérol et triterpènes :hétérosides triterpéniques	Anneau brun		Surnageant vert clair	+ +
Hétérosides cardiotoniques	Keede			+ + +
	Baljet		orange	+ + +

3.3 Poudre de racines

TABLEAU VI : Caractérisations des racines

RECHERCHE			RESULTATS	
			coloration	interprétation
ALCALOÏDES	Réactifs de WAGNER et DRAGENDORFF	Sel	Précipité rouge-brique / orange	+ + + +
		Base	Précipité rouge-brique orange	+ + + +
	Solanacées mydriatiques			0
	pourcentage			0,660g
TANINS	Réaction avec FeCl ₃		Bleue-noirâtre	+ + + +
	Réaction avec HCl		Absence de précipité	0
	Réaction de Stiasny	Catéchiques		0
		Galliques	Teinte noirâtre	+ + + +
FLAVONOÏDES	Génines flavoniques			+ + +
	Hétérosides Flavoniques			+ + +
ANTRACENOSIDES	Libres (Borntrager)		Absence de coloration	0
	Combinés	O-hétérosides	Absence de coloration	0
		C-hétérosides	Absence de coloration	0
Coumarines (fluorescence UV 366)			Aucune Fluorescence	0
Caroténoïdes (Carr et Price)				0
Composés Réducteurs				+ + +
Mucilages			Précipité Floconneux	+
Saponosides	Mousse			
	Indice de mousse			125
Stérols et triterpènes :hétérosides triterpéniques	Anneau brun		Surnageant vert clair	+ +
Hétérosides cardiotoniques	Keede			+ + +
	Baljet		orange	+ + +

Les recherches préliminaires nous ont apporté comme substances chimiques présentes dans la plante entière des alcaloïdes, de hétérosides cardiotoniques des stérols et triterpènes, des mucilages, des saponosides avec comme indice de mousse 142,85 pour les feuilles et 125 pour les tiges et racines. On note également la présence de mucilages, de flavonoïdes et de tanins dont les tanins catéchiques pour les feuilles et les tanins galliques pour les tiges et racines. Concernant les alcaloïdes on constate que les feuilles contiennent plus d'alcaloïdes (2,5g) que les tiges (1,5792g) et les racines (0,660g). La plante ne contient pas de coumarine, d'antracénosides et de caroténoïdes.

3.4 Détermination de la teneur en eau : méthode gravimétrique

Tableau VII : teneur en eau de la poudre des feuilles						
	Tare	Masse Drogue essai	Masse totale Avant étuve	Masse totale Après étuve	Masse eau	% eau
Feuilles	27,5402	1,8266	29,3668	29,1632	0,2036	11,14
	20,6796	1,9035	22,5831	22,3738	0,2093	10,99
	19,3618	1,9430	21,3048	21,0915	0,2133	10,97
	29,7537	1,7538	31,5075	31,3122	0,1953	11,13
	20,7019	1,9477	22,6496	22,4279	0,2217	11,38

Teneur moyenne en eau = 11,12%

Tableau VIII : teneur en eau de la poudre des tiges						
	Tare	Masse Drogue essai	Masse totale Avant étuve	Masse totale Après étuve	Masse eau	% eau
Tiges	27,5402	1,9450	29,4854	29,2990	0,1864	9,58
	20,6796	1,7474	22,4270	22,2607	0,1663	9,51
	19,3618	1,8314	21,1938	21,0153	0,1785	9,74
	29,7540	1,9096	31,6636	31,4846	0,1790	9,37
	20,7025	1,8565	22,5590	22,3810	0,1780	9,58

Teneur moyenne en eau = 9,55%

Tableau IX : teneur en eau de la poudre des racines						
	Tare	Masse Drogue essai	Masse totale Avant étuve	Masse totale Après étuve	Masse eau	% eau
Racines	12,9054	1,7580	14,6634	14,5184	0,1450	8,2480
	11,6255	1,8504	13,3768	13,2210	0,1558	8,3117
	11,0982	1,9828	13,0810	12,9160	0,1650	8,3215
	14,3340	1,8072	16,1412	15,9921	0,1491	8,2503
	8,1287	1,9343	10,0630	9,9035	0,1595	8,2458

Teneur moyenne en eau = 8,276%

3.5 Détermination de la teneur en substances extractibles par l'eau

TABLEAU X :Teneurs en substances extractibles par l'eau des feuilles, tiges et racines

	Feuilles	Tiges	Racines
n	24,4464	27,5389	29,7523
n'	24,5138	27,5843	29,8002
n' - n	0,0674	0,0452	0,0479
Substances extractibles par l'eau	6,74	4,54	4,79

La teneur en substance extractibles par l'eau est plus importante au niveau des feuilles (6,74) et presque semblable au niveau des tiges et racines (respectivement 4,54 et 4,79).

3.6 Détermination du poids de l'extrait sec

TABLEAU XI : Masse de l'extrait des feuilles, tiges et racines

	Feuilles(en g)	Tiges(en g)	Racines(en g)
Co	110,3174	78,2133	110,3026
C	112,8325	78,8203	111,0889
S	2,5151	0,607	0,7863

Le poids de l'extrait sec est plus élevé dans les feuilles (2,5151) et moindre pour les tiges et racines (respectivement 0,607 et 0,7863).

4. IDENTIFICATION DES ALCALOÏDES TOTAUX PAR CCM

Tableau XII : Identification des alcaloïdes totaux des feuilles par CCM

Méthode de détection	Solvant proportion(ml)	Nombre de Tâches	Couleur	Rf=d/F
UV 254nm Réactif de Dragendorff	-Tétrachlorure de carbone :10 -Butanol :50 -Ammoniaque:4	3	Rouge brique	Rf1= 0,44 Rf2= 0,70 Rf3= 0,81
UV 254nm Réactif de Dragendorff	-Acétone : 90 -Eau :7 - Ammoniaque:3	2	Rouge brique	Rf1= 0,65 Rf2 = 0,95

Tableau XIII : Identification des alcaloïdes totaux des racines par CCM

Méthode de détection	Solvant proportion(ml)	Nombre de Tâches	Couleur	Rf=d/F
UV 224nm Réactif de Dragendorff	-Tétrachlorure de carbone :10 -Butanol :50 -Ammoniaque :4	3	Rouge brique	Rf1= 0,41 Rf2= 0,72 Rf3= 0,77
UV 254nm Réactif de Dragendorff	-Acétone : 90 -Eau :7 - Ammoniaque :3	2	Rouge brique	Rf1= 0,61 Rf2= 0,95

Tableau XIV : Identification des alcaloïdes totaux des tiges par CCM

Méthode de détection	Solvant proportion(ml)	Nombre de Tâches	Couleur	Rf=d/F
UV 254nm Réactif de Dragendorff	-Tétrachlorure de carbone :10 -Butanol :50 -Ammoniaque :4	3	Rouge brique	Rf1= 0 ,40 Rf2= 0,67 Rf3= 0,77
UV 254nm Réactif de Dragendorff	-Acétone : 90 -Eau :7 - Ammoniaque :3	2	Rouge brique	Rf1= 0,62 Rf2 = 0,95

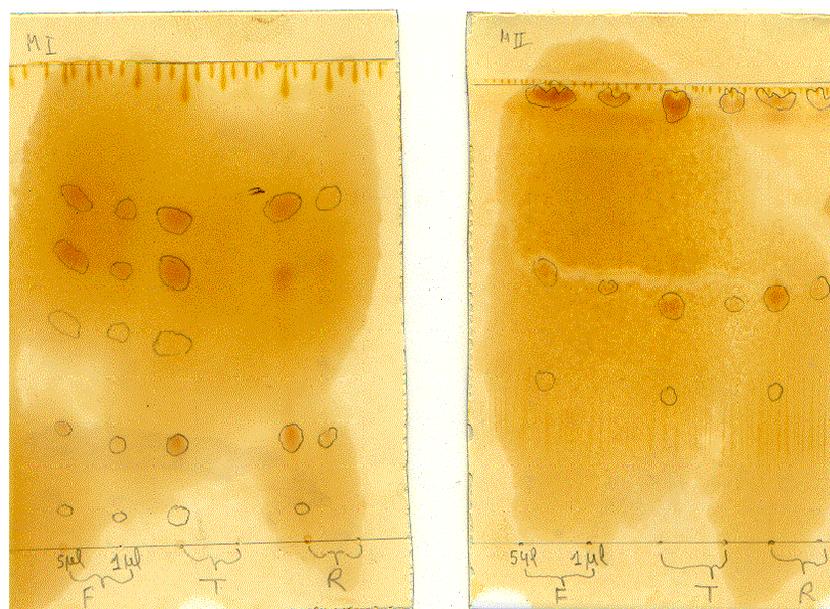


FIGURE n°21

CCM des alcaloïdes totaux des feuilles, tiges et racines

A gauche le milieu est: Tétrachlorure de carbone, Butanol, Ammoniaque (10/50/4)

A droite le milieu est: Acétone, Eau, Ammoniaque (90/7/3)

Les CCM effectuées témoignent de la présence de 3 alcaloïdes différents avec le premier milieu dans les feuilles, tiges et racines. Avec le deuxième milieu on obtient 2 alcaloïdes au niveau des tiges et racines. On constate que les Rf sont proches: ceci confirme la présence des mêmes alcaloïdes dans les feuilles, tiges et racines.

5. ESSAI DE TOXICITE AIGUË CHEZ LA SOURIS

Pour les doses allant de 50 mg à 150 mg nous n'observons aucun mort au bout de 72 h. Pour la dose de 500 mg/kg on observe que les souris meurent 5 minutes après l'administration en présentant des convulsions avec étirement des pattes postérieures. Sur les 10 souris 9 meurent. Pour la dose de 1g/kg on observe que les souris meurent 3 minutes après l'administration de la même façon que les premières. On observe le décès de toutes les souris.

6. PHOTO DES TESTS

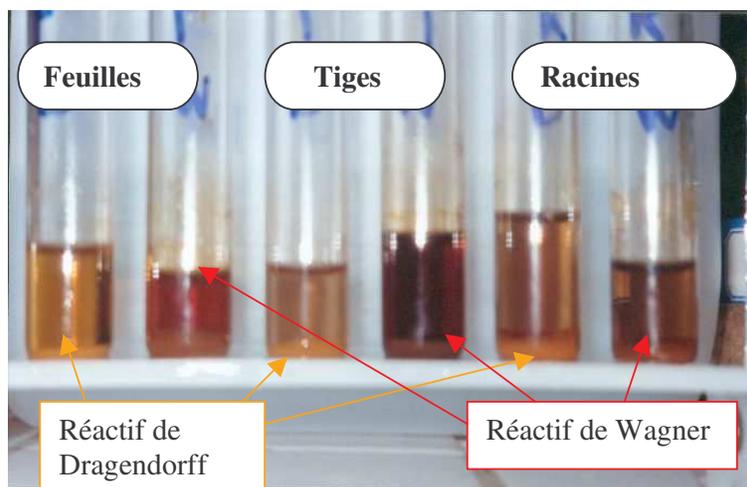


FIGURE n°22 : Photo de la réaction au réactif de Dragendorff et de Wagner

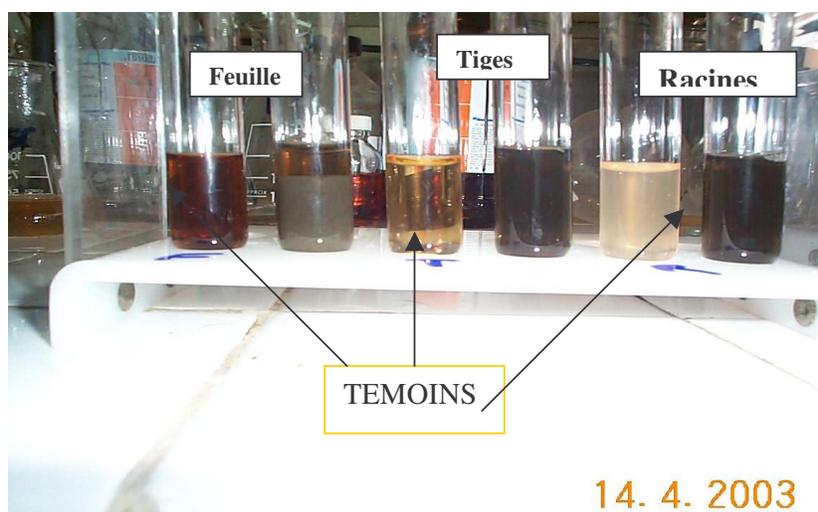


FIGURE n°23 : Photo des tanins réaction avec FeCl_3

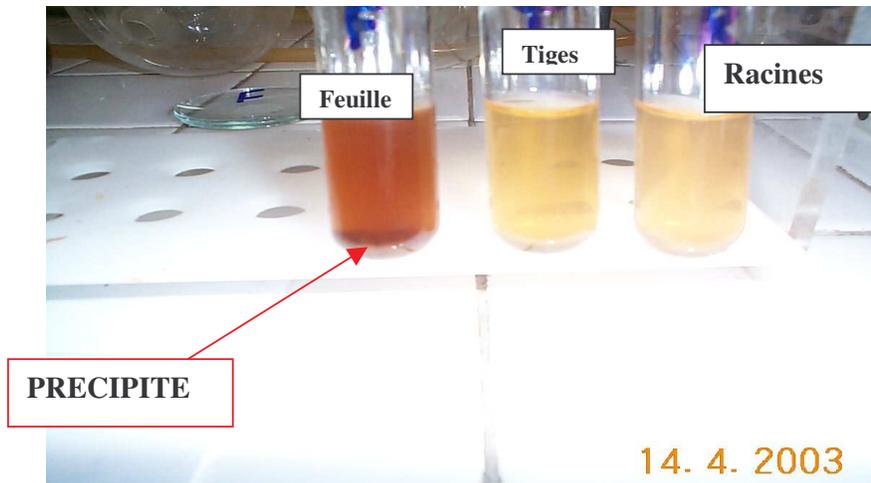


FIGURE n° 24: Photo de la caractérisation des tanins catéchiques avec HCl



FIGURE n° 25 : Photo de la différenciation des tanins catéchiques et galliques par la réaction de Stiasny

- Feuilles : précipité → présence de tanins catéchiques
- Tiges : pas de précipité → absence de tanins catéchiques
- Racines : pas de précipité → absence de tanins catéchiques



FIGURE n° 26: Photo des **tanins** : Réaction avec $FeCl_3$ après saturation par l'acétate de sodium pulvérisé.

- Feuilles + témoin: coloration brune → absence de tanins galliques
- Tiges + témoin : coloration noire → tanins galliques
- Racines + témoin : coloration noire → tanins galliques

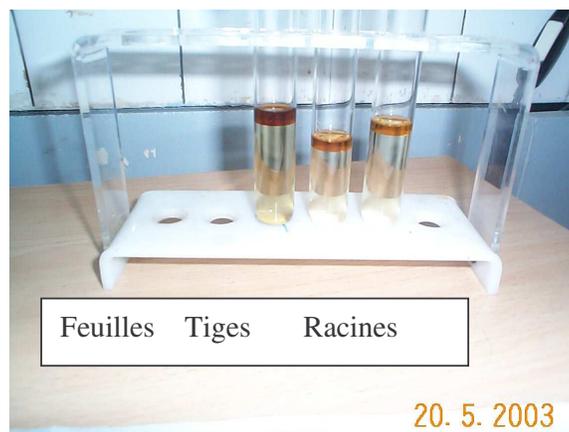


FIGURE n° 27 : Photo des flavonoïdes ; réaction de la cyanidine sans copeaux de magnésium

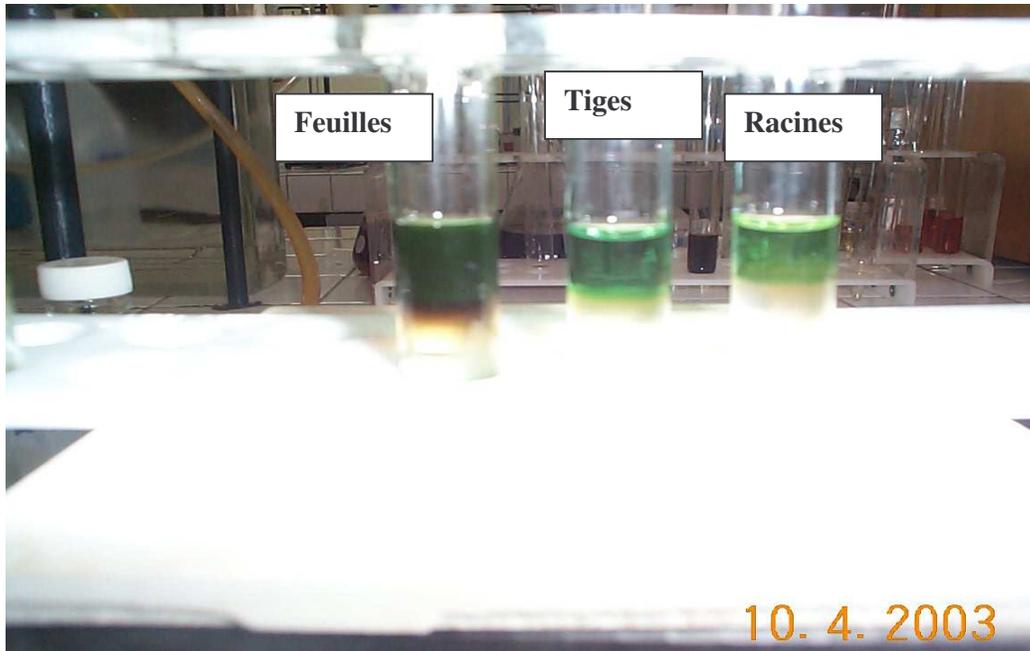


FIGURE n° 28: Photo des **stérols et triterpènes**

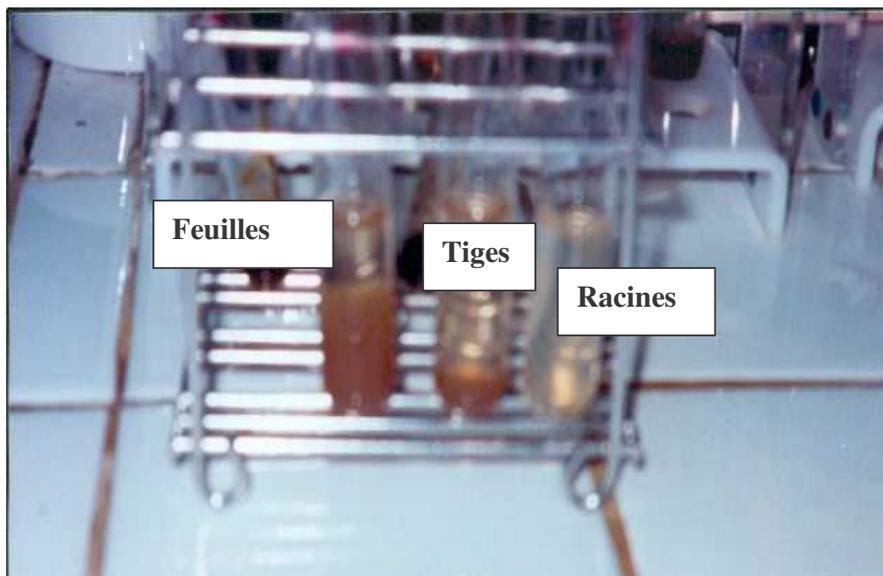


FIGURE n° 29: Photo des **mucilages**

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Notre étude a porté sur le *Strychnos icaja* Baillon appartenant à la famille des Loganiacées. C'est une liane atteignant une hauteur de 20 à 40 m et une longueur de 20 à 100 m. Elle se trouve dans les forêts d'Afrique Centrale. Ce strychnos est utilisé par les populations comme poison de flèche ou d'épreuve. Les racines servent à traiter certaines affections telles que le paludisme et les hémorroïdes (Réf 3); elles sont également utilisées pour les propriétés magico-médicales qu'on leur attribue. Au cours de la récolte des plantes dans la forêt de la Mondah nous avons pu trouver quelques graines en début de germination et nous les avons mises en pot. Ainsi nous avons remarqué que la croissance était très lente et que les premières feuilles n'apparaissaient que trois mois après la mise en pot. Jusqu'au mois d'octobre les plantes mesuraient toutes moins d'un mètre. Nous avons réussi à récolter un *Strychnos icaja* adulte qui avait 30,32 m de longueur et 9,5 cm de diamètre ; ce qui confirme les dimensions apportées par la bibliographie.

Pendant notre enquête la plupart des tradipraticiens se sont montrés méfiants face à nos questions. Tout d'abord ils craignaient qu'en dévoilant leurs recettes nous nous les appropriions, puis face au caractère nocif de la drogue, ils craignaient l'usage qui pouvait en être fait, surtout venant d'une femme : usage à des fins meurtrières. Ce qui nous fait penser que beaucoup doivent l'employer pour commettre des assassinats. Néanmoins tous s'accordaient à reconnaître en la plante un pouvoir protecteur contre certaines pratiques de sorcellerie. Nous avons pu obtenir quelques recettes auprès de certains tradipraticiens et utilisateurs de la plante, à savoir : contre les otites, les urétrites masculines, les douleurs rhumatismales et dentaires et chez les femmes stériles.

Au point de vue chimique, nous avons rappelé brièvement les travaux antérieurs effectués sur le *Strychnos icaja* par Frédéric et al. en 2000, travaux concernant uniquement les alcaloïdes et portant surtout sur les racines desquelles ils ont isolé l'isosungucine (2), le 18-hydroxyisosungucine, la pseudo strychnine et bien d'autres alcaloïdes. Ils ont en plus effectué des tests antipaludiques et ont démontré que le strychnogucine B avait une bonne concentration inhibitrice contre le *Plasmodium falciparum* (0,617 μ m) ,indice très proche de celui de la quinine (0,269 μ m). Denoël et al. en 1950 ont trouvé jusqu'à 10 à 16% d'alcaloïdes dans les écorces de tiges et de racines et 1 à 2 % dans les feuilles, Frédéric et al 5,6% dans les racines. Au cours des essais préliminaires nous avons mis en évidence la présence

d'alcaloïdes dans les racines (0,660%), les tiges (1,5792%) et les feuilles (2,5)%. Malheureusement nous ne pouvons conclure quant à ces teneurs car nous ne savons pas à quel stade de développement de la plante les essais ont été effectués. Les CCM effectuées sur les trois parties semblent montrer que les mêmes alcaloïdes y sont rencontrés.

En poussant plus loin notre investigation nous avons remarqué que la plante contient des substances polyphénoliques dont les tanins. Pour les tige et racine il s'agit de tanins galliques et pour les feuilles de tanins catéchiques. L'existence de tanins dans la plante pourrait expliquer son utilisation contre les hémorroïdes et les dermatoses cutanées, surtout lorsqu'on sait que les tanins ont la propriété d'agglutiner les protéines et qu'ils possèdent surtout des propriétés astringentes en usages externe et interne. De plus on leur a trouvé aussi des propriétés antimicrobiennes, antivirales et hypoglycémiantes (Réf 17). Outre les tanins, il y a des flavonoïdes et en effectuant la réaction de la cyanidine nous constatons la présence de flavonols au niveau des feuilles. Tandis que dans les tiges et les racines il y a des flavones. Si on effectue la réaction de la cyanidine sans copeaux de magnésium, on note également la présence de catéchol au niveau des feuilles. Concernant les saponosides on les trouve avec un indice de 142,85 pour les feuilles, 125 pour les tiges et les racines.

La présence de saponosides pourrait justifier leur action contre les hémorroïdes et leur effet diurétique à faibles doses étant donné que les plantes à saponosides ont des propriétés dépuratives, diurétiques, expectorantes et veinotropes (contre les varices et les hémorroïdes) (Réf 17). On note également la présence de stérols et triterpènes ainsi que des mucilages dans les trois organes étudiés. Pour les mucilages le précipité est plus abondant pour les feuilles, moindre pour les tiges et sous forme de trace pour les racines. La présence d'hétérosides cardiotoniques au niveau des trois organes pourrait expliquer leur utilisation comme poison de flèche. Lors de la détermination des teneurs en eau nous avons trouvé 11,12% pour la poudre des feuilles ; 9,55% pour la poudre des tiges et 8,276% pour la poudre des racines. Les teneurs en eau pour les tiges et racines sont inférieurs à 10% donc les poudres peuvent être bien conservées, mais la teneur en eau de la poudre de feuille est encore élevée. Nous suggérons donc que soit prolongée d'un mois la période de séchage de la plante. Au cours des essais de toxicité nous avons observé 90% de mort à la dose de 500 mg/kg au bout de 5 minutes et 100% de mort à la dose de 1g/kg au bout de 3 minutes. Les souris mouraient toutes en présentant des convulsions et en étirant les pattes. Ce qui confirme l'utilisation du macéré des racines pour ses effets toxiques.

CONCLUSION

Notre étude qui est une contribution à l'étude d'une plante traditionnellement utilisée comme *poison d'épreuve* au Gabon, avait pour objectif de recenser les usages traditionnels en montrant l'importance de la plante, puis en faisant le dosage et l'extraction des alcaloïdes pour les comparer avec ceux du *Strychnos icaja* du Congo et d'identifier les autres groupes chimiques présents dans la plante. Ainsi nous avons remarqué que le *Strychnos icaja* est une plante fréquemment utilisée par les populations (en ville comme au village) qui croient à son pouvoir protecteur et qui l'utilise aussi pour traiter diverses affections. Au cours de notre étude nous avons trouvé 0,66 % d'alcaloïdes dans les racines et 1,5792 dans les tiges et 2,5 % dans les feuilles. Malheureusement nous ne pouvons conclure car nous ignorons à quel stade de développement la plante a été cueillie. Nous n'avons pu obtenir des échantillons témoins pour comparer par chromatographie avec les alcaloïdes totaux que nous avons extrait des feuilles, des tiges et des racines. Au cours des essais préliminaires les substances suivantes ont été rencontrées :

- les tanins dont les tanins galliques au niveau des tiges et des racines, les tanins catéchiques au niveau des feuilles
- les flavonoïdes dont les flavonols et catéchols dans les feuilles, les flavones dans les tiges et racines
- des saponosides, des stérols et triterpènes, des mucilages et des hétérosides cardiotoniques dans les trois organes étudiés

La plupart de ces substances chimiques sont recherchées dans les industries chimiques et pharmaceutiques à cause de leurs propriétés. Ainsi les tanins sont employés dans l'industrie du cuir, des vernis et peintures, en pharmacie on les utilise pour leur action astringente, comme antidiarrhéique, vasoconstricteur des veines et petits vaisseaux, hémostatique, mais surtout comme protecteurs veineux dans le traitement des varices et hémorroïdes.

Il y a d'autres substances comme les flavonoïdes utilisées comme colorant, les saponosides dans l'industrie pharmaceutique dont les sapogénines stéroïdiques servent de matière première d'hémisynthèse de dérivés stéroïdiques corticoïdes ou progestatifs, ou comme moussant et émulsionnants. Quant aux mucilages ils sont employés comme laxatifs et antidiarrhéiques aussi nous souhaiterions que soient menées des études plus poussées afin que soient mises en valeur les propriétés que possèdent le *Strychnos icaja* pour d'éventuelles applications thérapeutiques. Comme perspective d'avenir nous suggérons que soient reprises

les CCM des alcaloïdes au niveau des racines avec cette fois-ci des témoins d'alcaloïdes déjà isolés du *Strychnos icaia*. M. Frédérick du département de pharmacognosie de Liège ce propose d'envoyer des témoins d'alcaloïdes des racines du *Strychnos icaia* du Congo pour les comparer par CCM avec celui du Gabon ainsi que son aide pour la séparation des composés polyphénoliques et des saponosides car aucun jusqu'à ce jour n'a été isolé et décrit. Il serait aussi intéressé par d'éventuelles études d'activités. Aussi nous souhaitons que soit repris le contact avec lui pour bénéficier de sa contribution et parfaire ainsi l'étude du *Strychnos icaia*. Nous espérons avoir apporté par cette étude notre contribution à l'étude des plantes médicinales.

BIBLIOGRAPHIE

1-Adjanohoun, (E .J) et al, 1985. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République du Congo .Col Médecine traditionnelle et pharmacopée, Paris.605p

2-Adjanohoun, (E.J) et al, 1984. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Gabon. Col Médecine traditionnelle et pharmacopée,ACCT.294p

3-Aubreville, A. et Jean. F, 1972-Flore du Gabon-19-loganiacées. Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris (France). 153 p.

4-Bisset, N. 1965. comicine and N-methyl-pseudo-strychnine (icajine), alkaloids extracted from the leaves of *Strychnos icaja* Baill.Cr Acad Sci Hebd Seances Acad Sci. 8;261,5237-8.

5-Bisset NG, 1968. 2122-alpha-epoxy-N-methyl-sec-pseudobrucine, an alkaloid from *Strychnos icaja* Baill. An unusual cose of cis-opening of an epoxide ring. Tetrahedron. 27,3107-3110.

6-Bureau (E), Sur les *Strychnos* africains et les plantes servant à empoisonner les armes en Afrique,1901.Bull.Museum,Paris, p418-423

7-Datta B, Bisset N.G, 1990. Alkaloids of *Strychnos ignatii*. Planta Med. n°56-133

8-Editions Bordas, 1985.Paris

9-Frederich M, De Pauw M, Prosperi C, Tits M, Brandt V, Penelle J, Hayette M, De Mol P, Angenot L, 2001. Strychnogucines A and B, to new antiplasmodial bisindole alkaloids from *Strychnos icaja*. J.Nat.Prod.64,12-6.

10-Frederich M, De Pauw MC, Llabres G, Tits M, Brandt V, Penelle J, Hayette M, De Mol P, Angenot L, 2000. New antimalarial and cytotoxic sungucine derivates from *Strychnos icaja* roots. Planta Med 66, 262-9

11-Gassita (J.N) et Al, 1982. Les Plantes Médicinales du Gabon, Mission Ethnobotanique de l'ACCT au Gabon. Cenarest, Libreville(Gabon)

12-Kambu K, Kaba S, Cambier E, Nzuzi K, Angenot L, 1980. Muscle relaxant and cardiac effects of an alkaloidal extract from *Strychnos icaja*. *Planta Med.* 40,356-60

13-Lansiaux . A , Bailly C , Houssier C, Colson, De Pauw-Gillet MC, Frederich M, Tits M, Angenot L, 2002. Apoptosis of HL-60 leukemia cells induced by the bisindole alkaloids sungucine and isosungucine from *Strychnos icaja*. *Planta med.* 68, 591-5

14-Mission Ethnobotanique de l'ACCT au Gabon, 10 au 30 juillet 1982. Les Plantes Médicinales du Gabon. 55P

15-Mission Ethnobotanique de l'ACCT au Gabon, 10 au 31 juillet 1982. Les plantes médicinales du Gabon. 26p

16-Neuwinger (H.D), 1996. African Ethnobotany, Poisons and Drugs. Chapman & Hall, London p569-576

17-Paris M, Hurarielle M, 1981 Abrégé de matière médicale. Masson. 339p

18-Philippe G, De Mol P, Zeches-Hanrot M, Nuzillard JM, Tits MH, Angenot L, Frederich, 2003. Indolomonoterpenic alkaloids from *Strychnos icaja* roots. *Phytochemistry.* 62,623-629-5

19-Reitsma (J.M), 1988. Végétation forestière du Gabon. 142p

20-Saint Aubin (G.De), 1996. La forêt du Gabon. CIRAD-Forêt, Montpellier, France. 208p

21-Sandberg . F, Roos . K, Ryrberg KJ, Kristiansson . K, 1968. A new alkaloid, 4-hydroxystrychnine, from African specie *Strychnos icaja* Baillon. *Tetrahedron Lett.* 59,6717-8

22-Sandberg . F, Roos . K, Ryrberg . KJ,Kristianson . K, 1969. The pharmacologically active alkaloids of *Strychnos icaja Baillon* strychnine and a new alkaloid, 4-hydroxystrychnine. Acta Pharm Suec. 6,103-8

23-Sandberg F, Kristianson K, 1970. A comparative study of the convulsant effects of *Strychnos* alkaloids. Acta Pharm.Suec.7,329-336.

24-Walker A., R.Sillans, 1995. Rites et Croyances des Peuples du Gabon. Présence Africaine

25-Walker,R.Sillans, 1961. Les Plantes Utiles du Gabon. Editions Paul Lechevalier, Paris.614 p

26-Wildeman(E.De),1946. Les plantes utiles du genres *Strychnos*,1vol,loc.cit,Bruxelles.105p

TABLEAUX D'ILLUSTRATION

TABLEAU I : Activité convulsivante DC ₅₀ , toxicité aiguë DL ₅₀ de quelques alcaloïdes de <i>Strychnos icaja</i> lors d'une administration sous cutanée chez la souris selon Sandberg et Kristianson (1970)	45
TABLEAU II : Activité antipaludique des composés 1, 2, 4, 5, 6, 10, 11 de la Quinine et de la Chloroquine sur la lignée FCA du <i>Plasmodium falciparum</i>	48
TABLEAU III : Activités cytotoxiques sur les lignées cellulaires du cancer humain et Index de sélectivité antiprotozoaire des composés 1, 2, 4, et 11	49
TABLEAU IV : Caractérisations des feuilles	66
TABLEAU V : Caractérisations des tiges	67
TABLEAU VI : Caractérisation des racines	68
TABLEAU VII : Teneur en eau de la poudres de feuilles	69
TABLEAU VIII : Teneur en eau de la poudre des tiges	69
TABLEAU IX : Teneur en eau de la poudre des racines	69
TABLEAU X : Teneur en substances extractibles par l'eau des feuilles, tiges et racines	70
TABLEAU XI : Masse de l'extrait sec des feuilles, tiges et racines	70
TABLEAU XII : Identification des alcaloïdes totaux des feuilles par CCM	70
TABLEAU XIII : Identification des alcaloïdes totaux des racines par CCM	70
TABLEAU XIV : Identification des alcaloïdes totaux des tiges par CCM	71

FIGURES D'ILLUSTRATION

FIGURE N°1 : Carte administrative du Gabon	16
FIGURE N°2 : Carte ethnolinguistique du Gabon	18
FIGURE N°3 : Photo du feuillage d'un <i>Strychnos icaja</i>	23
FIGURE N°4 : Photo de l'ensemble de la liane d'un <i>Strychnos icaja</i> adulte récolté dans la forêt classée de Mondah	23
FIGURE N°5 : Photo des jeunes plants de <i>Strychnos icaja</i> récoltés dans la forêt classée de Mondah	24
FIGURE N°6 : Photo d'une jeune pousse de <i>Strychnos icaja</i> dans son milieu naturel (forêt de la Mondah) : premières feuilles	24
FIGURE N°7 : Photo d'un plant de <i>Strychnos icaja</i> en pleine croissance dans la forêt classée de la Mondah	25
FIGURE N°8 : Photo de la partie terminale du <i>Strychnos icaja</i>	25
FIGURE N°9 : Photo d'un élément d'accrochage d'un <i>Strychnos icaja</i>	26
FIGURE N°10 : Photo des dimensions des jeunes feuilles de <i>Strychnos icaja</i>	26
FIGURE N°11 : Photo du zoom sur les feuilles d'un <i>Strychnos icaja</i>	27
FIGURE N°12 : Photo d'une racine d'un <i>Strychnos icaja</i> adulte	27
FIGURE N°13 : Photo d'un <i>Strychnos icaja</i> de la collection herbier National du Gabon : échantillon n°5907	29
FIGURE N°14 : photo d'un <i>Strychnos icaja</i> de la collection herbier National du Gabon : échantillon n°11470	30
FIGURE N°15 :Photo d'un <i>Strychnos icaja</i> de la collection herbier National du Gabon : échantillon n°2137	30
FIGURE N°16 : Photo d'un <i>Strychnos icaja</i> de la collection herbier National du Gabon : échantillon n°5172	30
FIGURE N°17 : Photo d'un <i>Strychnos icaja</i> 1mois après la mise en pot	32
FIGURE N°18 : Photo du début de germination des feuilles du <i>Strychnos icaja</i> après déperissement du cocon de protection de la graine	32

FIGURE N°19 : Photo de la pépinière du <i>Strychnos icaja</i> premières feuilles (au 31 janvier 2003)	33
FIGURE N°20 : Photo d'une jeune plante du <i>Strychnos icaja</i>	33
FIGURE N°21 : Photo des CCM des feuilles, tiges et racines de <i>Strychnos icaja</i>	72
FIGURE N°22 : Photo des réactions au réactif de Dragendorff et de Wagner	73
FIGURE N°23 : Photo des tanins, réactions avec FeCl ₃	73
FIGURE N°24 : Photo de la caractérisation des tanins catéchiqes avec HCl	74
FIGURE N°25 : Photo de la différenciation des tanins catéchiqes et galliqes par la réaction de Stiasny	74
FIGURE N°26 : Photo des tanins, réactions avec FeCl ₃ après saturation par l'acétate de sodium pulvérisé	75
FIGURE N°27 : Photo des flavonoïdes, réaction de la cyanidine sans copeaux de magnésium	75
FIGURE N°28 : Photo des stérols et triterpènes	76
FIGURE N°29 : Photo des mucilages	76

TITRE :

CONTRIBUTION A L'ETUDE D'UNE PLANTE UTILISEE TRADITIONNELLEMENT COMME POISON D'EPREUVE AU GABON : LE STRYCHNOS *ICAJA* (*MBUNDU*), LOGANIACEE

RESUME :

Le *Strychnos icaja* Baillon (Loganiacée) est une plante tropicale fréquente dans les forêts d'Afrique Centrale (Congo, Cameroun, Gabon...). Cette espèce de *Strychnos* est aussi utilisée par les populations locales comme poison d'épreuve ou de flèches ou pour traiter les hémorroïdes mais elle est également utilisée par les tribus pygmées du Cameroun pour traiter le paludisme persistant. Elle est aussi employée pour ses propriétés magico-médicales. Les feuilles, les tiges et les racines renferment de nombreux alcaloïdes dont la Strychnine. Elle renferme en plus des tanins galliques dans les tiges et racines et des tanins catéchiques dans les feuilles. On note également la présence de flavonoïdes, de stéroïdes, de triterpènes et de saponosides dans toutes les parties étudiées.

MOTS CLES : *Strychnos icaja*, ordalie, médecine traditionnelle, alcaloïdes, Strychnine, tanins, flavonoïdes, saponosides

ABSTRACT :

Strychnos icaja baillon (Loganiacée) is a tropical shrub common in tropical forest of Central Africa (Congo, Cameroon, Gabon). This *Strychnos* specie is mainly used by local population as a arrow or ordeal poison, to treat hemorroïd but also been used by Pygmies tribes from Cameroon to treat persistant malaria, it's also used for his magic-medical property. Leaves, stems and roots contain alkaloïds of whom Strychnine. The plant contain mainly gallic tanins in the leaves and stems and catechic tanins in the roots. One also notes the presence of flavonoïds, sterols, triterpenes and saponosides in the plant.

KEYWORDS: *Strychnos icaja*, ordalie, traditional medical, alkaloïds, Strychnin, tanins, flavonoïdes, saponosides