

204

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI
ANNEE UNIVERSITAIRE 1990-1991

Professeur Sambou SOUMARE
Professeur Moussa TRAORE
Docteur Hubert BALIQUE
Monsieur Bakary M. CISSE
Monsieur Hama B. TRAORE

Directeur Général
Directeur Général Adjoint
Conseiller Technique
Secrétaire Général
Econome

D.E.R. DE CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur Mamadou Lamine TRAORE	Chef de D.E.R. Chirurgie
Professeur Aliou BA	Ophtalmologie
Professeur Bocar SALL	Ortho. Traumat. Secourisme
Professeur Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Professeur Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Professeur Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Professeur Abdou Alassane TOURE	Orthopédie-Traumatologie
Professeur Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique

2. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Bénitiéni FOFANA	Gynécologie-Obstétrique
Docteur Mme SY Aïssata SOW	Gynécologie-Obstétrique
Docteur Kalilou QUATTARA	Urologie
Docteur Mamadou Lamine DIOMBANA	Odonto-Stomatologie
Docteur Djibril SANGARE	Chirurgie Générale-Soins Infirmiers
Docteur Salif DIAKITE	Gynécologie-Obstétrique
Docteur Massaoulé SAMAKE	Gynécologie-Obstétrique
Docteur Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Docteur Alhousseyni AG MOHAMED	O.R.L.
Docteur Mme Fanta Sambou DIABATE	Gynécologie-Obstétrique
Docteur Abdoulaye DIALLO	Anesthésie Réanimation
Docteur Sidi Yaya TOURE	Anesthésie Réanimation

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur Bréhima KOUMARE	Microbiologie (Chef de D.E.R.)
Professeur Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-Histo - Embryo.
Professeur Abdel Karim KOUMARE	Anatomie
Professeur Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique

2. DOCTEURS D'ETAT

Professeur Yéya Tiémoko TOURE	Biologie
Professeur Amadou DIALLO	Biologie-Génétique

3. DOCTEURS 3° CYCLE

Professeur Moussa HARAMA	Chimie Organique Minérale
Professeur Massa SANOGO	Chimie Analytique
Professeur Mme THIAM Aïssata SOW	Biophysique
Professeur Bakary M. CISSE	Biochimie
Professeur Mamadou KONE	Anatomie-Physio-Humaines

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Ogobara DOUMBO	Parasitologie
Docteur Abderhamane Sidèye MAIGA	Parasitologie
Docteur Anatole TOUNKARA	Immunologie

5. MAITRES-ASSISTANTS

Docteur Hama CISSE	Chimie Générale
Docteur Amadou TOURE	Histo-Embryologie
Docteur Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur Souleymane SANGARE	Pneumo-Phtisio. (Chef de D.E.R.)
Professeur Abdoulaye AG RHALY	Médecine Interne
Professeur Aly GUINDO	Gastro-Entérologie
Professeur Mamadou Kouréïssi TOURE	Cardiologie
Professeur Mahamane MAIGA	Néphrologie
Professeur Ali Nouhoum DIALLO	Médecine Interne
Professeur Baba KOUMARE	Psychiatrie
Professeur Moussa TRAORE	Neurologie

Professeur Issa TRAORE	Radiologie
Professeur Mamadou Marouf KEITA	Pédiatrie
Professeur Eric PICHARD	Médecine Interne
Professeur Toumani SIDIBE	Pédiatrie

2. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Balla COULIBALY	Pédiatrie
Docteur Boubacar DIALLO	Cardiologie
Docteur Somita KEITA	Cermato-Léprologie
Docteur Dapa Ali DIALLO	Hémato-Médecine Interne

D.E.R. DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur Boubacar CISSE	Toxicologie (Chef de D.E.R.)
---------------------------	------------------------------

2. MAITRES-ASSISTANTS

Docteur Boulkassoum HAIDARA	Législ.Gest.Pharm.
Docteur Elimane MARIKO	Pharmacodynamie
Docteur Arouna KEITA	Matière Médicale
Docteur Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique

3. DOCTEUR 3° CYCLE

Docteur Mme CISSE Aminata GAKOU	Pharmacie Galénique
---------------------------------	---------------------

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique (Chef de D.E.R.)
Docteur Hubert BALIQUE	Maitre de Conf.Santé Publique

2. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Sory Ibrahima KABA	Epidémiologie
Docteur Sanoussi KONATE	Santé Publique
Docteur Moussa A. MAIGA	Santé Publique
Docteur Georges SOULA	Santé Publique
Docteur Bocar TOURE	Santé Publique
Docteur Pascal FABRE	Santé Publique

DOCTEURS 3° CYCLE

Professeur Bouba DIARRA	Microbiologie
Professeur N'Golo DIARRA	Botanique
Professeur Souleymane TRAORE	Physiologie Générale

Professeur Salikou SANOGO	Physique
Professeur Daouda DIALLO	Chimie Minérale
Professeur Bakary SACKO	Biochimie
Professeur Messaoud LAHBIB	Biologie Végétale
Professeur Karango TRAORE	Cryptogamie

CHARGES DE COURS

Monsieur Modibo DIARRA	Diététique-Nutrition
Docteur Boubacar KANTE	Pharmacie Galénique
Docteur Alou KEITA	Pharmacie Galénique
Docteur Souleymane GUINDO	Gestion
Docteur Mme MAIGA Fatoumata SOKONA (Ingénieur Sanitaire)	Hygiène du Milieu
Madame DEMBELE Sira	Mathématiques
Professeur Yoro DIAKITE	Mathématiques
Professeur Sidiki DIABATE	Bibliographie

ASSISTANTS ET C.E.S.

Docteur Bah KEITA	Pneumo-Phthysologie
Docteur Hamar Alassane TRAORE	Médecine Interne
Docteur Sékou SIDIBE	Ortho-Traumatologie
Docteur Abdoul Kader TRAORE dit DIOF	Chirurgie Générale
Docteur Moussa I. MAIGA	Gastro-Entérologie
Docteur Kader TRAORE	Médecine Interne
Docteur Flabou BOUGOUDOGO	Microbiologie
Docteur Mamadou A. CISSE	Urologie
Madame COUMARE Fanta COULIBALY	T.P. Soins Infirmiers
Docteur Baba SOGODOGO	Chirurgie Générale
Docteur KONARE Habibatu DIAWARA	Dermatologie-Léprologie
Docteur Drissa DIALLO	Matière Médicale
Docteur Nouhoum ONGOIBA	Chirurgie Générale
Docteur Sahari FONGORO	Néphrologie
Docteur Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Docteur Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Docteur Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Professeur GENIAUX	C.E.S. Dermatologie
Professeur LAGOUTTE	C.E.S. Ophtalmologie

Professeur Philippe VERIN	C.E.S. Ophtalmologie
Professeur E. A. YAPO	Biochimie
Professeur Théophile SOLOGANDJI	Pharmacodynamie
Professeur Léopol TCHAKPE	Pharmacie Chimique
Professeur Ababacar FAYE	Pharmacodynamie
Professeur Mamadou BADIAN	Pharmacologie
Professeur Mamadou KOUMARE	Pharmacologie

PERSONNELS RESSOURCES

Docteur Madani TOURE	H.G.T.
Docteur Tahirou BA	H.G.T.
Docteur Amadou MARIKO	H.G.T.
Docteur KEITA	H.G.T.
Docteur Antoine Niantao	H.G.T.
Docteur Kassim SANOGO	H.G.T.
Docteur Yéya I. MAIGA	I.N.R.S.P.
Docteur Mme SANGARE	I.N.R.S.P.
Docteur KONE	I.N.R.S.P.
Docteur BA Marie Paul DIALLO	I.N.R.S.P.
Docteur RECHIKOFF	I.O.T.A.
Docteur DICKO	P.M.I. Sokoniko
Docteur M. TRAORE	Kati
Docteur Arkia DIALLO	P.M.I. Centrale
Docteur Mme TRAORE J. THOMAS	I.O.T.A.
Docteur Pierre BOBIN	Dermato-Leprologie
Docteur Alain DELAYE	Chirurgie Générale.

DEDICACE

.../...

D E D I C A C E

Je dédie cette thèse

- A mon cher père Mélégué SANOGO, qui m'a soutenu et protégé au cours de mes études depuis le cycle fondamental à nos jours. Puisse ce travail, votre travail, constituer un motif de légitime fierté.
- A ma douce maman, Chérie Tiantio SANOGO qui m'a de tout temps entouré de tendresse, d'amour, de conseils utiles, de soins... de tout ce, dont j'ai eu besoin pour devenir l'être que je suis fier d'être. Puisse ce travail vous apporter quelques satisfactions.
- A tous les chercheurs à qui je souhaite courage, abnégation et bonne chance afin qu'ils puissent aboutir à un résultat qui puisse être utile à la société et à la postérité. Je souhaite de tout mon coeur que la présente thèse soit d'un apport considérable dans leurs recherches.
- A tous mes amis et collègues étudiants en souvenir des longues années de joie et de déception vécues en commun.

.../...

A LA COOPERATION SANITAIRE ITALIENNE POUR SON
APPUI FINANCIER

Qu'elle retrouve ici toute ma sympathie et ma
reconnaissance.

A toute l'équipe sanitaire Italienne au Mali.

.../...

R E M E R C I E M E N T S

J'exprime mes remerciements sincères et toute ma reconnaissance à toutes les personnes physiques ou morales, à tous mes amis de près ou de loin qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à l'élaboration de la présente thèse.

Mes remerciements vont singulièrement à tous mes parents pour le soutien, l'affection et le dévouement qu'ils n'ont jamais cessé de manifester à mon endroit.

Je remercie également mes différents logeurs de Farakala, Tierouala, Sikasso et Bamako qui ont bien voulu m'accepter (m'héberger) sous leur toit tout le long de mes études fondamentales, secondaires et supérieures. Qu'ils en soit infiniment récompensés.

C'est le lieu et le moment d'exprimer toute ma reconnaissance envers tous les enseignants qui ont pris part à ma formation fondamentale, secondaire et supérieure, surtout ceux de l'E.N.M.P. et singulièrement le Dr Arcouna KEITA, mon Directeur de Thèse, pour son courage, sa disponibilité, ses conseils combien utiles et appréciables sans lesquels, cette thèse n'aura jamais vu le jour.

Je remercie aussi tout le personnel sans exception de la D.M.T. pour leur contribution inoubliable. Je leur exprime ma profonde gratitude.

Je ne saurais oublier la coopération sanitaire Italienne à laquelle je suis très reconnaissant pour le soutien matériel de cette thèse.

Mes sincères remerciements à Mlle PLEA dite Fatoumata COULIBALY et Monsieur Fagnan SANOGO pour l'aide qu'ils n'ont cessé de m'apporter durant tout ce travail.

A mes frères, soeurs, oncles, cousins et tantes.

.../...

Vos sages conseils, vos critiques et suggestions, votre aide morale et matérielle m'a plus d'une fois, permis de franchir des étapes difficiles. Soyez assurés de ma profonde reconnaissance.

A tous mes amies et amis. J'attache la plus haute importance aux liens qui me lient à chacun de vous. En témoignage de ma sincère amitié.

Que les uns et les autres trouvent ici l'expression de ma gratitude.

A notre Directeur de Thèse Monsieur le Docteur
Arouna KEITA

Maître Assistant, Professeur de Pharmacognosie à
l'E.N.M.P., Chef de la Division Médecine Traditionnelle /
I.N.R.S.P.

Vous nous avez chaleureusement accueillie, dans votre
laboratoire, où grâce à vos qualités humaines et votre compé-
tence scientifique on aime travailler et vivre.

Si nous avons été les "ouvriers" et quelques fois
les "Maçons" de ce travail, vous en avez été "l'architecte"
et le "Maître d'oeuvre". Vos éminentes qualités scientifi-
ques, votre doigté et votre endurance n'ont cessé de nous
étonner.

Puisse ce travail être le témoignage de notre pro-
fonde reconnaissance et notre sincère attachement.

.../...

S O M M A I R E

	Pages
INTRODUCTION	1
MOTIVATION DE LA RECHERCHE	5
<u>PREMIERE PARTIE : USAGES MEDICAUX-TRADITIONNELS DE <u>Daniellia</u></u> <u>oliveri</u>	7
<u>DEUXIEME PARTIE : ETUDE BOTANIQUE</u>	
I. PLACE DE <u>Daniellia oliveri</u> DANS LA SYSTEMATIQUE.....	28
II. DESCRIPTION	28
III. HABITAT	32
IV. SYNONYMES	34
V. NOMS VERNACULAIRES	34
VI. CARACTERES DE LA DROGUE	34
VI.1. Caractères organoleptiques	35
VI.2. Caractères macroscopiques	35
VI.3. Caractères microscopiques	
<u>TROISIEME PARTIE : ETUDE PHYTOCHIMIQUE</u>	
CHAPITRE I : TRAVAUX ANTERIEURS	38
CHAPITRE II : TRAVAUX PERSONNELS	
I. ESSAIS PRELIMINAIRES	
I.1. Caractéristiques physico-chimiques	40
I.1.1. Détermination du pH	40
I.1.2. Détermination du taux d'humidité	40
a) Méthode gravimétrique	40
b) Méthode volumétrique	41
I.1.3. Détermination du taux de cendres	42
a) Cendres totales	43
b) Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique	43
c) Cendres sulfuriques	44
I.2. Mises en évidence des principales classes chimiques	44
I.2.1. Alcaloïdes	45
I.2.2. Substances polyphénoliques	46
I.2.2.1. Tannins	46
I.2.2.2. Flavonoïdes	47
I.2.3. Dérivés anthracéniques	48
I.2.4. Stéroïls et Terpènes	49

I.2.5. Hétérosides cardiotoniques	50
I.2.6. Saponosides	51
I.2.7. Composés réducteurs	52
I.2.8. Oses et Holosides	52
I.2.9. Mucilages ou Polyuronides	52
I.2.10 Coumarines	53
I.2.11 Hétérosides cyanogénétiques	53
I.3. Résultats	53
I.3.1. Caractéristiques physico-chimiques	53
I.3.1.1. pH	53
I.3.1.2. Taux d'humidité	54
a) Méthode gravimétrique	54
b) Méthode volumétrique	54
I.3.1.3. Dosage de cendres	55
a) Cendres totales	55
b) Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %	55
c) Cendres sulfuriques	56
I.3.2. Mises en évidence des principales classes chi- miques	57
II. TECHNIQUES GENERALES D'ETUDES	
II.1. Pulvérisation	58
II.2. Extraction	58
II.2.1. Extraction par l'eau	58
II.2.2. Extraction par l'éthanol	59
II.3. Fractionnement	59
II.3.1. Extraction liquide-liquide	59
II.3.2. Extraction au Soxhlet	59
II.3.3. Fragmentation sur colonne	60
II.3.3.1. Colonne de silice Art 7731	61
II.3.3.2. Colonne de cellulose	61
II.3.3.3. Colonne de sephadex	62
II.4. Purification	62
II.4.1. Chromatographie analytique sur couche mince...	62
II.4.1.1. Pour l'étude des Flavonoïdes	63
II.4.1.2. Pour l'étude des composés terpéniques	66
II.4.2. Chromatographie préparative sur plaque	67
II.4.3. Hydrolyse acide	67
II.5. Identification	68

III. ETUDES DES FLAVONOIDES

III.1. Matériel végétal	69
III.2. Extraction	69
III.2.1. Préparation de l'extrait aqueux	69
III.2.2. Préparation de l'extrait éthanolique	71
III.3. Fragmentation	73
III.3.1. Fragmentation de l'extrait aqueux (solution M)	73
III.3.2. Fragmentation de l'extrait éthanolique (Ex - trait N)	77
III.4. Séparation et purification des Flavonoïdes	81
III.4.1. Flavonoïdes de l'extrait butanolique de la solution M (Extrait aqueux total).....	81
III.4.1.1. Séparation des composés flavoniques	81
Colonne de Sephadex G-25	81
III.4.1.2. Purification	85
III.4.2. Flavonoïdes de l'extrait butanolique de la solution N (extrait éthanolique)	87
III.4.2.1. Séparation des composés flavoniques.....	87
III.4.2.2. Purification sur colonne de silice G	90
III.4.3. Composés isolés	92
III.4.4. Hydrolyse acide composé D.0.13	92
III.5. Essai d'identification du composé D.0.13	
III.5.1. Comportement chromatographique	93
III.5.1.1. Relations Fluorescence-Coloration-Structure	93
III.5.1.2. Relations R _f - Structure	94
III.5.1.3. Hydrolyse-acide	94
III.5.2. Spectrométrie d'absorption dans l'ultra - violet	96
III.5.2.1. Spectres du composé D.0.13	96
III.5.2.1.1. Spectre dans le méthanol	96
III.5.2.1.2. Spectre dans le méthanol, le méthanol en présence de chlorure d'aluminium et le méthanol en présence de chlorure d'alumi- nium et d'acide chlorhydrique.....	98
III.5.2.1.3. Spectre dans le méthanol, le méthanol en présence d'acétate de sodium et le méth- anol en présence d'acétate de sodium et d'acide borique	101

III.5.2.1.4. Spectres dans le méthanol et le méthanol en présence de NaOH	103
III.5.3. Hypothèse de structure	105
CONCLUSION	106
BIBLIOGRAPHIE	

I N T R O D U C T I O N

I N T R O D U C T I O N

Au Mali, comme dans de nombreux pays en voie de développement, les infrastructures sanitaires sont insuffisantes. L'approvisionnement en médicaments est faible surtout en zones rurales. Le revenu des habitants n'arrive pas à couvrir leurs besoins les plus élémentaires et la majorité d'entre eux se soignent avec les médicaments traditionnels. Cela se voit aussi bien en zone rurale qu'urbaine.

Depuis les temps immémoriaux, l'homme a su les vertus thérapeutiques des plantes. Elles lui ont fourni la majeure partie des produits employés en thérapeutique. Cette connaissance s'est transmise de génération en génération, de manière orale ou écrite ; souvent dans la clandestinité.

Cette médecine traditionnelle a subi une crise incontestable en Afrique avec l'introduction de la médecine moderne. Cependant le coût de la Santé Publique est encore inabordable pour bien des nations qui doivent faire face à plusieurs problèmes, tous prioritaires. A cela s'ajoute le manque de personnel médical et le faible revenu des populations qui sont en majorité rurales.

Ainsi la santé de l'homme reste en Afrique largement tributaire de la plante médicinale. Pour certaines personnes (botanistes, pharmaciens, forestiers, thérapeutes traditionnels), la médecine traditionnelle a un fondement scientifique et doit être revalorisée. Certains thérapeutes traditionnels prescrivent avec succès des recettes comprenant diverses espèces végétales ou minérales.

Notre pays, le Mali analysant cette situation et conformément aux recommandations du premier symposium tenu à DAKAR en Mars 1968 sur les plantes médicinales et les pharmacopées traditionnelles a mis en place un institut national par Arrêté n°678/MSP-AS du 29 Octobre 1968 et dénommé

"Institut de Phytothérapie et de Médecine Traditionnelle".

En Octobre 1973, l'institut prit le nom d'Institut National de Recherche sur la Pharmacopée et la Médecine Traditionnelle (I.N.R.P.M.T.).

En 1981 avec la création de l'Office Malien de Pharmacie (O.M.P.), l'institut devient une division de cet ensemble.

En 1983, il fut proclamé centre collaborateur de l'O.M.S. pour la recherche en médecine traditionnelle.

En 1986, cette division fut rattachée à l'Institut National de Recherche en Santé Publique (I.N.R.S.P.) sous la dénomination de "Division de la Médecine Traditionnelle" (D.M.T.).

Depuis sa création, l'institut effectue de très nombreux travaux de recherche sur les pratiques médicinales et la pharmacopée traditionnelle au Mali. Aujourd'hui, la D.M.T. représente un exemple de symbiose réussie entre la médecine traditionnelle et la médecine moderne. La section clinique de la D.M.T. effectue le traitement de certaines affections et syndromes (ictère, paludisme, toux, H.T.A., dysenterie, asthme, dermatoses, gastralgie, etc...).

Actuellement la médication par les plantes connaît un nouvel essor. En effet un grand nombre de médicaments modernes est extrait des plantes. Bien qu'à présent l'industrie de synthèse des médicaments connaisse un développement graduel, on assiste à un retour à la médication naturelle surtout par des remèdes d'origine végétale. L'orientation de la thérapeutique vers les médicaments à base de principes extraits de plantes se justifie par plusieurs raisons dont : le coût élevé de la thérapeutique moderne, la bonne tolérance des médicaments naturels contrairement aux

Il est alors nécessaire pour les pays du tiers Monde dans lesquels les infrastructures sanitaires sont généralement insuffisantes, de multiplier et de soutenir toutes les recherches dans le domaine de la médecine traditionnelle. Cela semble être la voie la plus sûre nous permettant d'atteindre les objectifs de l'O.M.S. de l'an 2.000.

Notre travail est une contribution à l'étude botanique et phytochimique de Daniellia oliveri (Rolfe) Hutch et Dalz (Caesalpiniaceae) qui est largement utilisé par les thérapeutes traditionnels pour le traitement de diverses affections.

MOTIVATION DE LA RECHERCHE

.../...

MOTIVATION DE LA RECHERCHE

Le Mali est doté d'une végétation luxuriante par la diversité des espèces et par la qualité des essences.

Les Maliens ont toujours tiré profit de ces dons de la nature tant pour des besoins alimentaires que sanitaires.

Depuis les temps immémoriaux le règne végétal constitue pour les Maliens une source inépuisable de médicaments. Certaines recettes traditionnelles sont de nos jours irremplaçables et font figure de médicaments miracles. Elles ont une longue expérience clinique traditionnelle, mais on ignore toujours leur toxicité, leur mécanisme d'action.

Il est alors nécessaire de procéder à des recherches phytochimique, pharmacologique et galénique, afin d'isoler les principes actifs, d'élucider leur mécanisme d'action, d'avoir des formes galéniques appropriées et enfin prévoir des effets secondaires possibles.

C'est dans le souci de contribuer à la recherche de solutions à ces problèmes d'importance capitale que nous avons décidé de faire une étude phytochimique de Daniellia oliveri. Ce choix particulier est dû aux raisons suivantes :

- L'abondance de la plante au Mali.
- A la suite d'enquêtes réalisées à Sikasso, Bamako et alentours, nous nous sommes rendus compte que la majorité des thérapeutes utilisaient Daniellia oliveri dans le traitement des infections et syndromes (diarrhées, dysenterie, etc...) qui sont responsables de beaucoup de décès surtout chez les enfants.

- Daniellia oliveri, reste encore peu utilisé au niveau de la D.M.T. Son étude phytochimique sera donc d'une grande importance. Elle permettra de se renseigner d'une part sur les principaux groupes chimiques de la drogue et d'autre part sur son efficacité et sa toxicité vu la diversité de ses usages.

P R E M I E R E P A R T I E :

USAGES MEDICAUX TRADITIONNELS DE *Daniellia oliveri*

(ROLF) HUTCH et DALZ

USAGES MEDICAUX TRADITIONNELS DE Daniellia oliveri (ROLFE)
HUTCH ET DALZ

Les espèces de la famille des Caesalpinaceae occupent une place importante en médecine traditionnelle africaine. Les genres Bauhinia, Burkea, Cassia, Cordyla, Swartzia, Tamarindus et Detarium offrent à la pharmacopée malienne des espèces très importantes pour la thérapeutique comme : Bauhinia rufescens, Burkea africana, Cassia italica, Cordyla pinnata, Swartzia madagascariensis, Tamarindus indica et Detarium microcarpum.

Daniellia oliveri, communément appelée santan ou sana par les forestiers et très répandue, est réputée surtout pour son bois et sa résine exudée. Ses différents organes sont utilisés soit seuls, soit en association avec d'autres matières végétales, minérales ou animales.

Des enquêtes effectuées auprès des thérapeutes traditionnels et une recherche bibliographique, notamment sur les brochures ACCT d'excursions ethnobotaniques nous ont permis de repertorier les différents usages de Daniellia oliveri. Nous les avons classés ici par grands appareils :

A. APPAREIL CARDIOVASCULAIRE

1. Hypertension artérielle

Les racines de Daniellia oliveri semblent avoir des propriétés diurétiques (3).

Une décoction est faite avec les racines et le décocté est donné au malade trois fois par jour.

2. Maux de coeur

Les bourgeons de feuilles revêtus d'une stipule de

Daniellia oliveri sont utilisés soit seuls ou associés aux feuilles de Cymbopogon giganteus (29).

Les bourgeons de feuilles revêtus d'une stipule, associés aux feuilles de Cymbopogon giganteus, sont séchés, puis pulvérisés. La poudre ainsi obtenue est prise delayée dans de l'eau.

B. APPAREIL DIGESTIF

1. Colique

Ce sont les écorces de tronc et les racines de la plante qui sont utilisées (2).

Le décocté des écorces de tronc est employé en bain et en boisson.

Quant aux racines, elles sont associées à celles de Sarcophalus esculentus, aux gousses d'Aframomum melegueta et à l'Alum haoussa. Ce mélange est soumis à une décoction. Le décocté obtenu est bu par le malade.

2. Hernie

Les principales parties de la plante sont utilisées : racines, écorces de tronc et racine (2, 3, 29).

- L'infusé de la racine associée aux écorces de tronc et de racine est utilisé en massage.
- Les racines entières sont associées à celles de Afzelia africana, de Acacia albida, de Cassia occidentalis, de Gardenia ternifolia, de Tamarindus indica et aux fruits de Aframomum melegueta et de Xylophia aethiopica. La mixture ainsi obtenue, est bouillie et le décocté est bu ; il est aussi utilisé en massage.

3. Péritonite - Appendicite

La partie utilisée de Daniellia oliveri est ici l'écorce de tronc (2).

Le décocté d'écorces de tronc est administré per os au malade.

4. Ulcère d'estomac

Les écorces de Daniellia oliveri sont associées ici à celles de Detarium senegalensis (29).

Les écorces de tronc des deux plantes sont séchées, puis pulvérisées ensemble.

La poudre ainsi obtenue est prise delayée dans de l'eau ; le macéré est bu trois fois par jour par le malade.

5. Diarrhée - Dysenterie

Pour le traitement de ces affections, on utilise la poudre d'écorces de sept pieds différents de Daniellia oliveri additionnée à du sel gemme. La poudre est prise soit seule ou delayée dans de l'eau tiède.

La poudre d'écorces de tronc de Daniellia oliveri, prise delayée dans du lait caillé, soignerait spécifiquement la dysenterie amibienne (29).

6. Trichine

Pour le traitement de cette parasitose, les feuilles de Daniellia oliveri sont utilisées en association avec les bourgeons de feuilles revêtus d'une stipule (29).

L'infusé de feuilles est bu et pris en bain.

Les bourgeons de feuilles revêtus d'une stipule sont triturés, puis associés à un beurre végétal. La pâte obtenue est utilisée pour enduire le corps du malade.

7. Constipation

Les bourgeons de feuilles revêtus d'une stipule de Daniellia oliveri sont associés à de tendres feuilles de Annona senegalensis, de Bauhinia reticulata.

Ce mélange de matériel végétal est séché, puis pulvérisé, et le macéré de la poudre obtenue est bu par le malade.

Le macéré aqueux de feuilles de Daniellia oliveri est utilisé per os.

C. APPAREIL GENITAL DE LA FEMME : GYNECO-OBSTETRIQUE

1. Amenorrhées

Ce sont les bourgeons de feuilles revêtus d'une stipule et les écorces qui sont utilisés (29).

Les bourgeons de feuilles revêtus d'une stipule sont triturés à froids, puis mis en macération pendant 24 heures. Le macéré obtenu est bu le matin à jeûn (absorber une quantité suffisante) et pris en bain. Ce traitement est complété par un autre à base de rameaux feuillus de Combretum sp. L'infusé de ces rameaux est bu en quantité suffisante.

Quant aux écorces de tronc, elles sont associées à celles de Pterocarpus erinaceus, au calcinat de Xylopia aethiopica et de Piper nigrum (2).

Ce mélange de matière végétale est soumis à une décoction aqueuse ; le décocté est bu le matin à jeûn à raison d'une louchée d'environ 100 ml par jour pendant Six Jours.

7. Stérilité féminine

Le décocté de feuilles de Daniellia oliveri est utilisé en boisson (2, 3).

D. APPAREIL GENITAL DE L'HOMME

1. Asthénie sexuelle

Les racines et les stipules des jeunes pousses de Daniellia oliveri, semblent être douées de propriétés aphrodisiaques (3, 19).

Le macéré de l'écorce de racine est pris en boisson.

La poudre de repousses est prise delayée dans de l'eau ou avec les aliments.

Le Wolof utilise la poudre d'écorces de tronc (19).

2. Stérilité et impuissance sexuelle

Parmi les différentes parties de la plante les jeunes feuilles non closes semblent être les plus efficaces (19).

Séchées, ces feuilles sont reduites en poudre à laquelle on ajoute un peu de poudre de sel gemme.

La poudre salée ainsi obtenue est prise delayée dans de l'eau ou avec les aliments.

3. Retension de l'urine

Le macéré aqueux de feuilles de Daniellia oliveri est utilisé per os (2).

E. APPAREIL LOCOMOTEUR

- Courbatures

Les principales parties de la plante sont utilisées (2, 3, 19).

Le décocté des écorces de tronc est utilisé en bain de vapeur.

La résine est utilisée en fumigation surtout dans les courbatures avec fièvre.

Les feuilles sont associées à celles de Aframomum melegueta. Ce mélange de feuilles est pilé, ce qui donne une pâte de consistance molle et qui est lapée par le malade.

F. APPAREIL RESPIRATOIRE

1. Asthme

Dans ce cas les feuilles de Daniellia oliveri sont associées à celles de Paulinia pinnata, de Crocopteryx fébrifuga, de jeunes pieds de Parkia biglobosa et de l'herbe "Kô - mourouni" (bambara) (29).

La recette est bouillie et le décocté est bu et pris en bain corporel ou en bain de vapeur.

2. Bronchite (3, 19)

Le décocté des écorces de tronc ou de la résine est utilisé en bain et en boisson.

3. Pneumonie

La recette est constituée de jeunes rameaux feuillus de Daniellia oliveri associés à ceux de Annona senegalensis

et de Butyrospermum paradoxum subsp parkii (29).

Cette recette est préparée dans un canari. Le décocté obtenu est pris en bain, à la vapeur se dégageant du canari, tout en maintenant la bouche ouverte et la langue préalablement frottée avec une poudre de sel gemme et de piments.

4. Toux (11)

Le décocté du mélange d'écorces de tronc et de bourgeons est utilisé en bain de vapeur.

5. Hepatite

Le décocté de rameaux feuillus, pris en bain et boisson, soulagerait les personnes souffrant de cette infection (19).

6. Tuberculose

Les écorces de Daniellia oliveri seraient douées de propriétés antituberculeuses (19).

G. BOUCHE

L'écorce moyenne et les feuilles de Daniellia oliveri, calmeraient les douleurs dentaires (2, 3, 29).

L'écorce moyenne fraîche est broyée. La pâte obtenue est utilisée en application locale.

Quant aux feuilles, elles sont bouillies seules ou associées à celles de Mitrocarpum verticillatum et de Imperata cylindrica. Le décocté est utilisé par fumigation tout en maintenant la bouche ouverte.

H. L'OEIL

1. Cécité - Xérophtalmie

La racine de la plante est la plus utilisée pour prévenir la cécité ou pour corriger la Xérophtalmie (9).

Après la récolte, les racines sont débarassées de leurs fines écorces protectrices puis reduites en petits morceaux et mises en macération dans de l'eau.

Le macéré obtenu est instillé dans les yeux matin et soir.

2. Glaucome

Des feuilles non dépliées de Daniellia oliveri sont portées à l'ébullition dans l'eau, puis on introduit dans l'infusé bouillant une boule de beurre de karité.

La solution obtenue est utilisée pour laver la tête le soir tout en regardant le soleil couchant et le matin en regardant le soleil levant (29).

I. PEAU

* Brûlures - Blessures - Plaies ulcéreuses(1,13,14,20)

Les trois principales parties de la plante sont douées de propriétés cicatrisantes.

Les feuilles (âgées ou jeunes) ou les stipules sont séchées, puis pulvérisées. La poudre obtenue est utilisée pour recouvrir les parties malades.

L'écorce moyenne de tronc est mise en macération ; le macéré est utilisé pour laver les parties malades. Mais les

écorces peuvent être aussi séchées, puis réduites en poudre qui servira à recouvrir les plaies.

Les racines sont séchées, puis réduites en poudre ou broyées fraîches. La pâte obtenue ou la poudre est utilisée indifféremment pour recouvrir les plaies après les avoir lavé avec le macéré d'écorces de tronc.

Le décocté d'écorces de tronc associées aux racines est utilisé en bain matin et soir dans tous les cas de dermatoses.

* Gâle

La résine est récoltée, puis liquéfiée et utilisée en application locale.

Les feuilles portant la galle, associées à celles de Psorospermum guineense soigneraient la gâle filarienne (3, 29). Ce mélange de feuilles est bouilli et le décocté est bu et pris en bain deux fois par jour.

* Lèpre (3)

Les écorces de tronc de Daniellia oliveri associées à celles de Sterculia setigera Del sont mondées, découpées en petits morceaux puis séchées. On les pulvérise. La poudre obtenue mélangée à de la farine de mil est delayée dans de l'eau. La solution obtenue est bue et utilisée en application locale.

Les racines sont associées à celles de Annona senegalensis, de Khaya senegalensis et à des feuilles de Ficus parasite. Ce mélange de matière végétale est soumis à une décoction.

La posologie est de trois ou quatre bains avec le décocté, selon qu'il s'agisse d'un homme ou d'une femme. Ce

de la tête seule ou de tout le corps.

Les Serrer associent aux racines de Daniellia oliveri les feuilles de Ficus gnaphalocarpa dans le traitement de la folie (3, 19).

Les écorces de tronc sont associées au loranthus de Tamarindus indica, à la plante entière de Centaurea alexandrina, aux feuilles de Calotropis procera (29).

Le matériel végétal est séché.

Les écorces et le loranthus sont pulvérisés ensemble. La poudre obtenue est délayée dans un peu d'eau, afin d'obtenir une pâte qui est utilisée pour masser le malade.

Les autres constituants de la recette sont pulvérisés ensemble ; la poudre obtenue est mélangée à une graisse d'un animal noir de boucherie. Le produit obtenu est utilisé en fumigation, tout en le plaçant sur du charbon allumé dans un tesson de canari qu'on place sous le nez du malade. La fumée est inhalée par le malade.

Le macéré du mélange des racines de Daniellia oliveri et de Annona senegalensis, est bu à jeun spécifiquement pour traiter l'épilepsie (29).

2. Hémiplégies

Aux écorces de tronc de Daniellia oliveri, sont associées : une plante entière de Cymbopogon schoenanthus et de jeunes plantes entières de Kaempferia aethiopica, de Cymbopogon giganteus (2).

Ce mélange de matière végétale est soumis à une décoction ; le décocté obtenu est pris en bain trois fois par jour pendant trois jours. Le malade boit une quantité suffisante du même décocté avant chaque bain.

2. Céphalées et migraines (2, 3, 14, 19, 29)

La résine de Daniellia oliveri est brûlée dans les maisons comme de l'encens et elle sert en fumigation dans les céphalées.

Les bourgeons de feuilles revêtus d'une stipule séchés sont réduites en poudre grossières. Cette poudre brûlée est utilisée en fumigation. Le décocté de ces bourgeons de feuilles revêtus d'une stipule est aussi utilisé en bain de vapeur.

Le décocté des racines ou des écorces de tronc est utilisé par fumigation suivie de bain.

Quant aux feuilles, leur décocté aqueux est utilisé en bain de vapeur tout en plaçant au préalable sur la langue une poudre de sel pimentée. Le traitement se fait matin et soir pendant trois jours.

3. Diabète sucré

Les écorces de tronc de Daniellia oliveri, sont utilisées en association avec celles de Tamarindus indica (7).

Le décocté de trois morceaux d'écorces de chacune des deux plantes, est bu et pris en bain matin et soir. Renouveler la préparation tous les trois jours.

4. Envenimation par morsure de serpent

Le décocté des écorces de tronc et de la résine est utilisé en boisson (2, 3).

Les feuilles sont utilisées en association avec celles de Piliostigma thonningui, de Trichilia emetica, de Annona senegalensis, de Pavetta crassipes et de Khaya senegalensis.

Le décocté de ces feuilles est bu par le malade. Ce traitement est complété avec la poudre du calcinat des racines de ces différentes plantes. Une pincée de cette poudre est consommée chaque jour.

5. Hypothermie

Les feuilles non épanouies de Daniellia oliveri sont utilisées en association avec une gousse d'Aframomum melegueta (2).

Ce mélange de matières végétales est pilé, séché, puis pulvérisé.

La poudre obtenue est bue, delayée dans de l'eau à raison d'une cuillère à café trois fois par jour pendant deux jours.

6. Ictère

Le décocté de tiges feuillues de Daniellia oliveri est utilisé en bain corporel, bain de vapeur et en boisson (3, 14).

7. Oedèmes

Le décocté d'écorces de tronc est utilisé per os (2,19).

M. AUTRES USAGES

En plus de ces usages sus donnés, Daniellia oliveri posséderait des propriétés :

- Médico-magiques.
- Alimentaires (jeunes feuilles utilisées comme légumes, écorces fraîches de tronc dans le vin pour le rendre plus digeste).
- Artisanales (tige : menuiserie et forgerons).

APPAREILS	AFFECTIIONS	PARTIE DE LA PLAN- TE UTILISEE	FORME PHARMACEUTIQUE	MODE D'EMPLOI	REFEREN- CE
APPAREIL GENITAL DE LA FEMME : GYNECO-OBSTETRI- QUE	Amenorrhée	B.F.R.S. Ec. Tr.	Ma. aq Déc. aq	Per os Per os	2, 29
	Accouchement difficile	F.	Ma. aq	BC	3
	Dysmenorrhées	Ra	"	Per os	2
	Hypogalactocie	B.F.R.S.	Jus	"	29
	Leucorrhées	"	Ma. aq	"	29
	Stérilité	F.	Déc. aq	"	2, 3
	Troubles de la Menstruation	Ré. Ec. Tr	"	"	1, 3
	Asthénie sexuelle	Ra et B.F.R.S. Ec. Ra. et Ec. Tr J.P.	Ma. aq "	Fer os "	3, 19
	Retension urinaire	F.	Ma. aq	"	2
	Stérilité et im- puissance sexuelle	B.F.R.S.	"	"	3, 19
LOCOMOTEUR	Courbatures	Ec. Tr Ré F. F.	Déc. aq Pa	BV Fu Per os	2, 3, 19

APPAREILS	AFFECTIONS	PARTIE DE LA PLANTTE UTILISEE	FORME PHARMACEUTIQUE	MODE D'EMPLOI	REFERENCCE
APPAREIL RESPIRATOIRE	Asthme	F.	Déc. aq	Per os - BV	29
	Bronchite	Ec. Tr Ré	Déc. " aq	Per os - BC " "	3, 19
	Hepatitis	R.F.	"	Per os - BC	
	Pneumonie	"	"	BC - BV	29
	Toux	Ec. Tr et B.F.R.S.	"	BV	11
	Tuberculose	Ec. Tr	"	Per os - BC	19
	Douleurs Dentaires	Ec. Tr F	Pa Déc. aq	Appl. Pu	2,3,29
OELL	Cécité et Xérophthalmie	Ra	Ma. aq	G.O.	9
	Glaucome	J.F.	Inf. aq	B.T.	29
	Blessures Brûlures Plaies ulcéreuses	F ou B.F.R.S. Ec. Tr Ra	P. P. Déc. aq P. Pa	Appl. Appl. Appl.	
Peau	Gâle	Ré F	Déc. aq	Appl. Per os - BC	3, 29

APPAREILS	AFFECTIONS	PARTIE DE LA PLAN- TE UTILISEE	FORME PHARMACEUTIQUE	MODE D'EMPLOI	REFEREN- CE	
INFECTIONS SYMPTOMES ET SYNDROMES PARTICULIERS	Blennorrhagie	Ec. Tr. ou Ré F	Déc. aq ou Inf. aq Inf. aq	Per os - BC	1, 3, 29	
	Migraines et Céphalées	Ré B.F.R.S. Ra ou Ec. Tr. F	P Déc. aq ou P Déc. aq	Fu BV ou Fu BV ou BC	2, 3, 14 19, 29	
	Diabète	Ec. Tr.	"	Per os - BC	7	
	Envenimation par morsure de serpents	Ré et Ec. Tr. F	"	Per os	3, 11	
	Hypothermie	J.F.	P	Per os	2	
	Ictère	T.F.	Déc. aq.	Per os-BC-BV	3, 14	
	Oedèmes	Ec. Tr.	Déc. aq	Perc	2, 19	

LISTE DES ABREVIATIONS

Appl.	=	Application locale
aq.	=	aqueux
B.B.	=	Bain de Bouche
B.F.R.S.	=	Bourgeons de Feuilles Revêtus de Stipules
B.C.	=	Bain Corporel
Br.	=	Branchette
B.T.	=	Bain de Tête
B.V.	=	Bain de Vapeur
Déc.	=	Décocté
Déc. aq.	=	Décocté aqueux
Ec.	=	Ecorce
Ec. Tr.	=	Ecorce de Tronc
Ec. Ra.	=	Ecorce de Racine
F.	=	Feuilles
Fu.	=	Fumigation
G.O.	=	Goutte Oculaire
Inf. aq.	=	Infusé aqueux
J.F.	=	Jeunes Feuilles
J.P.	=	Jeunes Pieds
Ma. aq.	=	Macéré aqueux
Mass.	=	Massage
P.	=	Poudre
Pa.	=	Pâte
Ra.	=	Racine
Ré.	=	Résine
R.F.	=	Rameau Feuillu
T.F.	=	Tige Feuillue.
M.T.	=	Masse Totale
Avt.	=	Avant
Ap.	=	Après
P.E.	=	Prise d'Essai
Cal.	=	Calcination
C.	=	Cendre

DEUXIEME PARTIE :

ETUDE BOTANIQUE

.../...

ETUDE BOTANIQUE

I. PLACE DE Daniellia oliveri DANS LA SYSTEMATIQUE (8,15)

Le genre *Daniellia*, dédié à l'Anglais Daniel (1818 - 1865) (3) appartient aux Caesalpinaceae, qui forment avec les Papilionaceae et les Mimosaceae le grand groupe des légumineuses.

Essentiellement soudano-guinéen, ce genre renferme plusieurs espèces dont *Daniellia oliveri* occupant la position systématique suivante :

Embranchement	:	Spermatophytes (Phanérogames ou plantes à graines)
Sous-Embranchement	:	Angiospermes
Classe	:	Dicotylédones
Sous-Classe	:	Dialypétales
Série	:	Calciflores
Sous-Série	:	Diploméristémones
Ordre	:	Rosales
Famille	:	Légumineuses
Sous-Famille	:	Caesalpiniceae
Genre	:	<i>Daniellia</i>
Espèce	:	<i>oliveri</i> .

II. DESCRIPTION (1,3,13,19)

Daniellia oliveri est un grand arbre de 15 à 20 m ; à fût droit, mais souvent bas branchu ; à cime étalé avec à la base un empattement très faible ou même inexistant. Les écorces gris-argentées, finement rugueuses se desquament par plaques circulaires.

- Les feuilles sont paripennées et alternes. Le rachis long de 15 à 30 cm, comporte 5 à 10 paires de folioles opposées ou subopposées. Il est parfois pubescent.

.../...

** Les folioles sont ovales, elliptiques, longues de 9 à 15 cm, larges de 4 à 7 cm vers la base qui est largement arrondie et dissymétrique et à sommet en pointe obtuse. La foliole comporte 10 à 15 nervures latérales transparentes à l'état frais, ainsi que le fin réseau de nervilles reticulées. Dans ce réseau de nervilles on aperçoit des points glabres, pouvant être pubescents, veloutés des deux côtés.

** Le pétiole est long de 2 à 4 cm avant les premières folioles. Les pétiolules sont épais et longs de 5 mm.

** Le bourgeon terminal est revêtu d'une stipule caduque longue de 10 à 15 cm.

- Les fleurs sont blanches ou blanc-verdâtres. Les inflorescences sont des grappes en panicules terminales, longues de 15 à 30 cm, portant des racèmes horizontaux, distiques de 5 à 15 cm. Les racèmes portent des fleurs hautes de 25 à 30 mm, à calice en massue dans le bouton floral.

** Ce calice comporte 5 sépales verdâtres, libres, glabres, et larges de 4 à 6 mm.

** La corolle se caractérise par la présence d'un ou de deux pétales plus larges, dépassant les sépales. Les autres sont minuscules.

** L'androcée est constituée de 10 étamines dépassant les pétales. Elles sont médifixes, portées par de longs filets et disposées en deux verticilles alternes.

** Le gynécée ou pistil, est situé au centre de la fleur. Il comporte un ovaire court, surmonté d'un long style et se terminant par un stigmate plus ou moins renflé. L'ovaire présente une seule loge, munie d'un seul placenta, qui porte deux rangées d'ovules.

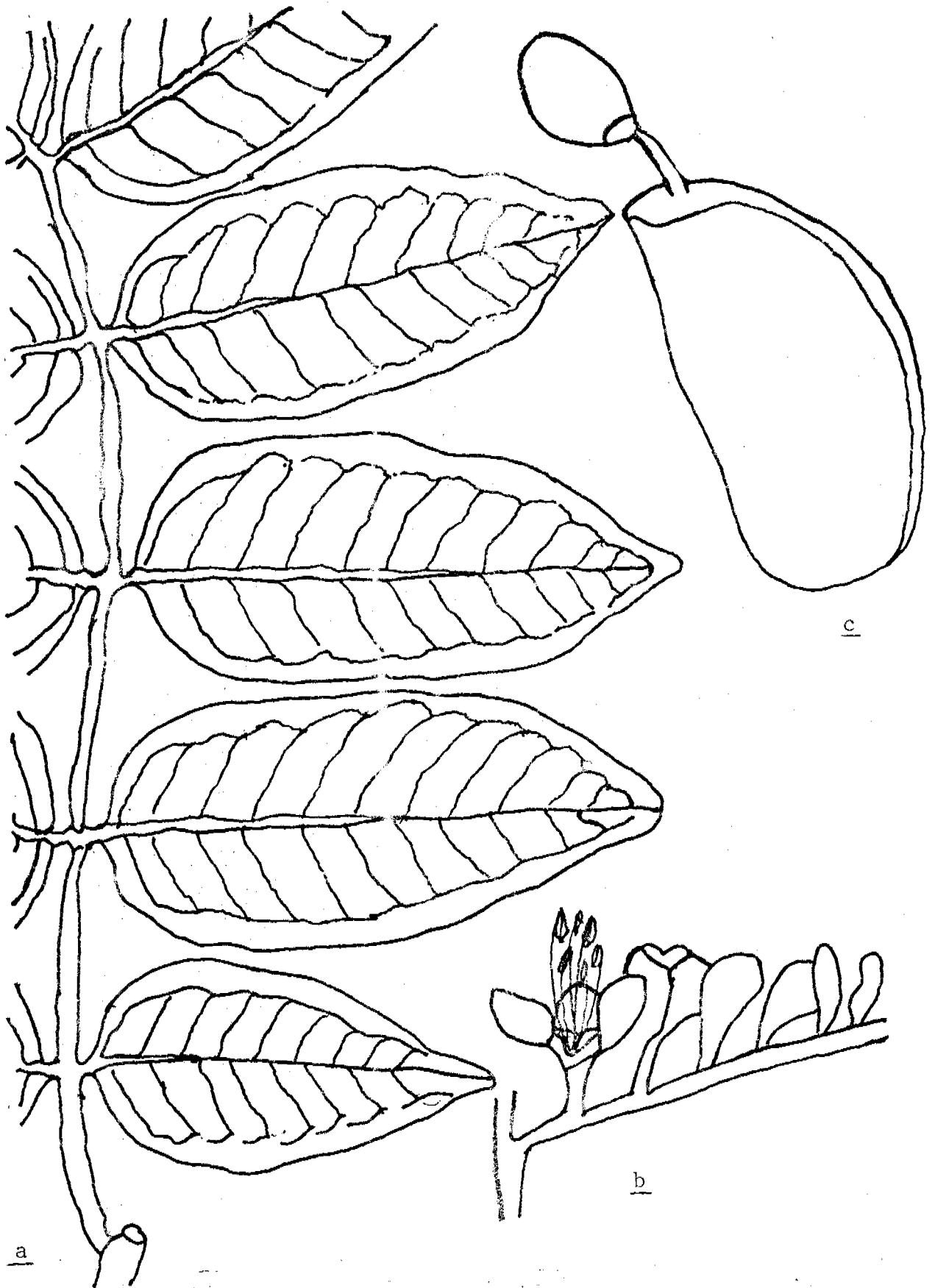


Figure n° 1 : Daniellia oliveri (Rolfe) Hutch et Dalz.

a = Feuille b = Inflorescence
c = Fruit avec graine.

III. HABITAT

Daniellia oliveri, est une plante soudano-guinéenne. Elle est répandue du Sénégal à l'Ouganda et l'Angola en passant par le Mali, la Gambie, la Sierra Léone, la Côte d'Ivoire, la Centrafrique, le Congo, le Soudan, le Ghana, le Togo, le Bénin, le Nigéria, le Cameroun, le Tchad (13).

Au Sénégal, on le rencontre en moyenne Casamance, dans la presqu'île du Cap-Vert et au Sud du Saloum (1,19).

Il est très répandu au Mali et surtout dans les régions de Sikasso, Koulikoro, Ségou et Kayes.

Il pousse sur les sols frais et même secs. Il existe aussi dans les Colonies de jachères et clairières.

Il n'y a aucune espèce sahélienne pour cette plante (13).

L'aire géographique de la plante est représentée par la figure

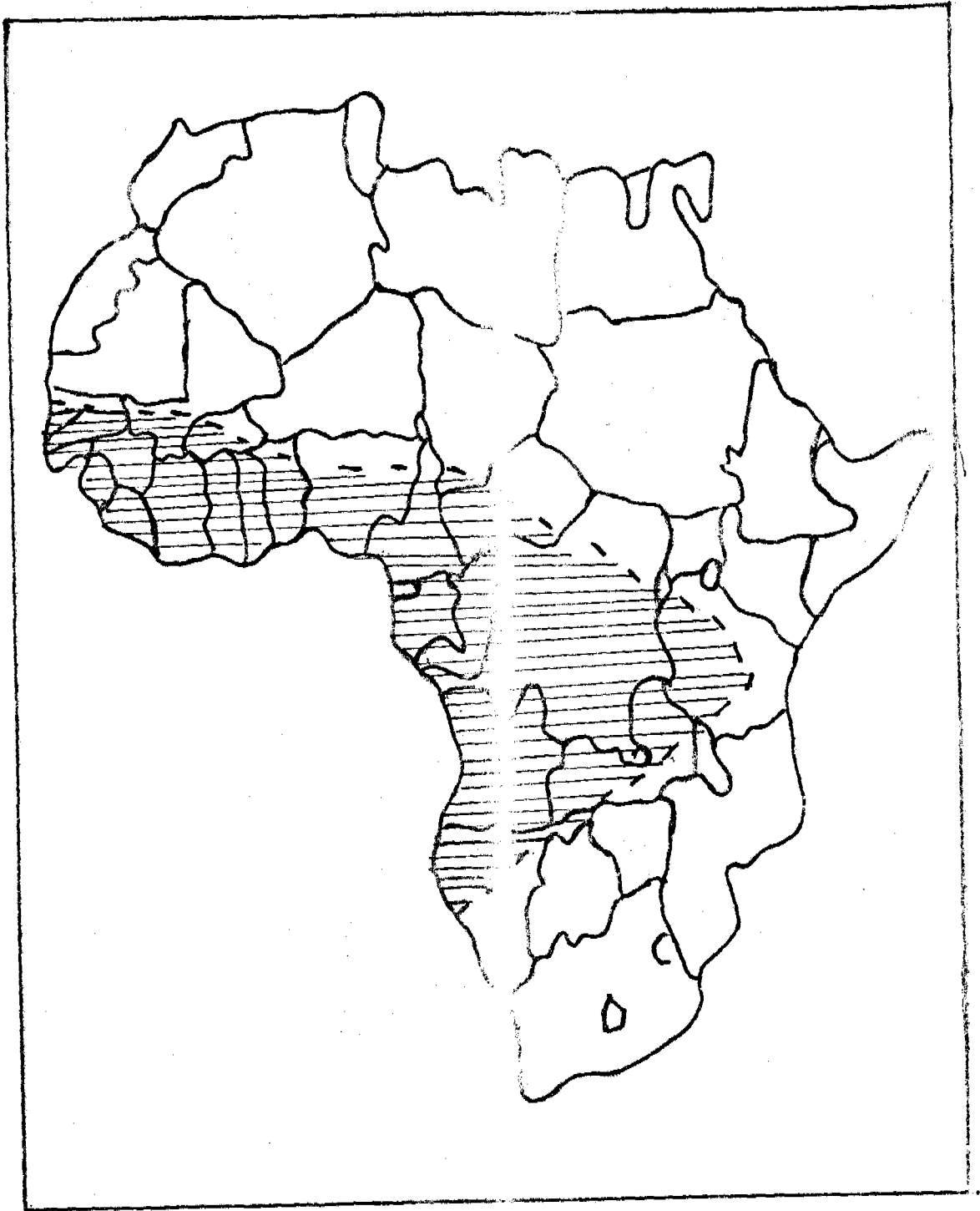


Figure n° 2 : Phytogéographie de Daniellia oliveri (Rolfe)
Hutch et Dalz.

La zone hachurée représente l'aire de repartition géographique
de la plante. -

IV. SYNONYMES

Daniellia thurifera A. Chev

Daniellia thurifera Denn Varr Chevalieri J. Leonard

Paradaniellia oliveri Rolfe

Noms vulgaires :

Daniellia

Santan.

V. NOMS VERNACULAIRES (3, 19)

Banbara	:	Satan - Sanè - Sanan
Dioula	:	Bubalin - bupalay - butinfi
Haoussa	:	Maje
Malinké	:	Sanan
Mandingua	:	Santago - utand
Horé	:	Honga
Peulh	:	Tewe - tewi - tevedi - kaha
Senoufo	:	Suru-cige - surugo
Serrer	:	Sàbam - seleen
Toucouleur	:	Tewi - tévé
Wolof	:	Sàtàn - sàtà
Zarna	:	Farmey.

Cette diversité des noms vernaculaires s'explique par l'aire de répartition géographique de la plante.

VI. CARACTERES DE LA DROGUE

Les différentes parties de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle.

Au cours de nos travaux, nous avons utilisé les feuilles de la plante.

.../...

VI.1. Caractères organo-leptiques

Cet examen constitue une étape indispensable dans la caractérisation d'une drogue.

Les feuilles du *Daniellia*, convenablement séchées donnent une poudre fine, verdâtre, à une odeur faible et caractéristique, et une saveur fade.

VI.2. Caractères macroscopiques

Les feuilles sont composées, paripennées, avec 5 à 10 paires de folioles. Elles sont rougeâtres à l'état jeune et deviennent vert-claires sur la face supérieure, et grises en dessous.

VI.3. Caractères microscopiques

L'observation microscopique de la poudre de feuilles de *Daniellia oliveri* dans le réactif universel, montre la présence de :

1. Cellules avec stomates
2. Cristaux
3. Fragments d'épiderme
4. Grains d'amidon
5. Poils sécréteurs
6. Poils tecteurs
7. Tissus réticulés
8. Vaisseaux spiralés.

Cette poudre se caractérise surtout par l'abondance des grains d'amidon.

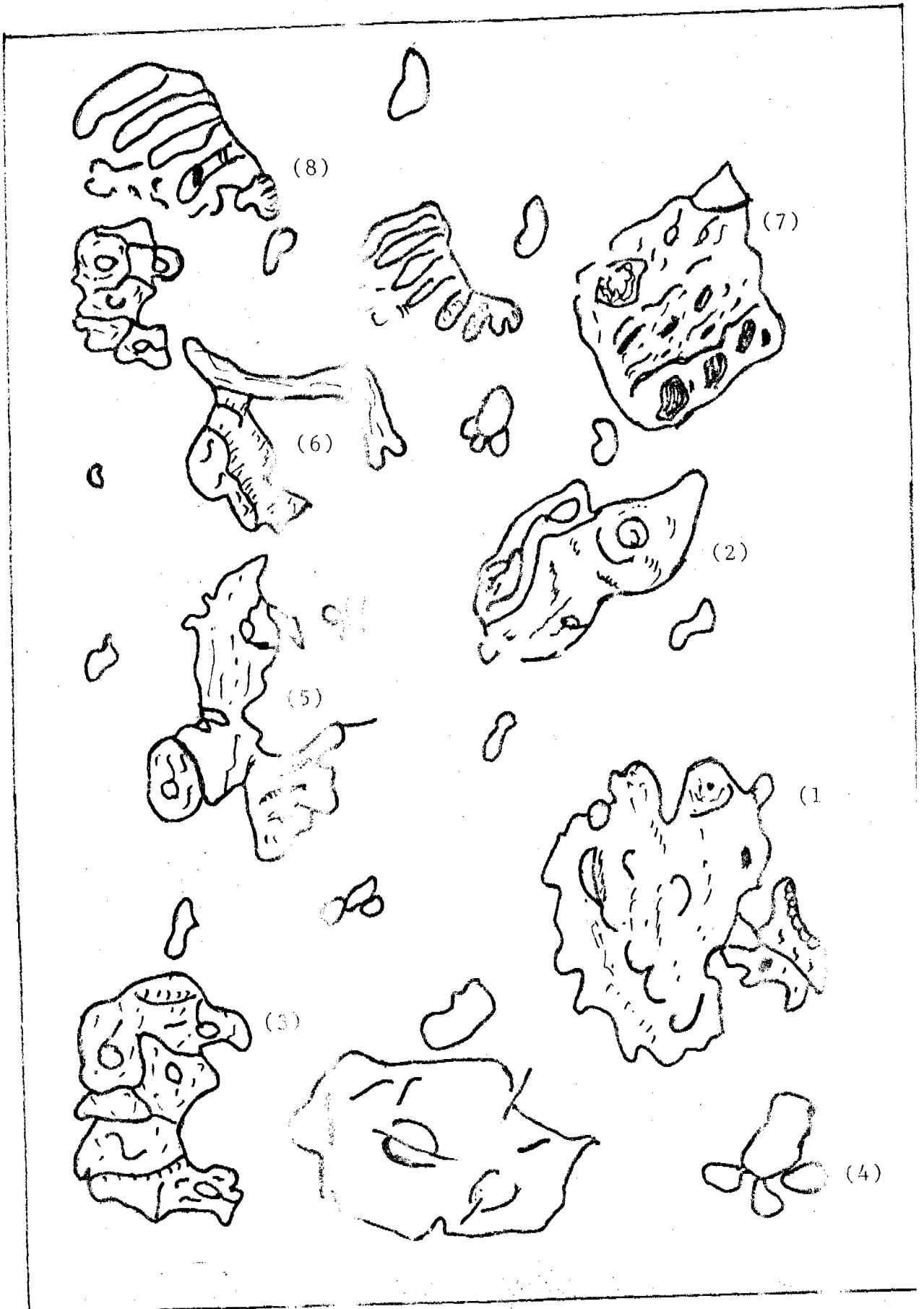


Figure n° 3 : Poudre de feuilles de Daniellia oliveri (Rolfe)
Hutch et aliz dans le réactif de Gazet.

REACTIF UNIVERSEL OU REACTIF DE GAZET DU CHATELIER

Composition :

Solution d'acide lactique saturée au Soudan	
III	20 ml
Sulfate d'aniline	0,5g
Eau distillée	40 ml
Iodure de potassium	0,55g
Iode	0,05g
Ethanol à 88 %	5 ml
Acide chlorhydrique à 37 %	2,5ml.

Préparation :

Le sulfate d'aniline est dissout dans 35 ml d'eau distillée.

L'iodure de potassium et l'iode sont dissouts dans 5 ml d'eau distillée, puis on ajoute l'éthanol.

On mélange les trois solutions et tout en agitant on ajoute l'acide chlorhydrique à 37 %.

TROISIEME PARTIE :

ETUDE PHYTOCHIMIQUE

.../...

CHAPITRE I

TRAVAUX ANTERIEURS

.../...

TRAVAUX ANTERIEURS

Le genre *Daniellia*, bien que connaissant une aire de répartition géographique importante, a été peu étudié.

Cependant, deux espèces voisines, *Daniellia oliveri* et *Daniellia ogea*, ont fait l'objet de quelques travaux phytochimiques. Ces travaux, certes anciens, ont une valeur chimio-taxonomique certaine pour le genre.

I. *Daniellia oliveri* (ROLFE) HUTCH ET DALZ

Cette espèce fournit une résine particulièrement riche en huile essentielle.

TALAJ S., fait état d'un rendement de 50 pour cent (50%) avec la résine de l'espèce ghanéenne (25). La présence de tannins est signalée dans l'espèce nigérienne par PERSINOS (28).

EKONG, a signalé de l'extrait éthéro-pétrolique du B-sistostérol (16).

KERHARO, signale l'existence d'un dérivé diterpénique : l'acide daniellique ($C_{28}H_{48}O_3$). Ce composé est extrait d'un mélange de constituants sesquiterpéniques volatils de la plante (16).

Des recherches préliminaires effectuées sur l'espèce du Congo Brazzaville ont prouvé la richesse des écorces et des racines de celle-ci en flavonoïdes, en saponosides et en tannins. Les quinones, les alcaloïdes et les cyanures, semblent absents (4).

II. *Daniellia ogea* (HARMS) ROLFE EX HOLL

Selon TALAJ, la résine ici est moins riche en huile essentielle, 7 pour cent (7%) (25). Cependant l'espèce nigérienne semble être riche en huile essentielle (25).

BEVAN, EKONG et OKUGUN, ont isolé la B-sistérol dans l'extrait éthéropétrolique et dans l'huile essentielle du caryophyllène et un nouvel acide dit erpénique : l'acide ozique (17).

III. CONCLUSION

Nous tirons de ces travaux antérieurs, les renseignements suivants :

- Chaque espèce renfermant un acide spécifique : l'acide daniellique pour l'espèce *oliveri* et l'acide ozique pour l'espèce *ogea*.
- Les deux espèces sont résineuses avec des proportions plus ou moins variables en huilles essentielles. Elles contiennent toutes deux des composés sesquiterpéniques.
- *Daniellia oliveri* du Congo est plus riche en flavonoïdes.
- Ces renseignements ont orienté nos recherches phytochimiques sur l'espèce malienne encore non étudiée.

CHAPITRE II :

TRAVAUX PERSONNELS

.../...

I. ESSAIS PRELIMINAIRES

Mode opératoire

Nous avons utilisé cinq creusets numérotés de 1 à 5. Ainsi les prises d'essai : P_1 , P_2 , P_3 , P_4 et P_5 sont mises dans les 5 creusets de platines secs. Les poids totaux sont évalués P_1' , P_2' , P_3' , P_4' , P_5' . Les creusets contenant la poudre sont mis à l'étuve à $100^\circ \pm 3^\circ\text{C}$ pendant une durée de 24 heures. Après, ils sont encore pesés, ce qui donne des poids : P_1'' , P_2'' , P_3'' , P_4'' , P_5'' . La perte de poids est obtenue en faisant une différence des différentes pertes de poids ($P_1' - P_1''$; $P_2' - P_2''$; $P_3' - P_3''$; $P_4' - P_4''$; $P_5' - P_5''$). qui est la quantité d'eau contenue dans la poudre. Cette quantité est évaluée pour 100 g de poudre.

b) Méthode volumétrique :

C'est le dosage de l'eau par entraînement azéotrope. L'eau est entraînée par distillation d'un solvant qui ne lui est pas miscible. La réaction azéotrope (mélange) se fait à une température d'ébullition constante. Après une condensation par réfrigération des vapeurs de l'azéotrope, l'eau se sépare et est mesurée en volume. Les solvants utilisables sont le :

Toluène (point d'ébullition 110°C)
Benzène (point d'ébullition 80°C)
Xylène (point d'ébullition $136-140^\circ\text{C}$).

L'appareil utilisé comporte :
un ballon de 250 ml ou de 500 ml
un réfrigérant à reflux
un tube cylindrique gradué.

Au cours de nos travaux nous avons utilisé la technique avec le toluène.

Introduire dans le ballon 120 ml de toluène et

.../...

Le résidu est surtout constitué par de la silice. Il représente surtout le sable qui peut souiller les drogues mal lavées ou mal triées.

c) Cendres sulfuriques

Elles résultent de la calcination au contact de l'air de la poudre de drogue après attaque par l' H_2SO_4 . On obtient des résultats plus constants que ceux des cendres totales, dû à la conversion des carbonates et oxydes en sulfates volatiles.

La technique utilisée est la suivante :

On porte au rouge pendant 10 mn environ, un creuset de silice ou de platine. On laisse refroidir dans un dessiccateur; puis on le tare. La prise d'essai exactement pesée, est introduite dans ce creuset. On la mouille avec une quantité suffisante d' H_2SO_4 , concentré, préalablement dilué par un égal volume d'eau distillée. On chauffe au bain-marie jusqu'à évaporation au sec (ou à l'étuve), puis à feu nu; d'abord avec précaution, puis au rouge sans dépasser la température de $800^\circ C$. On maintient la calcination jusqu'à disparition des particules noires, puis on laisse refroidir. On reprend la dessiccation, après avoir mis 5 gouttes d' H_2SO_4 dilué au demi, suivi d'une évaporation. Cette calcination se produit jusqu'à poids constant.

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

La calcination peut être effectuée dans un four à moufle.

I.2. MISES EN EVIDENCE DES PRINCIPALES CLASSES CHIMIQUES (2)

Nous avons procédé à des essais rapides pour rechercher dans le matériel végétal (poudre de feuilles) : les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponosides, les tannins, les

quinones, les glucosides cyanogénétiques, les stéroles et les terpènes. Ces substances chimiques confèrent au végétal ses propriétés médicinales. Certaines nous renseignent sur leur toxicité.

Ces essais sont simplement indicatifs. Ils permettent d'avoir des informations préliminaires sur la composition de la drogue. Pour plus de confirmation il faut des méthodes plus précises et plus sélectives.

Ces essais se font suivant un protocole établi qui facilite les recherches. C'est ce qu'on appelle le "Screening" phytochimique.

I.2.1. Les alcaloïdes

Introduire 10 g de matériel végétal séché et grossièrement pulvérisé dans un erlenmeyer de 250 ml.

Ajouter l'acide sulfurique dilué (H_2SO_4 concentré dilué au 1/10 avec l'eau distillée), dans le rapport 5.

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

Filtrer sur papier filtre et laver à l'eau de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat.

Prendre 2 tubes à essais et introduire 1 ml de filtrat dans chacun d'eux.

Ajouter dans le tube N°1, 5 gouttes de réactif de MAYER (solution aqueuse de mercuri-iodure de potassium).

Introduire dans le tube N°2, 5 gouttes de réactif de Dragendorff (solution aqueuse d'iodobismuthite de potassium).

.../...

Classer les résultats suivants :

précipité abondant	+++
précipitation moyenne	++
louche	+
test négatif	0.

Un est négatif permet de conclure l'absence d'alcaloïdes sous toute forme (alcaloïdes vrais ou alcaloïdes quaternaires).

I.2.2. Substances polyphénoliques

Projeter 5 g de drogue (séchée) en poudre grossière dans 100 ml d'eau bouillante contenue dans un erlenmeyer de 250 ml.

Arrêter l'ébullition et refermer d'un verre de montre ou surmonter d'un entonnoir et laisser infuser pendant 15 mn.

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

I.2.2.1. Tannins

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 tannins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

Pour caractériser la présence de tannins catéchiques, ajouter à 5 ml d'infusé à 5 %, 1 ml d'acide chlorhydrique concentré. Porter à l'ébullition. En présence de tannins catéchiques, il y a formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique.

La différenciation des tannins (catéchiques et galliques) est obtenue par la réaction de Stiasny :

A 30 ml d'infusé à 5 %, ajouter 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40 % + 5 ml d'HCl concentré), chauffer au bain-marie à 90°C pendant 15 mn.

L'obtention de précipité montre la présence de tannins catéchiques. 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 tannins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

I.2.2.2. Flavonoïdes

A l'infusé présentant une coloration plus ou moins foncée, ajouter un acide puis une base. Si la coloration s'accroît par acidification, puis vire au bleu-violacé en milieu basique, on peut conclure une présence d'anthocyane.

- Réaction de la cyanidine :

Introduire dans un tube à essai, 5 ml d'infusé aqueux, ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (alcool 95°, eau distillée, HCl concentré, à parties égales en volume) ; puis quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique.

L'apparition d'une coloration rose-orangée (flavones) ou rose-violacée (flavonones) ou rouge (flavonols, flavonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique, indique la présence d'un flavonoïde libre (génine).

Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques.

La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les auronos, les catéchines et les isoflavones.

Effectuer la réaction de la cyanidine sans ajouter de magnésium et chauffer quelques minutes au bain-marie. En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge-cérise ou violacée. Les catéchols donnent une teinte brun-rouge.

I.2.3. Dérivés anthracéniques

- Solutions à analyser

* Extrait chloroformique

A 1 g de drogue en poudre, ajouter 10 ml de CHCl_3 et chauffer prudemment pendant 3 mn au bain-marie. Filtrer à chaud et compléter à 10 ml si nécessaire.

* Hydrolysats

A une partie du résidu de la poudre épuisée par le CHCl_3 , ajouter 10 ml d'eau et 1 ml de HCl concentré. Maintenir le tube à essai dans le bain-marie bouillant pendant 15 mn. Refroidir sous un courant d'eau et filtrer.

- Caractérisation

Introduire dans un tube à essai 1 ml d'extrait chlorhydrique. Ajouter 1 ml de NH_4OH dilué. Agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'antraquinones libres.

Prélever 5 ml d'hydrolysats et agiter avec 5 ml de CHCl_3 . 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. Agiter. La présence d'anthraquinones 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 :

Prélever 5 ml d'hydrolysate et ajouter 3 à 4 gouttes de FeCl_3 à 10 % . Chauffer pendant 5 mn au bain-marie. Refroidir sous un courant d'eau. Agiter avec 5 ml de CHCl_3 . 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 %).

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 le bain-marie bouillant 30 mn. 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.

I.2.4. Stérols et terpènes

I.2.4.1. Extrait

Introduire dans un tube à essai 1 g de poudre et 20 ml d'éther. Boucher et agiter. Laisser en contact pendant 24 heures. Après, filtrer et compléter à 20 ml.

I.2.4.2. Caractérisation

Réaction de Liebermann - Burchard :

.../...

Evaporer jusqu'à sec dans une capsule 10 ml d'extrait. Dissoudre le résidu dans 0,5 ml d'anhydride acétique, puis 0,5 ml de CHCl_3 .

Recueillir dans deux tubes à essais. L'un servira de référence.

A l'aide d'une pipette, ajouter 1 à 2ml de H_2SO_4 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 stéroïdes et de triterpènes.

Caractérisation 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 CHCl_3 (ou dans le CCl_4).

Il se développe en présence de caroténoïdes une coloration bleue devenant rouge par la suite.

I.2.5. Hétérosides cardiotoniques

I.2.5.1. 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 mn. Filtrer sur coton.

I.2.5.2. Caractérisation

Agiter le filtrat avec 10 ml de CHCl_3 dans un tube à essai. Eviter la formation d'une émulsion. Laisser décanter et soutirer à l'aide d'une pipette la phase chloroformique et la partager entre 3 tubes à essai.

Evaporer au bain-marie bouillant jusqu'à sec. Réprendre les résidus par 0,4 ml d'isopropanol. Ajouter dans les 3 tubes :

tube n° 1 1 ml de réactif de BALJET

tube n° 2 1 ml de réactif de KEDDE

tube n° 3 1 ml de réactif de RAYMOND MARTHOUD.

Puis introduire dans chaque tube 2 gouttes de KOH à 5 % dans l'alcool.

En présence de cardénolides, les colorations suivantes se développent :

tube n° 1 : orangé

tube n° 2 : rouge-violacé

tube n° 3 : violet fugace.

I.2.6. Saponosides

I.2.6.1. Solution à analyser

On utilise le décocté à 1 %.

Porter à l'ébullition dans un erlenmeyer de 250 ml 100 ml d'eau distillée.

Y ajouter 1 g de poudre et maintenir une ébullition modérée pendant 15 mn.

Filtrer, et après refroidissement, ajuster à 100 ml.

I.2.6.2. Caractérisation

Dans une série de 10 tubes à essai de 160 x 16mm 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.

Laisser réposer pendant 15 mn 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 :

$$\frac{1.000}{n^{\circ} \text{ du tube}}$$

I.2.7. 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 du réactif de FEHLING(0,5ml de réactif A + 0,5 ml de réactif B, mélange extemporané).

L'obtention d'un précipité rouge brique, indique la présence de composés réducteurs.

I.2.8. 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 H_2SO_4 concentré. Après 5 mn, ajouter 3 à 4 gouttes d'alcool saturé avec du thymol.

Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et d'Holosides.

I.2.9. Mucilages ou Polyuronides

Introduire 1 ml de décocté aqueux 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.

I.2.10. 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 essai. Ajouter au contenu de l'un des tubes 0,5 ml de NH_4OH à 25 % .

Mélanger et observer la fluorescence sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l' NH_4OH indique la présence de coumarines.

I.2.11. Hétérosides cyanogénétiques

Introduire dans un tube à essai environ 1 g de poudre. Ajouter 5 ml d'un mélange à volume égal d'eau et de toluène. Bien agiter et nettoyer la partie supérieure du tube à essai.

Le papier picrosodé, fraîchement préparé est fixé à l'aide d'un bouchon à la partie supérieure du tube (sans tremper dans la solution).

La présence d'hétérosides cyanogénétiques est indiquée par la coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé.

I.3. RESULTATS

I.3.1. Caractéristiques physico-chimiques

I.3.1.1. pH

Le pH du décocté aqueux à 4 % est de 5,2 à la température de 27°C. Cette légère acidité serait donc due à la présence d'acides dans la poudre de feuilles de

Daniellia oliveri.

I.3.1.2. Taux d'humidité

Les résultats obtenus lors de la détermination de la teneur en eau de la poudre de feuilles de Daniellia oliveri sont enregistrés dans les tableaux suivants.

a) Méthode gravimétrique

Tableau n°2

TARE	M.T. Avt ETUVE	M.T. Ap ETUVE	M.T. P.E.	M.T. EAU	% EAU
13,3666	15,3926	15,2226	2,0242	0,1702	8,40 % x_1
13,9990	15,2392	15,0660	2,0402	0,1732	8,48 % x_2
12,8329	14,8739	14,7020	2,0410	0,1719	8,42 % x_3
12,9236	14,7868	14,6343	1,8582	0,1525	8,20 % x_4
13,4176	15,6146	15,4320	2,1970	0,1826	8,31 % x_5

Le pourcentage de l'eau est x.

$$x = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + x_5}{5} = 8,36 \%$$

$x = 8,36 \%$

b) Méthode azéotropique

$$V_0 = 0,85 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1,50 \text{ ml.}$$

.../...

Le volume de l'eau est $V = V_1 - V_0 = 0,65$ ml.

Le pourcentage de l'eau de la poudre de feuilles

$$\text{est } y = \frac{V \times 100}{P} = \frac{0,65 \times 100}{10} = 6,5 \%$$

$y = 6,50 \%$

1.3.1.3. Dosage de cendres

a) Cendres totales

Tableau n°3

TARE	M.T.Avt Cal	M.T.Ap Cal	M.T. P.E.	M.T. C	% C
29,3470	32,2042	29,9788	2,3572	0,1313	5,59 %
29,3698	31,2322	29,4715	1,8624	0,1017	5,46 %
24,3270	26,4312	24,4427	2,1042	0,1157	5,50 %
20,6964	22,7274	20,8095	2,0310	0,1131	5,57 %

Le pourcentage de cendres totales est y.

$$y = \frac{5,59 + 5,46 + 5,50 + 5,57}{4} = 5,53 \%$$

$y = 5,53 \%$

b) Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %

- Tare du creuset : 29,3685
- Poids de cendres totales qu'est la prise d'essai est : 1,7300

.../...

- Masse totale avant calcination : 31,1485
- Masse totale après calcination : 29,5618
- Masse de cendres chlorhydriques: 0,1933
- Pourcentage de cendres insolubles dans l'HCl

$$z = \frac{0,1933 \times 100}{1,7800} = 10,86 \% \quad \underline{\quad} \quad 11 \%$$

$z = 11 \%$

c) Cendres sulfuriques

- Tare du creuset : 29,8502
- Poids de la prise d'essai : 2,6543
- Volume d' H_2SO_4 dilué au $\frac{1}{2}$: 5ml + 2ml = 7ml.
- Poids du creuset avec cendre après calcination : 30,0608
- Poids des cendres sulfuriques : 0,2106
- Pourcentage de cendres sulfuriques A :

$$A = \frac{0,2106}{2,6543} \times 100 = 7,93 \quad \underline{\quad} \quad 8 \%$$

$A = 8 \%$

Récapitulatif des pourcentages en eau et en cendres

Tableau n°4

		TENEURS
Eau	Méthode gravimétrique	8,36 %
	Méthode volumétrique	6,50 %
Cendres totales		5,53 %
Cendres insolubles dans l'HCl		11 %
Cendres sulfuriques		8 %

I.3.2. Mises en évidence des principales classes chimiques

Tableau n°5

RECHERCHES		RESUL-TATS	OBSERVATIONS
Hétérosides cyanogénétiques		0	Néant
Coumarines		+++	Fluorescence
Caroténoïdes		0	Néant
Anthracénosides		0	Néant
Flavonoïdes	Genine Flalonique	+++	Coloration rose
	Hétérosides Flavoniques	+++	Coloration orangée
Anthocyanes		0	Néant
Leucoanthocyanes		++	Coloration rouge
Alcaloïdes		0	Néant
Saponosides	Mousse	+	Peu abondant
	Indice	125	Tube n° 8
Tannins	Catéchiques	+++	Précipité
	Galliques	+++	Coloration bleu-noirâtre
Composés réducteurs		+++	Précipité rouge-brique
Osés et Holosides		+++	Coloration rouge
Mucilages ou Polyuronides		++	Précipité floconneux
Hétérosides cardiotoniques		+++	Colorations
Stérols et Triterpènes		+++	Anneau violet et coloration

II. TECHNIQUES GENERALES D'ETUDES

.../...

II. TECHNIQUES GENERALES D'ETUDES

II.1. PULVERISATION

Les échantillons de plantes sur lesquels nous avons travaillé ont été récoltés à Katibougou (Mali). Les feuilles mondées sont séchées à l'air libre et à l'ombre. Elles sont ensuite pulvérisées au moyen d'un broyeur FORPLEX de type ERWEKA.

II.2. EXTRACTION

Nous avons employé plusieurs méthodes d'extraction en raison d'une part des formes d'utilisation traditionnelles et d'autre part des données signalées dans la littérature scientifique.

Les premières font intervenir des hydrolés (décoc - té, infusé, macéré) ; les secondes renseignent sur la pré - sence de composés à polarité faible (B - sistostérol, ses - quiterpènes, diterpène) et intermédiaire (Flavonoïdes).

A partir donc de la poudre de feuilles sèches nous avons réalisé séparément l'infusé aqueux et la solution éthanolique par macération pour préserver les molécules fra - giles.

II.2.1. Extraction par l'eau

Cette extraction a été effectuée par infusion. Nous avons utilisé un ballon de verre.

La séparation des solutions extractives a été effec - tuée par décantation suivie de filtration sur papier filtre.

Les solutions extractives ont été concentrées au ROTAVAPOR sous pression réduite et à une température d'environ 50° C.

II.2.2. Extraction par l'éthanol

L'extraction de la poudre a été effectuée par macération dans des sceaux en plastique, d'une capacité de 10 litres avec couvercles et munis d'un système d'agitation électrique.

La séparation et la concentration des solutions extractives ont été effectuées comme dans le cas de l'extraction aqueuse.

II.3. FRACTIONNEMENT

Nous avons utilisé trois types de procédés :

- Extraction liquide-liquide
- Extraction au Soxhlet
- Fractionnement sur colonnes.

II.3.1. Extraction liquide-liquide

Nous l'avons utilisé dans le but d'obtenir un totum riche en composés flavoniques. Nous avons utilisé pour cela la technique de Charaux (5) modifiée par Paris (24). Elle se fait dans des ampoules à décanter.

Les composés flavoniques sont extraits selon leur solubilité, par agitation successive de l'extrait aqueux respectivement par :

- l'éther éthylique,
- l'acétate d'éthyle,
- le butanol primaire saturé d'eau.

Les solutions organiques, ainsi que la phase aqueuse résiduelle, sont concentrées séparément jusqu'à un volume convenable pour la suite des opérations.

II.3.2. Extraction au Soxhlet

Ce procédé d'extraction a été appliqué à l'extrait

.../...

sec éthanolique. Il permet la séparation des constituants selon leur solubilité dans les solvants.

L'appareil utilisé, le SOXHLET, est muni d'un ballon de chauffage et d'un réfrigérant.

Nous avons utilisé plusieurs solvants, afin d'isoler les différents constituants, d'une part selon leur solubilité et d'autre part selon leur polarité ; pour cela, nous avons utilisé successivement :

- le tétrachlorure de carbone,
- le benzène,
- le n-butanol,
- l'eau.

Les solutions extractives sont concentrées séparément jusqu'à un volume convénable pour la suite des travaux.

Après l'extraction par un solvant, le résidu est séché avant d'utiliser un autre solvant.

Le temps minimum d'extraction par le même solvant est d'environ 12 heures.

II.3.3. Fragmentation sur colonnes

La chromatographie sur colonne permet la séparation des constituants suivant leur poids moléculaire (séphadex) ou selon leur solubilité (Silice G, Cellulose).

La quantité de support utilisée doit être comprise entre 30 et 100 fois le poids du mélange à chromatographier.

Nous avons utilisé des colonnes de Silice Art 7731 ; de Cellulose et de Sephadex G.100.

II.3.3.1. Colonne de Silice Art 7731

Préparation : La colonne est d'abord remplie avec le solvant d'éluion, puis le support est ajouté en pluie. La suspension est agitée de temps en temps pour évacuer les bulles d'air. Au préalable, la colonne est lavée et séchée et on introduit au fond une quantité suffisante de coton pour éviter le bouchage de la colonne par les grains de silice.

La suspension de silice dans le solvant est abandonnée 24 heures après que l'ouverture supérieure de la colonne ait été soigneusement bouchée, puis le solvant est soutiré par l'ouverture inférieure jusqu'à ce que sa surface soit ramenée à une hauteur d'environ 3 cm au-dessus de la silice.

Dépôt des extraits à séparer : La solution à étudier est versée dans un mortier contenant une certaine quantité du support (environ à poids égal à la solution) puis séché et pulvérisé.

Le mélange pulvérulent ainsi obtenu est déposé sur la colonne par petites fractions. Il est ensuite recouvert d'une couche de support d'environ 2 à 3 cm, puis de laine de verre ou de coton, ce qui permet d'amortir la chute des solvants sur le dépôt.

Elution : L'allonge de la colonne est alors remplie avec le solvant d'éluion. L'éluion se fait avec des solvants convenablement choisis. Le débit est réglé selon les besoins et les éluats sont reçus en petites fractions pour une meilleure séparation.

II.3.3.2. Colonne de Cellulose

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

La cellulose est agitée vigoureusement avec 2 fois son poids de solvant, puis le mélange est versé dans la colonne à chromatographier de taille appropriée. Ensuite on abandonne la colonne au repos dans les mêmes conditions que précédemment.

La préparation du dépôt à chromatographier et toutes les autres opérations sont effectuées de la même façon que pour la colonne de silice.

II.3.3.3. Colonne de Séphadex

Elle est entièrement réalisée de la même façon que la colonne de Cellulose.

II.4. PURIFICATION

Pour la purification des fractions obtenues par chromatographie sur colonne, nous avons utilisé la chromatographie préparative sur plaque (CP) et l'hydrolyse acide. Toutes ces opérations sont précédées d'une chromatographie analytique sur couche mince (ccm) de contrôle.

II.4.1. Chromatographie analytique sur couche mince

La chromatographie analytique sur couche mince a été utilisée en technique unidimensionnelle.

Nous l'avons utilisé pour suivre :

- l'efficacité des extractions avec les différents solvants.
- la composition des différentes fractions obtenues au cours des séparations.
- la pureté des produits isolés.

C'est une méthode de séparation physico-chimique faisant intervenir une phase stationnaire ou adsorbant, une phase mobile ou éluant et des révélateurs, variables suivant les composés à étudier.

II.4.1.1. Pour l'étude des Flavonoïdes

Support :

- Cellulose microcristalline
- Gel de Silice G.

Les plaques sont préparées au laboratoire. L'épaisseur des couches de support est de l'ordre de 0,20 à 0,30 mm.

Nous avons aussi utilisé des plaques du commerce, c'est-à-dire préparées industriellement :

- Plaques de cellulose microcristalline ($\emptyset = 0,1\text{mm}$)
- Plaques de silice GF 25 sur aluminium.

- Préparation de plaques :

** Plaques de cellulose

Dans un erlenmeyer contenant 25 g de cellulose, on ajoute 82 ml d'eau distillée et 3 ml d'éthanol. On agite de façon à obtenir une suspension homogène. La suspension ainsi obtenue est introduite dans un applicateur sec, puis on l'étale sur des plaques de verre 20 x 20 cm, préalablement dégraissées avec l'éther éthylique, de l'éthanol ou de l'acétone.

Les plaques ainsi préparées sont séchées dans un endroit sec à l'air libre.
Les plaques ainsi prêtes à l'usage sont conservées à l'abri de l'humidité.

** Plaques de Silice

Elles sont préparées de la même manière que les précédentes.

La suspension homogène est ici constituée de :

- 30 g de Silicagel
- 70 g d'eau distillée.

Dans les deux cas la suspension homogène permet

d'obtenir 5 plaques de 20 x 20 cm avec une épaisseur d'environ 0,20 à 0,30 mm.

- Dépôt de solutions à étudier

La solution du mélange inconnu est déposée à la ligne de départ sous forme de points distants d'environ 10mm les uns des autres et de 15 mm du bord inférieur de la plaque et des bords de droite et de gauche.

La solution est déposée en petites quantités à l'aide de micropipettes de 10 ul. Après chaque dépôt, on évapore le solvant avec un courant d'air sec.

Solvants

- . Solvant de Partridge (B.A.W.)
- . Mélange de Butanol - Acide acétique - Eau 4-1-5 V/V phase supérieure.
- . Eau distillée
- . Acide acétique dilué à 2 % - 5 % - 60 % - 15 %
- . Chloroforme
- . Chloroforme - Méthanol 1 - 9
- . Ethanol - Eau 7 - 3
- . Butanol.

L'éluant est constitué d'un ou de plusieurs solvants. Chaque solvant est caractérisé par son pouvoir d'élution.

Le développement ou élution se fait après séchage des dépôts. La plaque est introduite dans une cuve (cuve à chromatographier) contenant la phase mobile ou éluant d'une hauteur d'environ 5 à 8 mm. Le dépôt ne doit jamais plonger dans l'éluant. La cuve est au préalable bien lavée et séchée.

Le développement ou la résolution de la solution inconnue en ses différents constituants se fait grâce à l'ascension par capillarité le long de la phase stationnaire de l'éluant.

Pour un bon développement, le front du solvant doit être au moins de 100 mm.

La vitesse d'élution est fonction de la viscosité du solvant et de la nature de la phase stationnaire (27).

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

Tableau n°6

SOLVANTS	CONSTANTE DIELEC - TRIQUE A 20° C
N-Hexane	1,890
Cyclohexane	2,023
Tétrachlorure de carbone	2,238
Benzène	2,284
Chloroforme	4,806
Ether éthylique	4,34
Acétate d'éthyle	6,02 à 25°C
Ethanol	24,30 à 25°C
Methanol	33,62
Eau	80,37

Révélateurs

Après le développement, les plaques sont séchées soit à la température du laboratoire, soit à l'étuve à 110°C pendant 5 mn.

Sur le chromatogramme, chaque spot est caractérisé par un Rf.

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

Le Rf est donc toujours compris entre 0 et 1.

La majorité des substances est invisible à l'oeil nu sur le chromatogramme, elles sont détectées grâce à des révélateurs. Il existe plusieurs types de révélateurs, mais au cours de nos travaux, nous avons utilisé :

La lampe UV à 254 nm
366 nm

Le Réactif citroborique

Mélange : Acide borique 5 g
Acide citrique 5 g
Méthanol q s p 100ml.

Après pulvérisation avec ce réactif, la plaque est chauffée à l'étuve à 100°C pendant 5 mn. Les flavonoïdes sont ensuite observés sous lumière UV.

II.4.1.2. Pour l'étude des composés terpéniques

Support :

Plaque de Silice G.

Solvants :

Hexane

Hexane-Acétate d'éthyle 80-20 V/V.

Révélateurs :

Lampe UV : 254 et 366 nm.

Réactif à la Vanille sulfurique

Vanilline 300 mg
Acide acétique 5 ml
Acide sulfurique 5 ml
Ethanol q s p 100 ml.

Après pulvérisation de ce réactif, la plaque est chauffée à l'étuve à 110°C pendant 4 minutes. Les composés terpéniques apparaissent colorés en fonction de la nature du produit.

.../...

II.4.2. Chromatographie préparative sur plaque

Elle permet d'obtenir des séparations plus fines et la purification des produits.

On réalise ici des dépôts linéaires.

Nous l'avons utilisé pour la purification des flavonoïdes (composés flavoniques), ainsi nous avons utilisé comme

Support :

la cellulose microcristalline

Solvant :

le mélange de Partridge :

B.A.W. (4-1-5).

Révélateur :

UV : 254 nm

La révélation des produits se fait après migration dans le BAW (4-1-5) (deux migrations successives ou des migrations à front perdu). Les bandes correspondant au produit sont repérées sous lumière UV.

Les bandes révélées sont récupérées par grattage. Elles sont placées dans de petites colonnes à chromatographier contenant du coton puis éluées avec de l'éthanol 95°.

Les solutions obtenues sont concentrées au Rotavapor sous pression réduite et à basse température. Leur pureté est contrôlée par une chromatographie sur couche mince.

II.4.3. Hydrolyse acide (22, 31)

Dans un tube à essai ou un ballon contenant 1 à 3 ml d'un mélange méthanol-eau (1-1 V/V), on met 1 à 3 mg du produit (flavonoïde). On y ajoute 1 à 5 ml d'acide chlorhydrique 4N. Le tube est scélé et mis à l'étuve à 100°C pendant 1 heure. L'hydrolysate est refroidi puis repris par 2 ml d'eau et concentré à sec. Cette opération est répétée plusieurs fois

.../...

jusqu'à disparition de l'acidité.

Le résidu est alors repris par 2 ml d'eau et extrait par l'éther éthylique puis par le butanol saturé d'eau. Les extraits butanoliques sont analysés en chromatographie sur couche mince dans le BAW 4-1-5 (phase supérieure).

II.5. IDENTIFICATION

L'identification des composés flavoniques purifiés a été réalisée par spectrophotométrie dans l'UV. Nous n'avons eu dans ce travail les moyens de réaliser les spectres de masse.

Spectres UV :

Les spectres d'absorption dans l'ultra-violet sont enregistrés sur un spectrophotomètre UNICAM SP 800. Ces spectres sont réalisés, le flavonoïde étant en solution dans le méthanol seul et dans le méthanol en présence de réactifs de Chélation et d'ionisation (Acétate de Sodium, Chlorure d'aluminium, Soude).

III. ETUDE DES FLAVONOIDES

.../...

III. ETUDE DES FLAVONOIDES

III.1. MATERIEL VEGETAL

C'est la poudre de feuilles qui constitue le matériel végétal.

Les feuilles, après récolte, sont mondées puis séchées et pulvérisées.

III.2. EXTRACTION

La poudre de feuilles de Daniellia oliveri est extraite séparément par l'eau puis l'éthanol (cf. Techniques générales d'étude).

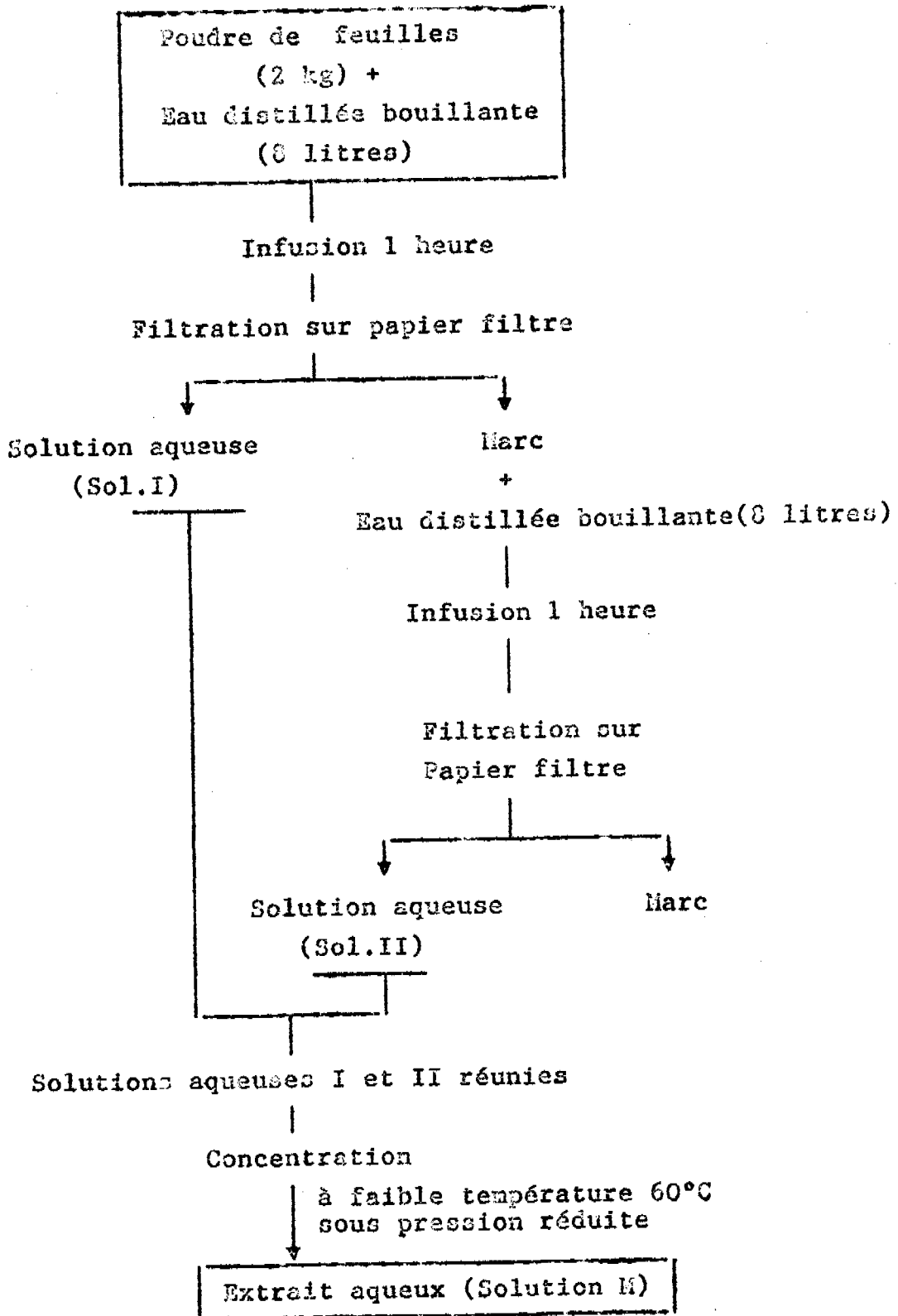
III.2.1. Préparation de l'extrait aqueux

Deux (2) kg de poudre de feuilles sèches sont épuisées par 3 litres d'eau bouillante.

Après filtration le marc résiduel est de nouveau épuisé avec 3 litres d'eau bouillante. L'infusion dure environ une heure dans les deux cas.

Les solutions extractives sont réunies et concentrées au Rotavapor sous pression réduite et à basse température jusqu'à environ 200 ml. Ce qui nous donne l'extrait aqueux que nous avons nommé solution M. La solution M est sirupeuse, de couleur rouge.

Schema N° 1 : Préparation de l'extrait aqueux.



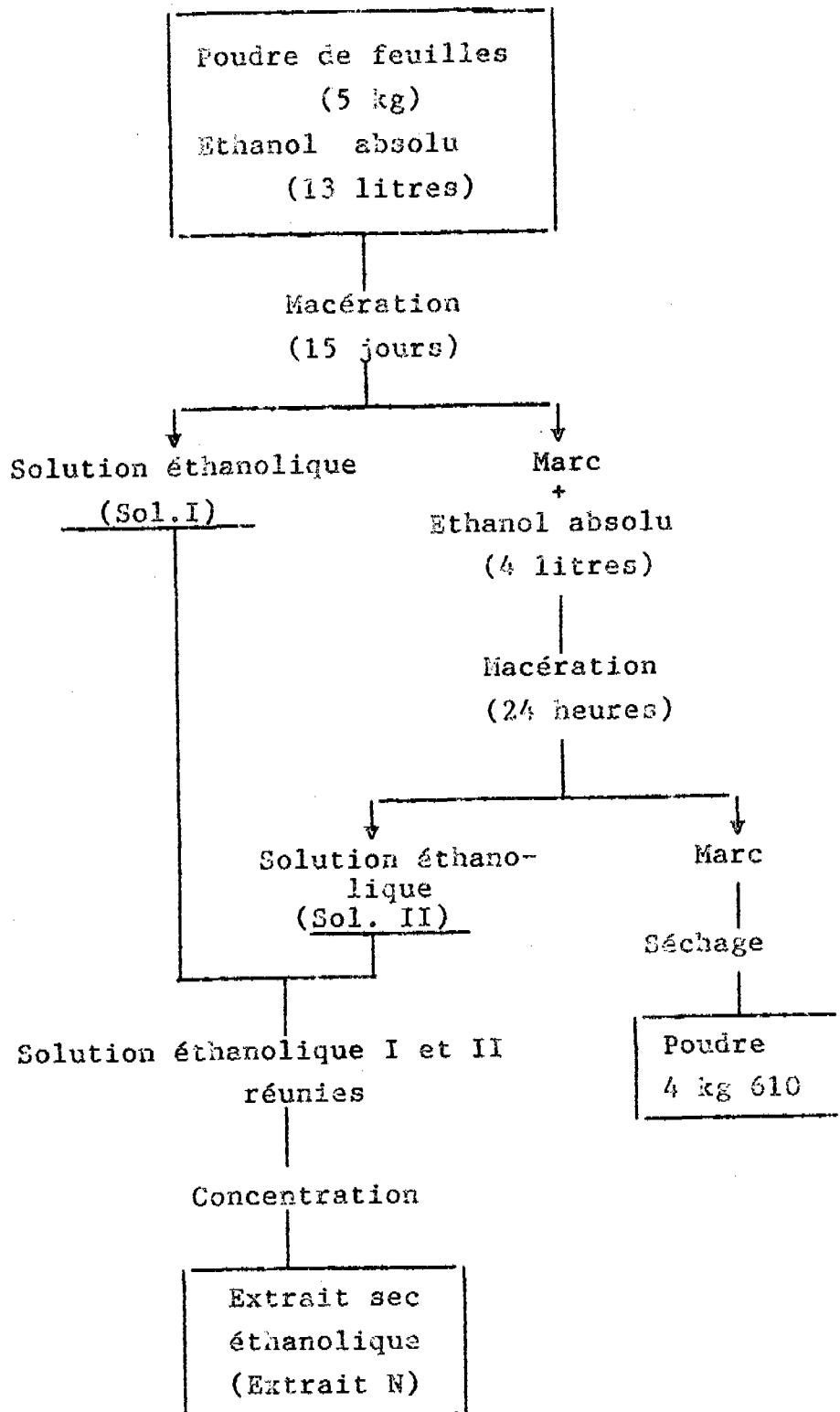
III.2.2. Préparation de l'extrait éthanolique

Cinq (5) kg de poudre de feuilles sèches sont épuisées par macération dans 13 litres d'éthanol absolu.

Après filtration, le marc résiduel est de nouveau épuisé par 4 litres d'éthanol absolu pendant 24 heures.

Les solutions extractives sont réunies et concentrées au Rotavapor jusqu'à sec. Ce qui nous donne l'extrait sec éthanolique. Nous l'avons nommé extrait N. Il est de couleur vert foncé à noirâtre.

Schema N° 2 : Préparation de l'extrait éthanolique



III.3. FRAGMENTATION

III.3.1. Fragmentation de l'extrait aqueux (Solution M)

Extraction liquide-liquide :

La solution M est soumise à une extraction liquide-liquide selon la technique de CHARAUX (5) modifiée par PARIS (24) successivement avec :

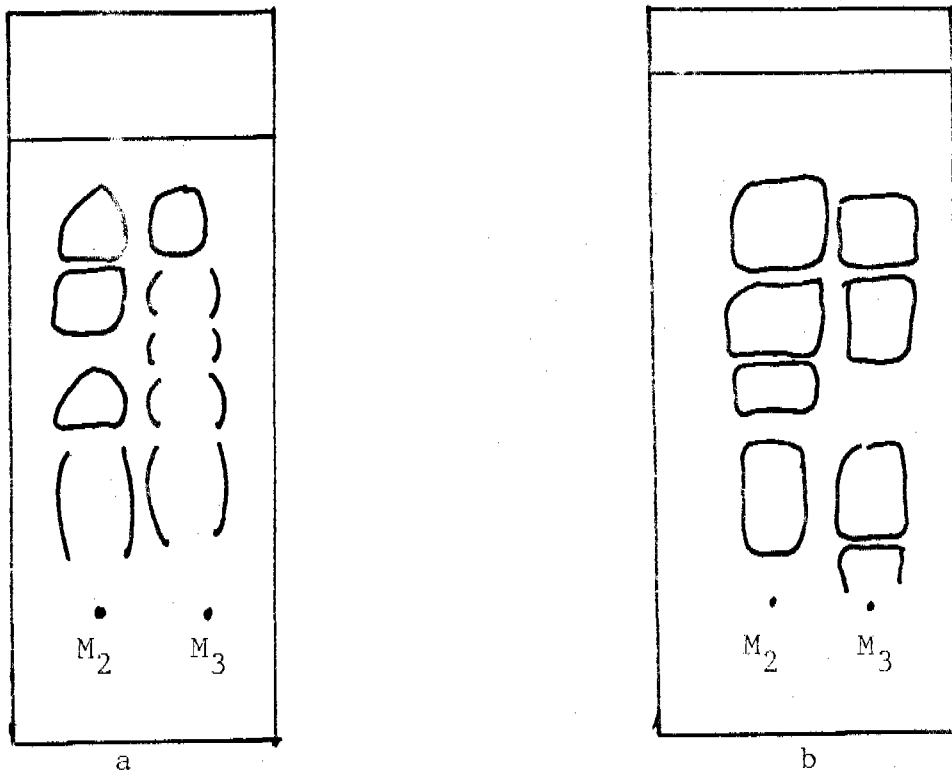
- l'éther éthylique qui entraîne les gémynes ;
- l'acétate d'éthyle qui entraîne les hétérosides les moins polaires ;
- le butanol primaire saturé d'eau qui solubilise les hétérosides les plus polaires.

L'infusé aqueux est extrait 3 fois par 200 ml d'éther éthylique. Les phases étherées sont réunies et concentrées au Rotavapor jusqu'à un volume de 100ml (Solution M₁).

La phase résiduelle aqueuse est de nouveau extraite par 3 fois 200 ml d'acétate d'éthyle, ce qui nous donne la solution M₂ après concentration des solutions d'acétate d'éthyle réunies.

La phase aqueuse résiduelle est enfin épuisée par 3 fois 200 ml de n-butanol saturé d'eau. Les solutions butanoliques sont réunies et concentrées au Rotavapor jusqu'à un volume de 100 ml (Solution M₃).

La phase aqueuse restante est concentrée à faible température (70°C) sous pression réduite (Solution M₄).



Chromatogrammes n°1 : Constituants des solutions acétate d'éthyle (M₂) et butanolique (M₃)

Support = Cellulose

Dépot = 10 µl

Solvant = a = B.A.W. 4-1-5/v-v

b = Acide acétique 15 % dans l'eau.

Révélateurs = - UV 254 et 366 nm

- Réactif citroborique.

III.3.2. Fragmentation de l'extrait éthanologique
(Extrait N)

Extraction au Soxhlet :

L'extrait sec éthanologique a été soumis à une extraction au soxhlet en utilisant successivement :

le tétrachlorure de carbone.] pour éliminer les com-
le benzène] posés apolaires
le n-butanol..... pour extraire les com-
posés flavoniques.

Après extraction par ces différents solvants, le résidu est repris par l'éthanol absolu.

Nous avons utilisé un litre de solvant pour chacune de ces extractions.

Les solutions extractives sont ensuite concentrées séparément au Rotavapor sous pression réduite et à basse température jusqu'à un volume de 100 ml. Ainsi nous avons obtenu les solutions :

Tétrachlorure de carbone	=	Solution A
Benzénique	=	Solution B
Butanolique	=	Solution C
Ethanologique	=	Solution D.

Schéma N° 4 : Fragmentation de l'extrait sec éthanologique au Soxhlet.

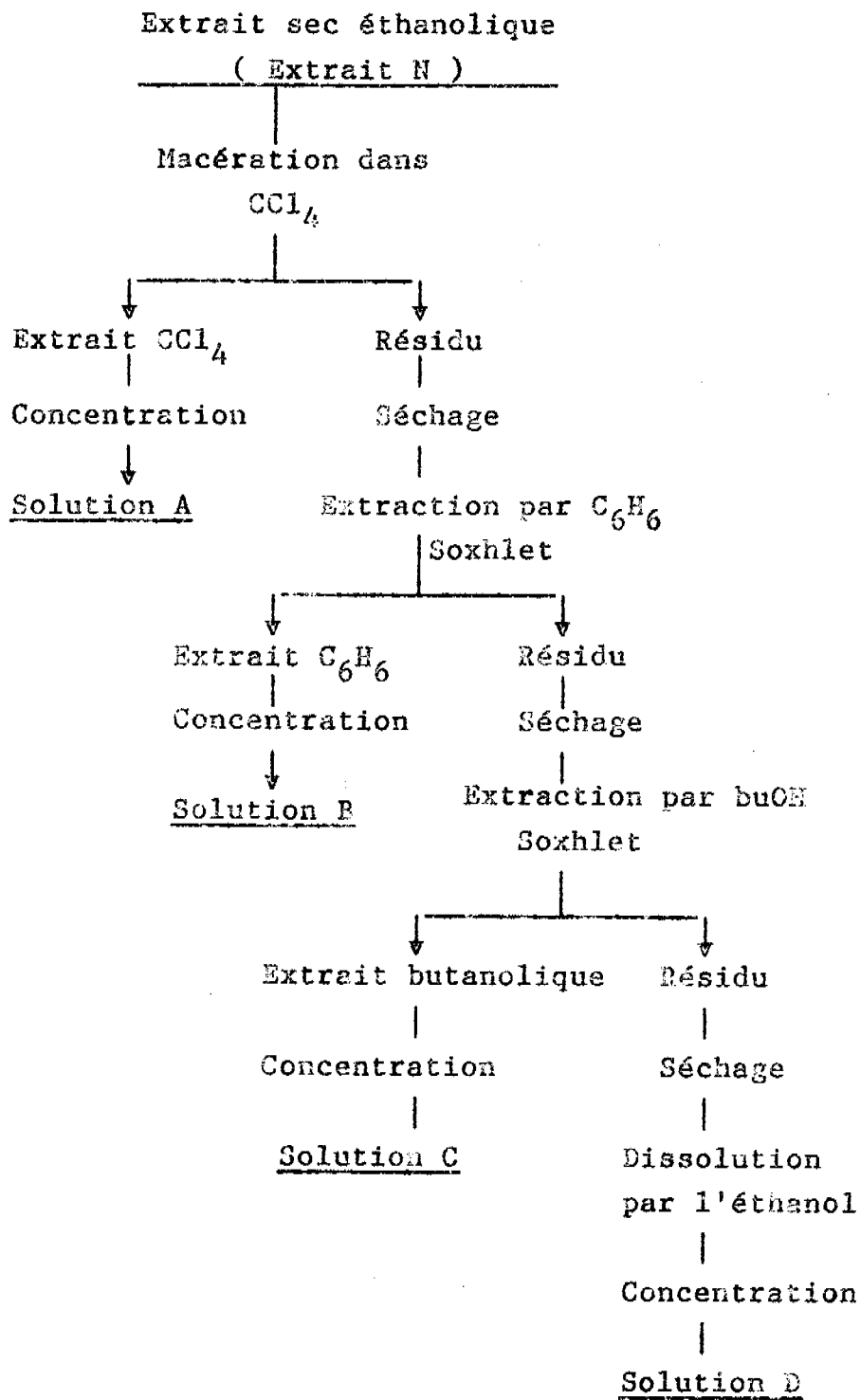
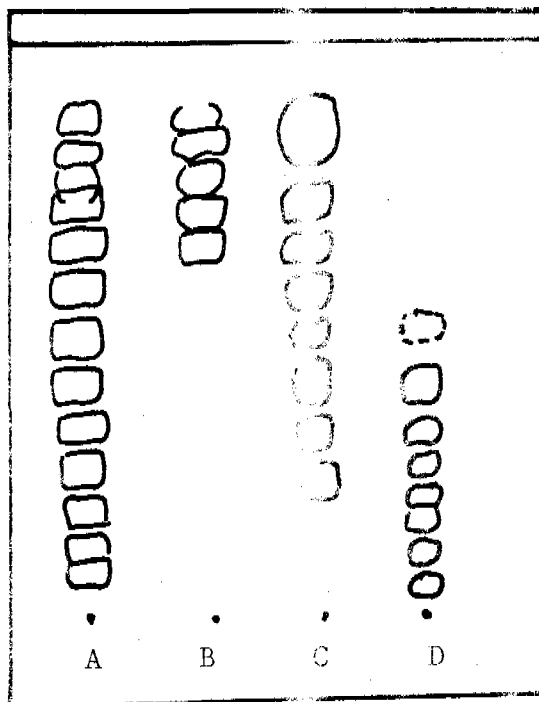


Tableau N° 8 : Caractéristiques des solutions obtenues au Soxhlet

SOLUTIONS	COULEUR DE LA SOLUTION
A	Noir -verdâtre
B	Rouge
C	Vert
D	Verdâtre

Le comportement chromatographique de ces solutions (Chromatogramme n°2) nous renseigne sur leur teneur en composés flavoniques. Les solutions butanolique et éthanolique se sont avérées les plus riches en ces composés. Nous avons donc choisi d'étudier la fraction butanolique.



Chromatogramme n°2 : Constituants des solutions tétrachlorure de carbone (A), benzénique (B), butanolique (C) et éthanolique (D) de l'extrait N.

Support = Cellulose

Dépot = 10 μ l

Solvant = B.A.W. 4-1-9/v-v

Révélateurs = - UV 254 et 366 nm
- Citroborique.

III.4. SEPARATION ET PURIFICATION DES FLAVONOÏDES

Le comportement chromatographique des constituants de l'infusé aqueux et de l'extrait éthanolique (C) est identique, mais la fraction M₃ semble être la plus riche quantitativement et qualitativement. Nous avons donc choisi d'étudier séparément les deux extraits.

III.4.1. Flavonoïdes de l'extrait butanolique de la solution N (Extrait aqueux total)

III.4.1.1. Séparation des composés flavoniques

Pour l'étude de ces flavonoïdes nous avons utilisé le fractionnement sur colonne suivi de contrôles chromatographiques sur couche mince (ccm).

a) Colonne de Sephadex G-25

- Préparation de l'extrait sec :

La solution M₃ est additionnée de poudre de sephadex et le mélange est trituré sous un courant d'air sec jusqu'à dessiccation. Le mélange séché est réduit en poudre par trituration dans le mortier.

- Montage de la colonne :

(Cf. techniques générales d'étude).

- Dépôt de l'extrait sec :

Le mélange pulvérulent est déposé au sommet de la colonne. Il est recouvert de sephadex puis de coton.

- Elution de la colonne :

La colonne est éluée avec l'éthanol absolu. Quatre vingt quatre fractions sont constituées ; numérotées de C₁ à C₉₄.

Un contrôle chromatographique (ccm) sur plaques de cellulose a été effectué sur toutes les fractions dans le B.A.W. (4-1-5/v-v) ; l'acide acétique à 15 % et le mélange de solvants éthanol-eau (7-3/v-v), (chromatogramme n°3).

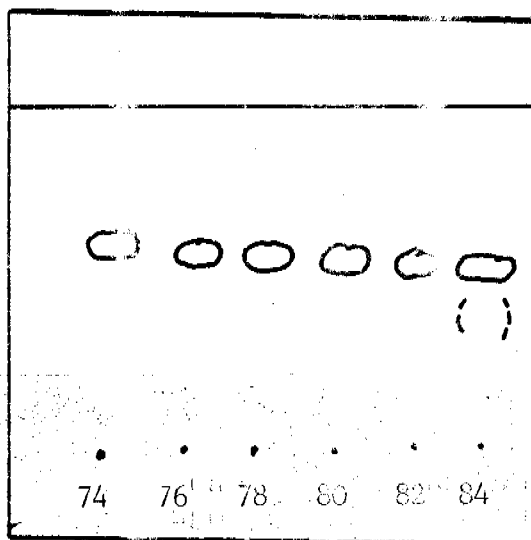
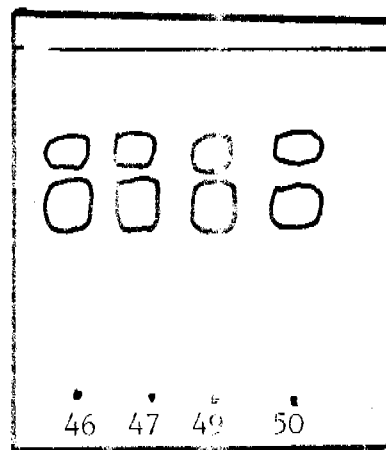
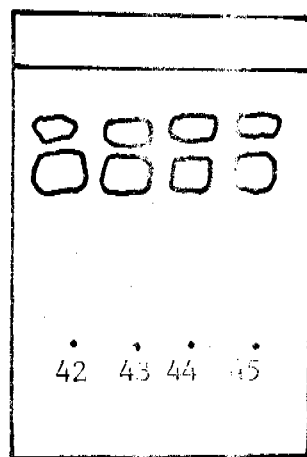
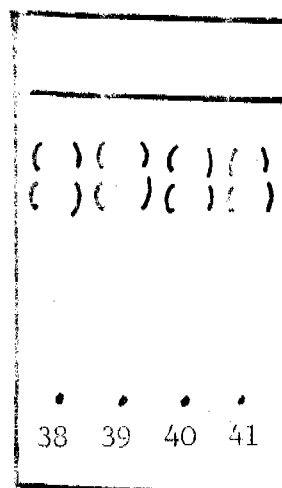
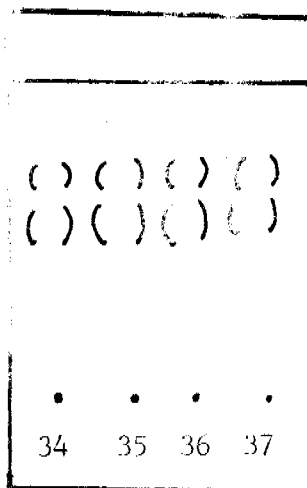
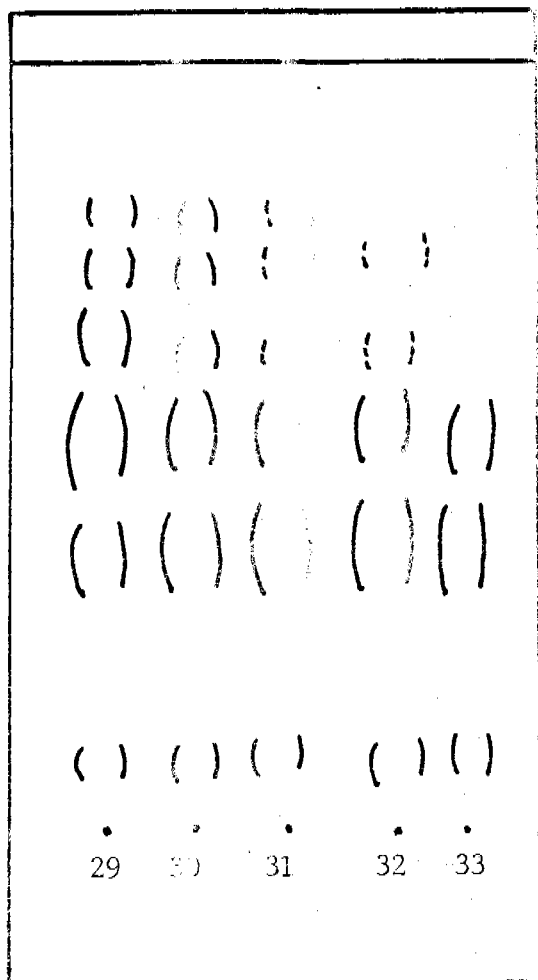
Les fractions C_{30} à C_{67} renferment 2 à 5 composés. Nous avons donc choisi de les étudier.

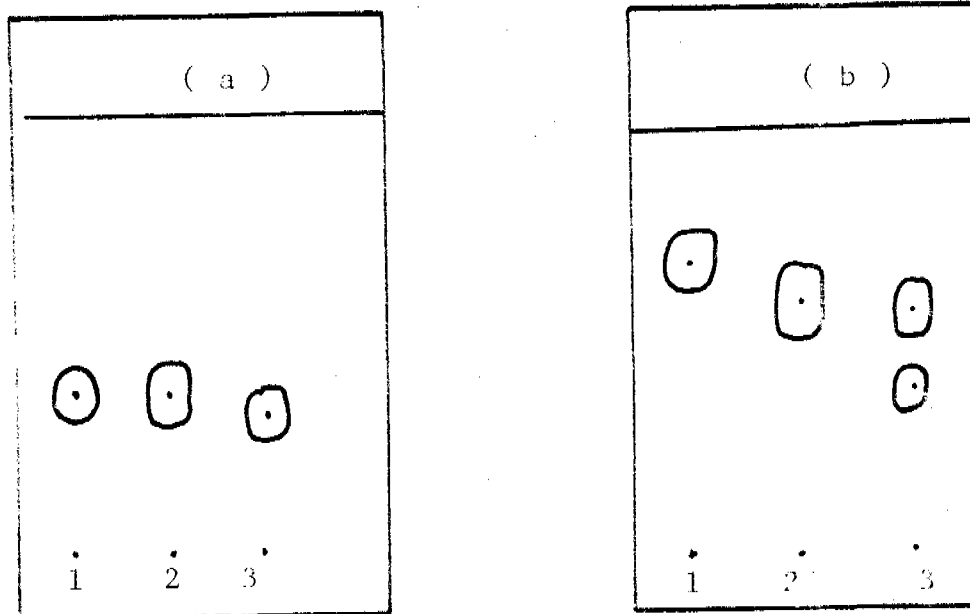
Les solutions C_{30} à C_{67} sont alors réunies et concentrées au Rotavapor jusqu'à obtenir environ 10 ml (Solution M_5).

Un contrôle chromatographique (ccm) effectué sur plaques de cellulose dans le B.A.W., l'acide acétique à 2 % permet de voir que la solution M_5 renferme 3 composés flavoniques (chromatogramme n°4) que nous devons purifier.

Chromatogramme n°3 : Constituants des fractions 1 à 84 obtenues par fragmentation de la solution butanolique (M₃) sur colonne de Séphadex G-25.

Support = Cellulose
Solvant = B.A.W. 4-1-5/v-v
Révélateurs = -UV 254 et 366 mμ
-Réactif citrobenzoïque.





Chromatogramme N°4 : Fractions de la solution M₅ après ccm préparative sur plaques de cellulose .

Solvants = a = Acide acétique 15 % dans l'eau

b = B.A.W. 4-1-5/v-v

Dépot = 10 μ l

Développement = UV 254 et 366 nm
Citroborique.

III-4-1-2 Purification

Colonne de Cellulose

- Préparation de la colonne et dépôt de l'extrait sec :

La colonne est "montée" comme indiquée dans le chapitre des techniques générales d'étude.

- Elution de la colonne

La colonne est éluée par l'acétate d'éthyle et le mélange de solvants acétate d'éthyle-Ethanol pur (1-1 / V-V).

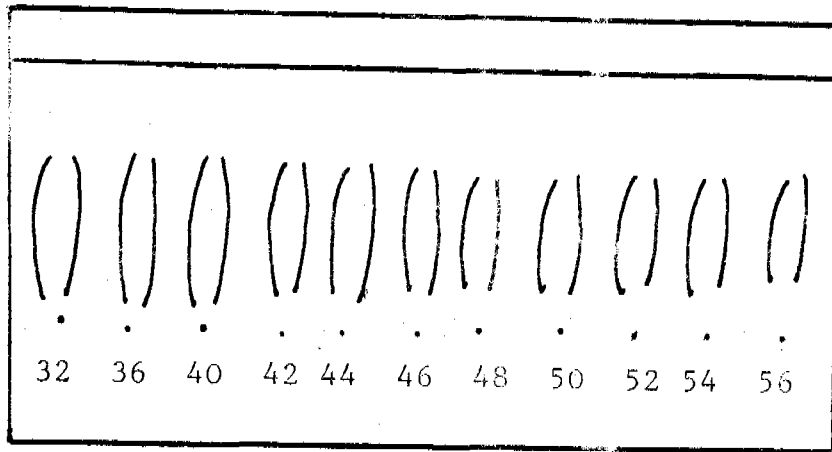
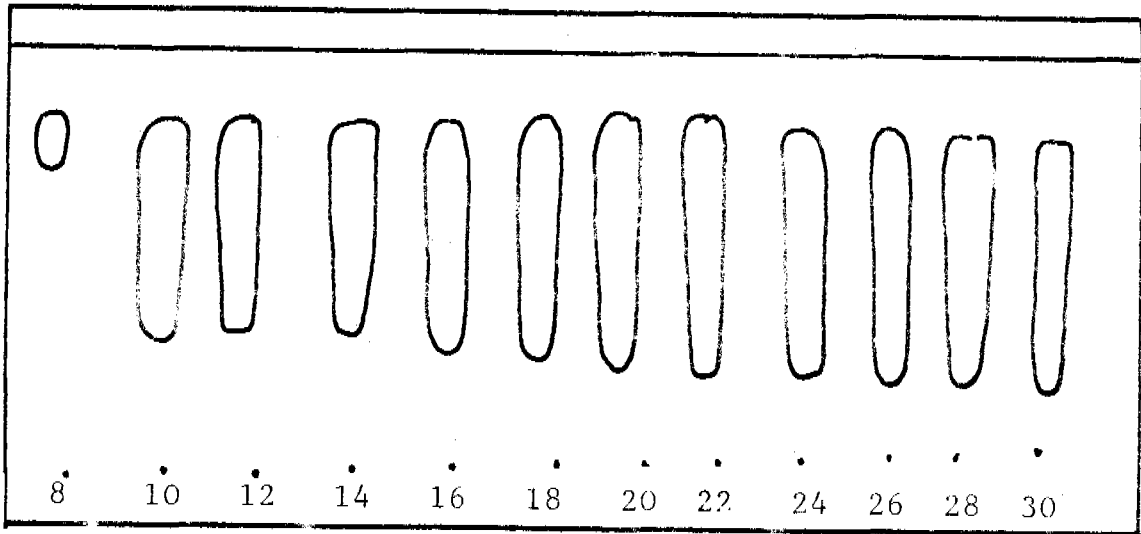
Nous avons obtenu 67 fractions numérotées de 0₁ à 0₆₇ dont 61 avec l'acétate d'éthyle (0₁ à 0₆₁) et 6 avec le mélange ethanol-acétate d'éthyle.

Un contrôle chromatographique (ccm) sur plaques de cellulose a été effectué sur toutes les fractions dans le B.A.W. (4-1-5/V-V). Les résultats sont consignés sur les chromatogrammes n°5.

Les fractions 0₁₂ à 0₃₀ renferment un composé flavonique, il en est de même pour les fractions 0₃₂ à 0₅₆.

Nous les avons réunies et concentrées séparément au Rotavapor jusqu'à environ 2 ml. Ainsi nous avons obtenu les solutions M₆ (0₁₂ à 0₃₀) et M₇ (0₃₂ à 0₅₆) renfermant chacun un composé flavonique.

La pureté du constituant de la solution M₆ et du constituant de la solution M₇ a été vérifiée dans le B.A.W (4-1-5/V-V) et l'acide acétique à 15 % dans l'eau en chromatographie bidimensionnelle.



Chromatogramme n°5 :

Constituants des fractions de fragmentation de la solution M₅ sur colonne de cellulose.

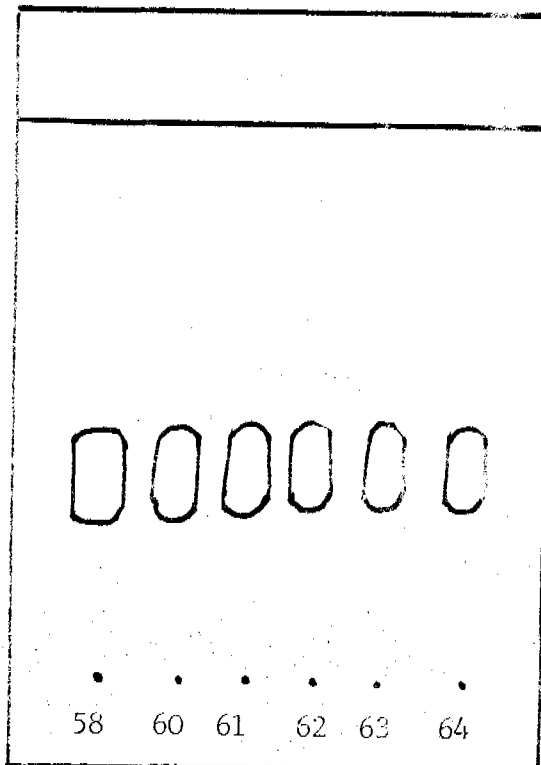
Support = Cellulose

Dépot = 10 µl

Solvant = B.A.W.4-1-5/v-v

Révélation=UV 254 et 366 nm

Citroborique.



III.4.2. Flavonoïdes de l'extrait butanolique de la solution N (extrait éthanolique)

La chromatographie de cette fraction nous montre des substances majoritaires violettes à l'UV (366 nm) qui deviennent jaunes avec le réactif citroborique et des substances bleues qui ne réagissent pas au réactif citroborique.

Nous avons donc choisi d'étudier les composés citroboriques positifs.

III.4.2.1. Séparation des composés flavoniques

Colonne de silice

- Préparation de la colonne et dépôt de l'extrait sec :

La colonne est préparée comme indiqué dans le chapitre des techniques générales d'étude.

- Elution de la colonne :

La colonne est éluée par : le mélange de solvants butanol-benzène (90-10/v-v) puis l'éthanol absolu.

Nous avons constitué 54 fractions numérotées de N_1 à N_{54} ; 36 avec le mélange butanol-benzène (N_1 à N_{36}) et 17 avec l'éthanol absolu (N_{37} à N_{54}).

Nous avons chromatographié (ccm) ces différentes fractions sur plaques de silice dans le B.A.W.(4-1-5/v-v). Les résultats obtenus sont consignés sur les chromatogrammes n°6 ci-dessous.

Le comportement chromatographique de ces fractions nous a permis de les regrouper en 4 fractions :

Fraction S_1 (N_1 à N_9)

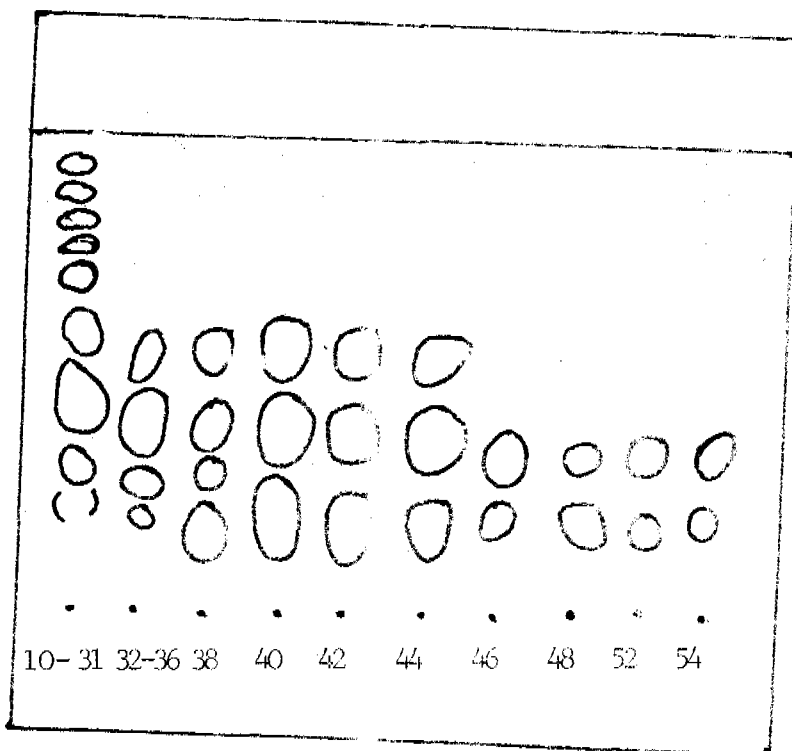
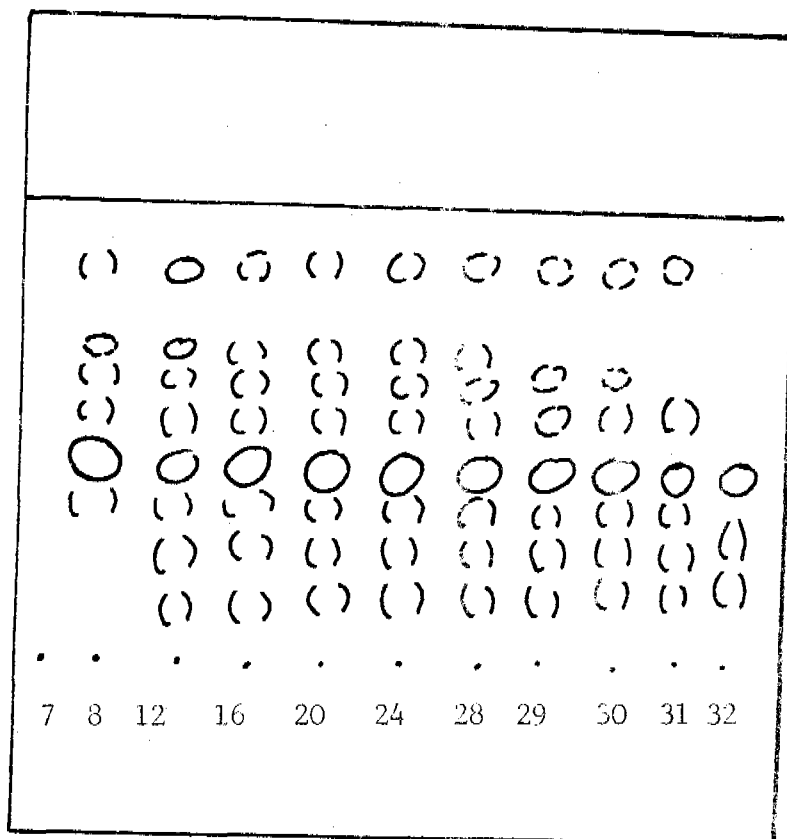
Fraction S_2 (N_{10} à N_{31})

.../...

Fraction S_3 (N_{32} à N_{37})
Fraction S_4 (N_{38} à N_{54}).

Les fractions S_3 et S_4 sont les plus riches en composés flavoniques.

Nous avons choisi de purifier les constituants de la fraction S_4 sur colonne de silice.



Chromatogramme n°6 : Constituants de fractions obtenues par fragmentation de la solution butanolique (C) sur colonne de silice G.
 Support = Silice G - Dépot = 20 µl - Solvant = B.A.W.4-5/v-v
 Révélation = UV 254 et 366 nm ; Citroborique.

III.4.2.2. Purification sur colonne de silice G

- Préparation de la colonne et dépôt de l'extrait

La préparation de la colonne et le dépôt de l'extrait sont effectués comme indiqué dans le chapitre des techniques générales d'étude.

- Elution de la colonne

La colonne est éluée par le mélange solvants méthanol-chloroforme (90-10/v-v), puis le méthanol et enfin l'éthanol absolu.

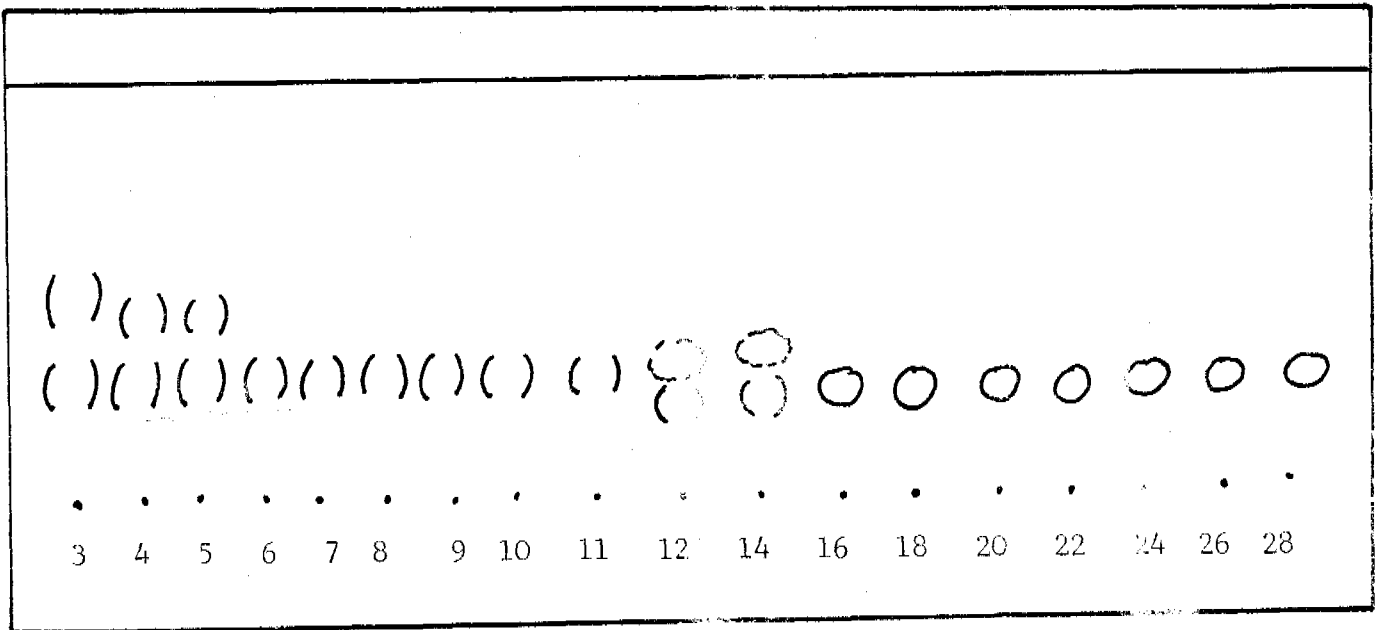
Nous avons constitué 32 fractions numérotées de P₁ à P₃₂ dont 18 fractions avec le mélange solvants méthanol-chloroforme (P₁ à P₁₈) ; 12 fractions avec le méthanol (P₁₉ à P₃₀) et 2 fractions avec l'éthanol (P₃₁ à P₃₂).

Le comportement chromatographique de ces fractions est consigné sur les chromatogrammes n°7 ci-dessous.

Les fractions P₁₆ à P₂₈ renferment un seul composé dans le butanol acétique.

Nous avons rassemblé ces fractions (Solution S₅) et vérifié la pureté du constituant dans l'acide acétique à 15 % dans l'eau.

.../...



Chromatogramme n°7 : Constituants des fractions obtenues par fragmentation de la solution S₄ sur colonne de silice G.

Support = Silice G Art. 773E
Dépot = 10 µl
Solvant = B.A.W. 4-1-5/v-v
Révélation = UV 254 et 366 nm
-Citroborique.

III.4.3. Composés isolés

Après les purifications, nous disposons à présent de trois solutions renfermant chacune un seul composé décelé en chromatographie : solutions M_6 , M_7 et S_5 .

Nous avons nommé les constituants des solutions M_6 , M_7 et S_5 respectivement D.O.1, D.O.2 et D.O.3.

La Co-chromatographie de D.O.1, D.O.2 et D.O.3 sur plaques de cellulose avec le butanol acétique (B.A.W. 4-1-5/v-v) ou l'acide acétique à 15 % dans l'eau comme solvant de migration permet de faire les constatations suivantes :

- Chaque composé apparaît pur (une seule tache) dans les deux solvants.
- D.O.1 et D.O.3. ont le même Rf dans les deux solvants, il s'agit du même composé.
- D.O.2, bien que pur est en quantité très faible.

Nous avons réuni les solutions M_6 et S_5 qui renferment le même composé D.O.1 et D.O.3. Le produit final, nous l'avons nommé D.O.13.

Nous l'avons soumis à l'hydrolyse acide. La quantité faible du composé D.O.2 n'a pas permis son étude.

III.4.4. Hydrolyse acide du composé D.O.13

Les solutions M_6 et S_5 sont réunies. Le mélange est ramené au volume de 3 ml.

1 ml de cette solution concentrée est soumise à l'hydrolyse acide comme indiquée dans le chapitre des techniques générales d'étude.

III.5 ESSAI D'IDENTIFICATION DU COMPOSE D.O.13

III.5. ESSAI D'IDENTIFICATION DU COMPOSE D.O.13

Le composé D.O.13 se présente sous forme d'une poudre jaune, soluble dans l'éthanol, le méthanol, peu soluble dans l'eau.

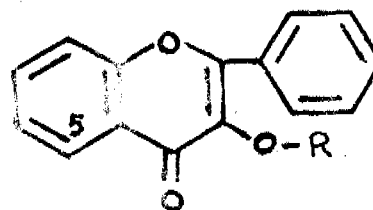
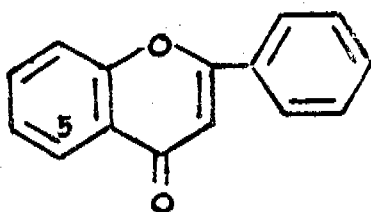
III.5.1. Comportement chromatographique

III.5.1.1. Relations-Fluorescence-Coloration-Structure

Sur plaque de cellulose microcristalline (\emptyset 0,1 mm) avec le B.A.W. (4-1-5/v-v), le composé D.O.13 présente une fluorescence violet-sombre.

Après pulvérisation du réactif citrobenzique et chauffage du chromatogramme à 110°C pendant 5 minutes, il prend une coloration jaune.

Ceci nous oriente vers une structure de flavone hydroxylée et non substituée en position 5 ou d'un flavonol substitué en position 3 (21).



III.5.1.2. Relations Rf - Structure

Dans un solvant hydrophobe comme le B.A.W. (4-1-5/v-v) le composé D.O.13 a un Rf de 0,50.

De même dans des solvants hydrophiles comme l'acide acétique à 15 % et 5 % il migre avec des Rf respectifs de 0,96 et 0,66.

Ceci confère au composé D.O.13 un comportement d'hétéroside flavonique (21).

III.5.1.3. Hydrolyse - acide

L'hydrolyse - acide de D.O.13 libère un composé étherosoluble qui donne sur plaque de cellulose, les Rf suivants :

SOLVANTS	Rf DE D.O.13 HYDROLYSE	FLUORESCENCE		COLORATION CITROBO- RIQUE
		254 nm	366 nm	
B.A.W. (4-1-5/v-v)	0,88	Violet- sombre	Jaune pâle	Jaune
Acide acétique 5%	0,20	Violet- sombre	Jaune pâle	Jaune
Acide acétique 15%	0,52	Violet- sombre	Jaune pâle	Jaune
Acide acétique 60%	0,72	Violet sombre	Jaune pâle	Jaune

Le composé d'hydrolyse que nous avons nommé D.O.13 H, a un comportement de génine flavonique en raison de son Rf élevé dans le B.A.W. (Rf = 0,88), faible dans l'acide acétique 5 % (Rf = 0,20), moyenne dans l'acide acétique 15 % (Rf = 0,52), de sa fluorescence à l'UV (254 ; 366 nm) et de sa réaction avec le réactif citroborique (coloration jaune).

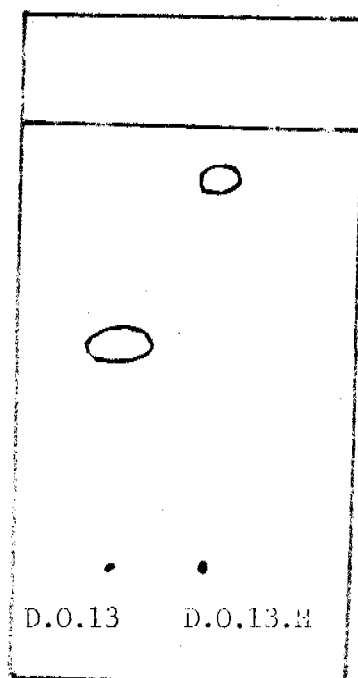
La co-chromatographie de D.O.13 et de D.O.13H dans le

B.A.W. (4-1-5/v-v) a été effectuée sur plaque de cellulose (chromatogramme n° 8).

La phase aqueuse résiduelle d'hydrolyse évaporée à sec et reprise avec 0,5 ml de pyridine, est chromatographiée sur plaque de silice imprégnée de tampon phosphate au préalable.

La migration est effectuée dans le mélange-solvant Acétone-Eau 90-10/v-v en présence de témoin de sucres.

Les produits d'hydrolyse semblent contenir du glucose et du galactose.



Chromatogramme n° 8

Support = Cellulose microcristalline Ø 0.1mm.
Dépôts = D.O.13 = 10 µl
 = D.O.13H = 10 µl
Solvant = B.A.W./4-1-5/v-v
Révélation = UV 254 ; 366 nm
 = Citrobrique.

III.5.2. Spectrométrie d'absorption dans l'Ultra - Violet

La spectrométrie ultra-violette des flavonoïdes a été très bien étudiée par T.J. MARBRY et COLL (21). Elle permet de caractériser la génine flavonique par la réalisation du spectre du produit dans le méthanol et dans le méthanol additionné de certains réactifs d'ionisation et de chélation des polyhydroxyphénols (18).

III.5.2.1. Spectres du composé D.O.13

En général, le spectre UV des flavones présente deux bandes d'absorption principales :

- la bande I située entre 320 et 360 nm,
- la bande II située entre 250 et 275 nm.

III.5.2.1.1. Spectre dans le méthanol

MARBRY (21) a démontré que la bande I est faible chez les dérivés de la chryisine et la bande II est doublée chez les composés disubstitués en 3' et 4' (lutéoline, daosmécine, chrysoériol).

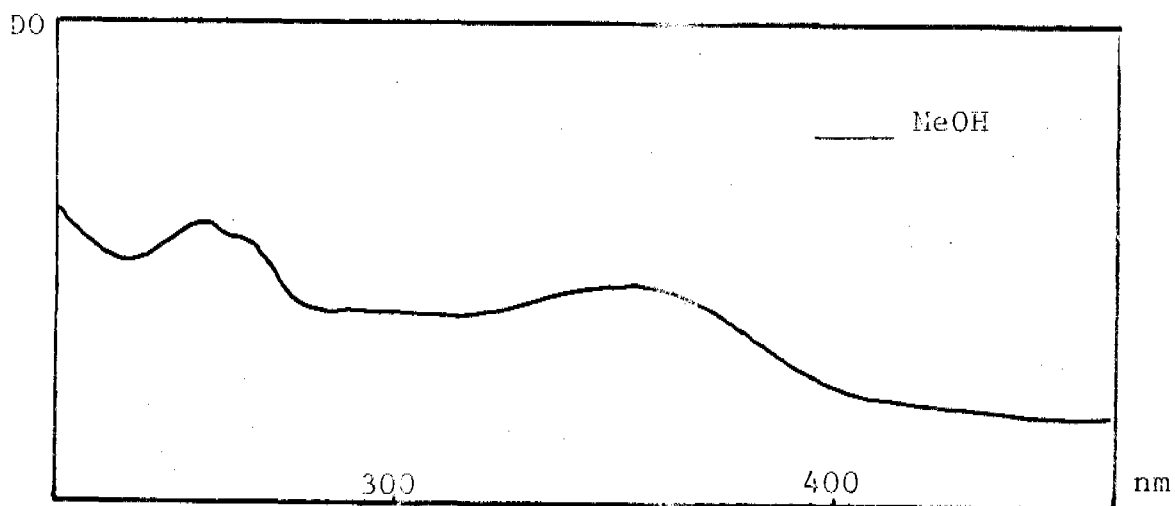


Figure n° 4 : Spectre UV du Flavonoïde D.O.13 dans le Méthanol.

Le composé D.O.13 présente bien les deux bandes caractéristiques des composés flavoniques.

La bande I a son maximum d'absorption à 356 nm.

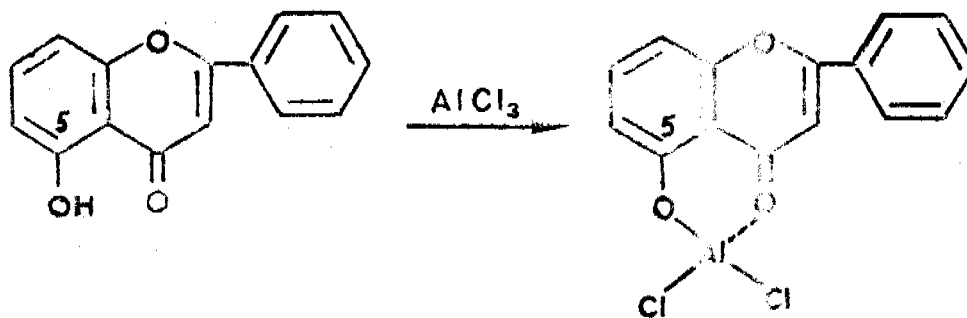
La bande II est dédoublée avec des maxima à 270 et 258 nm.

Nous pouvons donc penser avec MARBRY, qu'il ne s'agit pas d'un dérivé de la chryisine mais probablement d'un dérivé de la lutéoline, de la diosmétine ou du chrysoériol.

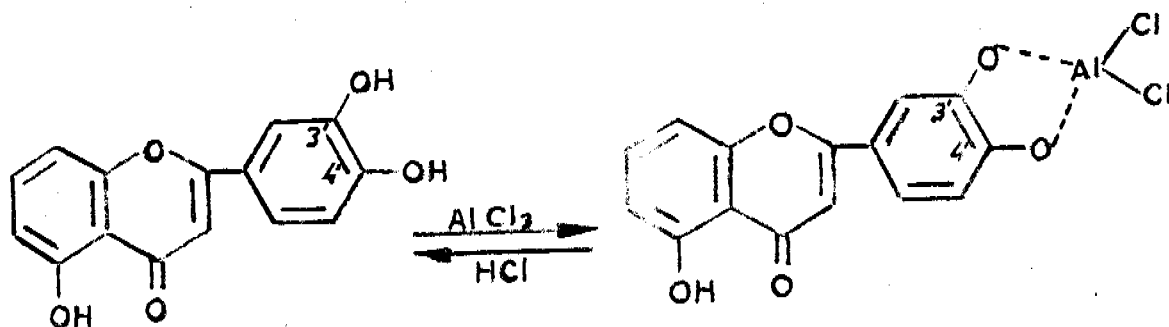
III.5.2.1.2. Spectres dans le méthanol, le méthanol en présence de chlorure d'aluminium et le méthanol en présence de chlorure d'aluminium et d'acide chlorhydrique

L'addition de chlorure d'aluminium, donne un déplacement bathochrome de l'ordre de 45 nm de la bande I lorsque l'hydroxyle en 5 est libre (12).

Le réactif complexe irréversiblement le groupe formé par le carbonyle et l'hydroxyle en 5. L'addition d'acide chlorhydrique ne provoque aucun effet hypsochrome par rapport au spectre dans $AlCl_3$ (12).



Le chlorure d'aluminium complexe également les groupements orthodihydroxylés = il y a l'effet bathochrome. L'addition d'acide chlorhydrique différencie ce système du système CO/OH_5 . En effet il provoque un effet hypsochrome de 30 à 40 nm obtenu comparativement à celui du spectre, du produit réalisé en présence de $AlCl_3$. Les deux bandes I et II se dédoublent.



Le composé D.O.13 présente dans le méthanol en présence de AlCl₃ une bande I avec un maximum à 417 nm. Il y a donc un déplacement bathochrome de 44 nm par rapport au spectre dans le méthanol seul.

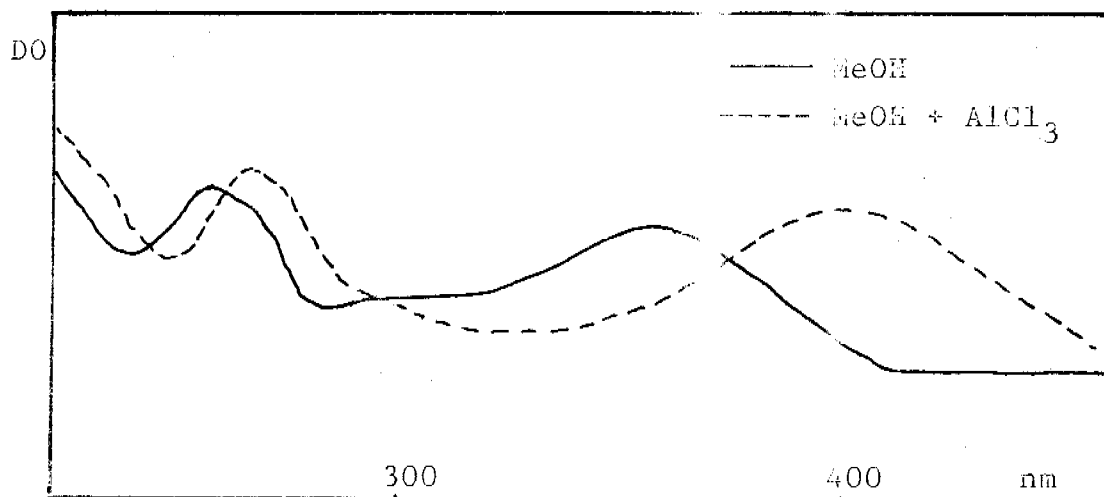


Figure 5 : Spectres UV du Flavonoïde D.O.13 dans le Méthanol et dans le Méthanol en présence de AlCl₃.

Dans le méthanol en présence de AlCl_3 et d' HCl le composé D.O.13 présente une bande I dédoublée (maxima 401 nm ; 360 nm) et un épaulement à 310 nm. Il y a déplacement hypsochrome de la bande I de 16 nm et 52 nm par rapport au spectre dans le MeOH en présence de AlCl_3 .

Ces résultats conduisent donc en l'absence d'hydroxyle libre en 5 et la présence de système orthodihydroxylé en 3' et 4'.

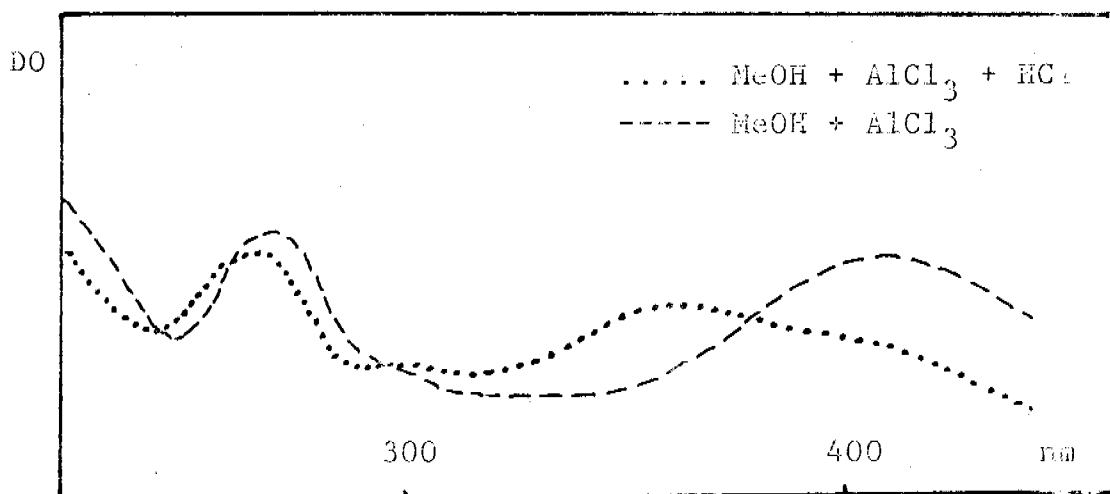


Figure n° 6 : Spectres UV du Flavonoïde D.O.13 dans le Méthanol en présence de AlCl_3 et dans le Méthanol en présence de AlCl_3 + HCl .

III.5.2.1.3. Spectres dans le méthanol, le
méthanol en présence d'Acétate
de Sodium et le méthanol en pré-
sence d'Acétate de Sodium et
d'Acide borique

En présence d'acétate de sodium (NaOAc), l'acide borique (H_3BO_3) chélate également les sites orthodihydroxylés. Dans le cas du système orthodihydroxylé, l'addition de H_3BO_3 provoque sur la bande I, un effet bathochrome de 12 à 30 nm.

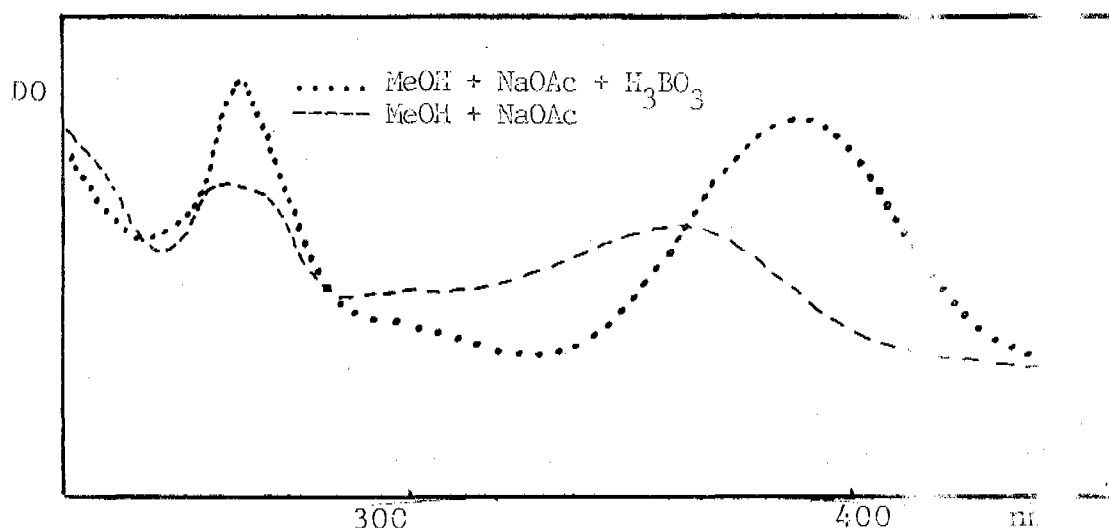


Figure n° 7 : Spectres UV du Flavonoïde D.O.13 dans le MeOH + NaOAc + H_3BO_3 et dans le MeOH + H_3BO_3 .

Le spectre du composé D.O.13 dans le MeOH en présence de NaOAc et d' H_3BO_3 présente un déplacement bathochrome de la bande I de 20 nm par rapport au spectre dans le méthanol + NaOAc. Ceci confirme la présence d'un groupement orthodihydroxylé en 3' - 4'.

L'acétate de sodium est une base faible qui n'ionise que les groupes hydroxylés les plus acides dont l'hydroxyle en 7. L'ionisation de cet hydroxyle affecte principalement la bande II avec un déplacement bathochrome de 5 à 20 nm. Ce déplacement ne se produit pas quand l'hydroxyle en 7 est substitué.

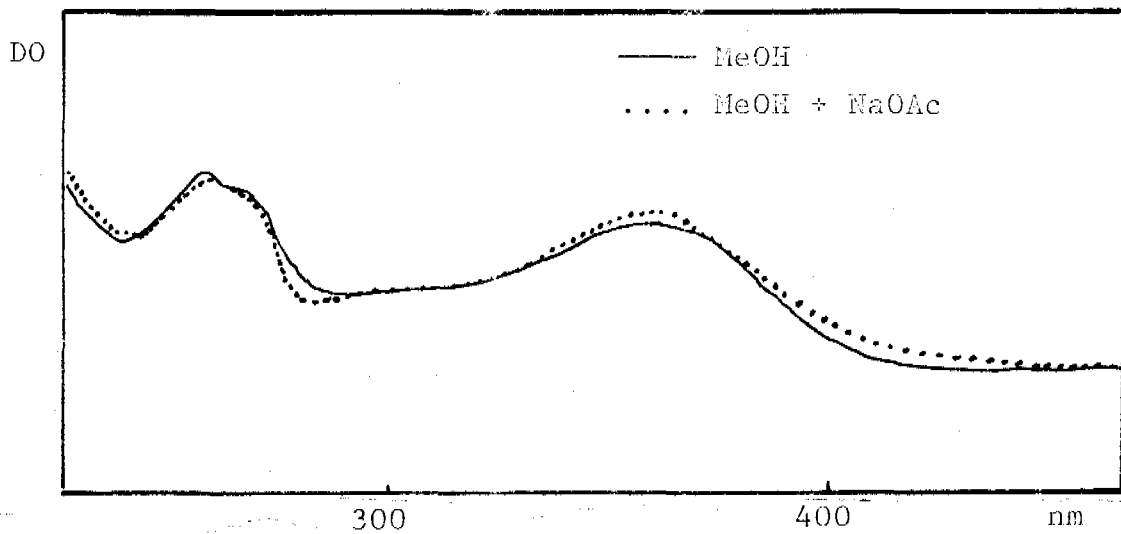


Figure n° 8 : Spectres UV du Flavonoïde D.O.13 dans le MeOH et dans le MeOH + NaOAc.

Le spectre de D.O.13 dans le MeOH/NaOAc est superposable à son spectre dans le MeOH. Il n'y a aucun déplacement de la bande II. Nous pouvons donc conclure en l'absence d'hydroxyle en 5 ou à la substitution de cet hydroxyle.

III.5.2.1.4. Spectres dans le méthanol et le méthanol en présence de NaOH

La soude (NaOH 0,1N) est une base forte. Elle ionise tous les groupements hydroxylés du noyau des flavones. Cependant lorsqu'on obtient un déplacement bathochrome de la bande I de l'ordre de 40 à 65 nm, sans baisse d'intensité, on peut être sûr de la présence d'un groupement hydroxylé en 4' (12).

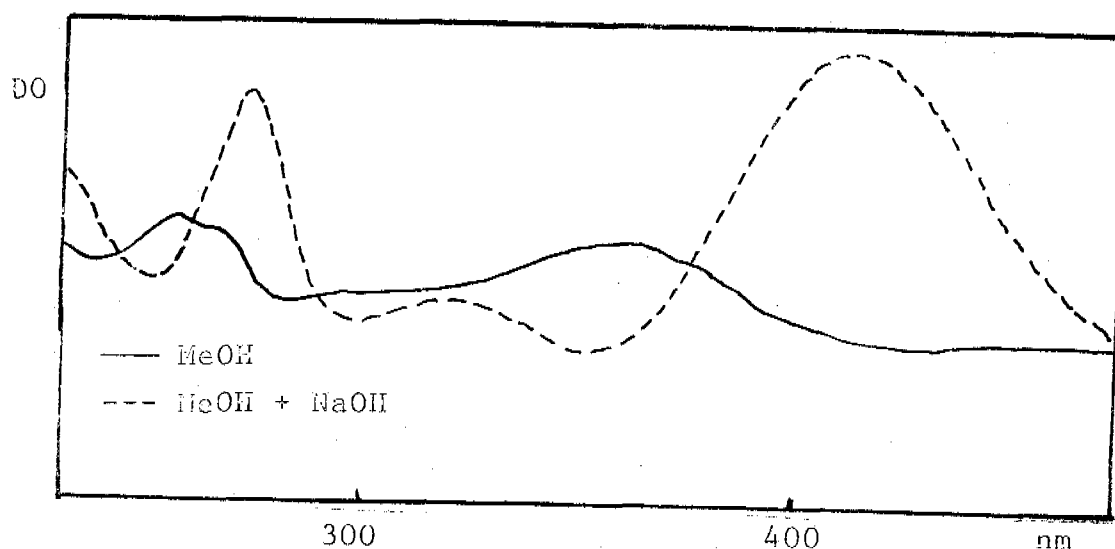


Figure n° 9 : Spectres UV du Flavonoïde D.O.13 dans le MeOH et dans le MeOH + NaOH.

Le spectre de D.O.13 dans le MeOH/NaOH présente un déplacement bathochrome de 64 nm de la bande I par rapport au spectre dans le méthanol. On peut donc conclure avec MARBRY en la présence d'un hydroxyle libre en 4'.

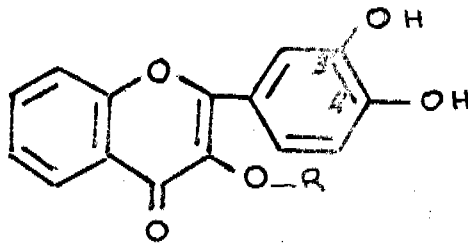
Nous avons regroupé dans le tableau n° 8 les caractéristiques spectrales du composé D.O.13.

Tableau n° 8 : Caractéristiques spectrales dans l'Ultra-Violet du composé D.O.13

	BANDE II (nm)	BANDE I (nm)	DEPLACEMENTS (nm)	INTERPRETA- TION
MeOH	258-270	356	-	-
MeOH + AlCl ₃ par rapport au MeOH	272	417	Bathochrome par rapport au MeOH:61	Pas d'hydroxyle libre en 5
MeOH + AlCl ₃ + HCl	270	401, 360	Hypsochrome par rapport au MeOH+ AlCl ₃ de l'ordre de 16 et 51	Pas d'hydroxyle libre en 5 groupement orthodihydroxy- lé en 3', 4'
MeOH + NaOAc	270	356	Pas de déplace- ment bathochro- me par rapport au MeOH de la bande II	Pas d'hydroxyle libre en 7
MeOH + NaOAc + H ₃ BO ₃	262	376	Bathochrome de 20 par rapport au MeOH + H ₃ BO ₃	Groupement or- thodihydroxylé en 3', 4'
MeOH + NaOH	282	432	Bathochrome par rapport au MeOH de 64 nm sans baisse d'in- tensité.	Hydroxyle libre en 4'

III.5.3. Hypothèse de structure

Le composé D.0.13 pourrait être la glycosyl-3-dihydroxy 3', 4' flavone



{ Glycosyl-3-dihydroxy 3', 4' flavone
R = Glucose? = Galactose? = Glucogalactosyl?

CONCLUSION

.../...

C O N C L U S I O N

Au terme de ce travail, nous soulignons tout particulièrement la qualité de l'encadrement et la bonne atmosphère de travail du laboratoire dans lequel nous avons évolué durant ces quinze mois.

L'étude que nous avons faite sur Daniellia oliveri (Rolfe) Hutch et Dalz (Caesalpinaceae) nous a permis de nous familiariser avec les techniques de recherches botaniques et phytochimiques.

* Daniellia oliveri est une légumineuse très bien connue de la pharmacopée traditionnelle africaine par ses multiples usages. Les utilisations sont très variées d'un pays à l'autre et d'une région à une autre à l'intérieur d'un même pays. Plusieurs affections sont traitées avec Daniellia oliveri seul ou associé à d'autres espèces végétales ou minérales (diarrhées, dysenteries, céphalées, hémorragies, dermatoses, etc...). Pour ces usages les différentes parties de la plante : feuilles, tige, racines, écorces de tronc et de racine, fruits, fleurs, bourgeons peuvent être utilisées.

* La partie botanique de notre travail a consisté en un rappel sur la position systématique et la description de Daniellia oliveri. Cette partie comporte également l'aire de répartition géographique de la plante et les caractères organoleptiques, macroscopiques et microscopiques de la drogue.

* Le genre daniellia est très peu étudié chimiquement. Certains travaux effectués, nous renseignent sur la richesse des espèces de ce genre en composés de nature très variée : flavonoïdes, lactones sesquiterpéniques, huiles essentielles, tannins. Les composés toxiques n'y sont pas rencontrés.

.../...

Notre étude qui a porté sur les feuilles de l'espèce malienne a commencé par des essais préliminaires. En plus des flavonoïdes qui ont fait l'objet de notre travail, ces feuilles renferment des coumarines, saponosides, tan - nins leucoanthocyanes, composés réducteurs, hétérosides cardiotoniques, stéroïls et terpènes.

La deuxième partie de l'étude chimique a porté sur une étude des composés flavoniques des fractions butanoli - ques d'extraits aqueux et éthanoliques qui se sont avérées les plus riches en ces composés.

Après l'extraction et le fractionnement des fla - vonoïdes nous avons procédé à leur purification. Un composé a été identifié à une glycosyl- β dihydroxy 3', 4' flavone.

Ces résultats ont été atteints par les méthodes suivantes :

- . Fractionnement : extraction liquide-liquide et extraction au soxhlet.
- . Chromatographie : chromatographie sur colonne, chromatographie sur couche mince, chromatographie préparative sur plaques.
- . Hydrolyse acide.
- . Etudes spectrales : spectrométrie ultraviolette.

L'identification doit être poursuivie par la réalisation du point de fusion du composé, de son spectre de masse et sa Co-chromatographie avec un authentique témoin.

En plus de ces composés flavoniques, nous avons décelé dans ces fractions butanologiques des composés de fluorescence bleue et rouge à l'UV à 254 et 366 nm.

L'étude phytochimique de Daniellia oliveri doit

.../...

être poursuivie, aussi bien sur les feuilles que sur les autres parties de la plante. Au niveau des feuilles, en plus des fractions d'acétate d'éthyle et éthanolique qui renferment des composés flavoniques, nous avons décelé des composés doués de propriétés pharmacologiques intéressantes tels que : saponosides, composés terpéniques, hétérosides cardiotoniques, etc...

Enfin, ces études chimiques devraient être suivies d'essais pharmacodynamiques.

Par ce travail, nous pensons apporter notre modeste contribution à la revalorisation de la médecine traditionnelle qui doit dans son ascension qualifier la médecine moderne et être qualifiée par elle, de manière à constituer une médecine efficace, scientifique et mieux adaptée à notre milieu social et à nos ressources naturelles (10).

BIBLIOGRAPHIE

.../...

B I B L I O G R A P H I E

1. ADJANOHOOUN E.J. et Coll.
Médecine Traditionnelle et Pharmacopée
"Bulletin de liaison" 1, 2. (1977).
2. ADJANOHOOUN E.J. et Coll.
Médecine Traditionnelle et Pharmacopée
Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques
en République Populaire du Bénin.
3. BERHAUT J.
Flore illustrée du Sénégal Tome IV (1975).
4. BOUGUE T. A. FOURET A.
Recherches chimiques préliminaires sur les plantes du
Congo Brazzaville - Fitothérapie Tome XLVI. N°4
(1975).
5. CHARAUX C.
Bull. Soc. Chim. Biol. 641 (1924).
6. CLAUDE PAIRAULT
Pharmacopée à Bankoni (1989)
Document Sciences Sociales - INRSP - MALI.
7. COULIBALY B.
Contribution à l'étude des remèdes traditionnels utilisés
dans le traitement du diabète au Mali - Thèse
E.N.M.P./Mali (1988).
8. CRETE P.
Précis de botanique Tome III Masson et Cie (1965).
9. DIARRA M.
Traitement des brûlures, des ophtalmies et des otites
en pharmacopée traditionnelle senoufo (cas de l'arrondisse-
ment de Fourou, Cercle de Kadiolo - Sikasso).
Mémoire Biologie - ENSup (1984).

.../...

20. MAMADOU K. BAGAYOKO
Etude de quelques plantes utilisées en médecine traditionnelle comme hémostatiques et cicatrisantes du Mali.
Mémoire de Biologie ENSup (1983).
21. MARBRY T.J., MARKHAM K.R., THOMAS MB.
The systematic identification of flavonoids,
springer verlag, Berlin, New-York (1970).
22. OUABONZY A.
Contribution à l'étude phytochimique de Gnetum africanum
Welw et Gnetum bucholzianum Engl., Thèse Doct. 3è Cycle.
Université Claud Bernard n° 1094 Lyon (1981).
23. PARIS M. HURABIELLE M.
Abrégé de Matière Médicale Tome I éd. Masson (1981).
24. PARIS R. R. NOTHIS A.
Plantes à dérivés polyphénoliques. Plantes Med. Phytother
4 (1) - 63 - 74 (1970).
25. PERSINOS G.J. GYMBY M.W.
A preliminary pharmacognostical of ten Nigerian plants
Econom. botany. (1964).
26. PHARMACOPEE FRANÇAISE
8° éd. (1965).
27. STAHL E.
Analyse chromatographique et microscopique de drogue.
Entreprise moderne d'édition technique et documentation
(1974).
28. TALAJ S.
Essentiel oil from Daniellia oliveri and Daniellia ogea
resin Colled In Ghana West african pharm (1966).
29. TRAORE D.
Magie et Médecine Africaine. Comment les Noirs se soi -
gnent-ils. (1983).

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

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

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

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

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

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

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