

République du Mali
Un peuple - Un but - Une foi

Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie

Année 1992

n°1

**Contribution à l'Etude Botanique et
Phytochimique d'une plante utilisée
dans le traitement traditionnel de
l'hépatite virale : Entada africana
(Guill et Perr) (Mimosaceae)**

THESE

Présentée et Soutenue publiquement le.....
devant l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie - Bamako

Par

Madame TOUNKARA Fatoumata Abdoukarim MAIGA
pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie
(Diplôme d'Etat)

Jury

Président : Professeur Abdoulaye AG RHALY
Membres : Professeur Bréhima KOUMARE
Professeur Boubacar CISSE
Docteur Idrissa DIALLO

Directeur

Professeur Arouna KEITA

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI
ANNEE UNIVERSITAIRE 1992-1993

LISTE DES PROFESSEURS

Professeur Issa TRAORE	Doyen
Professeur Boubacar S. CISSE	Premier Assesseur
Professeur Amadou DOLO	Deuxieme Assesseur
Docteur Bernad CHANFREAU	Conseiller technique
Professeur Bakary M. CISSE	Secrétaire Général

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1 . PROFESSEURS AGREGES

Professeur Abdel Karim KOUMARE	Chef D.E.R. de Chirurgie
Professeur Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Professeur Aliou BA	Ophtalmologie
Professeur Bocar SALL	Ortho.Tramat.Sécourisme
Professeur Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Professeur Abdou Alassane TOURE	Ortho-Traumato
Professeur Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique

2 . ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Madame SY Aïda SOW	Gynéco-Obstétrique
Docteur Kalilou OUATTARA	Urologie
Docteur Mamadou L. DIOMBANA	Odonto-Stomatologie
Docteur Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Docteur Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Docteur Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Docteur Alhousséïni AG MOHAMED	O.R.L.
Docteur Mme DIANE F.S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Docteur Abdoulaye DIALLO	Anesth.-Réanimation
Docteur Sidi Yaya TOURE	Anesth.-Réanimation
Docteur Gangaly DIALLO	Chirurgie Générale
Docteur Sékou SIDIBE	Ortho-Traumatologie
Docteur A.K. TRAORE dit DIOP	Chirurgie Générale

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur Bréhima KOUMARE	Microbiologie
Professeur Siné BAYO	Anatomie-Path.

Professeur Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique
Professeur Yaya FOFANA	Hématologie

2. DOCTEURS D'ETAT

Professeur Yéya Tiémoko TOURE	Biologie
Professeur Amadou DIALLO	Chef D.E.R. Sciences Fond.

3. DOCTEURS 3^{ème} Cycle

Professeur Moussa HARAMA	Chimie Organique
Professeur Massa SANOGO	Chimie Analytique
Professeur Bakary M. CISSE	Biochimie
Professeur Mahamadou CISSE	Biologie
Professeur Sékou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
Professeur Abdoulaye DABO	Malacologie, Bio. Animale
Professeur N'Yenigue S. KOITA	Chimie Organique

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Ogobara DOUMBO	Parasitologie
------------------------	---------------

Docteur Abderhamane S. MAIGA	Parasitologie
Docteur Anatole TOUNKARA	Immunologie
Docteur Amadou TOURE	Histo-Embryologie

5. MAITRES ASSISTANTS

Docteur Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Docteur Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur Abdoulaye AG RHALY	Chef D.E.R. Médecine
Professeur Souleymane SANGARE	Pneumo-Phtisiologie
Professeur Aly GUINDO	Gastro-Enterologie
Professeur Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Professeur Mahamane MAIGA	Néphrologie
Professeur Baba KOUMARE	Psychiatrie
Professeur Moussa TRAORE	Neurologie
Professeur Issa TRAORE	Radiologie
Professeur Mamadou M. KEITA	Pédiatrie

Professeur Eric PICHARD	Médecine Interne
Professeur Toumani SIDIBE	Pédiatrie

2. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Docteur Moussa Y. MAIGA	Gastro-enterologie
Docteur Balla COULIBALY	Pédiatrie
Docteur Boubacar DIALLO	Cardiologie
Docteur Dapa Ali DIALLO	Héméto-Méd.-Interne
Docteur Somita KEITA	Dermato-Leprologie
Docteur Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Docteur Hamar A. TRAORE	Médecine Interne

D.E.R. DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR AGREGES

Professeur Boubacar CISSE	Toxicologie
---------------------------	-------------

2. MAITRES ASSISTANTS

Docteur Boulkassoum HAIDARA	Législ. Gest. Pharm.
Docteur Elimane MARIKO	Pharmacodynamie
Docteur Arouna KEITA	Matières Médicales
Docteur Ousmane DOUMBIA	Chef D.E.R. Sces.Pharm.
Docteur Drissa DIALLO	Matières Médicales

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur Sidi Yaya SIMAGA	Santé Pub. (Chef D.E.R.)
Professeur Hubert BALIQUE	Maitre de conf. Santé Pub.

2. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Moussa A. MAIGA	Santé Publique
Docteur Bernard CHANFREAU	Santé Publique
Docteur Pascal FABRE	Santé Publique
Docteur Bocar G. TOURE	Santé Publique

CHARGES DE COURS

Docteur Mme CISSE A. GAKOU	Galénique
Professeur N'Golo DIARRA	Botanique
Professeur Bouba DIARRA	Bactériologie
Professeur Salikou SANOGO	Physique
Professeur Daouda DIALLO	Chimie Générale et Min.
Professeur Bakary I. SACKO	Biochimie
Professeur Yoro DIAKITE	Maths
Professeur Sidiki DIABATE	Bibliographie
Docteur Aliou KEITA	Galénique
Docteur Boubacar KANTE	Galénique
Docteur Souleymane GUINDO	Gestion
Docteur Mme Sira DEMBELE	Maths
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du milieu

ASSISTANTS

Docteur Nouhou ONGOIBA	Chirurgie
Docteur Sahare FONGORO	Néphrologie

Docteur Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Docteur Benoît KOUMARE	Chimie analytique
Docteur Ababacar I. MAIGA	Toxicologie
Docteur Mamadou DEMBELE	Médecine Interne

C.E.S.

Docteur G. YAYA (Centrafrique)	Ophtalmologie
Docteur Abdou ISSA (Niger)	Ophtalmologie
Docteur A. DIALLO (Sénégal)	Ophtalmologie
Docteur Askia MOHAMED (Niger)	Ophtalmologie
Docteur Oumar BORE	Ophtalmologie
Docteur N'DJIKAM J. (Cameroun)	Ophtalmologie
Docteur DEZOUMBE Djoro (Tchad)	Ophtalmologie
Docteur Aboubacrine A. MAIGA	Santé Publique
Docteur Dababou SIMPARA	Chirurgie Générale
Docteur Mahamane TRAORE	Chirurgie Générale
Docteur Mohamed AG BENDECH	Santé Publique
Docteur Mamadou MAIGA	Dermatologie

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Professeur J.P.BISSET	Biophysique
Professeur F. ROUX	Biophysique
Professeur G. FARNARIER	Physiologie
Professeur G. GRAS	Hydrologie
Professeur E.A. YAPO	Biochimie
Professeur Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Professeur Mamadou BADIANE	Pharmacie Chimique
Professeur Issa LO	Legislation

PERSONNELS RESSOURCES

Docteur Madani TOURE	H.G.T.
Docteur Tahirou BA	H.G.T.
Docteur Amdadou MARIKO	H.G.T.
Docteur Badi 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 Chompere KONE	I.N.R.S.P.

Docteur Adama SANOGO	I.N.R.S.P.
Docteur BA Marie P. DIALLO	I.N.R.S.P.
Docteur Almahdy DICKO	P.M.I. Sogoniko
Docteur Mohamed TRAORE	Kati
Docteur Arkia DIALLO	P.M.I. Centrale
Docteur Reznikoff	I.O.T.A.
Docteur TRAORE J. THOMAS	I.O.T.A.
Docteur P. BOBIN	I. Marchoux
Docteur A. DELAYE	H.P.G.

DEDICACE

- A mon cher époux : Vous avez été l'éclat qui m'a ébloui dans les ténèbres de la nuit. Vous m'avez appris à vivre et à transcender les difficultés de la vie. Puisse ce travail nous apporter le bonheur commun.

- A mon père Abdoul Karim MAIGA : Vous nous avez inculqué les vertus de la probité et de l'amour du travail bien fait. Durant notre long parcours scolaire, jamais vous n'avez failli à vos devoirs de père et d'éducateur. Je serai débordée de joie, si un jour, mon enfant pense de moi ce que je pense de vous aujourd'hui. Que ce travail constitue pour vous un motif de légitime fierté.

- A ma mère Maïmounata M. MAIGA : Vous avez tout fait pour vos enfants. Vos interminables conseils de maman, votre tendre affection, ne nous ont jamais fait défaut de près ou de loin. Puisse ce résultat vous apporter quelques satisfactions.

- A mon oncle Dr Almounzar M. MAIGA : c'est à vous que je dois le choix de mes études de Pharmacie. Pendant tout notre cycle, Vous et votre femme n'avez ménagé aucun effort pour nous encourager et nous soutenir. Les mots nous manquent pour exprimer avec la sincérité qu'il faut, les sentiments de gratitude

qui nous animent. Vos sages conseils, vos critiques et suggestions, votre aide morale et matérielle nous ont plus d'une fois permis de franchir des étapes difficiles. Vous n'avez à aucun moment cessé de nous chérir et de voir en nous votre propre enfant. Par ce travail qui, est le votre aussi, soyez assuré de notre profonde reconnaissance.

- A mon cousin et oncle Dr Zakaria MAIGA : Nous ne cesserons jamais de penser à votre aide (Vous et votre tendre épouse) tant morale que matérielle tout au long de notre cycle. Nous avouons là, que votre sens élevé de préserver les liens de la famille nous a plus que jamais apporté des leçons. En cette solennelle occasion, permettez-nous de vous réaffirmer notre attachement filial, pour vous dire, le bien fait n'est jamais perdu.

- A mes grand-parents Algarabi GOUDOU et Aïcha : Vos nombreuses marques d'affection ne nous ont jamais fait défaut et resteront à jamais gravées dans nos mémoires. Puisse Dieu nous accorder tous longue vie pour que vous soyez encore parmi nous et nous comblez d'amour.

- A mes frères et soeurs : la cordiale atmosphère familiale que nous avons toujours entretenue ensemble me restera toujours en mémoire. Puisse ce travail auquel chacun de nous a participé d'une manière ou d'une autre vous servir d'exemple ou vous apporter satisfaction.

- A tous mes amis (es) : Nous attachons la plus haute considération aux liens qui nous lient à chacun de vous. En témoignage de ma sincère amitié.

REMERCIEMENTS

- A Monsieur Hamadoun Kalil Daouda à Tombouctou : Vous nous avez hébergé et soutenu à un moment de notre vie scolaire où nous en avons plus que besoin. Sachez que nous ne vous avons jamais oublié ni même un des vôtres. Trouvez alors ici l'expression de notre reconnaissance éternelle.

- A Mlle Mariam MAIGA dite GAMBIE : Nous n'avons jamais douté de votre compréhension et surtout de votre disponibilité. Nous n'oublierons jamais les énormes services rendus. En témoignage la cordiale amitié qui nous a toujours unis.

- A tous le personnel de la D.M.T./I.N.R.S.P. : votre ardeur au travail et vos éminentes qualités de chercheurs ont forcé notre admiration. Permettez-nous de vous exprimer toute notre gratitude.

- A l'ancien doyen de l'ENMP le Pr Aliou BA, à l'actuel doyen le Pr Issa TRAORE, au corps professoral et à tous les membres de la Direction, en guise de reconnaissance pour tous les services rendus.

- A tous les camarades de promotion : Nous souhaitons bonne chance à chacun.

- A tous les étudiants de l'ENMP : Nous vous disons courage.

- Enfin à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce modeste travail.

A NOTRE JURY

Au Professeur Abdoulaye Ag RHALY

Agrégé en Médecine

Chef D E R Medecine

Vous nous faites un grand honneur en président le jury de notre thèse.

Nous nous souvenons de vos cours de sémiologie et de pathologie médicales, dispensés avec simplicité et efficacité. Votre soutien désintéressé ne nous a jamais fait défaut.

Soyez assuré de notre attachement respectueux.

Au Professeur Bréhima KOUMARE

Agrégé en Microbiologie

Chef du service de Bactériologie de l'I.N.R.S.P.

Permettez-nous de dire combien nous admirons votre abord facile, votre contact chaleureux et votre sens élevé de l'humanité. Votre intégrité morale, vos prises de position franches et courageuses vous valent le respect de votre entourage.

Nous tenons à vous remercier très respectueusement pour l'honneur que vous avez bien voulu nous faire en acceptant de participer à notre jury.

Trouvez ici l'expression de notre entière admiration.

Au Professeur Boubacar CISSE

Agrégé en toxicologie

Premier assesseur à l'ENMP du Mali

Nous sommes débordés de joie de vous avoir dans notre jury.

Nous-nous rejouissons de nous compter parmi les bénéficiaires de vos cours de toxicologie, cours que vous avez toujours dispensés avec amour, abnégation et efficacité.

Par ailleurs, votre lutte pour la cause des études et de la profession pharmaceutiques au Mali force notre admiration.

Qu'il nous soit permis de vous adresser notre reconnaissance éternelle.

Au Docteur Idrissa DIALLO

Docteur en Pharmacie

Maître assistant

Professeur de matières médicales à l'ENMP

Chef de la section matières premières à la Division Médecine Traditionnelle
(D.M.T) de l'I.N.R.S.P.

Votre grande expérience en la reconnaissance des plantes et votre disponibilité constante nous ont été d'un recours inestimable.

De cela, nous tenons à vous remercier très respectueusement, comme de l'honneur que vous avez bien voulu nous faire en acceptant de participer à notre jury

Au Professeur Arouna KEITA

Agrégé en Matières Médicales

Chef de la Division Médecine Traditionnelle de l'INRSP.

"...L'abeille confond par la structure de ses cellules de cire, l'habilité de plus d'un architecte. Mais ce qui distingue dès l'abord, le plus mauvais architecte de l'abeille la plus experte, c'est qu'il a construit la cellule dans sa tête avant de la construire dans la ruche." Karl Marx.

Par votre haute compétence, votre grande disponibilité et votre enthousiasme pour la recherche, vous nous avez fait tendre vers de grands architectes.

Nous vous devons l'essentiel de nos acquisitions en phytochimie et vous avez, malgré vos multiples occupations, accepté de diriger cette thèse et de participer à notre jury. Veuillez trouver ici l'expression de notre sincère gratitude et notre profonde reconnaissance.

SOMMAIRE

I.	INTRODUCTION	27
II.	MOTIVATION DE LA RECHERCHE	30
III.	ETUDES BOTANIQUES	32
3.1.	<i>Généralités sur les Légumineuses.</i>	33
3.2.	<i>Sous-famille des Mimosaceae</i>	34
3.3.	<i>Genre Entada</i>	35
3.4.	<i>Entada africana (Guill et Perr).</i>	36
3.4.1.	<i>Synonymie</i>	36
3.4.2.	<i>Noms vulgaires</i>	36
3.4.3.	<i>Description botanique</i>	39
3.4.4.	<i>Distribution géographique</i>	40
3.4.5.	<i>Stations</i>	40
3.4.6.	<i>La drogue</i>	41
IV.	TRAVAUX ANTERIEURS	43
4.1.	<i>Chimie</i>	43
4.2.	<i>Pharmacologie</i>	44
V.	UTILISATIONS EN MEDECINE TRADITIONNELLE	46
VI.	ETUDES PHYTOCHIMIQUES	50

6.1.	<i>Etudes chimiques préliminaires</i>	50
6.1.1.	<i>Essais préliminaires</i>	50
6.1.2.	<i>Dosages</i>	51
6.2.	<i>Techniques générales d'étude</i>	52
6.2.1.	<i>Matériel végétal</i>	52
6.2.2.	<i>Broyage</i>	52
6.2.3.	<i>Pulvérisation</i>	53
6.2.4.	<i>Extraction</i>	53
6.2.4.1	<i>Filtration des solutions</i>	55
6.2.4.2	<i>Concentration des extraits</i>	55
6.2.5	<i>Fragmentation et séparation</i>	55
6.2.6	<i>Purification</i>	56
6.2.6.1.	<i>Chromatographie sur colonne de Silice G.</i>	56
6.2.6.2.	<i>Chromatographie sur couche mince (C.C.M)</i>	59
6.2.6.2.1.	<i>Pour les extraits Ep, M et A</i>	59
6.2.2.2.2.	<i>Pour l'étude des alcaloïdes</i>	61
6.2.6.3.	<i>Chromatographie préparative</i>	63
6.2.7.	<i>Procédés d'identification</i>	64
6.3.	<i>Etude des extraits Ep, M et A</i>	64
6.4.	<i>Etudes des alcaloïdes</i>	68
6.4.1.	<i>Généralités</i>	68

		26
6.4.2.	<i>Définition</i>	68
6.4.3	<i>Extraction</i>	69
6.4.4	<i>Séparation</i>	73
6.4.5	<i>Purification des alcaloïdes</i>	81
6.4.6	<i>Identification</i>	82
VII.	CONCLUSION	86
VIII.	BIBLIOGRAPHIE	88

I. INTRODUCTION

Le Mali à l'instar des autres pays du tiers monde, a opté pour la politique de Soins de Santé Primaires (SSP). Cette politique, qui est celle de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), devrait permettre d'atteindre l'objectif suivant: la santé pour tous d'ici l'an 2000.

Le concept de SSP repose sur des méthodes, des techniques et des pratiques scientifiquement valables, applicables à tous les individus et à toutes les familles d'une communauté avec leur pleine participation. La communauté et les pays doivent pouvoir supporter le coût de cette politique à tous les stades de leur développement, dans un esprit d'auto-responsabilité. Les SSP font partie intégrante, tant du système national de santé que du développement socio-économique général de la communauté. Ils représentent le premier niveau de contact des individus de la famille et de communauté avec le système national de santé. Ils sont aussi le premier élément d'un processus ininterrompu de protection sanitaire (Mariko, 1988).

Les produits pharmaceutiques de la médecine dite conventionnelle sont très souvent difficiles d'accès pour les indigentes populations et ceci est un facteur limitant pour la politique de SSP. Les autorités sanitaires des différents pays

africains ont compris ces difficultés et depuis la conférence de ALMA-Ata, en 1978, elles ont décidé de promouvoir les recherches sur les plantes médicinales et la médecine traditionnelle.

Au Mali, l'idée de création d'une structure sanitaire utilisant les ressources naturelles locales avait été émise depuis 1968.

L'institut National de Recherche sur la Pharmacopée et la Médecine Traditionnelle (INRPMT) a vu le jour en 1973, puis transformé en Division Médecine Traditionnelle (DMT), en 1981.

La médecine traditionnelle (MT) est l'ensemble des connaissances, usages de substances, de mesures et pratiques, explicables ou non, basés sur les fondements sociaux, culturels et religieux d'une collectivité donnée, s'appuyant par ailleurs exclusivement sur les expériences vécues et l'observation, transmises de génération en génération, oralement ou par écrit, utilisées pour diagnostiquer, préserver ou éliminer un déséquilibre du bien être physique, mental ou spirituel (OMS, 1978).

La Division Médecine Traditionnelle a fait des recherches sur diverses plantes. Des produits locaux ont été fabriqués et commercialisés. Bien que ces produits

fabriqués soient confrontés à un problème de dosage et de posologie (problème qui se résorbe de plus en plus), ils sont efficaces et dans certains cas combattent bien de pathologies qui sont souvent rebelles aux traitements modernes.

Le problème principal de ces médicaments traditionnels restait celui du dosage et de la posologie. Mais à présent, à la D.M.T. on sait que cela constitue de moins en moins un ennui, car avec une moyenne statistique de différents produits, on fait une estimation pondérale et une posologie journalière afin d'obtenir une activité maximale.

II. MOTIVATION DE LA RECHERCHE.

C'est le souvenir d'un traitement traditionnel efficace à base de matière végétale (*Maerua crassifolia*) et animale (urine de vache) qui m'a été offerte depuis mon jeune âge, qui me donne une envie irrésistible pour toute médication dont les produits de base viennent de la nature.

Aussi, j'ai toujours eu un amour pour la recherche, d'abord pour satisfaire ma curiosité et ensuite pour contribuer à la mise en valeur de nos potentialités en matière de médecine traditionnelle.

Si le hasard, qui est à l'origine de l'ère anti-biotique ne multiplie pas ses miracles; mieux vaut ne pas attendre les faveurs de la nature, mais les lui arracher (Bezanger et al, 1975).

La flore est nombreuse au Mali, et les recherches doivent se poursuivre afin d'élargir la gamme de produits. C'est la raison qui m'a poussée, au sein de l'équipe de la Division Médecine Traditionnelle, à entreprendre l'étude phytochimique de Entada africana (Guill et Perr), arbre traditionnellement utilisé dans le traitement de l'hépatite virale.

Nous souhaitons tout de même que cette contribution, modeste certes, puisse être utile à tous les chercheurs et à tous ceux épris de découverte en matière de médication traditionnelle.

III. ETUDES BOTANIQUES .

La systématique de Entada africana (Guill et Perr) est la suivante:

Classe : Dicotylédones.

Ordre : Rosales.

Famille : Légumineuses.

Sous-famille : Mimosacées.

Genre : Entada.

Les Rosales sont des dialypétales, périgynes, caliciflores à réceptacle ordinairement concave. Le périanthe et l'androcée sont périgynes ou épigynes, rarement hypogynes, soudées plus ou moins à la base en urne, au fond de laquelle est inséré l'ovaire.

Les fleurs, hermaphrodites, actinomorphes ou zygomorphes sont à périanthe double et sont le plus souvent pentamères.

Les rosales ne constituent pas un groupe embryo-génétiquement homogène (Crété, 1965).

3.1. Généralités sur le groupe des légumineuses.

Les légumineuses (environ 13000 espèces) sont des périgynes à feuilles habituellement composées et stipulées. Les inflorescences sont du type centripète; jamais ce ne sont des cymes (Crété, 1965).

Les fleurs ont un calice gamosépale, pentamère, cinq pétales libres, deux verticilles de cinq étamines et surtout l'ovaire est uniloculaire et provient d'un carpelle dont la ligne de suture est dirigée en arrière. La placentation est marginale. Importante famille tropicale et subtropicale, les légumineuses sont des arbres à fleurs presque régulières; la zygomorphie est marquée par une corolle asymétrique à préfloraison carénale ascendante, le pétale supérieur étant recouvert par les deux pétales latéraux.

Le calice souvent très réduit est remplacé par une paire de bractéoles opposées qui enveloppe la fleur dans le bouton. Les étamines sont en nombre défini, généralement 10 avec des variations en moins (Fofana, 1990).

Les caractères anatomiques et embryologiques sont trop peu constants chez les légumineuses pour qu'il soit possible d'en donner un aperçu satisfaisant (Crété, 1965).

Rappelons enfin, que la famille des légumineuses est caractérisée par la présence d'une gousse ou légume (d'où leur nom), s'ouvrant par deux fentes et constituant le fruit. Elle comprend trois sous-familles: les Mimosaceae, les Cesalpiniaceae et les Fabaceae (Papilionaceae).

3.2. Sous-famille des Mimosaceae.

Les mimosaceae sont des arbres ou arbustes, souvent épineux, de forêt dense humide, de savane, de sahel ou de régions subdésertiques. Parfois ce sont des lianes ou des plantes traînantes, très souvent épineuses également, très rarement elles sont des plantes herbacées aquatiques (Letouzey, 1970).

Les feuilles sont composées, habituellement bipennées et stipulées, avec folioles parfois alternes, le plus souvent opposées sur le rachis.

Les inflorescences sont en forme d'épis ou de capitules. les fleurs relativement petites sont actinomorphes et hermaphrodites. Le calice et la corolle sont plus ou moins gamophylles, pentamères ou tétramères. Les pétales qui ne dépassent guère cinq (5) mm ont une préfloraison valvaire. Les étamines sont en nombre variable; l'androcée est typiquement diplostémone. Mais elle est quelque fois méristemone et rarement isostémone.

Le pollen des étamines (qui sont libres ou plus ou moins réunies par leurs filets) peut être en grains simples ou composés. Le gynécée comprend une carpelle. l'ovaire renferme des ovules anatropes.

Le fruit est une gousse allongée, uniloculaire ou divisée en plusieurs logettes monospermes (Crété, 1965).

Cette gousse a parfois une forme particulière: cylindrique, section carrée, section étoilée à quatre (4) branches, à graines formant des renflements successifs ou entourée d'une aile. dans quelques rares cas, la gousse est indéhiscente (exemple ; chez le prosopis où elle est cylindrique) (Letouzey, 1970). Elle peut aussi se désagréger en articles successifs. La graine contient un embryon droit et souvent un albumen.

Le genre le plus important des Mimosaceae est représenté dans les régions sèches d'Afrique occidentale et centrale par le genre *Acacia* avec une vingtaine d'espèce (Letouzey, 1970).

3.3. Genre *Entada*.

Le genre *Entada* comporte des espèces qui sont des arbres, des arbustes ou des

lianes à feuilles composées pennées et généralement bipennées. L'inflorescence est en épis. Le calice et la corolle sont pentamères. Les étamines sont généralement au nombre de dix. Le pétiole est habituellement épaissi à la base. on les rencontre en zone tropicale et subtropicale.

Les différentes espèces rencontrées dans la littérature sont: Entada africana (Guill et Perr), Entada gigas (Fawc et Rend), Entada phaseoloïdes (Merr), Entada abyssinica (Stend), Entada spicata (Druce), Entada stuhlmanii (Harms), Entada polystachya (Britton), Entada wahlbergii (Harv), Entada mannii (Oliv) ch. Tiss. (Guiseppe, 1983 ; Berhaut, 1975). Cette liste n'est pas exhaustive.

3.4. Entada africana (Guill et Perr).

3.4.1. synonymie

Entada ubanguiensis De Wild.

Entada sudanica Schweinf.

Entadopsis sudanica (Schweinf) Guilbert et Boutique.

3.4.2. Noms vulgaires:

Bambara : samanere.

Peulh : Padapari.

Sonrhäi : Batala.
Wolof : Mbatar.
Maure : Bu salel.
Sérère : Mbatar, Fatar.
Malinké : Samalino.

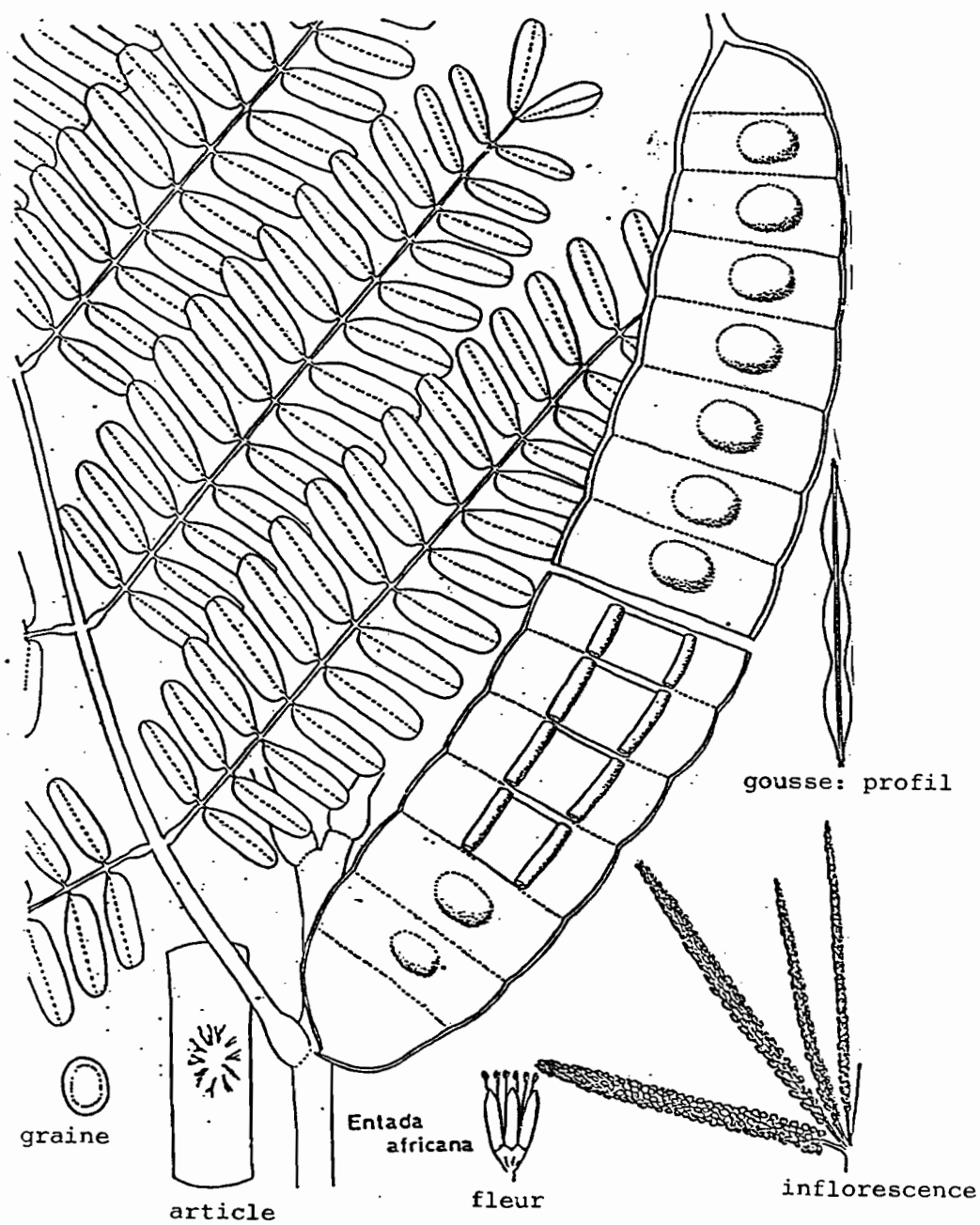


Fig. n°1 : *Entada africana* (Guill et Perr). Feuilles, fruit, fleur, inflorescence, article, graine (Bethaut, 1975)

3.4.3. Description botanique.

Entada africana est un arbuste de quatre (4) à cinq (5) mètres de haut, mais pouvant atteindre environ sept (7) mètres (Maydell, 1983) et branchu près de la base. L'écorce, parfois claire ou gris jaune, est profondément fissurée, liégeuse avec des bandes transversales.

Les feuilles, alternes sont biparipennées. Le rachis, long de vingt cinq (25) à trente (30) centimètres, ou d'avantage, porte quatre (4) à sept (7) paires de pinnules longues de quinze (15) à vingt (20) cm et portant chacune quinze (15) à vingt cinq (25) paires de foliolules oblongues, longues de quinze (15) à vingt (20) mm, larges de quatre (4) à six (6) mm, à sommet arrondi et base dissymétrique. Ces foliolules sont glabres, subsessiles. Le pétiole est épaissi à la base.

Les fleurs, petites, isolées, odorantes, de couleur blanc-crème ou jaune verdâtre sont regroupées en épis axillaires de sept (7) à dix (10) cm de long et treize mm de diamètre, fasciculé par trois (3) à cinq (5) à l'aisselle des feuilles tombées ou à celle des jeunes feuilles. Le rachis de l'épi est pubescent. La corolle est pentamère.

Le fruit est une gousse plate longue de quinze (15) à trente cinq (35) cm, atteignant souvent trente huit (38) cm (Hutchinson et al, 1966). Elle est large de cinq (5) à six (6) cm. cette gousse, pendante est légèrement renflée de chaque côté sur l'emplacement des graines (douze à quinze) qu'elle contient. Chaque graine se trouve au centre d'un article large de douze (12) à quinze (15) mm ayant comme longueur la largeur de la gousse. La gousse, fragile, de couleur brun rouge à l'extérieur, blanc à l'intérieur. Chaque graine ovoïde tombe séparément et restant entourée du mésocarpe membraneux.

3.4.4. Distribution géographique.

Entada africana (Guill et Perr) est commun à la zone sahélienne méridionale et la zone soudanienne. Il pénètre exceptionnellement au sud du sahel. Espèce de savane, il est répandu du Sénégal au Cameroun, mais se rencontre aussi en Centre-afrique, au Zaïre, en Ouganda.

3.4.5. Stations

Entada africana (Guill et Perr) se rencontre au pied des versants ou sur les rives des marigots, sur des stations proches de l'eau souterraine ou à des endroits où les précipitations sont de 600 à 1200 mm. Il est très sensible au feu de brousse qui le mutile souvent.

3.4.6. La drogue.

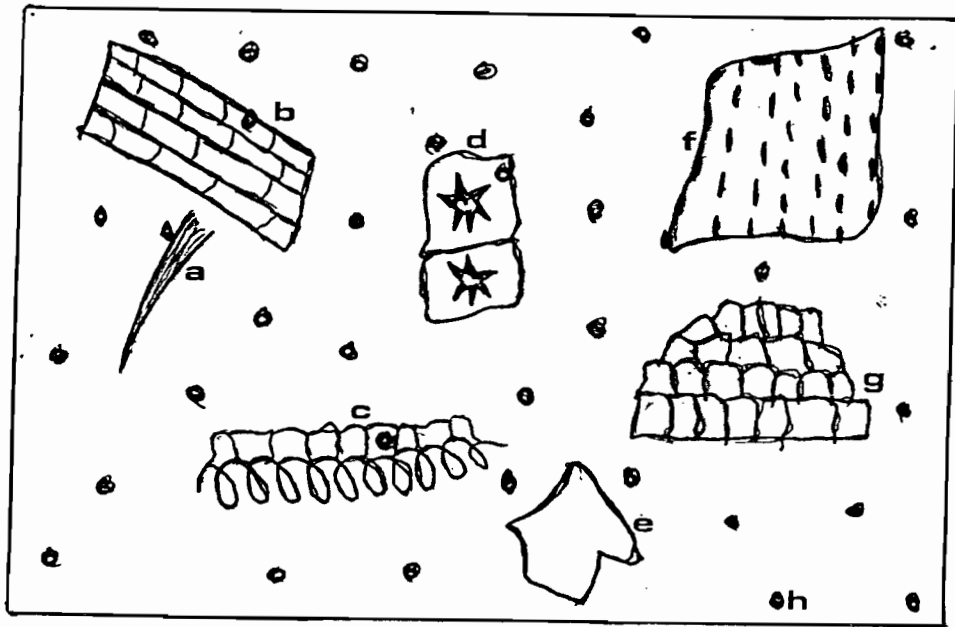
Elle est constituée par la poudre des racines séchées pulvérisées de la plante. Sur cette poudre, nous avons fait des observations microscopiques et à l'oeil nu, afin de dégager les caractères micro et macroscopiques de la drogue. Nous avons aussi recherché les caractères organoleptiques de la drogue en soumettant celle-ci à l'appréciation de plusieurs personnes. Nous avons ainsi relevé le goût, la saveur et l'odeur. Les différentes observations ont été faites à la D.M.T. Les resultats suivants ont été obtenus :

- Caractères organoleptiques et macroscopiques :

La drogue est de couleur brunâtre. Sa saveur est astringente et le goût est fugacement amère.

- Caracteres microscopiques :

En plus des cellules épidermiques, réticulées et sclérifiées, et des fragments de bois, l'observation microscopique a révélé de nombreux grains d'amidon, des poils tecteurs, des cristaux d'oxalate, des vaisseaux spiralés (fig n°2).



- | | |
|-------------------------|-----------------------------|
| a : poil tecteur | e : cristal d'oxalate de Ca |
| b : fragment de bois | f : tissu réticulé |
| c : vaisseau spiralé | g : tissu épidermique |
| d : cellules scérifiées | h : grain d'amidon |

Fig. n°2 : Observation microscopique de la poudre de racines de Entada africana (Guill et Perr).

IV. TRAVAUX ANTERIEURS.

Bien que Entada africana (Guill et Perr) ne soit pas beaucoup étudié, nous avons trouvé dans la littérature des résultats de travaux qui ont porté sur la phytochimie et la pharmacologie de la plante.

4.1. Chimie.

La roténone, découverte dans Lonocarpus cyanescens (Schum et thonn) Benth (Cesalpiniacée) par Olivier, a été décélée dans la plante (Kerharo, 1974).

Dans les écorces et les feuilles ont été trouvés un saponoside et du tanin.

L'arbuste fournit une gomme de qualité inférieure contenant 10 % de tragacanthé et 90 % d'une gomme de type arabe soluble dans l'eau (Watt citant Howes et Greenway dans Kerharo, 1974).

A partir de cette gomme, une étude faite sur la composition en acides aminés a permis d'observer une quantité assez élevée d'hydroscypoline (Anderson et al, 1986).

Les proportions en résidus pour mille résidus sont indiquées dans le tableau n°1.

Acides aminés	% en résidus pour mille des acides aminés dans la gomme de <i>E. africana</i>
Alanine	67
Arginine	4
Acide aspartique	77
Cystine	1
Acide glutamique	48
Glycine	31
Histidine	25
Hydroxyproline	330
Isoleucine	17
Leucine	48
Lysine	24
Méthionine	0
Phénylalanine	26
Proline	62
Serine	117
Tréonine	66
Tyrosine	25
Valine	32

Tableau n°1. Proportion en résidus pour mille dans la gomme de *Entada africana*.

Le pourcentage d'azote contenu dans la gomme dans les mêmes proportions est de 1.59 pour mille.

4.2. Pharmacologie.

L'effet antiviral d'*Entada africana* sur la multiplication du virus de l'hépatite A (V.H.A) in vitro a été testé par la division Médecine Traditionnelle.

L'examen a porté sur la poudre des racines.

Les résultats montrent que Entada africana n'est pas cytotoxique de façon significative quelles que soient les concentrations testées. Elle inhibe significativement la multiplication du VHA à partir de 125 $\mu\text{g/ml}$. Sa DE 50 est de 113.7 $\mu\text{g/ml}$.

La plante est ichtyotoxique. Un digesté de feuilles au millième (1/1000è) est capable de tuer le cyprin doré en douze heures (Gaudin et vacherat dans Kerharo, 1974). Cependant, même à la dose de 5 g par kilogramme d'animal, la plante n'était pas toxique pour le cobaye (kerharo, 1974).

Le saponoside que contient la plante aurait aussi des propriétés abortives.

V. UTILISATION EN MEDECINE TRADITIONNELLE.

Entada africana (Guill et perr) jouit d'une bonne réputation dans toute la zone soudanienne, tant auprès des guérrisseurs, féticheurs que des marabouts car on révèle à son sujet des indicateurs variés (Kerharo, 1974).

Elle est utilisée comme contre poison à cause de ses propriétés émétiques (Kerharo, 1974).

La décoction de racines est utilisée comme stimulant et reconstituant.

Le macéré d'écorces qui passe pour abortive (Maydell, 1983) est utilisé contre la toux et les bronchites (Kerharo, 1974).

La plante a des propriétés anti-septique, cicatrisante, hémostatique, anti-blénoragique et est aussi utilisée contre le rachitisme et la diarrhée des enfants. Elle est utilisée dans le traitement des ictères et des convulsions hyperpyrétiques de l'enfant par des bains de décocté aqueux des feuilles associées à celles de parkia biglobosa et Anona senegalensis, ou bien par des fumigations avec la poudre d'écorce et des racines (ACCT Togo, 1986).

Chez les Niominka des îles au Sénégal, la plante est considérée comme un arbre sacré dont l'usage est réservé aux traitements prescrits par les marabouts. On estime souvent qu'elle sert plus de substratum aux prières et incantations que de drogue thérapeutique proprement dite.

Le décocté de feuilles associées à celles de Argemone mexicana est utilisé par voie orale dans le traitement des dystopies, des asthénies et des hématoméses. Le décocté des racines associées à d'autres plantes est utilisé en application locale et per-os dans le traitement des morsures de serpents, des dermatoses de l'agalacties et de l'amenorrhée (ACCT Bénin, 1989).

Elle est enfin utilisée dans les gastralgies, les hépatites et comme antidote de l'empoisonnement par l'endrine (ACCT Mali, 1985).

A côté de Entada africana (Guill et Perr), nous avons :

- Entada gigas (Fawcett et Rendle) dont le décocté de tige est utilisé per-os pour soigner le diabète et les dyspnées (A.C.C.T. Congo, 1980).

- Entada abyssinica (Stend). La poudre d'écorces de racines associées aux racines de Aloe buetteri et du fruit de Xylopiya aethiopia est utilisée en sauce

ou avec une boisson alcoolisée pour traiter la fièvre, l'asthénie et le paludisme (A.C.C.T. Togo, 1986). Elle a aussi des propriétés émétiques et purgatives (Jansen et Mendes, 1983).

Affections	Organes utilisés	Forme pharmaceutique	Référence
Asthénie physique	racines	décocté	Kerharo, 1974
Avortement	écorces	macéré	Maydell, 1983
Toux et Bronchites	écorces	macéré	Kerharo, 1974
Antiseptique et cicatrisante	écorces	macéré	Kerharo, 1974
Hémostatique	écorces	décocté	Kerharo, 1974
Anti-blénnorragique	écorces	décocté	Kerharo, 1974
Rachitisme et Diarrhée enfant	écorces et feuilles	macéré	ACCT Mali, 1985
Ictères et convulsions hyperpyrétiques de l'enfant	poudre de racine et écorces ou feuilles de <i>P.biglobosa</i> <i>A.senegalensis</i>	fumigation ou décocté de feuilles	ACCT Togo, 1986
Dystocies et hématomésés	feuilles et feuilles d' <i>A mexicana</i>	décocté	ACCT Benin, 1989
Morsure de serpent	racines et autres plantes	décocté	ACCT Benin, 1989
Dermatoses, Agalactées et Amenorrhée	racines et autres plantes	décocté	ACCT Benin, 1989
Gastralgie et Antidote de l'empoisonnement par l'en-chine	plante	décocté	ACCT Mali, 1985
Hépatite	racines	décocté	enquête personnelle et ACCT Mali, 1985

Tableau n°2 : Différentes utilisations de *Entada africana* en Médecine Traditionnelle.

VI. ETUDES PHYTOCHIMIQUES.

6.1. Etudes chimiques préliminaires.

6.1.1. Essais préliminaires

Les essais préliminaires sont réalisés au moyen de réactions en tube. Elles ont permis de décéler un certain nombre de substances. Les résultats, qui ont guidé la suite de nos travaux vers la recherche d'alcaloïdes, sont mentionnés dans le tableau n°3.

Recherches	Résultats
Hétérosides cyanogénétiques	absence
Coumarines	+ +
Caroténoïdes	+ +
Antracénosides : libre combiné	absence absence
Flavonoïdes : génines hétérosides	absence absence
Alcaloïdes	+ +
Saponosides	+ + +
Tanins : catéchiques galliques	+ + + + + +
Stérols et Terpènes	+ +
Polyuronides (mucilage)	+ + +
Leucoanthocyanes	+ +
Quinones	absence

Tableau n°3

Essais chimiques préliminaires sur la poudre de racines de Entada africana

6.1.2. dosages

Détermination des taux des constituants minéraux de la poudre de racines

Cette étude a porté, selon les techniques recommandées par la pharmacopée française sur la poudre de racines :

- La détermination du pourcentage de l'eau

- La détermination du pourcentage de cendres totales

- la détermination du taux des cendres insolubles dans l'acide sulfurique

- la détermination du taux de cendres insolubles dans l'acide chloridrique

- La détermination du pourcentage d'eau par entraînement azéotropique.

Les résultats sont consignés dans le tableau n°4.

Recherches	résultats
% eau	4.69
% cendres totales	6.19
% eau par entrainement azéotropique	4.00
% cendres chlorhydriques HCl 10%	3.43
% cendres sulfuriques H ₂ SO ₄ 1/2	5.72
% alcaloïdes	0.12

Tableau n°4. Taux des constituants minéraux de la racine.

6.2. Techniques générales d'étude.

6.2.1. Matériel végétal

Les racines de Entada africa sur lesquelles nous avons travaillé ont été collectées à la forêt classée de la Faya.

Un échantillon d'herbier est déposé à la Division Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP).

6.2.2. Broyage

Les racines ont été concassées jusqu'à l'état fibreux à l'aide d'un système de pillonage traditionnel.

6.2.3. Pulvérisation

La pulvérisation est effectuée dans un broyeur à percussion de type FORPLEX muni d'un tamis de module 0.315.

6.2.4. Extraction

Nous avons utilisé successivement des solvants de polarité croissante pour épuiser la drogue pulvérisée:

- L'éther de pétrole qui dissout les huiles essentielles, les cires, les lipides, les stérols, les terpènes et les alcaloïdes en partie;
- Le méthanol qui solubilise la plus grande partie des composés polaires;
- L'eau pour solubiliser les composés les plus polaires.

Cette extraction est résumée par le schéma n°1.

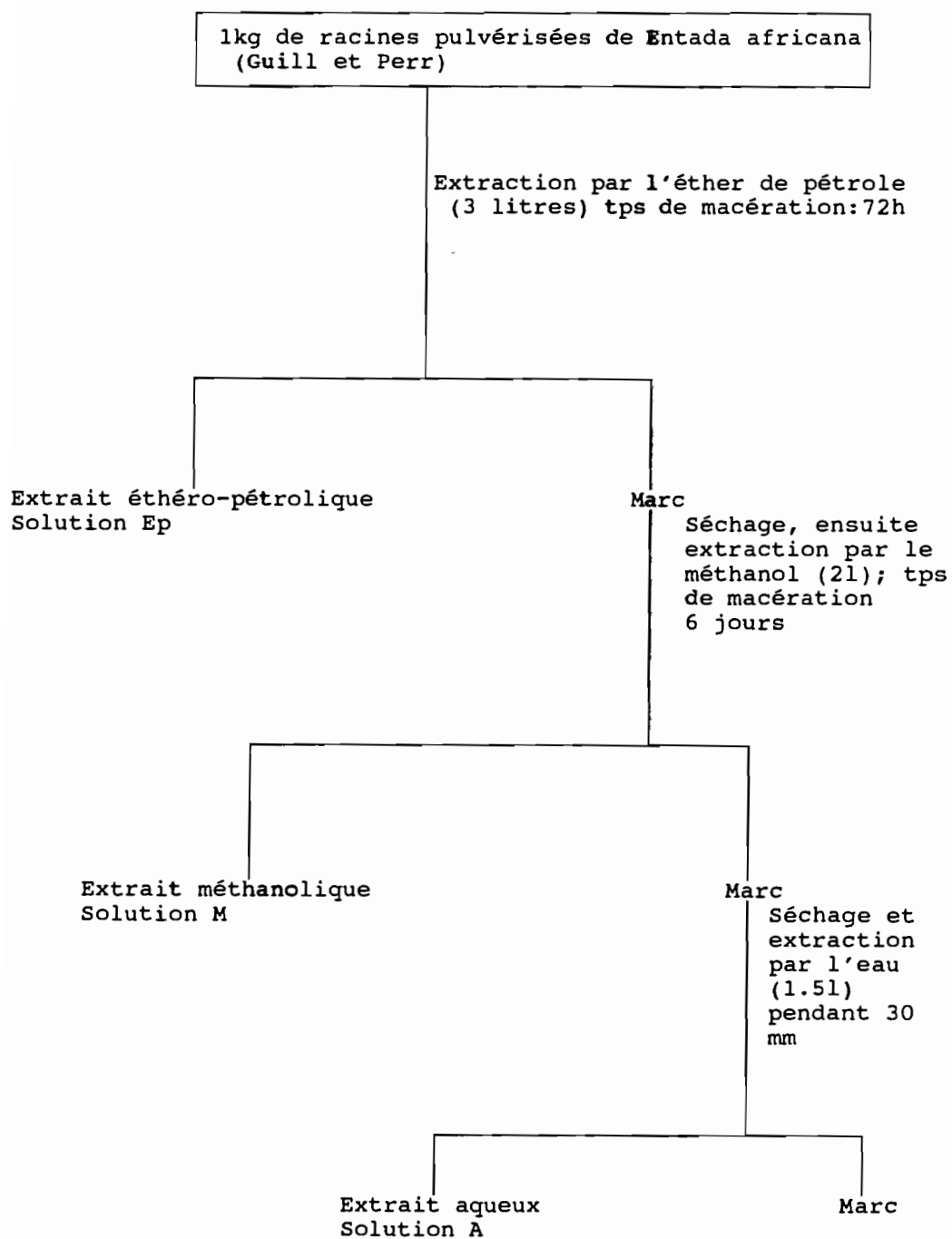


Schéma n°1 : Extraction par macération à froid de la poudre de racines de Entada africana.

6.2.4.1. Filtration des solutions

La filtration des solutions décantées a été faite sur papier filtre. Il arrive de faire une filtration à double niveau, la première se faisant généralement sur du coton et la deuxième sur papier filtre.

6.2.4.2. Concentration des extraits

La concentration des différentes solutions extractives a été effectuée par évaporation, sous pression réduite, sous vide et à température inférieure à 50°C.

6.2.5. Fragmentation et séparation :

Extraction liquide liquide

Nous avons utilisé cette méthode pour l'extraction des alcaloïdes. Sa mise en oeuvre met à profit les caractères particuliers de solubilité des alcaloïdes en milieu organique et en milieu aqueux. La solution extractive organique a été agitée plusieurs fois avec des solutions aqueuses acides. Ces dernières entraînent les alcaloïdes sous forme de sels solubles. L'alcanisation de ces solutions conduit

à la précipitation d'alcaloïdes bases qui sont solubles dans les solvants organiques. Cette méthode permet d'éliminer diverses impuretés, mais présente l'inconvénient d'un traitement avec les acides.

6.2.6. Purifications

6.2.6.1. Chromatographie sur colonne de Silice G (Merck. 70 à 230 mesh ASTM).

Montage de la colonne :

La colonne a été d'abord fixée sur une portion adaptée.

Après introduction d'un morceau de coton et fermeture du robinet, elle est remplie de l'éluant (acétate d'éthyle) jusqu'à niveau adéquat. Le support est ajouté en pluie. La suspension est agitée de temps en temps afin d'évacuer les bulles d'air. Ensuite le montage est abandonné en repos en prenant soin de fermer l'ouverture inférieure pour que le support se tasse convenablement. Le solvant est alors soutiré jusqu'à ce que sa hauteur soit ramenée à environ trois centimètres au dessus du gel de silice. La substance à chromatographier est dissous dans un solvant organique et la solution est versée dans un mortier contenant un minimum de support (gel de silice). Le mélange est séché et homogénéisé. Il est ensuite déposé sur le support en petites portions. Après, il est recouvert d'une couche d'environ deux centimètres de support, puis de

coton. L'allonge de la colonne est alors remplie avec le solvant d'élution.

Le débit est réglé et les éluats sont recueillis dans de petits flacons (fig. n°3).

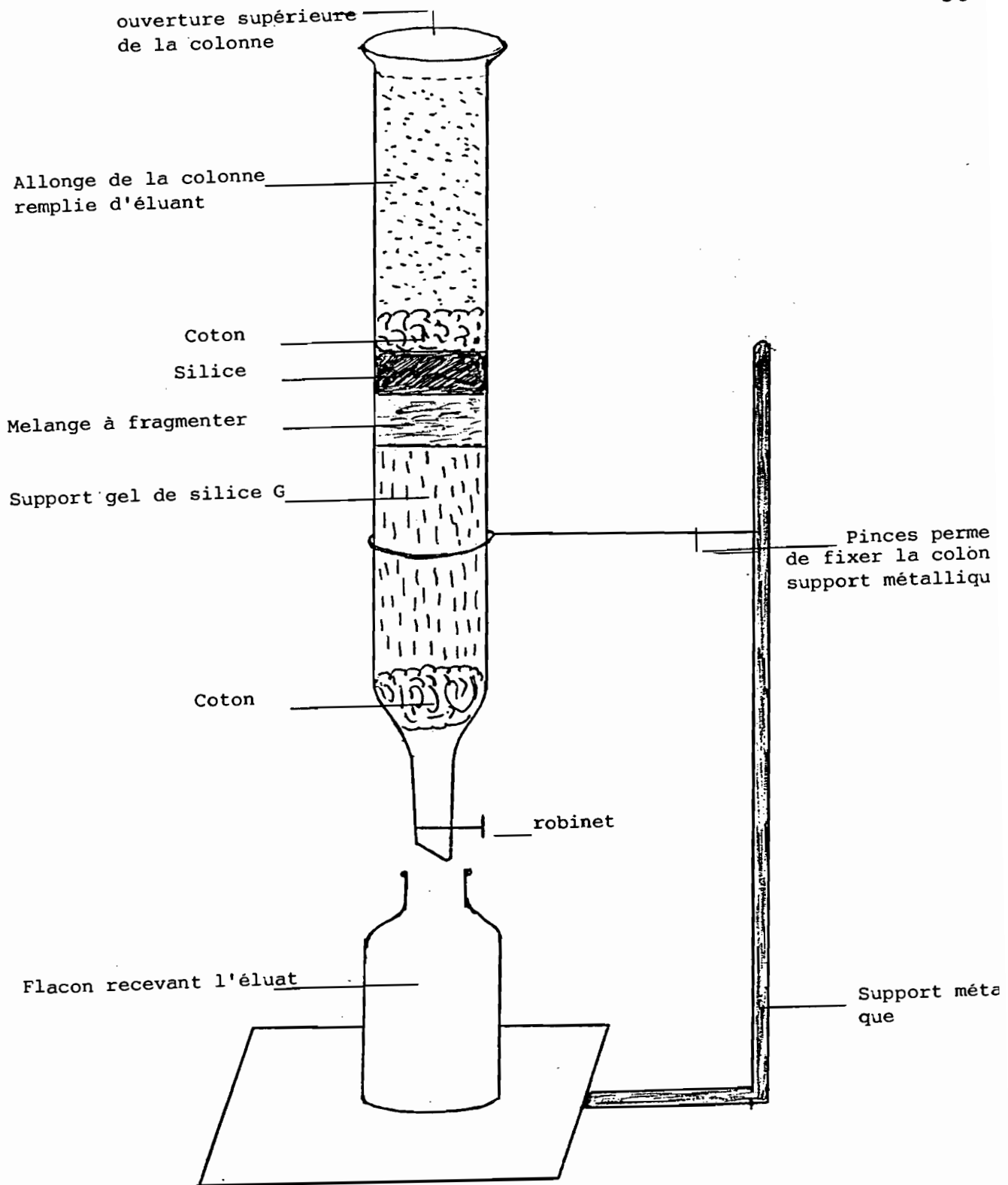


Fig. n°3. Montage de la colonne

6.2.6.2. Chromatographie sur couche mince (C.C.M)

C'est une chromatographie analytique que nous avons utilisée en technique unidimensionnelle pour suivre les étapes des extractions, des fractionnements et des purifications.

Cette méthode est rapide, sensible et facile à mettre en oeuvre.

6.2.6.2.1. Pour les extraits Ep, M et A :

A. Supports :

Plaques de silice commerciales (Merck, épaisseur = 0.2 mm)

Plaques préparées au laboratoire avec du gel de Silice G (Merc, ref = 70 à 230 mesh ASTM) et de l'eau distillée. L'épaisseur des couches est de 0.25 mm. Ces plaques sont activées après sechage par chauffage à l'étuve.

B. Solvants de migration :

Hexane

Hexane/Méthanol (proportions variables)

Méthanol

Butanol.....4

B.A.W Acide acétique.....1 phase supérieure

Eau.....5

C. Révélateurs :

- Réactif citrobonique.

Formule : acide borique.....5g

acide citrique.....5g

méthanol q.s.....100ml

Après pulvérisation avec ce réactif, la plaque est chauffée pendant cinq minutes à 100° c.

- Réactif à la vanilline sulfurique

vanilline.....100mg

acide acétique 96 %1ml

acide sulfurique conc. 97 %5ml

éthanol q.s.p.....100ml

Après pulvérisation du réactif, la plaque est chauffée à l'étuve 4 minutes.

- Réactif à la ninhydrine

ninhydrine.....100 à 300mg

acide acétique.....10ml

butanol 1 q.s.p.....100ml

Après pulvérisation de ce réactif, la plaque est chauffée pendant 20 à 30 mn à 100 °c et observée ensuite à l'U.V.

6.2.6.2.2. Pour l'étude des alcaloïdes.

A. Supports.

Ce sont les mêmes décrits au chapitre 6.2.6.2.1.

B. Solvants:

chloroforme.

éther éthylique.

chlorophorme/méthanol.

chlorophorme/méthanol/eau.

cyclohexane/diéthyl-amine.

C. Révélateurs.

La révélation des alcaloïdes a été effectuée en grande partie avec le réactif à l'iodo-bismuthate de potassium (réactif de Dragendorff modifié par Munier, pour la chromatographie). Le réactif de Meyer et celui de Bouchardat ont été quelque fois utilisés.

- Réactif de Dragendorff :

solution mère50ml

acide tartrique100g

eau distillée500ml

La solution mère est obtenue en mélangeant à volume égal les deux solutions A et B.

Solution A :

sous nitrate de Bismuth2.125g

acide tartrique.....25g

eau distillée.....100ml

Solution B :

iodure de potassium.....20g

eau distillée.....50ml

6.2.6.3. Chromatographie préparative (C.P)

Elle a été utilisée pour obtenir des préparations plus sélectives et une purification des produits.

A. Supports : silice G.

B. Solvants : ce sont ceux utilisés en C.C.M. décrits au chapitre 6.2.6.2.2

6.2.7. Procédés d'identification.

Nous ne disposons à la Division Médecine Traditionnelle, d'aucun moyen pour l'identification exacte des produits isolés. Ce qui nous a amené à avoir recourt à des laboratoires étrangers.

Les premières études d'identification faites concernent :

- La spectrométrie dans l'infrarouge,
- La spectrométrie de masse.

6.3 Etudes des Extraits Ep, M et A.

Les extraits Ep, M et A (cf. Chapitre 6.2.4), ont été analysés en C.C.M avec comme support la Silice G et comme solvant de migration ceux indiqués au chapitre 6.2.6.2.1.

Après migration et séchage, les plaques ont été observées sous une lampe U.V. Les caractéristiques à l'observation ultra-violette selon l'extrait et le type de

solvant sont résumés dans les tableaux n°5 et n°6.

Solvants Extraits	Hexane	Hexane-MeOH 10-15/V-V	B-A-W 4-1-5/V-V	Methanol
Ep	deux produits sombres à 366 nanomètres	plusieurs produits avec différentes colorations	plusieurs produits avec différentes colorations	trainée sombre
M	ne migre pas	plusieurs produits avec différentes colorations	plusieurs produits avec différentes colorations	trainée sombre
A	ne migre pas	ne migre pas	plusieurs produits avec différentes colorations	trainée sombre

Tableau n°5. Comportement chromatographique des constituants des extraits Ep, M et A.

Révélation :

Les extraits Ep et M ont réagi à la vanilline sulfurique pour donner des composés de coloration bleu-encre dans le visible.

Parmi les constituants des extraits qui ont migré dans le mélange solvant Hexane/Méthanol, ceux ayant une fluorescence rouge à 366 nm et qui sont sombres à 254 nm ont la réaction des alcaloïdes.

La révélation au réactif citro-borique montre qu'il n'y a pratiquement pas de flavonoïdes.

La révélation à la ninhydrine est positive. Elle oriente vers une présence d'alcaloïdes ou d'amino-acides.

En conclusion de cette première partie de notre travail, nous trouvons très intéressante l'étude des constituants de *Entada africana* (Guill et Perr).

Mais limités par les moyens et par le temps, nous nous sommes proposés de poursuivre seulement l'étude des alcaloïdes de la plante.

Solvants	Hexane-Méthanol:15-10/V-V			B.A.W. 4-1-5/V-V		
Extraits	U.V. 254 nm	U.V. 366 nm	vanil- line sulfu	U.V. 250 nm	U.V. 366 nm	citro- bori- que
Ep	onze (11) spots sombres	les spots 1,2,3,5,6, 7 sont rouges. Le 4 est bleu Le 8 est bleu-clair Les 9,10, 11 sont jaunes. Les Rf sont : 0.18;0.28; 0.34;0.42; 0.54;0.60; 0.66;0.78; 0.82;0.90; 0.94.	tous les spots sont bleu- encres dans le visi- ble.	traî- née sombre	trainée jaune, trois spots rouges au front de Rf 0.72;0.87 et 0.93	
M		les spots 1,2,3,4,5, sont rou- ges. Le 6 est bleu (et au même nive- au que le 8 de Ep). Les 7 et 8 sont jau- nes. Les Rf sont : 0.18;0.24 0.40;0.44 0.54;0.76 0.80;0.94.	les spots devi- ènnent bleu- encres dans le visi- ble.	traî- née sombre	trainée jaune. Un spot jaune- clair de Rf=0.72. Deux spots rouges de Rf=0.83 et 0.91.	
A	ne migre pas			traî- née sombre	un spot bleu de Rf=0.37 une trainée sombre au front du solvant. Un spot jaune de Rf=0.95	

Tableau n°6.

Chromatographie sur couche mince des constituants des extraits Ep, M et A.

6.4. Etudes des alcaloïdes.

6.4.1. Généralités.

Les alcaloïdes constituent, avec les hétérosides, la majorité des principes actifs des plantes médicinales. Leur extrême importance tient d'une part à leur activité et d'autre part à leur toxicité.

Le nombre de produits décrits, leur diversité structurale, l'éventail de leurs activités pharmacologiques font des alcaloïdes, l'un des groupes les plus importants (avec celui des antibiotiques) de substances naturelles d'intérêt thérapeutique (Bruneton, 1987).

6.4.2. Définition

Le terme d'alcaloïde (de "al kaly" = soude ; alcaloïde = qui a l'apparence d'une base), introduit par Meisner, date de 1818 et se réfère explicitement aux propriétés basiques de ces composés qui furent d'ailleurs nommés au début du XIX^{ème} siècle, les alcalis végétaux.

En réalité, il n'existe pas de définition simple des alcaloïdes et il est pour le moins difficile de prendre en compte les différences de structures et de propriétés des quelques 6000 composés décrits dans ce groupe. En particulier, la frontière qui sépare les alcaloïdes des autres composés organiques azotés naturels n'est pas aisée à définir (Bruneton, 1987).

Toutefois, il a été donné à ces composés une approche de définition :

Ce sont des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale, azotées, basiques, donnant des réactions de précipitation avec certains réactifs (appelés "réactifs généraux des alcaloïdes") et douées, à faible dose, de propriétés physiologiques marquées.

Sur le plan chimique, ils constituent un groupe très hétérogène, possédant cependant quelques propriétés physico-chimiques communes. Ils portent tous la terminaison "ine" (Paris et al, 1981).

6.4.3. Extraction.

Elle est basée sur la différence de solubilité des alcaloïdes en milieu acide et en milieu alcalin pour pouvoir les séparer des autres constituants du végétal.

Il existe deux types d'extraction des alcaloïdes essentiellement:

- Extraction par les solvants organiques non polaires,
- Extraction par l'eau acide.

Pour notre extraction, nous avons utilisé celle par les solvants non polaires.

C'est la méthode la plus importante dite méthode de Stas-Otto.

Elle comprend plusieurs étapes :

- Déplacement des alcaloïdes de leurs combinaison et extraction:

La poudre séchée et pulvérisée est traitée par un alcali (solution d'ammoniaque).

les alcaloïdes libérés sont ensuite extraits par un solvant organique non polaire (l'éther éthylique).

L'épuisement par l'éther peut se faire par trois procédés différents : macération, percolation et extraction continue au Soxhlet.

On obtient un marc (poudre épuisée) et une solution organique contenant les alcaloïdes à l'état de bases.

- Purification :

Elle consiste en l'épuisement de la phase étherée par une solution aqueuse acide. Les alcaloïdes passent alors de l'état basique à l'état de sels, solubles dans l'eau. La phase étherée contenant les impurétés est jetée. On revient en milieu basique par alcalinisation franche à l'ammoniaque concentrée, et on extrait les alcaloïdes bases par un solvant organique non mixible à l'eau (éther éthylique).

Cette nouvelle phase organique, évaporée, laisse alors à l'état de bases, les alcaloïdes totaux dans le résidu d'évaporation.

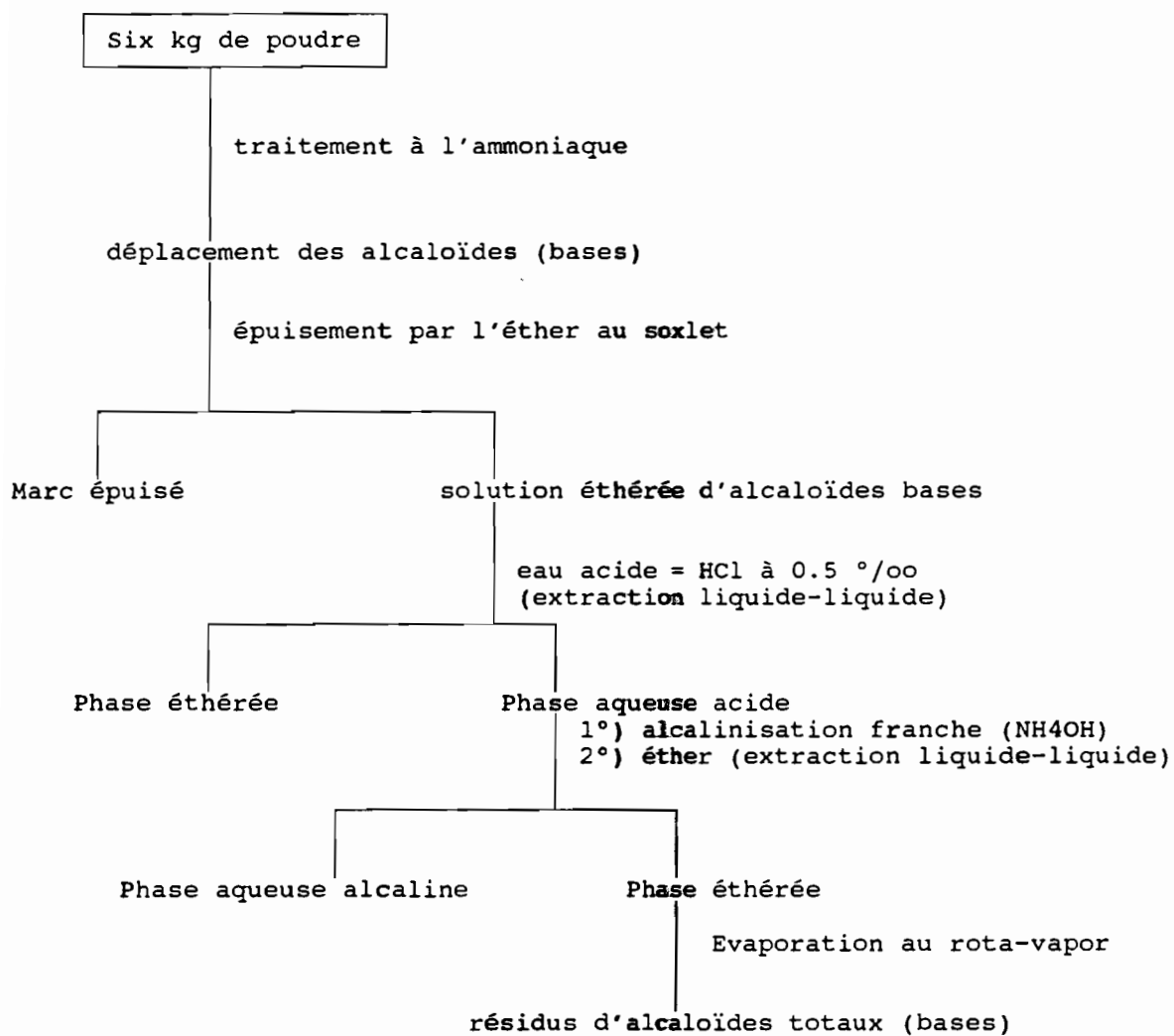


Schéma n°2. Extraction des alcaloïdes de la poudre de racines de Entada africana.

Sur le résidu d'évaporation, nous avons effectué un contrôle chromatographique par c.c.m sur gel de silice. après la migration dans le mélange solvant chloroforme (65 ml)-Méthanol (25 ml)-Eau (5 ml), la plaque séchée a été pulvérisée par le réactif de Dragendorff.

Il apparait plusieurs composés Dragendorff positifs.

6.4.4. Séparation.

Les composés ont été séparés par chromatographie sur colonne du totum alcaloïdique, réduit en poudre par trituration avec de la silice G.

Le solvant d'éluion est constitué par le mélange solvant cyclohexane-diéthylamine 90-10/V-V puis l'éthanol.

Il y a eu une séparation assez nette de différents niveaux sur la colonne, aussi bien à l'oeil nu qu'à l'U.V (254 et 366 nm).

Le robinet de la colonne étant ouvert, le débit a été réglé et nous avons commencé à recueillir de petites portions dans de petits flacons très propres.

Au fur et à mesure que nous récupérons les fractions, nous les numérotions et nous procédons à leur chromatographie sur couches minces.

Les fractions ayant une ressemblance par identité chromatographique ont été réunies.

Dans le tableau n°7, sont mentionnées les différentes fractions avec leurs solvants d'élution sur la colonne et leurs solvants de migration pour la C.C.M.

Fractions	Solvants d'élution (colonne)	Solvants de migration (C.C.M)
n°1		
n°2		
n°3		
n°4		
n°5		
n°6		
n°7		
n°8 au n°15		
n°16 au n°19	Cyclohexane.....90 Diéthylamine.....10	Cyclohexane.....80 Diéthylamine.....20
n°23 au n°33		
n°37 au n°40		
n°41 au n°50		
n°51 au n°61		
n°62 au n°70		
n°71 au n°95		
n°97 au n°120		
n°121-n°157		
n°162-n°194		
n°195-n°231		
n°274-n°275		
n°276		
n°277	Ethanol	B.A.W.
n°278		
n°279-n°282		

Tableau n°7. Fractions collectées et solvants d'élution (C.C.) et de migration (C.C.M.).

Après les différentes chromatographies (Fig. n°4, n°5, n°6, n°7), nous avons observé que :

- Quelques fractions n'étaient pas alcaloïdiques, n'ayant pas réagi avec le réactif du Dragendorff. C'est le cas de la fraction 1 et des fractions 51 à 61.

- Toutes les autres fractions, réagissant positivement avec le dit réactif, sont des alcaloïdes. A ce niveau, nous distinguons:

+ des fractions qui, après migration, donnent aussi bien à l'oeil nu qu'à l'U.V, un seul spot chacune. Elles sont considérées comme plus ou moins propres.

+ Des fractions, qui après migration donnent plusieurs plusieurs spots ou même des trainées.

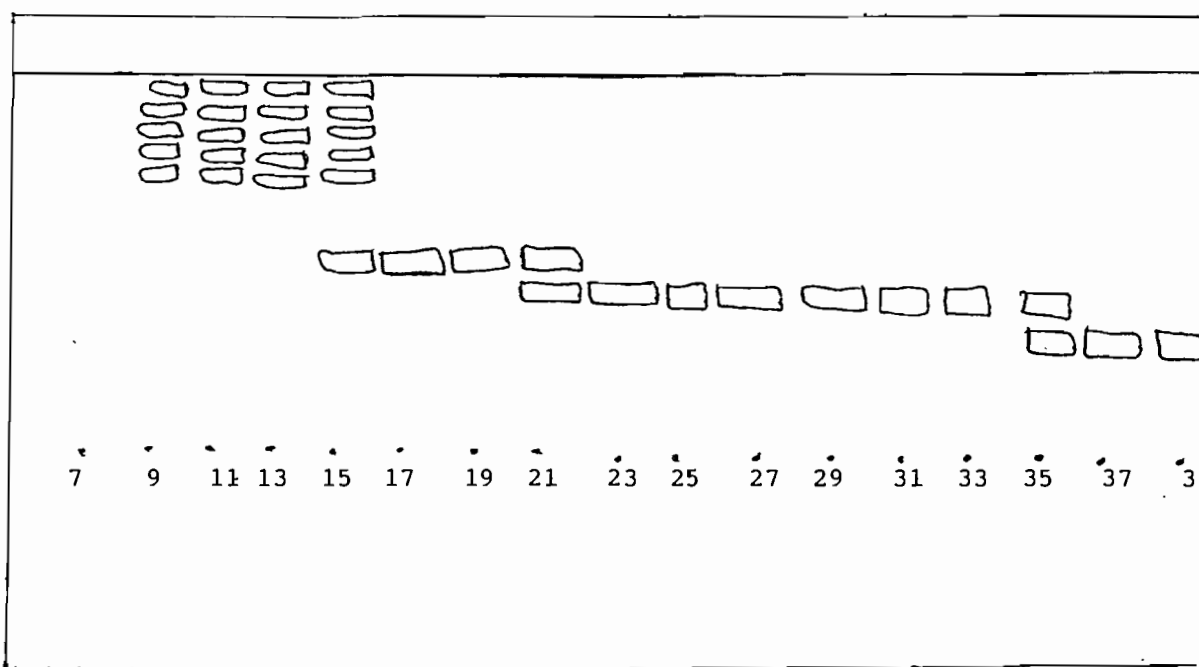


Fig.N° 4: Chromatographie des fractions N° 7 au N° 39, sur couche mince

Support = plaque de silice G

Solvant de migration = Cyclohexane - Diéthyl-amine (80/20-V/V)

Révélateur = Réactif de Dragendorff

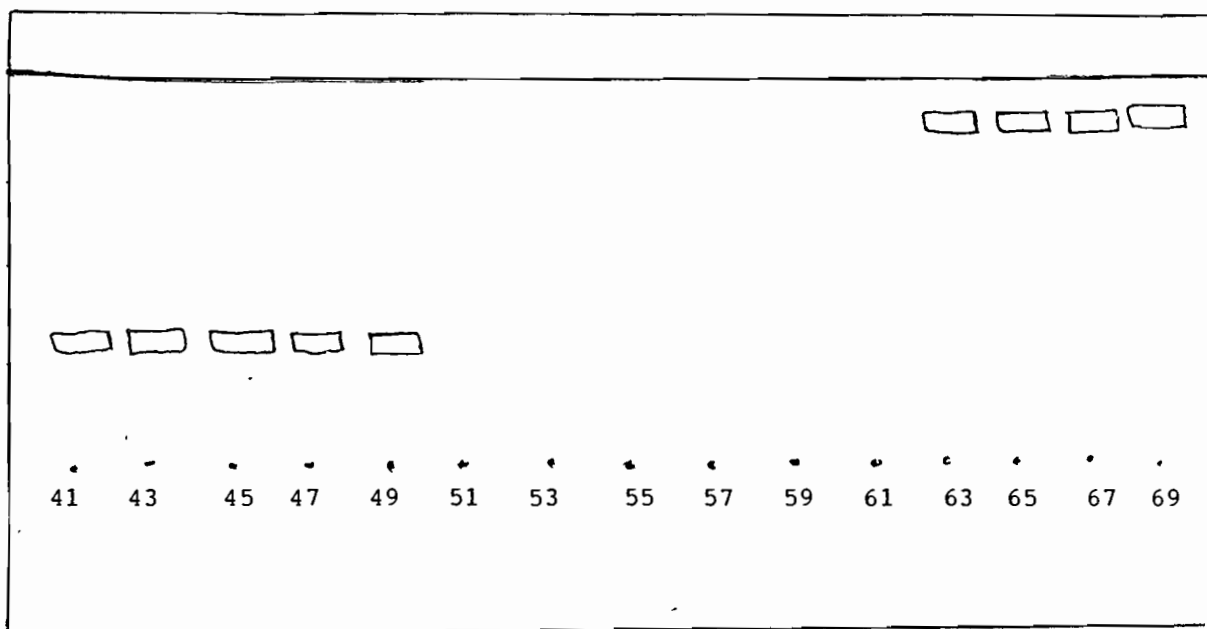


Fig. N° 5: Chromatographie des fractions N° 41 au N° 69, sur couche mince

Support = plaque de silice G

Solvant de migration = Cyclohexane-Diéthyl-Amine (80/20-V/V)

Revelateur = réactif de Dragendorff.

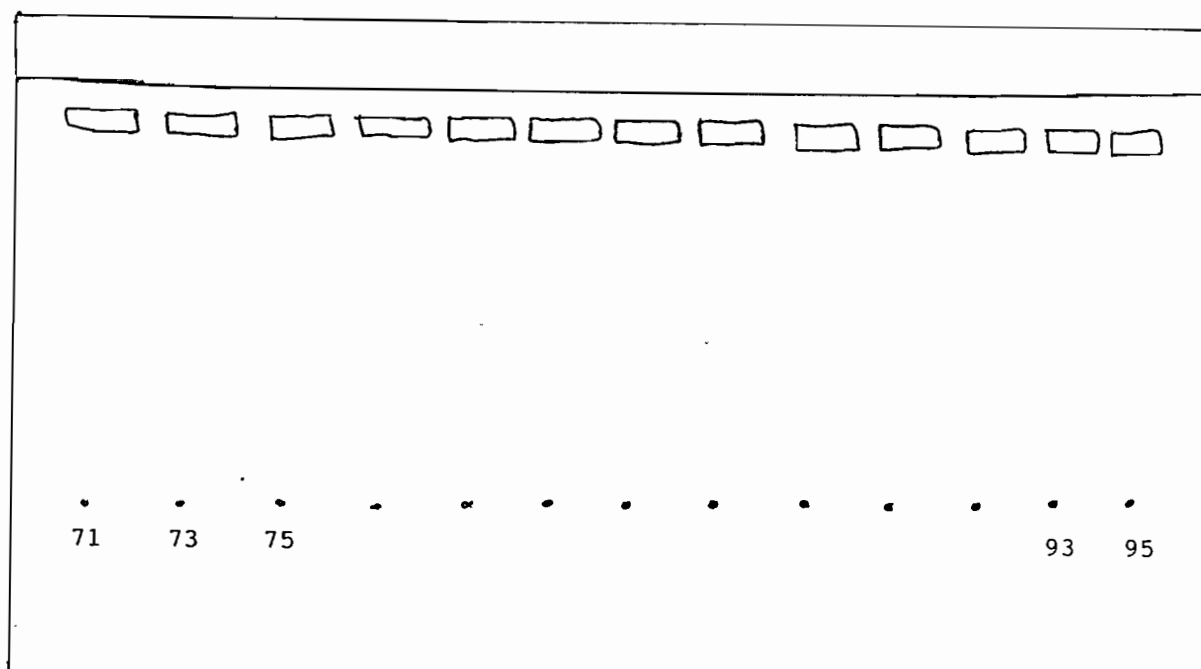
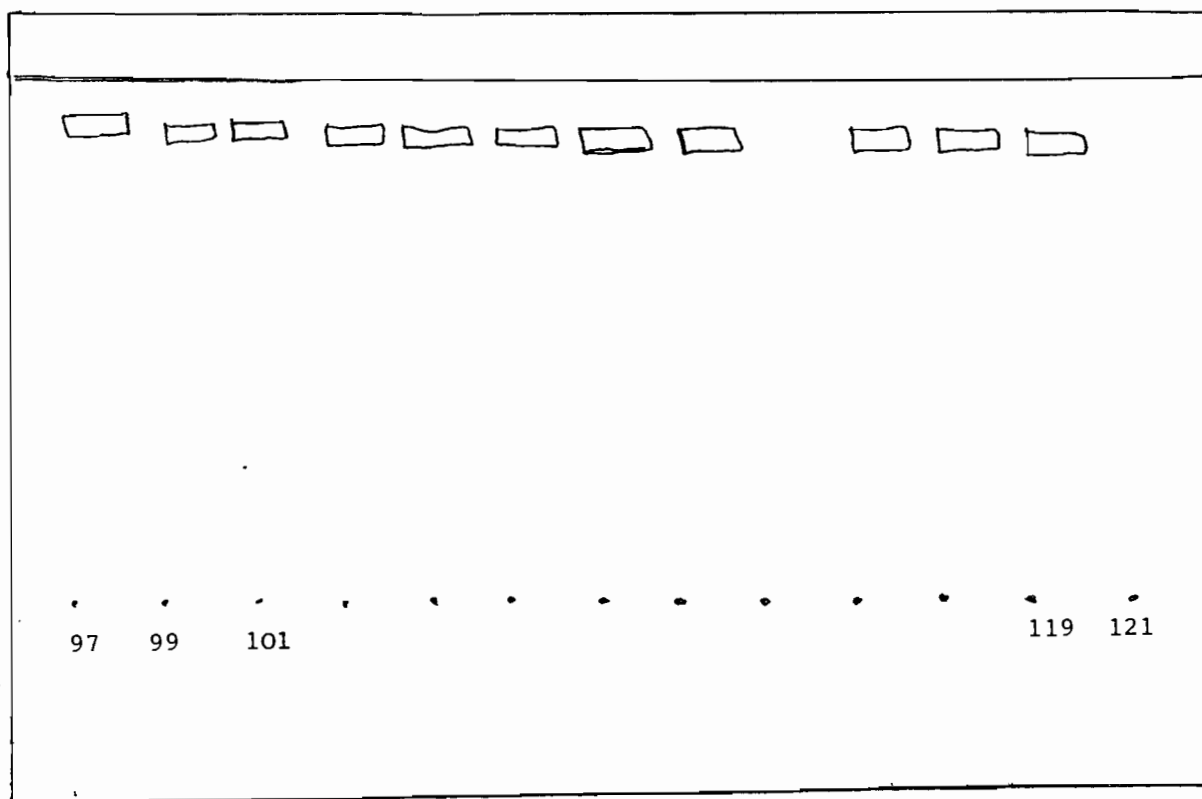


Fig . N° 6: Chromatographie des fractions N° 71 au N° 95 sur couche mince

Support = plaque silice G

Solvant de migration = cyclohexane - Diéthyl - amine (80/20-V/V)

Revelateur = Réactif de Dragendorff



Fig; n° 7: Chromatographie des fractions N° 97 au N° 121 sur couche mince

Support = plaque de silice G

Solvant de migration = Cyclohexane-Diéthyl-amine (80/20-V/V)

Revelateur = Réactif de Dragendorff

Les moyens nous manquant, nous ne pouvons pas étudier tous ces alcaloïdes. Nous nous sommes proposés d'étudier seulement les fractions qui nous paraissent propres.

C'est ainsi que nous avons choisi les fractions n°17 au n°19, n°23 au n°33, n°37 au n°39, n°41 au n°49, n°63 au n°69, n°71 au n°95, n°97 au n°121.

Chacune de ces fractions ne comptent qu'un seul constituant. Les Rf sont respectivement : 0.5, 0.43, 0.32, 0.32, 0.88, 0.89, 0.88, dans le mélange solvant : Cyclohexane-diéthylamine (80/20. V/V).

6.4.5. Purification des alcaloïdes

Considérant que les quantités des alcaloïdes séparées pourrait être petites, nous avons procédé à une nouvelle extraction, afin d'avoir des quantités beaucoup plus représentatives.

Sur une petite portion du totum alcaloïdique issu de cette extraction, nous avons réalisé une chromatographie préparative (C.P).

Des plaques préparées au laboratoire de la Division Médecine Traditionnelle, aussi bien que des plaques commerciales ont été utilisées.

Plusieurs dépôts ont été effectués sur plusieurs plaques.

Le solvant de migration est constitué par le mélange solvant Cyclohexane-diéthylamine 80-20 (volume pour volume).

Après la migration, il y a eu plusieurs produits se succédant. Ceux dont les R_f coïncident avec ceux des fractions que nous nous sommes proposés d'étudier, ont été grattés séparément. Nous les avons éluées par l'éther éthylique. Ensuite, nous avons procédé à une vérification des différentes fractions et avons trouvé qu'elles concordaient bien avec les premières.

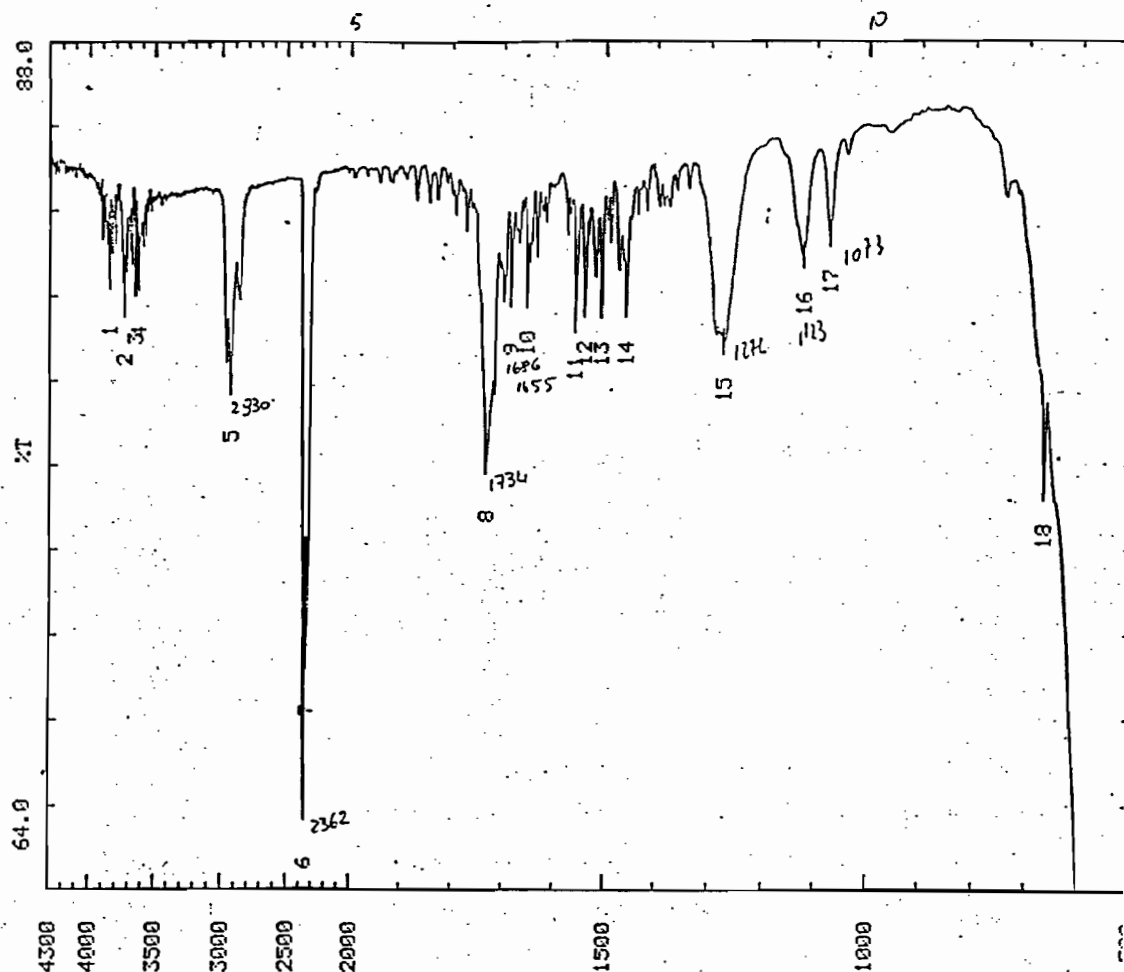
Ne disposant pas de moyens appropriés pour étudier les différentes fractions séparées et le totum alcooloïde, voire faire leurs analyses structurales, nous les avons envoyés en France et en Italie.

6.4.6. Identification.

Les identifications sont en cours à Toulouse (Laboratoire de pharmacognosie) et à Milan (Laboratoire de Substances Naturelles). Les quantités faibles des

produits de même que les dégradations observées dans le mélange solvant Cyclohexane-diéthyl-amine ont poussé ces laboratoires à reprendre l'extraction à partir de poudre de racine. Cependant, un des composés est fixé par son spectre dans l'infrarouge et son spectre de masse.

Il s'agit du composé présent dans les fractions 23 à 33. Nous présentons ici ces spectres.



peak table

UPPER : 88.0		Lower : 64.0		Depth : 2.0				
No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T
1	3954.0	81.4	2	3736.0	80.5	3	3652.0	81.1
4	3630.0	81.3	5	2930.0	78.4	6	2362.0	65.3
7	2344.0	70.6	8	1734.0	76.1	9	1686.0	80.8
10	1655.0	80.8	11	1560.0	80.1	12	1543.0	80.5
13	1500.0	80.5	14	1453.0	80.5	15	1274.0	79.5
16	1123.0	81.9	17	1073.0	82.5	18	669.0	75.4

Jasco FT/IR-5000

Fig..N° 8: Spectre Infrarouge de l'alkaloïde 23-33.

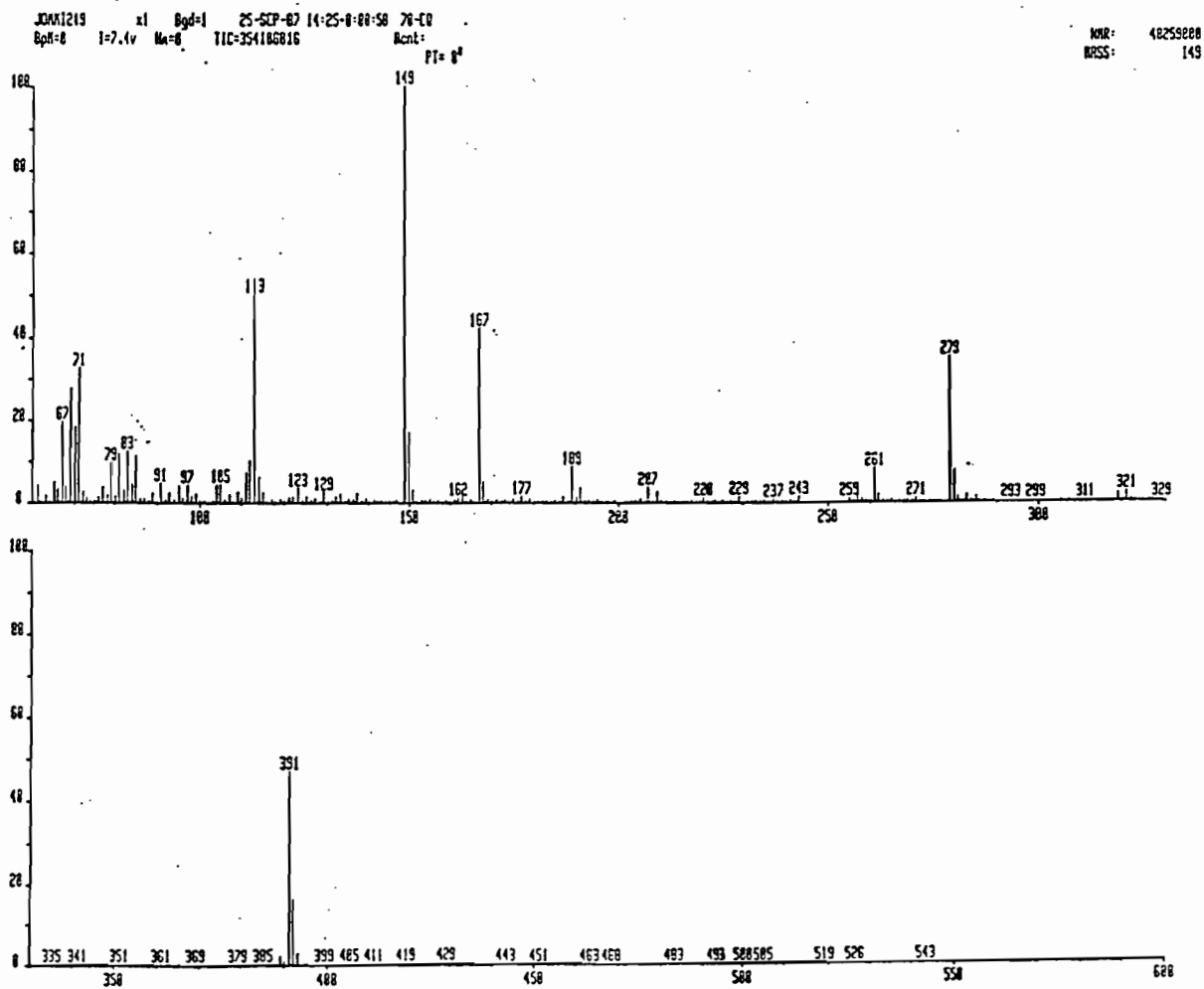


Fig. N° 9: Spectre de masse (I E) de l'alkaloïde 23-33

VII. CONCLUSIONS

L'étude que nous avons faite sur Entada africana (Guill et Perr) a porté sur la phytochimie et l'observation microscopique de la poudre de racines; l'étude systématique et botanique étant un rappel bibliographique.

Les essais chimiques préliminaires que nous avons réalisés ont révélé la présence de tanin, saponosides, stérols et terpènes, alcaloïdes, coumarines, caroténoïdes, mucilages et leuco-anthocyanes.

L'étude phytochimique a surtout concerné les alcaloïdes. Leur extraction à partir de la poudre de racines a conduit, après séparation et purification, à l'isolement d'un alcaloïde présent dans les fractions 23 à 33.

Cet alcaloïde est caractérisé par son spectre dans l'infra-rouge et son spectre de masse.

Nous souhaitons que des études plus poussées soient entreprises, afin de déterminer la structure de cet alcaloïde.

Nous souhaitons également que soient isolés et purifiés les autres alcaloïdes et que l'étude des extraits Ep, M et A se poursuive.

La Division Médecine Traditionnelle dispose de compétences nécessaires pour faire progresser la recherche en médecine et pharmacopée traditionnelles. Pour réaliser ses nobles ambitions dans ce sens, elle doit disposer de moyens adéquats et beaucoup plus sophistiqués.

VIII. BIBLIOGRAPHIE

A.C.C.T, 1989. Médecine Traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Bénin.

A.C.C.T, 1988. Médecine traditionnelle traditionnelle et pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Congo.

A.C.C.T, 1985. Médecine traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali.

A.C.C.T, 1986. Médecine traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo.

Anderson D.M.W. ; Howlett J.E ; Mc NAB C.G.A, 1986. The hydroxyproline content of gum exudates from several plant genera. Phytochemistry, vol. 26 n°1, pp 309 - 311, Great Britain.

Aubreville A, 1950. Flore forestière Soudano-Guinéenne. A.O.F-Caméroun. A.E.F. Sté d'éd. Géographiques, Maritimes et Coloniales.

Barton S.D.FRS et Ollis W.D.FRS, 1986. *Advances in medicinal phytochemistry*. ed : John Libbey Euro-text LTD - France.

Berhaut J, 1975. *Flore illustrée du Sénégal*. Tome IV - Dakar-Sénégal.

Bezanger L ; Beauquesne ; Pinkas M ; Torck M, 1975. *Plantes dans la thérapeutique moderne*. Maloine S.A. Editeur

Bruneton.J, 1987. *Eléments de phytochimie et de pharmacognosie*. Technique et Documentation. Lavoisier. Paris.

Crété P, 1965. *Précis de Botanique ; Systématique des Angiospermes*. Tome II, Masson.

Fofana A, 1990. *Contribution à l'étude botanique et phytochimique d'une plante de la pharmacopée Malienne: le "bali-bali" ou cassia étalica (Mill) Lam ex F.W.Andr (Cesalpiniaceae)*. Thèse doctorat en Pharmacie. ENMP du Mali.

Gomes E.T, 1982. *Contribution à l'étude phytochimique de Vepris heterophylla R.Let (Rutaceae)*. Thèse pour le doctorat de troisième cycle es sciences pharmaceutiques. Université Paul Sabatier Toulouse.

Guisepe P, 1983. Index Plantarum medicinalium. Totius Mundi. Eorumque Synonymorum. O.E.M.F. Milano.

Hérail.J, 1927. Classification des drogues médicales : traité de matière médicale (pharmacographie) 3e ed., Pris, 1 vol.

Hutchinson.J, L.L.D, F.R.S, V.M.H.F.L.S, 1966. Flora of west tropical Africa. Seconded, voll, part 1.

Jansen P.C.R et Mendes O., 1983. Plantas medicinais. Seu uso tradicional Em Moçambique. Tome1.

Keita A, 1988. Constituants chimiques des inflorescences de *Cymbopogon giganteus*. Chiovenda (Poaceae). Thèse pour le doctorat de troisième cycle. Université Paul Sabatier Toulouse.

Keita A. et Coppo P, 1989. Médecine Traditionnelle : Acteurs, itinéraires thérapeutiques. Edizioni E. TRIESTE.

Kerharo J et Adam J, 1974. La pharmacopée Sénégalaise traditionnelle: plantes médicinales et toxiques. ED Vigot frères, 23, rue de l'école de Médecine-75000 Paris.

Letouzey R, 1970. Manuel de Botanique forestière, Afrique tropicale. Tome 2A

Mariko M.D, 1989. Etude de l'activité du "téréfon" : Ecorce du tronc de *Pteopsis suberosa* Engl. et Diel (Combretaceae) dans le traitement des ulcères gastro- duodénaux. Thèse de doctorat en Médecine. E.N.M.P. du Mali.

Maydell V.H.J., 1983. Schriftenreihe der GTZ n° 147. Arbres et arbustes du sahel, leurs caractéristiques et leurs utilisations. Exhborn.

O.M.S, 1978. Promotion et développement de la médecine traditionnelle. Série de rapports techniques 622. Genève.

O.M.S, 1990. Projet de loi cadre portant reconnaissance de l'exercice de la médecine traditionnelle Africaine. Brazzaville CLR/TRM.

Paris M. et Hurabielle M., 1981. Abrégé de Matière médicale. Pharmacognosie tome I, Masson.

Perrot Em, 1944. Matières premières naturelles du règne végétal. Thérapeutique-Hygiène-Industrie. Tome.1 édition Masson.

Reutter L., 1923. Traité de matière médicale et de chimie végétale. Paris.

Traoré D., 1983. Médecine et magie Africaine. ed Présence Africaine.

NOM : Mme TOUNKARA

PRENOM : Fatoumata A.K MAIGA

Titre de la THESE :

Contribution à l'étude botanique et phytochimique d'une plante utilisée dans le traitement traditionnel de l'hépatite virale : Entada africana (Guill et Perr) (Mimosaceae).

ANNEE : 1991 - 1992

VILLE de soutenance : BAMAKO

PAYS d'origine : MALI

LIEU de Dépôt : BIBLIOTHEQUE Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie

SECTEUR d'intérêt : Médecine Traditionnelle.

RESUME :

L'étude que nous avons faite sur Entada africana (Guill et Perr) a porté sur la phytochimie et l'observation microscopique de la poudre de racine. Nous avons pu déceler la présence de tanins, saponosides, stéroïls et terpènes, alcaloïdes, coumarines, caroténoïdes, mucilages et leuco-anthocyanes.

L'étude phytochimique a concerné les alcaloïdes dont l'extraction a conduit à l'isolement d'un d'entre eux, présent dans les fractions 23 à 33 et caractérisé par son spectre dans l'infra rouge et son spectre de masse.

MOTS-CLES : Entada africana ; Mimosaceae ; Phytochimie ; Hépatite virale ; Alcaloïdes ; Chromatographie.

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 consentirais 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'approche et méprisé de mes confrères si j'y manque.