

N° 22

Année 1996

THESE

CONTRIBUTION A L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE GLINUS OPPOSITIFOLIUS (LINN) A. DC (MOLLUGINACEAE)

Présentée et soutenue publiquement le

1996

Devant l'Ecole de Médecine et de Pharmacie

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie
(Diplôme d'Etat)

par Mademoiselle Henda TOURE

JURY

Président : Professeur Brehima KOUMARE

Membres: Professeur N'golo DIARRA
Professeur Gaoussou KANOUTE

Directeur: Professeur Arouna KEITA

DEDICACE

Je dédie ce travail

A mon Père Kéba TOURE.

Ton honnêteté et ton dévouement sont toujours inopinés, les sacrifices que tu as consentis pour notre éducation ont été fructueux, ton esprit de grandeur nous a ouvert les voies de l'honneur et de la dignité.

En reconnaissance de ton affection qui n'a jamais fait défaut cette thèse t'est dédiée.

A ma tante et Maman adoptive. Nlamey TOURE.

Tu n'as cessé de m'exhorter au travail. Je dois ma réussite à l'assistance que tu m'as toujours apportée, ton affection ne m'a jamais fait défaut, même en des périodes difficiles, que ce sentiment se resserre d'avantage avec tout mon amour.

A ma mère Tata DAFÉ.

Ton courage et endurance ainsi que ton affection ont toujours apporté confort et consolidation tu as toujours œuvré pour notre réussite, trouve ici chère mère toute mon affection et mon profond amour.

A ma marâtre Dabely KANTE

Pour le profond attachement que tu m'as réservé, puis cette thèse te reconforte.

A la mémoire de Feu Moussa SACKO.

Homme pieux et généreux, trouve en ce travail le modeste hommage à tous les efforts,
Paix éternelle.

A toute la Famille SACKO.

Je voudrais exprimer ma sincère reconnaissance, votre prévenance, vos conseils, vos encouragements et votre aide efficace et bienveillante m'ont été d'un précieux secours à ma formation, j'en garderais un excellent souvenir.

A mes Oncles et Tantes (TOURE et DAFPE).

En témoignage de ma profonde gratitude pour tout ce que vous n'avez cessé d'être pour moi.

A mes Frères et Soeurs.

Ce travail est le reflet de l'harmonie et de l'entente qui ont toujours prévalu entre nous ainsi que le soutien moral et matériel que vous m'avez apporté qu'il puisse être aussi un exemple dans votre avenir.

A mes Cousins et Cousines.

Vous m'avez toujours accueilli à bras ouverts trouvez dans ce modeste travail ma profonde reconnaissance.

A mes neveux et nièces.

Ce modeste travail vous est dédié dans l'espoir de vous voir un jour faire mieux.
Tendresse et prospérité

A Mr Alfousseiny BATHILY.

Vos encouragements et votre affection ont été et resteront mes meilleurs soutiens.
Trouvez en ce travail ma grande reconnaissance.

A mes beaux frères et belles soeurs.

Vos conseils et vos encouragements m'ont permis de mener les études de pharmacie avec succès.

A la Famille DIALLO.

Trouvez ici l'expression de mon attachement et de ma profonde gratitude.

A tous mes amis(es) et camarades de promotion particulièrement Safouna Adame et Lackdof, en souvenir des longues et dures années d'étude passée ensemble, je souhaite une amitié éternelle.

A tous ceux qui luttent contre la souffrance et pour le bien être humain.

Remerciements

A tout le personnel du DMT, votre accueil chaleureux a été un véritable soutien. Les mots me manquent pour vous exprimer toute ma reconnaissance. Alors, je vous dis simplement merci pour tout. Acceptez-le en témoignage de ma profonde gratitude.

Au Docteur Drissa DIALLO pour l'élaboration de ce projet, pour votre disponibilité et vos conseils tout au long du travail.

A Fanian SANOGO pour votre disponibilité constante, recevez l'expression de ma profonde reconnaissance.

A tous le Personnel du Laboratoire National en témoignage de ma reconnaissance.

Au programme S.S.E. pour son appui financier.

Au Professeur N'golo DIARRA de CALAS de l'ISFRA pour votre disponibilité et votre sympathie.

A tout le personnel de l'ENMP reconnaissance infinie pour la formation reçue.

Mr Mamoutou DIANE et Famille en témoignage de ma reconnaissance.

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

A mon Directeur de Thèse Mr KEITA Arouna,

- Professeur agrégé de Pharmacognosie
- Chef de service du Département de Médecine Traditionnelle à l'INRSP
- Chargé des cours de pharmacognosie à l'ENMP

Vous êtes de ceux qui nous ont le plus marqué à travers les travaux de laboratoire. Au cours de notre période de stage, nous avons eu l'occasion d'apprécier vos qualités scientifiques et humaines. Votre amabilité, votre cordialité et votre haute compétence resteront pour nous un souvenir inoubliable. Votre lutte pour la revalorisation de la Médecine Traditionnelle force notre admiration. Vous appartenez à cette classe de chercheurs qui allient le savoir au savoir faire et au savoir être.

Notre reconnaissance est immense, nous voyons bien qu'elle est difficile à exprimer en quelques mots, mais nous sommes déjà sûrs qu'elle sera éternelle.

INTRODUCTION

Glinus oppositifolius (Linn.) A. DC est une Molluginaceae que l'on rencontre dans la zone du Gourma au Mali (région prédésertique). Elle est à la fois médicinale et alimentaire. D'où l'intérêt du programme Soudan-Sahel-Ethiopie (SSE) financé par la Norvège. Ce programme qui s'adresse à toutes les Institutions de Recherche au Mali, soutient chaque année le Département Médecine Traditionnelle pour la recherche sur les plantes alimentaires et médicinales des régions nord du pays. C'est dans ce cadre que se situe notre travail avec comme objectif :

- contrôler la qualité de la matière première (plante entière sèche) en provenance du Gourma,
- extraire les constituants de la poudre de plantes entières de *Glinus*,
- purifier les composés séparés,
- identifier les composés purifiés par des méthodes spectrales grâce à la collaboration avec l'Université d'Oslo.

Pour atteindre cet objectif, notre travail s'est déroulé comme suit :

Dans un premier temps nous avons effectué un rappel botanique suivie de la position de la plante dans la systématique. Nous avons ensuite présenté les usages en Médecine Traditionnelle.

La seconde partie est consacrée à l'étude chimique proprement dite qui est dissociée en deux volets :

- Essais chimiques préliminaires pour mettre en évidence les principaux groupes chimiques présents dans la plante
- Extraction et séparation des constituants par les différentes méthodes de fractionnement, suivies de leur purification.

PREMIERE PARTIE : TRAVAUX ANTERIEURS

CHAPITRE I : BOTANIQUE

Dans ce chapitre nous rappellerons successivement la position de *Glinus oppositifolius* dans la systématique, ses caractères botaniques remarquables et son habitat. Nous donnerons ensuite les synonymies et les appellations vernaculaires.

A. POSITION DANS LA SYSTEMATIQUE (9) (10) (15)

La position de *Glinus oppositifolius* dans la systématique des végétaux est la suivante:

Règne	_____	végétal
Sous-règne	_____	Eucaryote
Groupe	_____	Eucaryotes chlorophylliens
Sous-groupe	_____	Eucaryotes vasculaires
Embranchement	_____	Spermaphytes
Sous-embranchement	_____	Angiospermes
Classe	_____	Dicotylédones
Série	_____	Apétales
Ordre	_____	Centrospermales ou curvembriales
Famille	_____	Molluginacées
Genre	_____	Glinus
Espèce	_____	oppositifolius.

B. DESCRIPTION (8) (10)

Glinus oppositifolius est une plante herbacée rampante à tige plus ou moins dressée, en touffe. Les feuilles sont opposées par 2 quoiqu'elles semblent verticillées par 3 à 5 par suite du développement de feuilles axillaires.

Les fleurs sont blanc-verdâtre, en fascicules axillaires étalés, moins longues que les plus grandes feuilles. Elles ont un calice long de 4-5mm avec 5 sépales blanchâtres sur les bords. Elles n'ont pas de pétales au centre ; 5 étamines oblongues doubles sont dressées autour de l'ovaire ; les pédoncules sont longs de 12 -15mm.

Le fruit est une capsule ellipsoïdale à 3 valves contenant de petites graines brunâtres fortement chagrinées d'une strophiole blanche.

Tableau n°1 : Utilisations de *Glinus oppositifolius* en médecine traditionnelle

AFFECTIONS	PARTIE DE LA PLANTE UTILISEE	FORME D'UTILISATION	POSOLOGIE
Anorexie	Suc, feuilles	Suspension	1 verre, 1f/J per-os
Nausée - vertige	Feuilles	Décocté	1/2 litre / J
Névralgies intercostales	Feuilles	Infusé	1 verre / J
Gastralgies	Feuilles	Poudre	1 verre / J
Ictères	Plante entière	Poudre	Per-os 3 f/J
Crampes	Plante entière	Poudre	4 pincées 2f/J (adultes) 4 pincées 2f/J (enfants)
Paludisme	Plante entière	Poudre	Per-os 3f/J

CHAPITRE III : CHIMIE - PHARMACOLOGIE

Nous n'avons trouvé dans la littérature scientifique disponible, aucun renseignement ni sur la chimie ni sur la pharmacologie de la plante.

DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX PERSONNELS



Figure N°1 : *Glinus oppositifolius* (Linn.) A. DC. Molluginaceae

C. HABITAT

Glinus oppositifolius (Linn.) A. DC. habite les lieux sablonneux(8).

L'aire géographique de la plante est représentée par la figure n° 2



Figure n°2 :  Aire de répartition de *Glinus oppositifolius* (Linn) A. DC

D. SYNONYMIES

- *Malluga-opposifolia* Linn.
- *Malluga spergula* Linn.
- *Glinus spergula* (Linn.) Steud.

E. NOMS VERNACULAIRES

Pour cette plante des régions prédésertiques du Mali, nous n'avons pas trouvé de noms bambara ou malinké. Par contre nous avons trouvé les dénominations sonrhaï, tamacheck et peulh

Sonrhaï

Balasa

Tamacheck

Balasa n-eynew

Peulh

Walawaldé.

CHAPITRE II : UTILISATIONS EN MEDECINE TRADITIONNELLE (7)

Les enquêtes et les recherches bibliographiques nous ont permis de trouver quelques indications en médecine traditionnelle sur *Glinus oppositifolius*. Nous avons classé ces indications thérapeutiques par grands appareils.

A. APPAREIL DIGESTIF

1. Anorexie (ou «cefa» en sonrhai)

Le suc des feuilles fraîches broyées est mélangé au lait caillé ou au jus de tige de *Echinochloa stagnina* (Bourgou) : prendre un verre de la préparation une fois par jour.

2. Nausées

Faire bouillir une poignée de poudre de feuilles dans un litre d'eau et boire un demi litre de ce décocté dans la journée pour les adultes, un verre à thé (verre n°8) par jour pour les enfants.

3. Gastralgies

Pulvériser les feuilles sèches et ajouter à une paumée de poudre obtenue du sel et du cumen (poudre de fruits de *Cuminum cyminum*). Prendre 1c. à s. du mélange en infusion dans un verre d'eau chaude le soir per-os.

Rq : La poudre peut être mélangée avec du sel et du lait de chèvre et placée en macération dans l'eau. Le macéré est bu toute la journée.

B. SYMPTÔMES PARTICULIERS

1. Ictères

La plante séchée et pulvérisée est mélangée avec les aliments ou avec de l'eau.

2. Crampes

La poudre de plantes entières additionnée de sucre, est utilisée per os à raison de 5 pincées à deux doigts deux fois par jour pendant 4 jours (Adultes) ou 2 pincées à deux doigts une fois par jour pendant 4 jours (Enfants).

C. PALUDISME

La plante est séchée, pulvérisée et mélangée avec les aliments ou avec de l'eau.

Le mélange ou la suspension est administrée per-os.3 fois par jour.

CHAPITRE I : CONTROLE DE QUALITE DE LA DROGUE

La drogue est constituée par la tige feuillée de *Glinus oppositifolius*.

Dans ce chapitre, nous rechercherons les éléments nécessaires à la confection d'une monographie. Les paramètres retenus relèvent de l'identité de la drogue (caractères macroscopiques, organoleptiques, microscopiques), de sa bonne conservation (teneur en eau à l'état sec) de sa pureté (teneurs en cendres). Nous avons aussi déterminé le potentiel hydrogène (pH) du décocté aqueux à 1 pour cent.

La récolte de la matière première a été effectuée au mois de Mars au Nord de notre pays, plus précisément à Gourma-Rharous.

La partie récoltée a été séchée à l'air libre, à l'ombre.

Après pulvérisation, la poudre obtenue a été conditionnée dans des flacons en verre étiquetés (flacons de sérum glucosé, lavés et stérilisés).

A. IDENTITE DE LA DROGUE

1. Caractères macroscopiques

La tige, dressée, est glabre sauf dans sa partie supérieure exposée à la lumière, qui est pubérulente. Le pétiole est court (2-3mm). Le limbe, de couleur verte, est elliptique et long de 20 à 35mm, large de 3 à 6mm vers le milieu. La nervure médiane est saillante au dessous.

2. Caractères organoleptiques de la poudre de drogue

La poudre de *Glinus oppositifolius* est de couleur verte, de saveur très amère et d'odeur de Pain de singe (poudre de pulpe de fruits de *Adansonia digitata* L.)

3. Caractères microscopiques (3) (4)

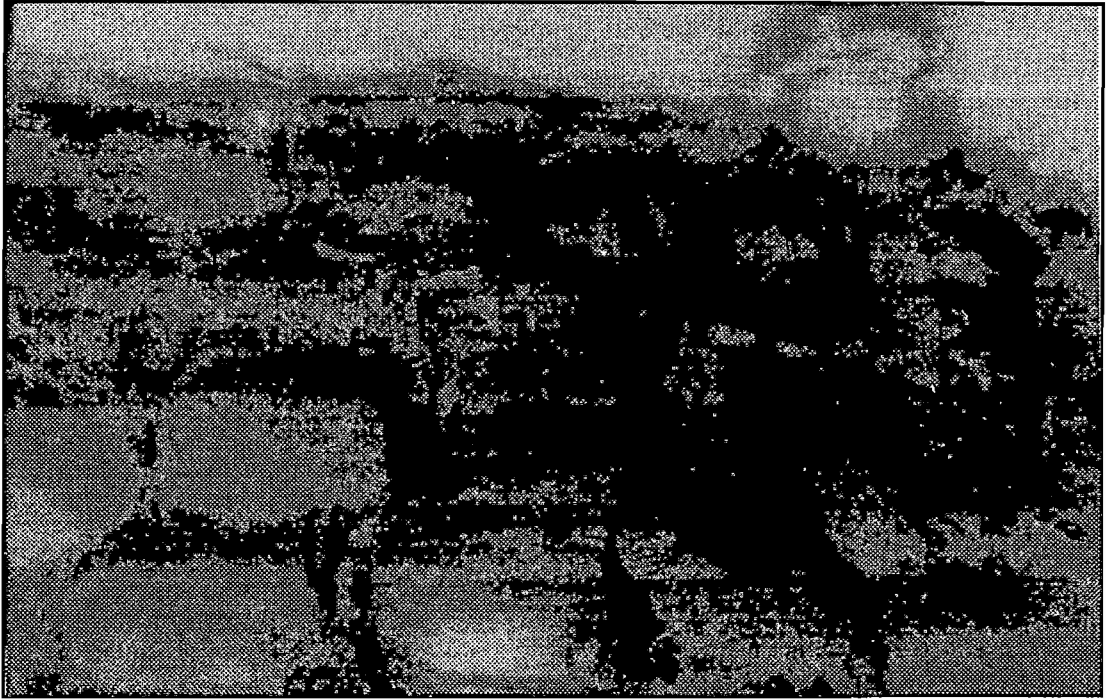
La coupe transversale de la feuille et de la tige, après clarification à l'hypochlorite de sodium et trempage dans le réactif universel, présente au microscope les éléments caractéristiques suivants :

- fragments de poils tecteurs,
- épiderme supérieure,
- parenchyme palissadique,
- parenchyme lacuneux,
- liber,
- Bois,
- fibres,
- collenchyme,
- épiderme inférieur.

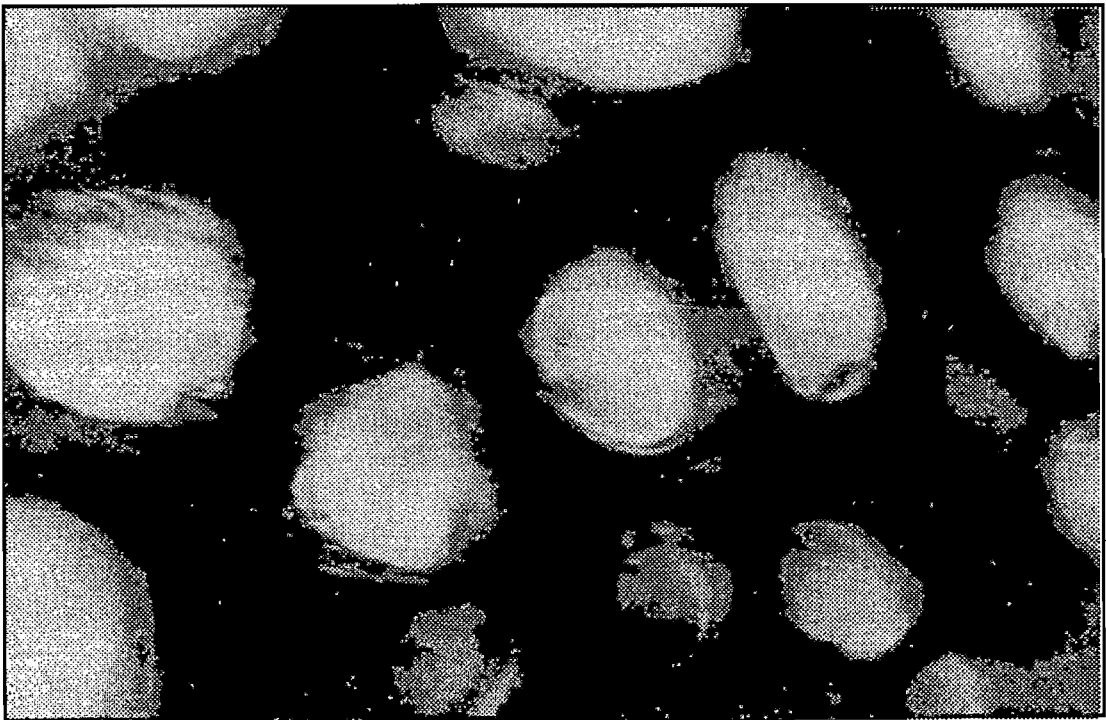


Photo n°1 : Coupe transversale de la feuille de *Glinus oppositifolius*

Photos N° 2 : Coupe transversale de la tige de *Glinus oppositifolius*



Cellules palissadiques.



Cellules tabulaires du bois

B. TENEUR EN EAU

Pour une bonne conservation de la drogue sèche, il est nécessaire que sa teneur en eau soit inférieure à 10p. cent. (18). Nous avons reçu la drogue séchée en provenance du Gourma. Nous avons déterminé sa teneur en eau par deux méthodes:

1. Méthode gravimétrique (17)

Elle consiste en la détermination de la perte de poids après dessiccation à l'étuve à $100^{\circ}\pm 3^{\circ}\text{C}$.

a. Principe

Il consiste à chauffer jusqu'à dessiccation une prise d'essai de la poudre de drogue de poids déterminé dans un creuset en platine taré. Le creuset est ensuite pesé, après refroidissement, dans un dessiccateur renfermant un desséchant (anhydride phosphorique). La différence de poids constitue la quantité d'eau contenue dans la prise d'essai. Cette quantité est exprimée en pourcentage.

b. Mode opératoire

Nous avons utilisé 5 creusets numérotés de 1 à 5. Les prises d'essai : P_1, P_2, P_3, P_4, P_5 , sont introduites dans les 5 creusets secs. Les poids totaux sont évalués : P'_1, P'_2, P'_3, P'_4 .

les creusets contenant la poudre sont placés à l'étuve à $100\pm 3^{\circ}\text{c}$ pendant 24heures. Au bout de ce temps, les creusets sont laissés au refroidissement dans un dessiccateur puis pesés, ce qui donne des poids : $P_{\gg 1}, P_{\gg 2}, P_{\gg 3}, P_{\gg 4}, P_{\gg 5}$.

La perte de poids est obtenue en faisant la moyenne de différences $P'_1 - P_{\gg 1}; P'_2 - P_{\gg 2}; P'_3 - P_{\gg 3}; P'_4 - P_{\gg 4}$ et $P'_5 - P_{\gg 5}$.

c. Méthode de calcul

$$\% \text{ eau} = \frac{\text{Masse eau}}{\text{PE}} \times 100$$

Masse eau: Masse Tare avant étuve - Masse Tare après étuve

P.E = Prise d'essai = Masse drogue essai

2. Méthode Volumétrique (17)

C'est un dosage par entraînement azéotropique. L'eau est entraînée par distillation avec un solvant non miscible. La réaction azéotropique se fait à une température d'ébullition constante. Après condensation par réfrigération des vapeurs de l'azéotrope, l'eau se sépare et le volume est mesuré. Les solvants utilisables sont :

<u>Solvants</u>	<u>Point d'ébullition</u>
Toluène	110°C
Benzène	80°C
Xylène	136°C-140°C

L'appareil utilisé comporte :

- Ballon de 250 ou 500 ml,
- Réfrigérant à reflux,
- Tube cylindrique gradué.

Ici nous avons utilisé le toluène comme solvant d'entraînement.

a. Mode opératoire

Nettoyer le tube collecteur et le réfrigérant de l'appareil, rincer à l'eau et sécher. Introduire dans le ballon sec 200 ml de toluène et 1 ml d'eau distillée. Distiller pendant 1h, laisser refroidir pendant 30 mn et lire le volume V_0 de l'eau avec une précision de 0,05 ml.

Introduire dans le ballon une prise d'essai de 5g de la substance à examiner et distiller pendant 1h pour que toute l'eau soit entraînée. Après refroidissement (30mn), le volume V_1 de l'eau est lu. La teneur de la drogue en eau exprimée en pourcentage, est donnée par la formule:

$$\% \text{ eau} = \frac{V_1 - V_0}{P} \times 100$$

P: Poids en gramme de la prise d'essai

V_1 : nombre de ml d'eau obtenu dans la deuxième distillation

V_0 : Nombre de ml d'eau obtenu dans la première distillation.

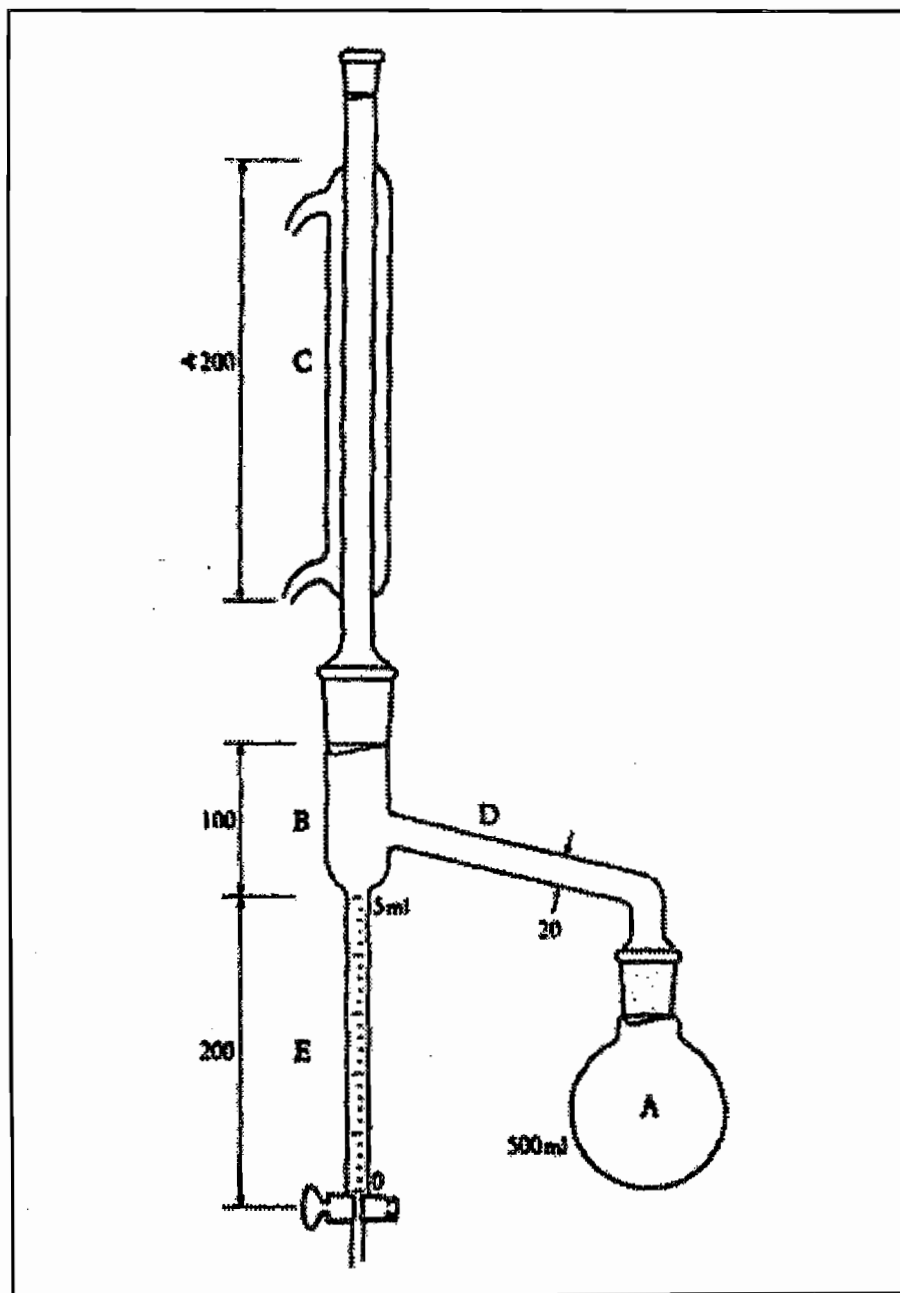


Figure n°3 : Appareil pour la détermination de l'eau par entraînement azéotrope
(Dimensions en mm)

3. RESULTATS

3.1. Méthode gravimétrique

Nous avons représenté dans le tableau ci-dessous les résultats obtenus.

Tableau n°2 : Détermination de la teneur en eau par la méthode gravimétrique.

TARE	MT avant étude	MT après étuve	Masse drogue essai	Masse eau	% eau
13,1806	14,4910	14,3667	1,3004	0,1243	9,55
12,4749	13,6937	13,5855	1,2188	0,1082	8,87
12,7897	13,6155	13,5489	0,8258	0,0666	8,06
12,9142	13,9787	13,8903	1,0645	0,0884	8,30
14,5370	15,5461	15,4601	1,0091	0,0860	8,52

Ainsi nous avons fait la moyenne des pourcentages en eau puisque nous avons opéré 5 fois.

$$\% \text{ eau} = \frac{9,55 + 8,87 + 8,06 + 8,30 + 8,52}{5} = \boxed{8,66}$$

3.2. Méthode volumétrique

Les données sont les suivantes :

Prise d'essai : PE = 5g

Volume de Toluène : 200ml

Volume d'eau distillé : 1ml

V₀ : 0,6ml

V₁ : 1ml

$$\% \text{ Eau} = \frac{V_1 - V_0}{PE} \times 100 = \frac{1 - 0,6}{5} \cdot 100 = 0,08 \cdot 100 = \boxed{8}$$

C. PURETE DE LA DROGUE (17) (18)

Ici nous avons déterminé les teneurs en cendres, c'est à dire la quantité de substances résiduelles non volatilisées lorsque l'échantillon de drogue est mise à la calcination.

Nous avons déterminé les teneurs en cendres totales, cendres sulfuriques et cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique.

1. Dosage des cendres totales

a. Principe

Incinération de la poudre jusqu'à obtention de cendres blanches dans un creuset. Ce dosage s'effectue sur la poudre ayant servi au dosage de l'eau.

b. Mode opératoire

Dans un creuset en quartz à fond plat, préalablement calciné au rouge, refroidi et taré, introduisons une prise d'essai de 1 à 5g de poudre de drogue. Nous commençons par incinérer doucement puis au rouge sans dépasser 800°C au four. Après disparition des particules noires, nous laissons refroidir dans un dessiccateur, puis nous pesons; la différence de poids obtenue entre les deux pesées (avant et après calcination), correspond au poids de cendres totales contenues dans la prise d'essai. Cette quantité est exprimée en pourcentage.

Rq : ici nous avons effectué 5 prises d'essais puis nous avons calculé la moyenne.

c. Méthode de calcul

Masse drogue essai : MT avant calcination - Tare

Masse cendre : MT après calcination - Tare

$$\% \text{ cendres} = \frac{\text{Masse cendre}}{\text{Masse drogue essai}} \times 100$$

2. Les cendres sulfuriques

Elles sont obtenues par calcination de la poudre de drogue après attaque par l'acide sulfurique concentré.

a. Mode opératoire

Porter au rouge pendant 10mn un creuset de platine, laisser refroidir dans un dessiccateur et tarer le creuset.

Introduire la prise d'essai dans le creuset. Mouiller avec une quantité suffisante de H₂SO₄ concentré.

Chauffer au Bain - marie jusqu'à sec, puis à feu nu avec précaution au début puis au rouge sans excéder la température de 800°C.

La calcination est maintenue jusqu'à disparition des particules noires.

Laisser refroidir et ajouter 5 gouttes de H₂SO₄ dilué au demi, évaporer et calciner comme précédemment jusqu'à poids constant.

Après refroidissement dans un dessiccateur, le taux des cendres sulfuriques est calculé et exprimé en pourcentage.

3. Les cendres insolubles dans HCl 10%

En faisant bouillir les cendres totales dans HCl dilué, on obtient un résidu constituant les cendres insolubles. Cette détermination nous donne une idée sur la quantité de silice ou de sable présente dans la drogue.

a. Mode opératoire

Au résidu contenu dans le creuset et obtenu à partir des cendres totales, ajouter 20ml de HCl à 10% et chauffer dans une fiole conique pendant 15 mn au Bain-marie.

Filtrer sur un papier sans cendre et laver le résidu insoluble à l'eau chaude. Transférer le papier filtre contenant la matière insoluble dans le creuset original, faites sécher et incinérer jusqu'à poids constant.

Calculer le contenu en gramme de cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique pour 100g de substance.

4. Résultats

4.1. Cendres totales

Les résultats sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau N°3 : Détermination de la teneur en cendre

TARE	MT avant calcination	MT après calcination	Masse drogue essai	Masse cendres	% cendres
24,2462	25,7175	24,3952	1,4713	0,1490	10,12
20,6238	22,6093	20,8264	1,9855	0,2026	10,20
17,1968	28,9153	17,3629	1,7185	0,1661	9,66
17,6106	19,2982	17,7803	1,6876	0,2697	10,05
16,9384	18,3624	17,1052	1,4240	0,1668	11,71

$$\% \text{ cendres totales} = \frac{10,12 + 10,20 + 9,66 + 10,05}{5} = \boxed{10,35}$$

4.2. Cendres sulfuriques

Tare :	28,8344
MT avant calcination :	33,9094
MT après calcination :	29,5260
Masse drogue essai :	33,9094 - 28,8344 = 5,075
Masse cendre :	29,5260 - 28,8344 = 0,6916

$$\% \text{ cendres sulfuriques} = \frac{0,6916}{5,075} \times 100 = \boxed{13,62}$$

4.3 cendres insolubles dans HCl 10%

Tare :	28,7409
MT avant calcination :	29,1203
MT après calcination :	28,7590
Masse drogue essai :	29,1203 - 28,7409 = 0,012
Masse cendre :	28,7590 - 28,7409 = 0,012

$$\% \text{ cendres insolubles dans HCl 10\%} = \frac{0,012}{0,3794} \times 100 = \boxed{3,16}$$

D. DETERMINATION DU pH

a. Principe

Le pH est déterminé à partir du décocté aqueux à 1 pour cent de poudre de feuilles.(1)

b. Mode opératoire

Dans un erlenmeyer, introduire 100ml d'eau et 1g de poudre de drogue ; porter à l'ébullition pendant 15mn.

Après refroidissement, filtrer et ajuster à 100ml avec de l'eau pour obtenir un décocté à 1 pour cent.(1)

La détermination se fait sur le filtrat à l'aide d'un pH-mètre de type HORIBA M-8E.

c. Résultat

Le pH du décocté aqueux à 1% est de 7,20 .

CHAPITRE II : ETUDES PHYTOCHIMIQUES

ESSAIS CHIMIQUES PRELIMINAIRES

Avant de commencer l'étude phytochimique de *Glinus oppositifolius*, nous avons effectué des essais préliminaires sur l'infusé aqueux à 10.p.cent ; sur l'extrait chloroformique et sur l'extrait hydroalcoolique de poudre de tiges feuillées.

A. PREPARATION DES EXTRAITS

1. Préparation de l'extrait aqueux à 10 pour cent (13)

Dans un erlenmeyer, introduire 10g de poudre de *Glinus oppositifolius*, ajouter 100ml d'eau distillée. Porter à l'ébullition pendant 15mn, laisser refroidir et filtrer ; compléter le filtrat à 100ml avec de l'eau distillée. L'extrait aqueux à 10% est de couleur légèrement brune.

2. Préparation de l'extrait chloroformique

10g de poudre de *Glinus* sont épuisés au soxhlet avec 150ml de chloroforme. Après refroidissement, la solution chloroformique est récupérée et concentrée à l'évaporateur rotatif sous vide jusqu'au volume de 10ml (1ml correspond à 1g de drogue).

3. Préparation de l'extrait hydro-alcoolique

10g de poudre de drogue sont traités par percolation avec 200ml du mélange Ethanol-Eau/5-5/V-V. Après 3 heures de macération le percolat est recueilli.

B. ETUDE DES EXTRAITS

1. Extrait aqueux

- Dans un tube à essai contenant 2ml d'extrait aqueux, nous ajoutons 2 à 3 gouttes d'HCl concentré. La coloration rose orangé observée indique la présence d'anthocyanes. (24) (27),
- En ramenant l'extrait aqueux à 1. pour cent. (1ml dans 10ml d'Eau distillée), l'action de l'hydrogène naissant par addition de Magnésium et d'Acide chlorhydrique ($Mg + HCl \longrightarrow Mg Cl + H^+$) provoque la formation de cyanidine avec apparition d'une coloration rouge. Cette réaction est due au noyau phényle γ -pyrone des flavonoïdes (24),
- L'extrait aqueux (2ml) se colore en brun foncé par addition de quelques gouttes de chlorure ferrique à 10 pour cent. (présence de tannins). (24),
- L'extrait aqueux précipite par addition de formol chlorhydrique mais non par la gélatine salée (ce qui est en faveur de la présence de catéchols et non de tannins cathéchiqes). (2) (5),
- Après addition de propanol chlorhydrique (2ml) à 5ml d'extrait aqueux, nous obtenons une coloration rose mais qui devient intense par chauffage au bain marie (présence de proanthocyanes et catéchols). (13)

2. Extrait chloroformique

Le résidu d'évaporation de l'extrait chloroformique se colore en bleu violacé par addition d'acide sulfurique concentré (caroténoïdes) et donne une coloration rouge virant au vert par la réaction de Liebermann des stéroïdes.

3. Extrait hydro alcoolique

- L'extrait hydro alcoolique est concentré au rotavapor pour chasser l'alcool. La moitié de la phase aqueuse résiduelle, alcalinisée par NH_4OH , est épuisée par le chloroforme. L'extrait chloroformique donne avec le réactif de Dragendorff, un précipité brun rouge. (présence d'alcaloïdes). (13)

La seconde moitié de la phase aqueuse résiduelle est épuisée par le benzène. L'extrait benzénique, après addition de NH_4OH diluée au demi, donne une réaction de Bornstrager négative (absence de quinones).

C. Conclusion

***Glinus oppositifolius* renferme des anthocyanes et proanthocyanes, des flavonoïdes, des tannins et catéchois, des caroténoïdes, des stéroïdes et des alcaloïdes. Les anthraquinones, benzoquinones et naphthoquinones sont absents. L'indice de mousse calculé est de 500. Nous avons choisi, pour nos travaux de phytochimie, d'étudier les flavonoïdes et les alcaloïdes.**

ETUDE DES FLAVONOÏDES

I. EXTRACTION

Les flavonoïdes en général sont solubles dans l'eau et l'alcool à chaud. Nous avons donc opéré par percolation de la poudre de tiges feuillées de *Glinus* avec l'eau chaude.

1. Epuisement de la drogue par percolation

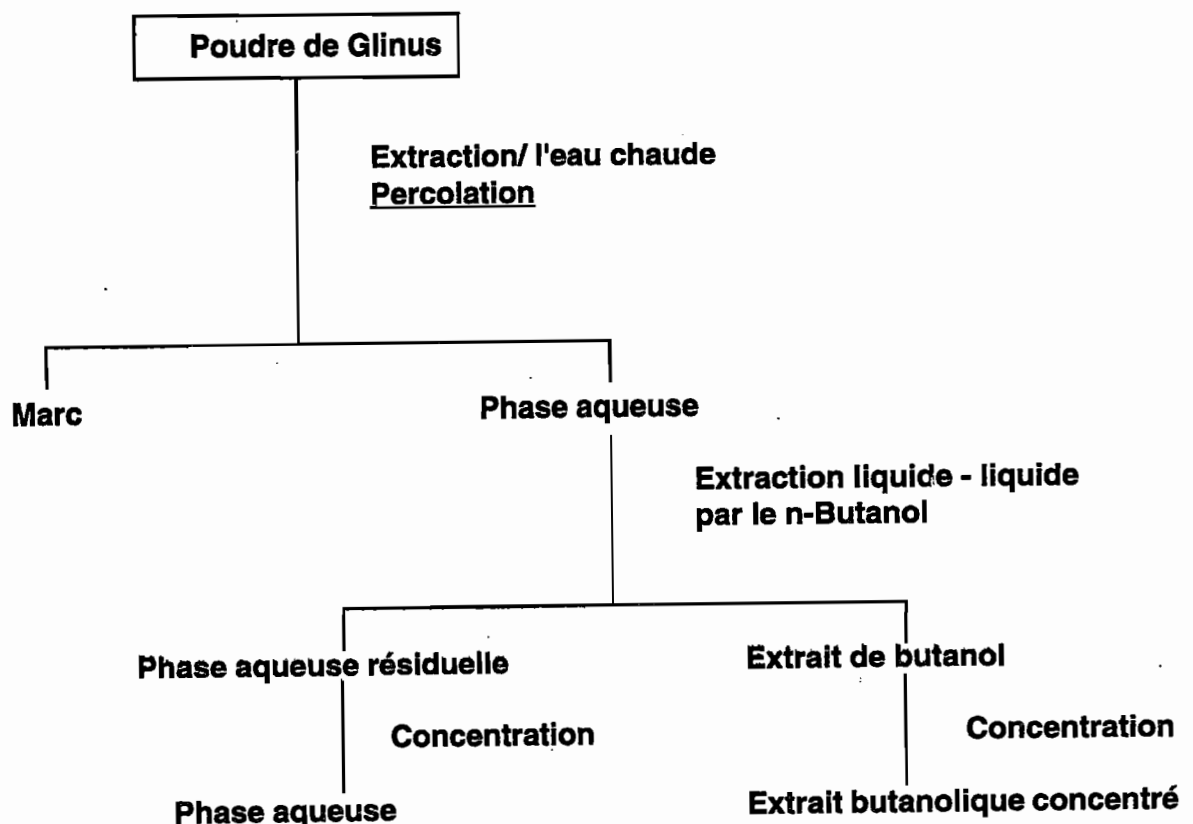
Dans une ampoule à décantier préalablement lavée et séchée, introduire du coton et le tasser avec de l'eau. Mettre la poudre de drogue légèrement mouillée. Ajouter l'eau distillée bouillante jusqu'à immersion 1cm au dessus de la couche supérieure de la poudre et laisser en contact pendant 3-4h.

Au bout de ce temps ouvrir le robinet (de l'ampoule) pour récupérer l'extrait. C'est cet extrait qui va servir à l'extraction liquide-liquide.

2. Extraction liquide-liquide

Nous avons choisi le n-butanol pour épuiser l'extrait aqueux de drogue du fait qu'il solubilise les flavonoïdes les plus polaires et les C-flavonoïdes (6).

Dans une ampoule à décantier, introduire le percolat et le n-butanol à volume égal. Après une agitation intense et vigoureuse, laisser décantier et recueillir les deux phases séparément.



SCHEMA D'EXTRACTION DES FLAVONOÏDES

II. SEPARATION

1. Séparation sur colonne de Polyamide (2) (6)

1.1. Préparation de l'extrait sec

L'extrait butanolique est additionné de poudre de silice et le mélange est trituré sous un courant d'air sec jusqu'à obtention de poudre.

1.2. Montage de la colonne

La colonne est lavée et séchée ; on y introduit au fond une quantité suffisante de coton pour éviter le bouchage par les grains de support. La colonne est d'abord remplie de solvant d'élution. Puis le support est versé en pluie jusqu'à obtention d'une hauteur convenable. Laisser la colonne se tasser en agitant de temps en temps pour évacuer les bulles d'air.

1.3. Dépôt de l'extrait sec

Le mélange pulvérulent est déposé au sommet de la colonne, puis recouvert par la silice et du coton.

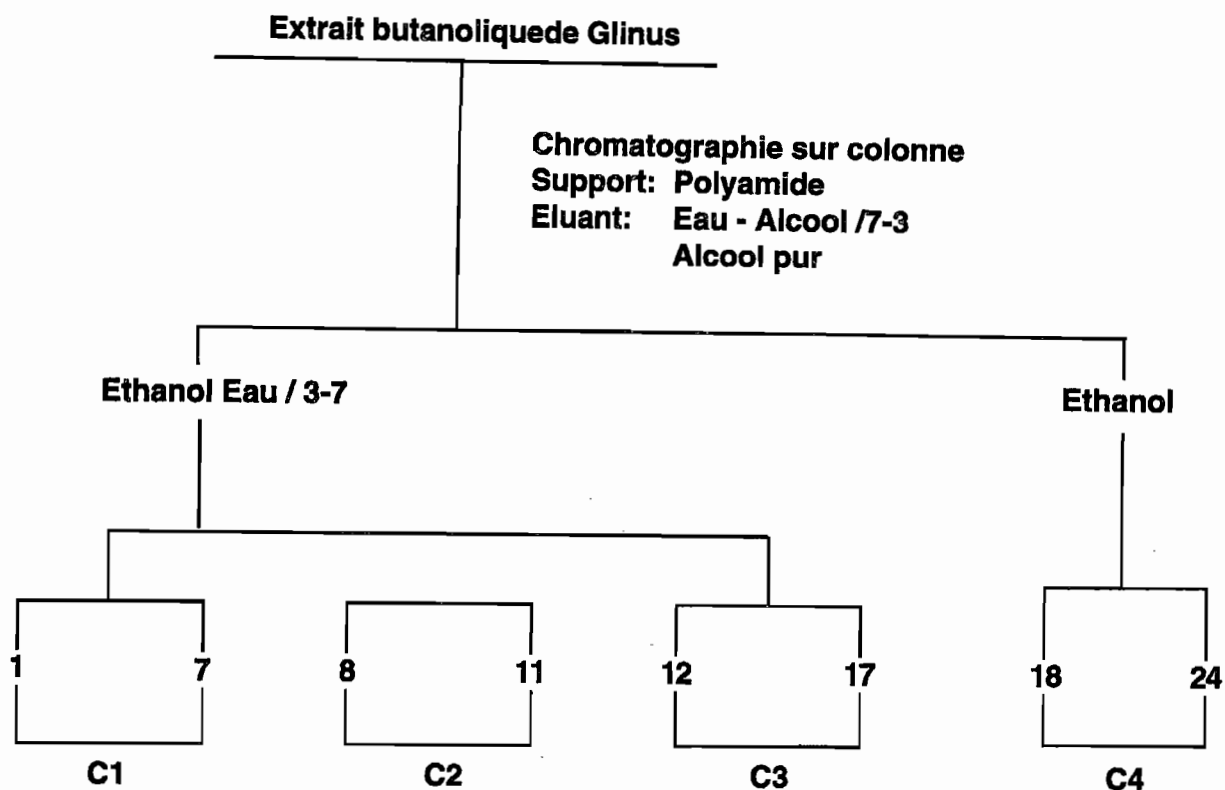
1.4. Elution de l'extrait sec

La colonne a été éluee par le mélange Eau-alcool dans la proportion 70/30, puis par l'alcool pur. Nous avons pu obtenir 24 fractions notées de 1 à 24.

Un contrôle chromatographie sur plaque de silice, a été effectué sur toutes les fractions dans le B.A.W. ; ceci nous a permis de rassembler les fractions ayant la même composition. Nous avons ainsi obtenu 4 fractions notées C1, C2, C3, et C4.

C1 :	1 - 7
C2 :	8 - 11
C3 :	12 - 17
C4 :	18 - 24

Toutes les fractions renferment des composés flavoniques.



Les fractions 12 à 17 (C3) renferment la majorité des flavonoïdes. Nous les avons retenues pour la suite de nos travaux.

2. Séparation des constituants de la fraction C3

Les constituants de la fraction C3 ont été séparés par chromatographie sur colonne de silice G.

Chromatographie sur colonne

Support : silice G Art. 7734

Eluants : Chloroforme et mélange chloroforme éthanol dans des proportions variables (95-5 à 80-20/v-v)

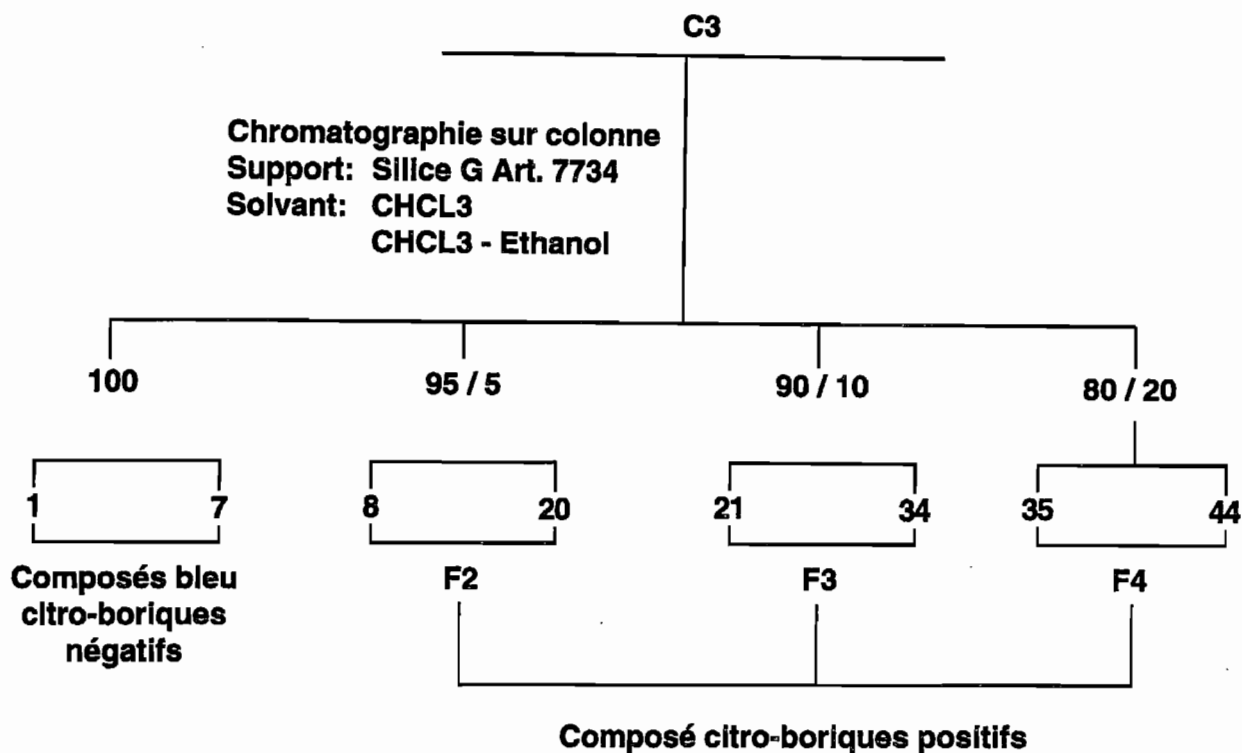
Cette chromatographie nous a fourni 44 fractions qui ont toutes été soumises à une c.c.m. de contrôle. Nous les avons réunies en fonction des constituants séparés.

F1:	1 - 7
F2:	8 - 20
F3:	21 - 34
F4:	35 - 44

La c.c.m. a été réalisée sur plaque de Silice GF 254 avec le B.A.W. comme solvant de migration.

Le composé présent dans la fraction F1 est bleu ; il ne réagit pas au citro-borique.

Les fractions F2, F3, F4 renferment plusieurs composés citro-boriques positifs.



Chromatographie sur couche mince des composés des fractions séparées

Support plaque de silice G.F254 : Solvant B.A.W/4-1-5/v-v phase supérieure.

Nous avons effectué un dépôt de 10µl de chacune de solutions F₂, F₃ et F₄ sur plaque de silice. Après séchage, l'éluion est effectuée dans le B.A.W. Ensuite la plaque est séchée; le chromatogramme est rélévé sous U-V à 366 nm puis avec le réactif citroborique.

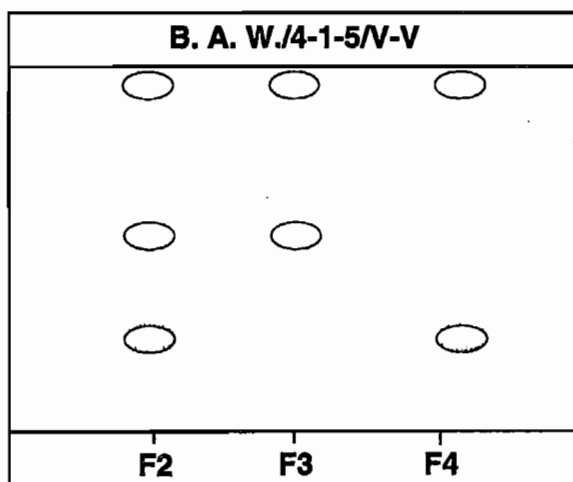


Schéma du chromatogramme des composés séparés
* Les fractions F₂, F₃, F₄ ont été rassemblés et notés F.

III. PURIFICATION

Les constituants de la fraction F ont été purifiés par chromatographie préparative sur plaque de silice

1. Chromatographie préparative sur plaque (C.P) (12) (6) (2)

La C.P permet d'obtenir une purification plus nette à travers une séparation plus fine.
Support : Plaque de silice GF254, épaisseur 0,25mm
Solvant : B.A.W(4-1-5/v-v); phase supérieure.

Technique :

La solution F est concentrée préalablement au Rotavapor jusqu'à volume de 2ml. Les dépôts sont réalisés en points à l'aide d'une micropipette. En chaque point sont déposés 50µl de solution.

Ensuite, les dépôts sont séchés à l'aide d'un sèche-cheveux électrique. Les cuves sont lavées très soigneusement et séchées. Nous mettons une quantité suffisante d'éluant. Les plaques sont introduites dans les cuves pour l'élution. il faut toujours éviter l'immersion des dépôts par le solvant.

Après développement et séchage des plaques, la révélation se fait sous la lumière UV à 366nm; les 3 bandes repérées correspondant aux 3 composés citroborique positifs sont grattés à l'aide d'une lame propre, séparément.

Les produits grattés ont été élués avec de l'éthanol dans une burette propre et contenant du coton au fond.

Ainsi nous avons obtenu trois Flavonoïdes différents. Leur pureté est contrôlée par ccm.

2. C.C.M de contrôle

Support : Plaque de silice G.

Solvant : B.A.W/ 4-1-5/v-v phase supérieure.

Technique :

Déposer 10 μ l de chacune des solutions à l'aide d'une micropipette, sur la ligne de départ. Sécher les dépôts, et placer la plaque dans une cuve contenant le B.A.W. Après migration et révélation nous obtenons le chromatogramme suivant :

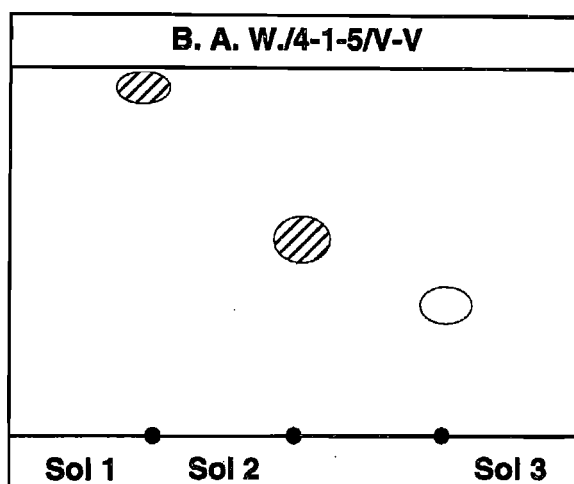


Schéma du chromatogramme des Flavonoïdes purs.

Calcul des Rf :

Ce chromatogramme nous a permis de calculer les Rf des 3 Flavonoïdes.

$$\text{FLAV 1 : Rf} = \frac{4,7}{4,9} = 0,96$$

$$\text{FLAV 2 : Rf} = \frac{2,5}{4,9} = 0,52$$

$$\text{FLAV 3 : Rf} = \frac{1,7}{4,9} = 0,36$$

Le FLAV 1 est obtenu en quantité relativement importante (20mg). Les FLAV 2 et 3 n'ont pu être étudié en raison de leur trop faible quantité.

V. IDENTIFICATIONS

Seul le FLAV 1 purifié a été étudié. Nous avons utilisé les caractères de solubilité, les données chromatographiques sur couche mince et les méthodes spectrales pour l'identification de ce composé. Nous avons aussi déterminé son point de fusion.

1. Caractères de solubilité

Le FLAV 1 se présente sous forme de poudre jaune soluble dans l'éthanol, le méthanol, le chloroforme et l'éther éthylique. Il est peu soluble dans l'eau froide et soluble dans l'eau chaude.

2. Point de fusion

Déterminé sur le banc Koffler de type 184303, le point de fusion (PF) est supérieur à 260°C.

3. Données chromatographiques

La technique chromatographique à elle seule n'est pas suffisante pour identifier un produit, mais elle apporte de nombreux renseignements permettant d'orienter sur une hypothèse de structure, à savoir. (6) (13) (14):

- Les Rf dans différents solvants de migration,
- La fluorescence,
- La coloration

3.1. Comportement chromatographique du FLAV 1

- Dans un solvant hydrophobe comme le butanol acétique (B.A.W./4-1-5/v-v) phase supérieure et sur plaque de silice GF254, le FLAV 1 a un Rf de 0,96 (comportement de génine flavonique).
- Dans un solvant hydrophile comme l'acide acétique, FLAV 1, sur plaque de cellulose, a les Rf suivants en fonction de la concentration en acide : acide acétique 5% (0), acide acétique 15% (0,05) acide acétique 30%(0,10), acide acétique 60% (0,33).

Tableau n°4 Comportement chromatographique du Flavonoïde 1 (FLAV 1)

	Cellulose				Silice GF254
	Acide acétique				B. A. W./4-1-5
	5%	15%	30%	60%	
FLAV 1	0	0,05	0,10	0,33	0,96

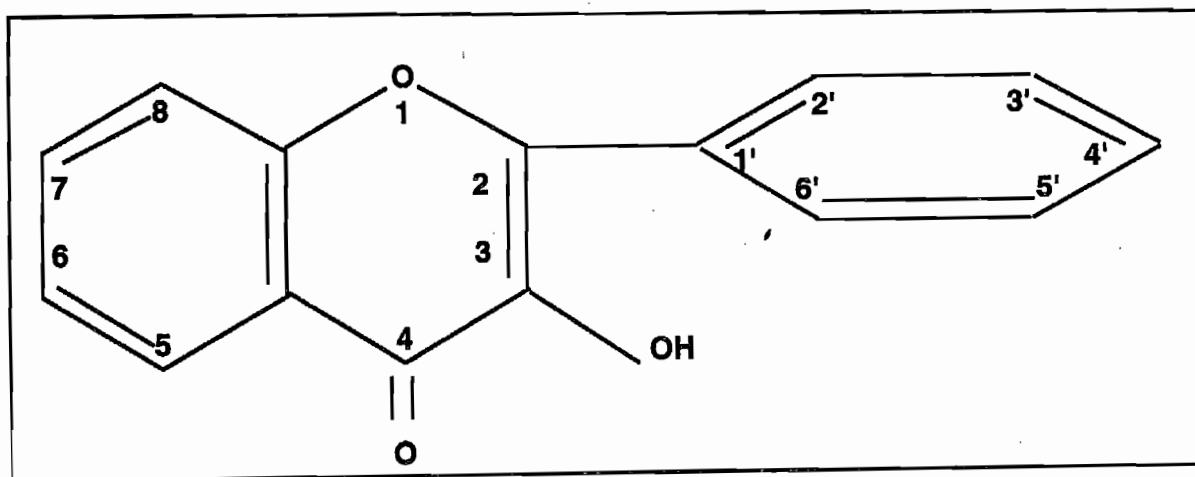
3.2. Relation Fluorescence Structure (6)

La fluorescence d'un Flavonoïde sous la lumière UV fournit des renseignements surtout par rapport aux substituants en position 3 et 5. Ainsi :

La fluorescence jaune est caractéristique d'un FLAVONOL (flavonoïde hydroxylé en position 3) (A)

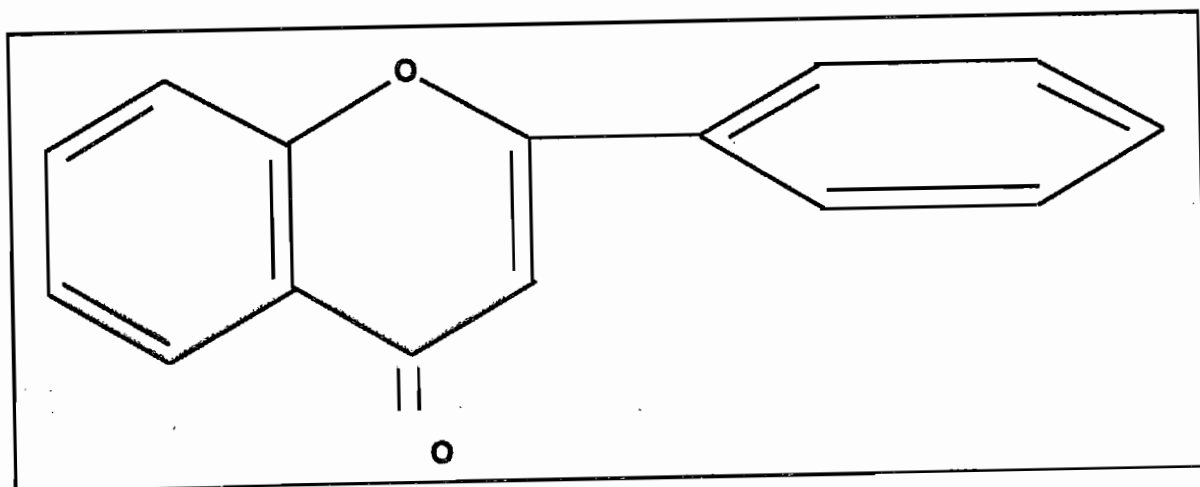
La fluorescence violette est caractéristique d'une FLAVONE hydroxylé et non substituée en position 5 ou d'un FLAVONOL substitué en position 3.(B)

Le FLAV 1, examiné en lumière ultra violette à 366nm, présente une fluorescence jaune. Il est donc probablement un flavonol.



(A)

FLAVONOL



(B)

FLAVONE

3.3. Relation coloration-structure

En milieu anhydre, avec le mélange citro-borique de WILSON, les flavones, les flavonols et les chalcones donnent une coloration jaune-vert; les flavones et les isoflavones ne réagissent pas (16). LA réaction dite de la cyanidine, permet de faire la différence entre flavones, flavonols et flavonones. Etudiée par WILLSTAETTER (27) et par SHIBATA (24), elle consiste à réduire les flavonoïdes en anthocyanes. Les flavones donnent une teinture jaune-orangé ; les flavonols donnent une coloration rouge; les flavanones donnent une coloration rouge-violacé

Le FLAV 1 donne une coloration jaune vert après pulvérisation du chromatogramme par le citroborique et chauffage à 100°C pendant 5 minutes ; il donne une coloration rouge par la réaction de la cyanididine. FLAV 1 est un flavonol.

4. Méthodes spectrales

4.1. Spectrophotométrie dans l'ultra-violet (6) (14) (17) (25)

Les spectres dans l'ultra-violet (UV) ont été réalisés après dissolution du produit dans le méthanol et en présence de réactifs de chélation (chlorure d'aluminium : AlCl_3) et d'ionisation (Acétate de sodium : NaOAc ; Acide borique H_3BO_3 ; soude: NaOH). Nous avons utilisé un appareil de la Japan spectroscopie Co. Ltd; le Jasco J-0087. (disponible au laboratoire National de la Santé).

La spectrophotométrie ultraviolette est la mesure de l'absorption, par une substance, d'une radiation électromagnétique, essentiellement monochromatique. (17). La gamme de spectre utilisées s'étend des longueurs d'onde courtes de l'ultraviolet jusqu'à la région du visible; cette gamme peut donc être divisée en deux régions : l'ultraviolet (190-380nm) et le visible (380-780nm).

Le spectre UV des flavonoïdes présente deux bandes d'absorption principales:

- Bande I : située entre 320 et 380nm,
- Bande II : située entre 250 et 275 nm.

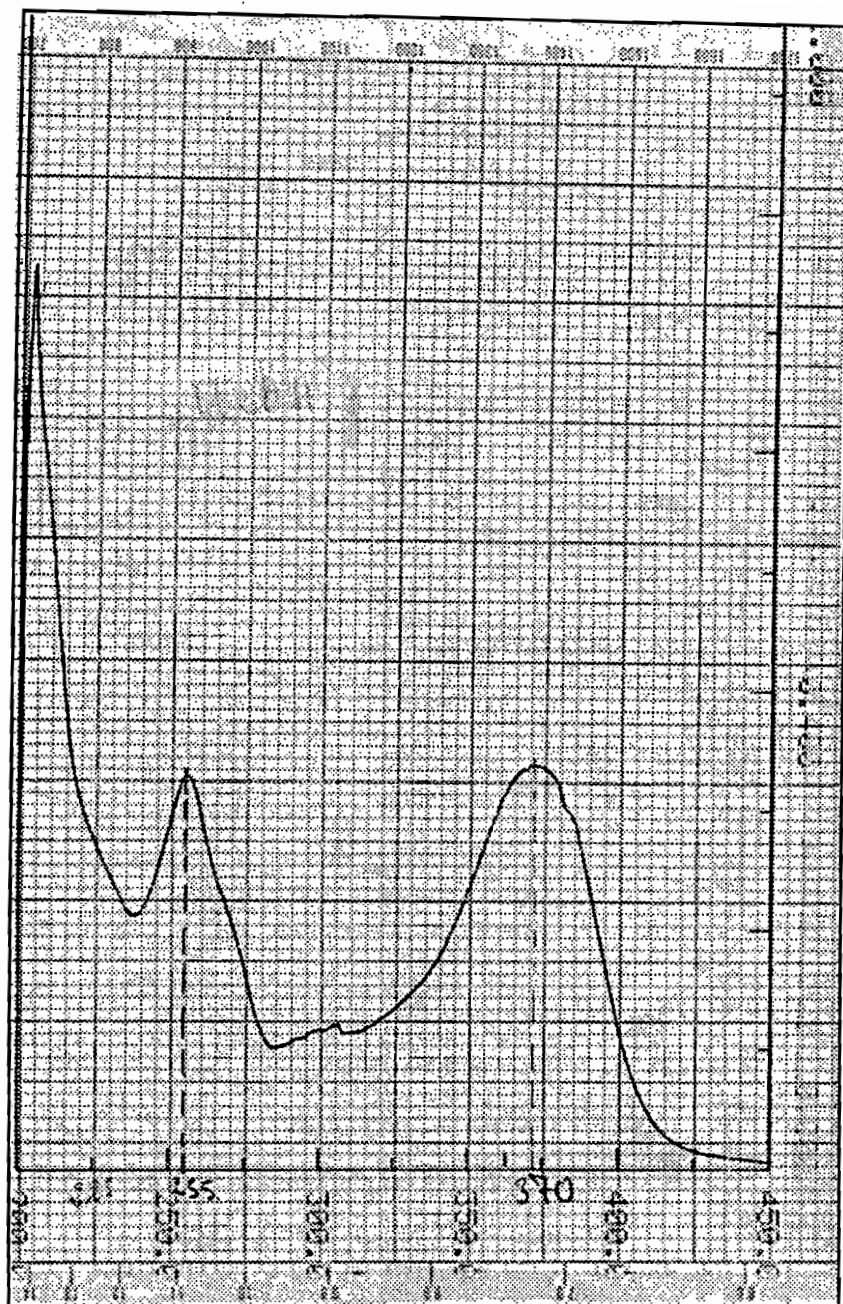
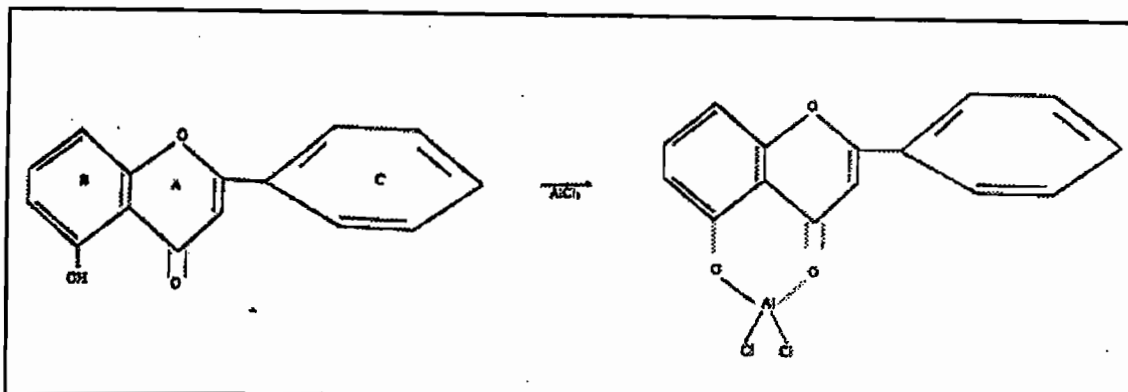


Figure N°4 : Spectre UV du Flavonoïde 1 dissout dans le Méthanol.
Bande I : maximum 370nm
Bande II : maximum 255nm

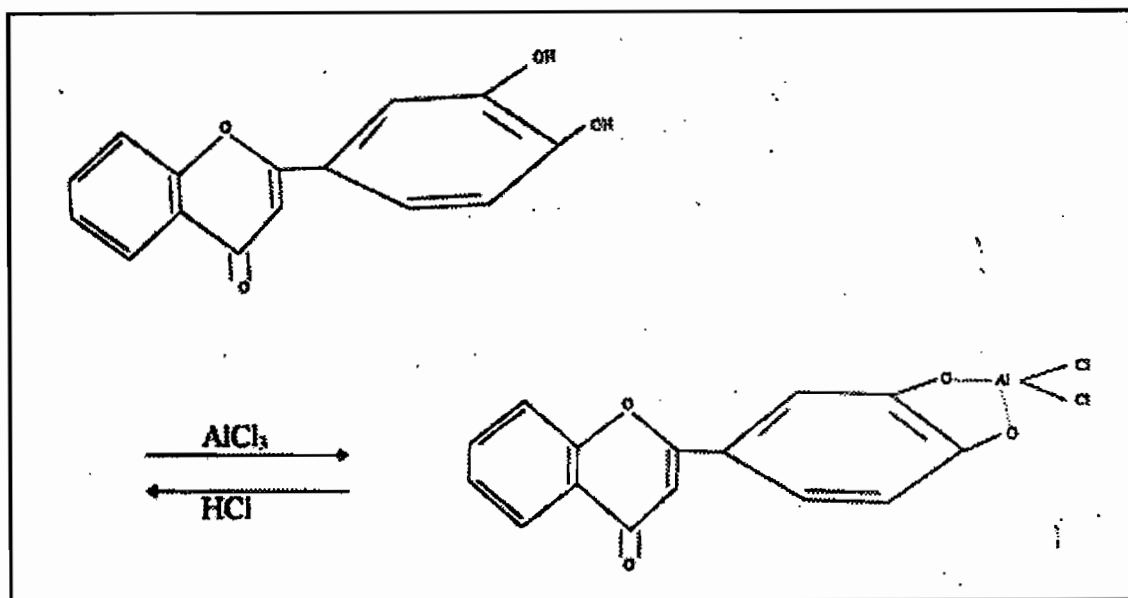
1. Détermination de la substitution de l'hydroxyle en 5 et de la présence d'un système ortho-hydroxylé sur le noyau C (6) (13)

L'addition de chlorure d'aluminium au produit dissout dans le méthanol, donne un déplacement bathochrome de l'ordre de 45nm de la bande I et également un déplacement bathochrome de la bande II, lorsque l'hydroxyle en 5 est libre. L' AlCl_3 complexe le groupe formé par le carbonyle et l'hydroxyle en 5. L'addition d' HCl ne provoque aucun effet hypsochrome par rapport au spectre dans le $\text{MeOH} + \text{AlCl}_3$.



Le chlorure d'aluminium complexe les groupements ortho-hydroxylés. Les deux bandes I et II se déplacent et il y a l'effet bathochrome.

L'addition d'acide chlorhydrique différencie ce système du système CO/OH5. En effet, il provoque un effet hypsochrome de 30 à 40nm obtenu comparativement à celui du spectre du produit réalisé en présence de AlCl_3 .



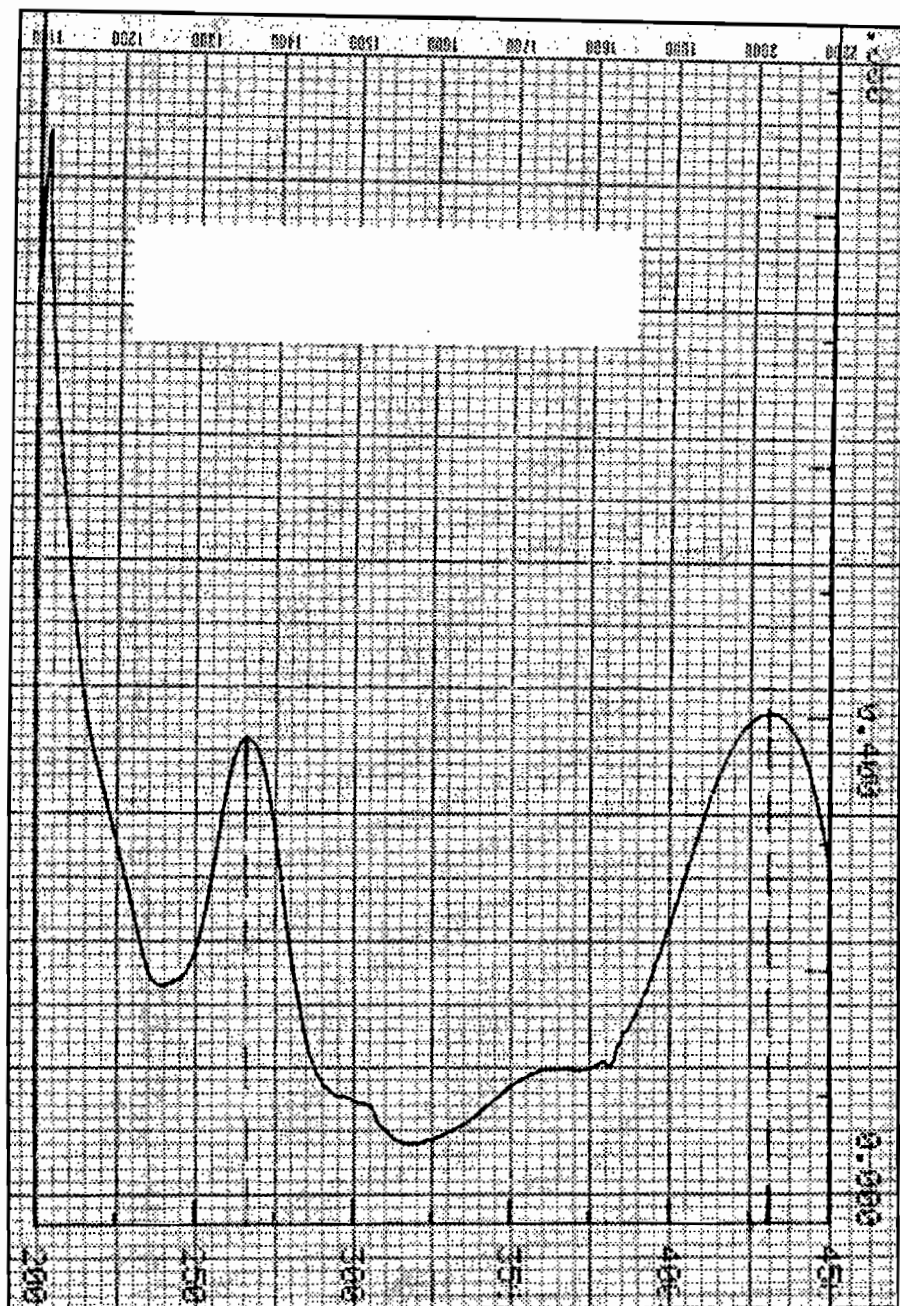


Figure n°5: Spectre UV du flavonoïde 1 dissout dans le methanol en présence du chlorure d'aluminium

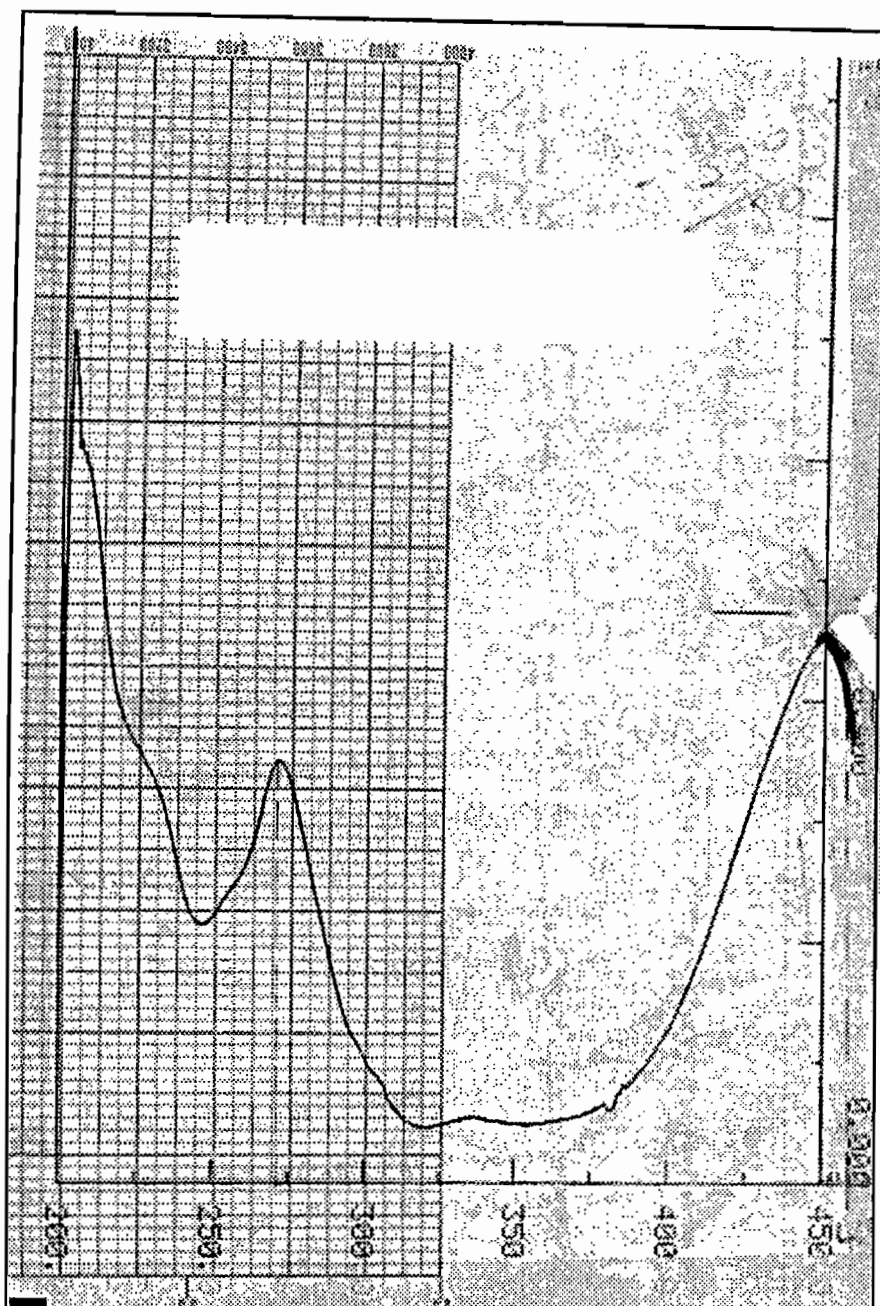


Figure n°6: Spectre UV du flavonoïde 1 dans le MeOH en présence de AlCl₃ et HCl

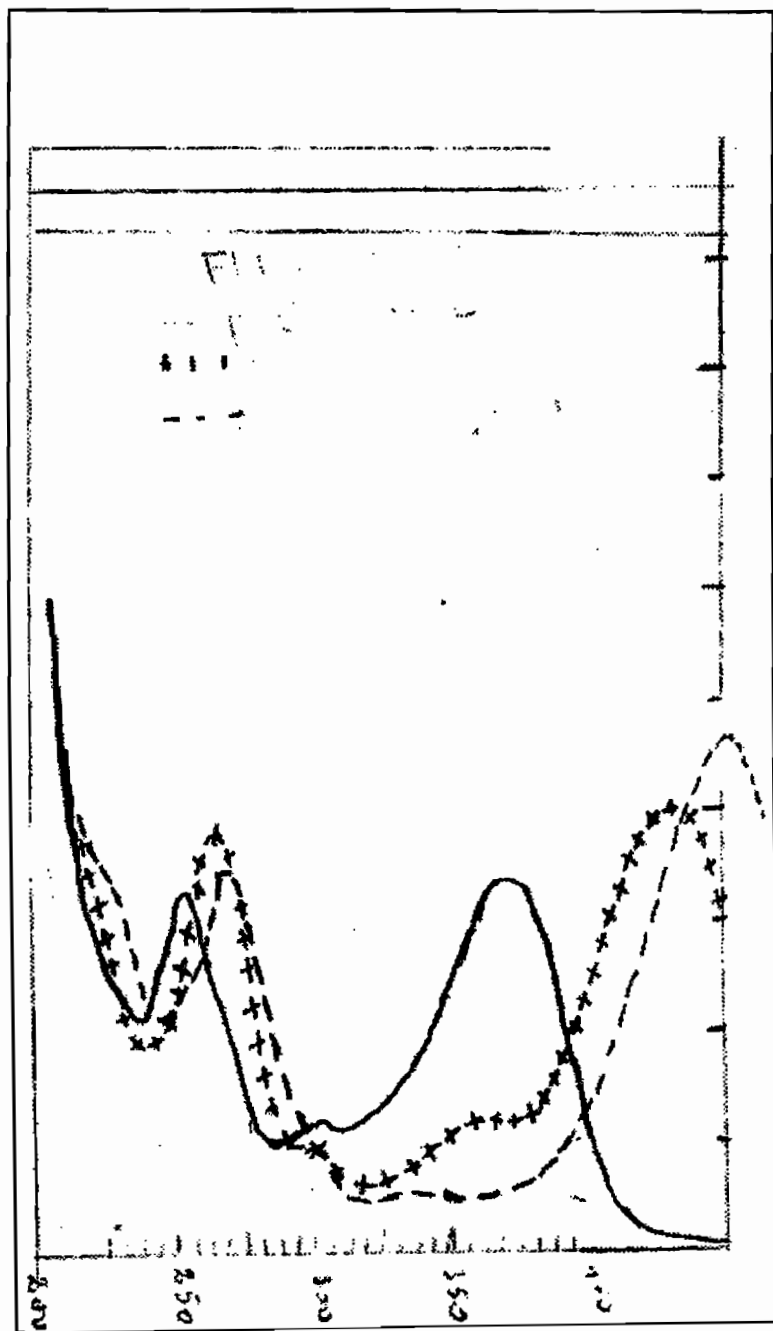


Figure n°7: Spectres UV du flavonoïde 1

- _ MeOH
- +++ MeOH + AlCl₃
- MeOH + AlCl₃ + HCl

Tableau N°5 : Les maxims et déplacements des spectres dans le MeOH et MeOH + AlCl₃

	Bande II	Bande I	Déplacement		Interprétation
			B. I	B. II	
MeOH	255	305e 370			Flavonol
MeOH + AlCl ₃	266	432	Bathochrome62	Bathochrome 11	OH libre en 5 2(OH) en 3' et 4'
MeOH + AlCl ₃ + HCl	270	450	Bathochrome 18		OH libre en 5

En présence d'AlCl₃, nous avons un déplacement bathochrome des deux bandes par rapport au spectre de produit dans le MeOH pur.

L'addition d'acide chlorhydrique provoque un déplacement bathochrome de la bande I de l'ordre de 18nm par rapport au spectre dans le MeOH +AlCl₃.

En présence d'acétate de sodium (NaOAc), l'acide borique (H₃BO₃) chélate les sites orthodihydroxylés. Dans le cas du système orthodihydroxylé, l'addition d'acide borique provoque sur la bande I, un effet bathochrome de 12 à 30 nm. (3) ; (6) ; (16) ; (19).

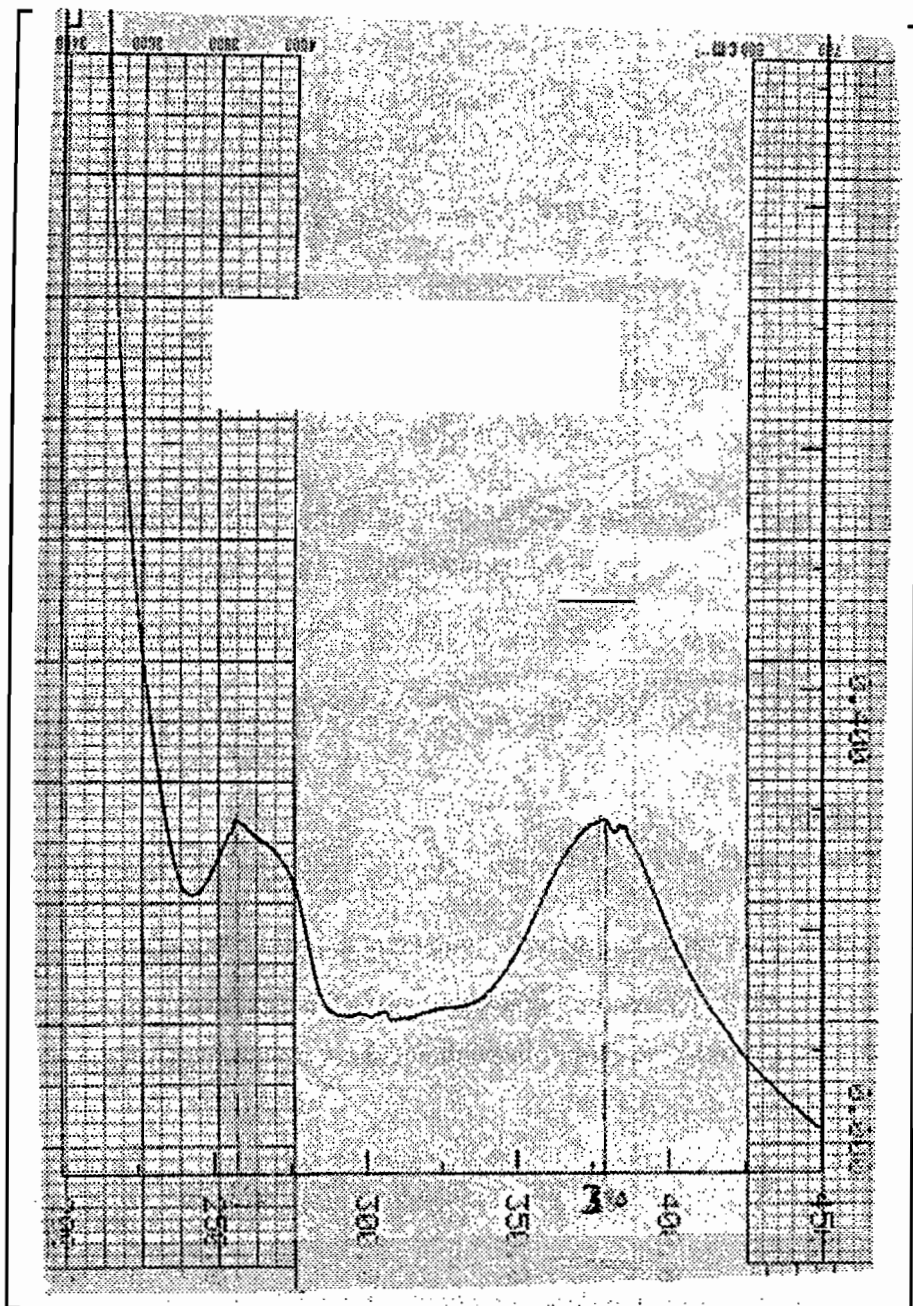


Figure n°8: Spectres UV du flavonoïde 1 dissout dans le MeOH en présence d'acetate de sodium.

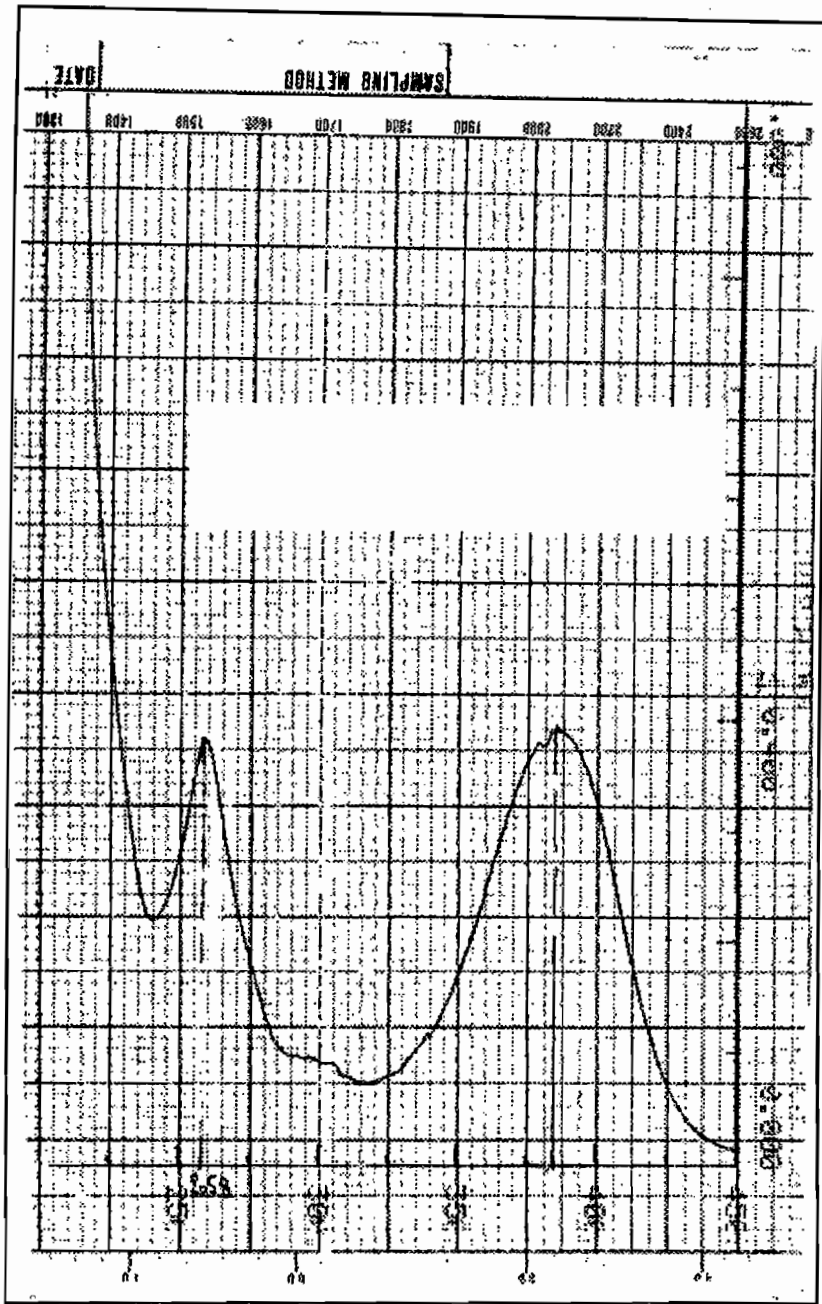


Figure n°9: Spectres UV du flavonoïde 1 dans le MeOH + NaOAc + H3BO3 (Acide borique).

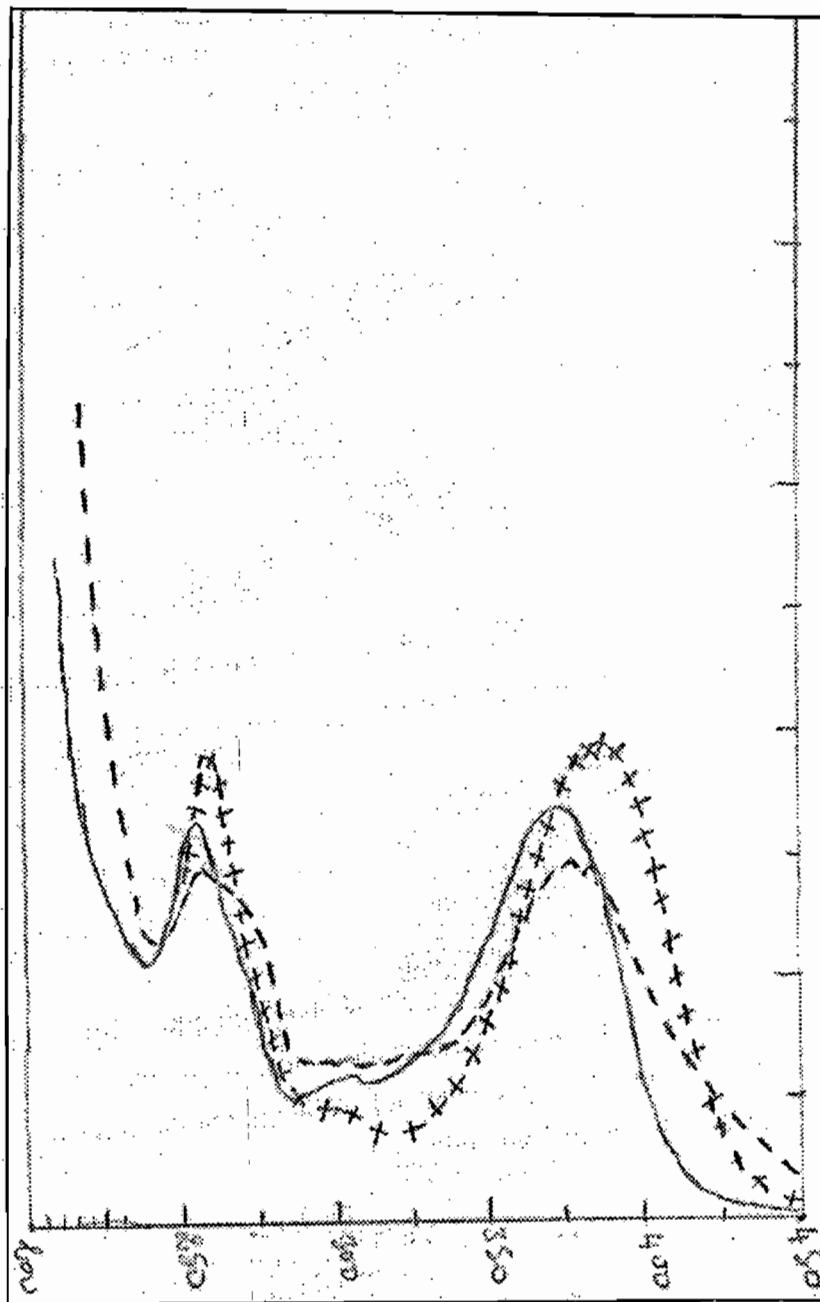


Figure n°10: Spectres UV du flavonoïde 1.

—	MeOH
- - - -	MeOH + NaOAc
+ + + + +	MeOH + NaOAc + H ₃ BO ₃

Tableau N°5 : Les maximas et déplacements des spectres dans le MeOH et MeOH + NaOAC

	Bande II	Bande I	Déplacement	
			B. I	B. II
MeOH	255,305	370		-
MeOH + NaOAC	262	380	10 nm	7 nm OH en 7
MeOH + NaOAC + H3BO3	258	386	16 nm Hydroxyles en 3' et 4'	-

L'acétate de sodium donne un déplacement bathochrome de la bande I de l'ordre de 10nm par rapport au spectre du produit dans le MeOH pur.

L'addition d'acide borique provoque un déplacement bathochrome de l'ordre de 16nm de la première bande par rapport au spectre dans le MeOH et de 7nm de la bande II par rapport au spectre dans le MeOH (OH libre en 7).

Détermination de la substitution de l'hydroxyle en 7.

L'acétate de sodium étant une base faible qui n'ionise que les groupes hydroxyles 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 20nm. (OH libre en 7). (6)

Détermination de la substitution de l'hydroxyle en 4'

La soude est une base forte ; elle ionise les groupements hydroxyles du noyau des flavonoïdes. Cependant lorsqu'on obtient un déplacement bathochrome de la bande I de l'ordre de 40 à 65nm, on peut être sûr de la présence d'un groupement hydroxyle en 4'.

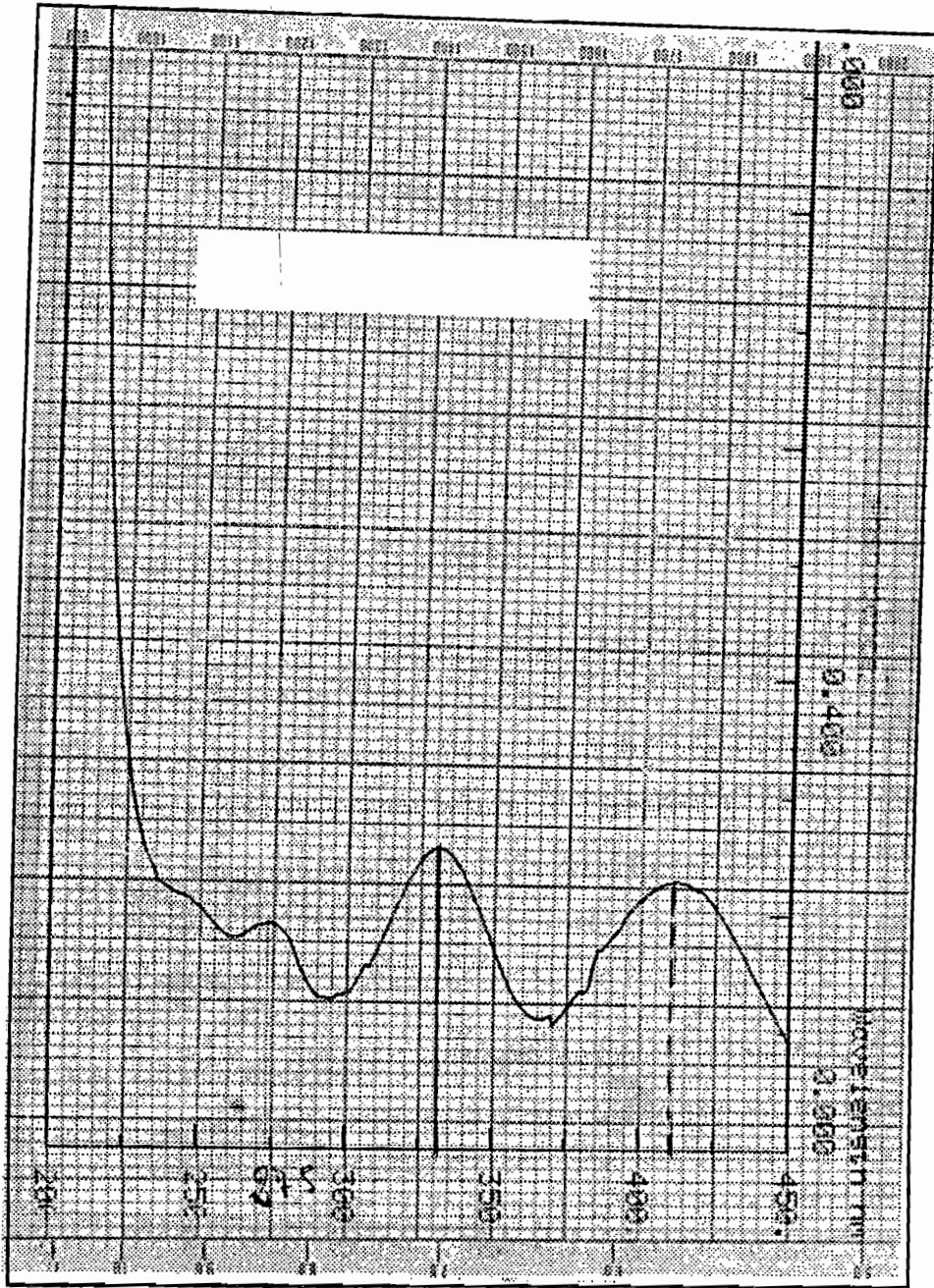


Figure n°11: Spectres UV du flavonoïde 1 dissout dans le MeOH en présence de NaOH.

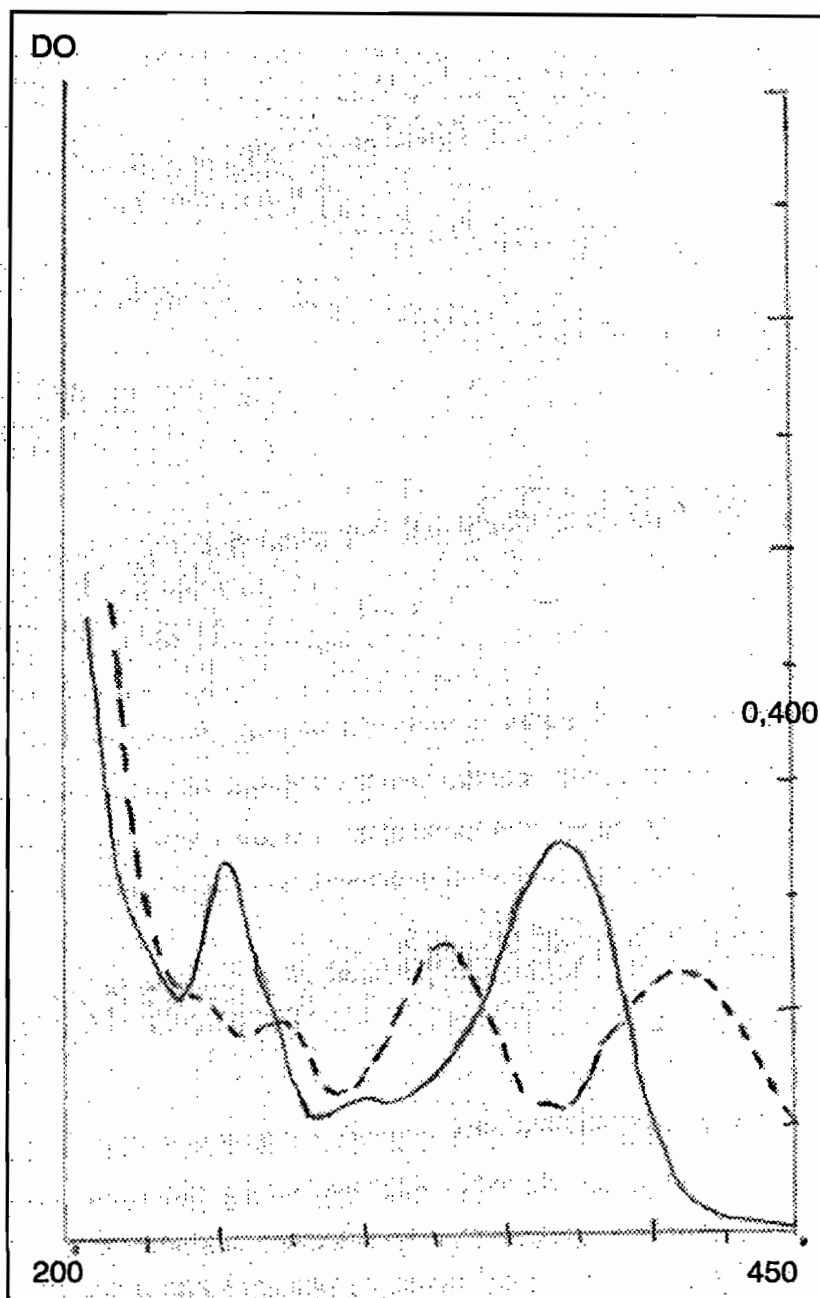


Figure n°12: Spectre UV du flavonoïde 1.

— MeOH
- - - MeOH + NaOH

Tableau N°7 : Les maxima et déplacements des spectres dans le MeOH et MeOH + NaOH.

	Bande II	Bande I	Déplacements	
			B. I	B. II
MeOH	255 305	370	-	-
MeOH + NaOH	275 330	410	40 nm OH EN 4'	20 nm 25 nm

Nous avons un déplacement bathochrome de la bande I de l'ordre de 40nm par rapport au spectre dans le MeOH pur (OH libre en 4').

Tableau N°8 : Les maxima d'absorption dans l'UV du flavonoïde 1 dissout dans le méthanol

	Bande II	Bande I	Déplacements	Interprétation
MeOH	255	370	-	Flavonol
MeOH + AlCl ₃	266	432	Bathochrome par rapport au MeOH: BI : 62 nm BII: 11 nm	OH libre en 5 OH en 3' et 4'
MeOH + AlCl ₃ + HCl	270	450	Bathochrome par rapport au MeOH + AlCl ₃ : BI : 18 nm BII: faible déplacement (4 nm)	OH libre en 5
MeOH + NaOAc	262	380	Bathochrome par rapport au MeOH: BI : 10 nm BII: 7 nm	OH libre en 7
MeOH + NaOA + H ₃ BO ₃	258	386	Bathochrome par rapport au MeOH + NaOAc de l'ordre de 16 nm	OH libre en 3' et 4'
MeOH + NaOH	275	330e - 410	Bathochrome par rapport au MeOH BI: 40 nm	OH en 4'

IV. DETERMINATION DU POURCENTAGE EN ALCALOÏDES

Prise d'essai = 3g de poudre de Glinus.

H₂SO₄ à 10% = 25ml

Eau distillée = 5ml

Mélanger et agiter avec un agitateur magnétique. Filtrer, compléter à 50ml avec de l'eau distillée. Ajouter du NH₄OH diluée au 1/2 jusqu'à PH-8-9. Extraire avec 50ml de CHCl₃ en trois fois respectivement avec 20ml, 20ml, puis 10ml. Réunir les extraits CHCl₃ dans un erlenmeyer et séché sur sulfate de sodium anhydre. Reprendre le résidu avec 50ml de CHCl₃ :

Peser une capsule vide,
Filtrer l'extrait de CHCl₃ dans la capsule,
Evaporer au B.M,
Repeser la capsule

Masse alcaloïdes = (PVcap + S)-PVcap
PVcap = Poids vide capsule
S = Poids extrait chloroforme = Masse des alcaloïdes totaux.

PVcap = 37,0634
PVcap + S = 37,0689
Masse alcaloïdes = 37,0689 - 37,0634 = 0,0055g
P.E. = Prise d'essai = 3g

$$\% \text{ Alcaloïdes} = \frac{S \times 100}{\text{P.E.}} = \frac{0,0055 \times 100}{3} =$$

0,18

CONCLUSION GENERALE

Notre travail est une contribution à l'étude botanique et phytochimique de *Glinus oppositifolius*. Après un rappel sur la systématique et la description botanique de la plante, nous avons décrit les caractères organoleptiques, macroscopiques et microscopiques de la feuille et de la tige. Cette étude a été complétée par le dosage de l'eau, des cendres et la détermination du pH en milieu aqueux. Ces paramètres permettent le contrôle de qualité de la matière première (conservation, pureté).

Avant d'entamer l'étude phytochimique, nous avons effectué des essais préliminaires qui nous ont orienté sur la recherche des flavonoïdes et des alcaloïdes.

Les flavonoïdes ont été séparés de l'extrait aqueux par le n-Butanol.

Trois composés ont été purifiés, parmi lesquels un est caractérisé par ses spectres dans l'ultraviolet et l'infrarouge et par son point de fusion. Ce flavonoïde s'apparente à la tetrahydroxy 5, 7, 4', 3' flavonol par ses spectres dans l'ultra violet et son comportement chromatographique. L'absence de témoin authentique de Quercétol empêche la confirmation de cette structure. Le spectre dans l'infra rouge présente nettement la vibration (C=O) à 1 700 cm⁻¹, caractéristique des flavones et des flavonols.

Les alcaloïdes purifiés, tous Dragendorff positifs, ont leurs maxima d'absorption à 240 ou 275 nm dans l'UV. Ils pourront être facilement retrouvés dans la poudre de *Glinus* à partir de ces valeurs et de celles des R_f en opérant dans les mêmes conditions.

Glinus oppositifolius, le "balassa" est une plante anti paludique par excellence dans les régions nord du pays.

Nous espérons que les chercheurs du DMT apporteront un jour confirmation de cette activité et identifieront les produits actifs.

Nous tenons à remercier ici la Norvège qui à travers le Programme SSE a permis cette étude. Nous espérons que ce Programme se poursuivra pour permettre le financement de la recherche sur les plantes médicinales et alimentaires du Gourma.

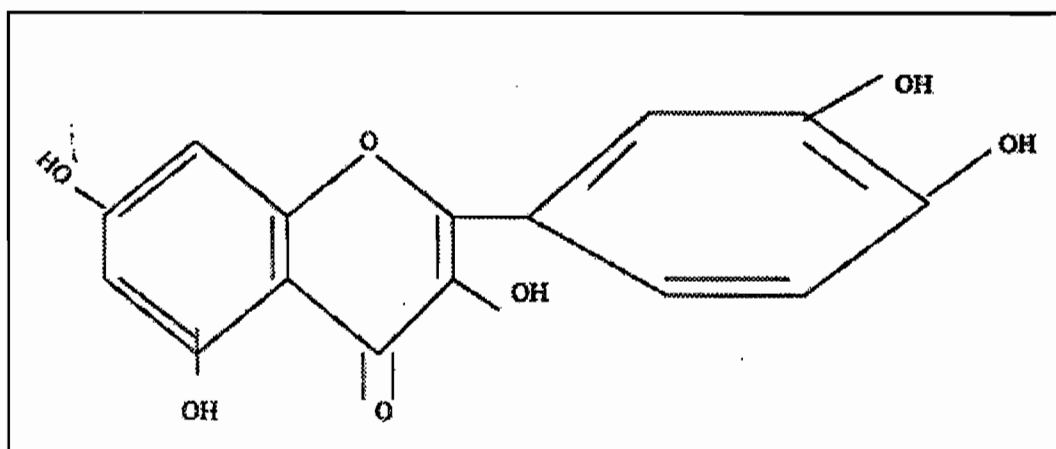
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Alassane TANGARA. 1994.
Contribution à l'étude phytochimique de *Psorospermum guineense* Hochr. (Hypericaceae).
Thèse de pharmacie.
2. Arouna KEÏTA. 1986.
Recherche phytochimique et pharmacologique sur une préparation utilisant : *Vegris heterophylla* R. let (Rutaceae) et *Cymbopogon giganteus* Chiov (Poaceae) comme anti-HTA au Mali.
Doctorat 3° cycle : Pharmacognosie : Toulouse.
3. DEYSSON G. 1971.
«Guide de travaux pratiques de botanique nouvelle édition revue et corrigée ParisV.
4. DEYSSON G. 1965.
«Elements d'anatomie des plantes vasculaires SEDES Paris V.
5. DJOMO - M. G. E. 1995.
Contribution à l'étude phytochimique de *Cymbopogon giganteus*.
CHIOV (Poaceae).
Thèse de pharmacie Mali .
6. Elsa - T. - G. 1982.
Contribution à l'étude phytochimique de *vepris heterophylla* R Let (Rutaceae).
Thèse pour le Doctorat de 3° cycle des sciences pharmaceutiques.
Toulouse - France.
7. Famille A & D. HM. Burkill.
1985.
The useful plants of west tropical africa vol.1 .
8. Flore Illustrée du Sénégal Tome VI.
9. GUIGNARD J. L. 1986.
Abrégé de botanique 6° ed. Masson.
10. HUTCHINSON J.L. 1968.
Flora of west tropical africa vol.1 1^{ere} partie.
11. JURD. L. 1962.
The chemistry of Flavonoïd compounds, éd Geissman T.A PÉrgamon Press 107.
12. KURT R. 1971.
Chromatographie sur couche mince traduit de l'allemand par Nguyen, Dantam. 2eme éd. revue et augmentée Gauthier Villars.

13. Mamadou S. 1993.
Contribution à l'étude botanique et phytochimique de *Daniella olivieri* (Rolf) Hutch et Dalz (Caesalpiniaceae).
Thèse de Pharmacie.
14. MARBRY T.J.,
MARKHAM K.R.,
THOMAS M.B. 1970.
The Systematic identification of flavonoïds, springer verlag, Berlin,
New-York .
15. P. CRETE 1965.
Précis de Botanique: Systématique des angiospermes T.2, 2^e Ed
revisée. Faculté de Pharmacie de Paris.
16. PARIS, R. M, CORNILLAUD J.
1955.
Caractérisation et dosage des dérivés flavoniques. Annales
pharmaceutiques françaises. T XIII N°3 P.P. 192 -199.
17. Pharmacopée Africaine.
1988.
Méthodes générales d'analyses 1^{ère} éd. Vol2.
18. Pharmacopée Française
1965.
8^{ème} éd.
19. PARIS, M. Janvier 1968.
Méthodes modernes d'étude des flavonosides. Application à la Salicaire.
Plantes médicinales et phytoterapie
Tome 2 N°1.
Angers-France.
20. ANGENOT L. Octobre 1969.
Etude Spectrophotometrique et chromatographique des dérivés
flavoniques et Coumariques du *solanum schimperianum* (Hochst ex.
A.Rich).
Plantes médicinales et phytothérapie .
Tome 3 N°4.
Angers-France
21. BLANS P. et De SAQUISANNES G.
Avril 1972.
Les flavonoïdes d'*Euphorbia Hirta* L.
Plantes médicinales et phytothérapie.
Tome 6 N°2.
Angers-France
22. DURET S., PARIS R. Juillet 1972.
Chimiotaxonomie des polyphénols des Apocynacées.
Plantes médicinales et phytothérapie Tome 6 N°3.
Angers-France

Conclusion :

Le FLAV 1 est une génine. Son comportement chromatographique et ses données spectrales dans l'ultra violet permettent de proposer la structure de tetrahydroxy 5,7,3',4' flavonol ou quercétol.



TETRAHYDROXY - 5, 7, 3', 4' FLAVONOL OU QUERCETOL

Dans la littérature scientifique, le Rf du quercétol dans le BAW/4-1-5 sur plaque de silice G est de 0,92 (19), (22) et (23).

Le manque de quercétol témoin ne nous permet pas de faire de co-chromatographie sur couche mince.

4.2. Spectrophotométrie dans l'Infra-Rouge

Tout composé chimique est caractérisé par un spectre infra-rouge unique (14), (19), (23).

Le domaine infrarouge du spectre électromagnétique s'étend de 4000 à 250 cm^{-1} . Toutefois les appareils utilisés pour l'identification des groupements fonctionnels couvrent la région qui s'étend de 4000 à 670 cm^{-1} .

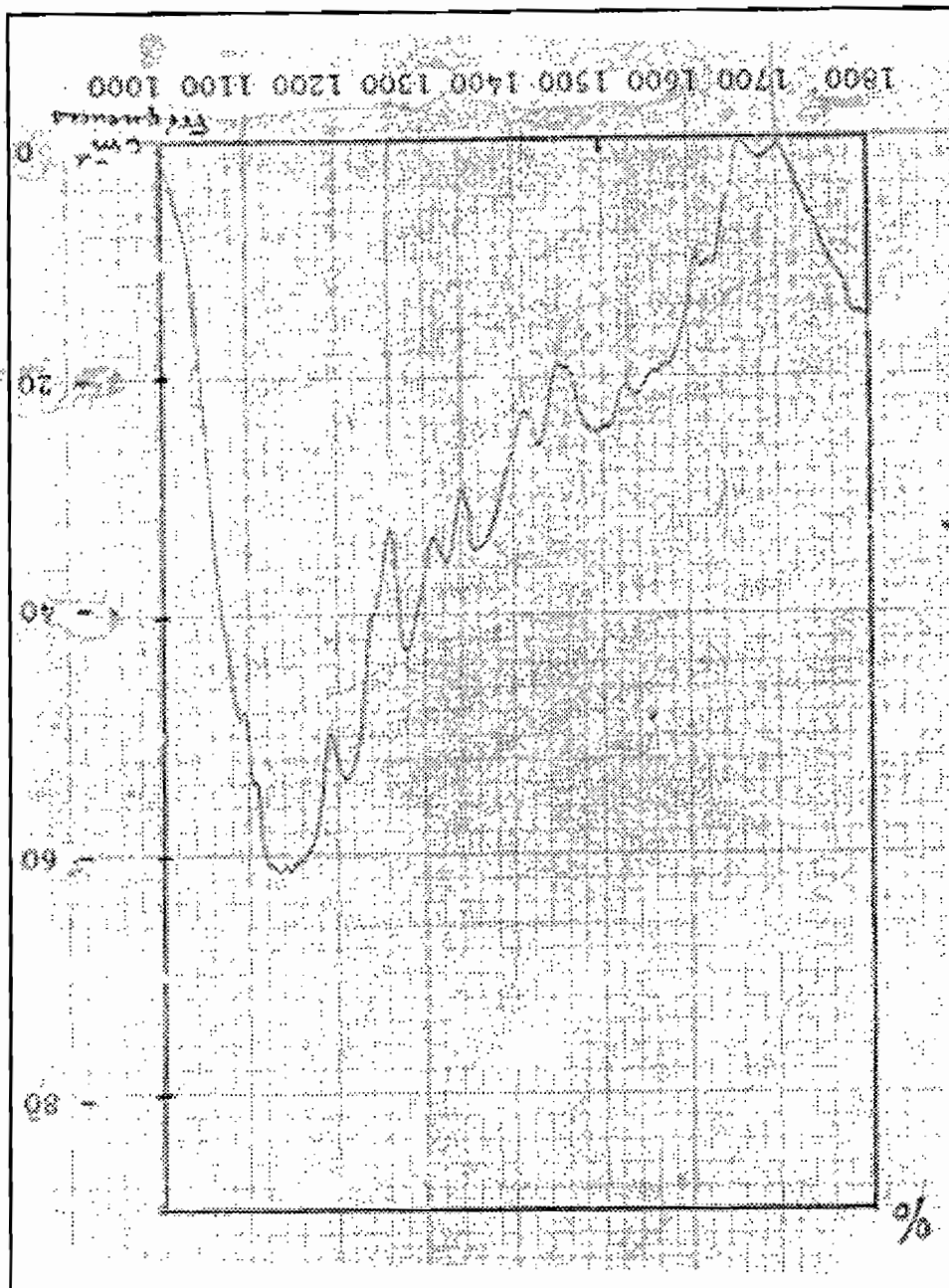
Le flavonoïde 1 est pastillé dans du KBr : la substance est traitée dans un petit mortier avec du bromure de potassium finement pulvérisé. Le mélange est soumis à une forte pression dans un moule spécial de façon à obtenir un disque translucide.

Le spectrophotomètre utilisé est un appareil de la SHIMADZU Corporation de type Chart 200-91527. Le spectre obtenu (figure n°13) porte en abscisse les fréquences de vibration et en ordonnées les pourcentages.

Les principales vibrations obtenues sont :

1700 cm^{-1} ; 1659 cm^{-1} ; 1415 cm^{-1} ; 1340 cm^{-1} ; 1310 cm^{-1} ; 1260 cm^{-1} ; 1196 cm^{-1} ; 1098 cm^{-1} .

Figure n°13: Spectre IR du flavonoïde 1.



ETUDE DES ALCALOÏDES

I. EXTRACTION - SEPARATION

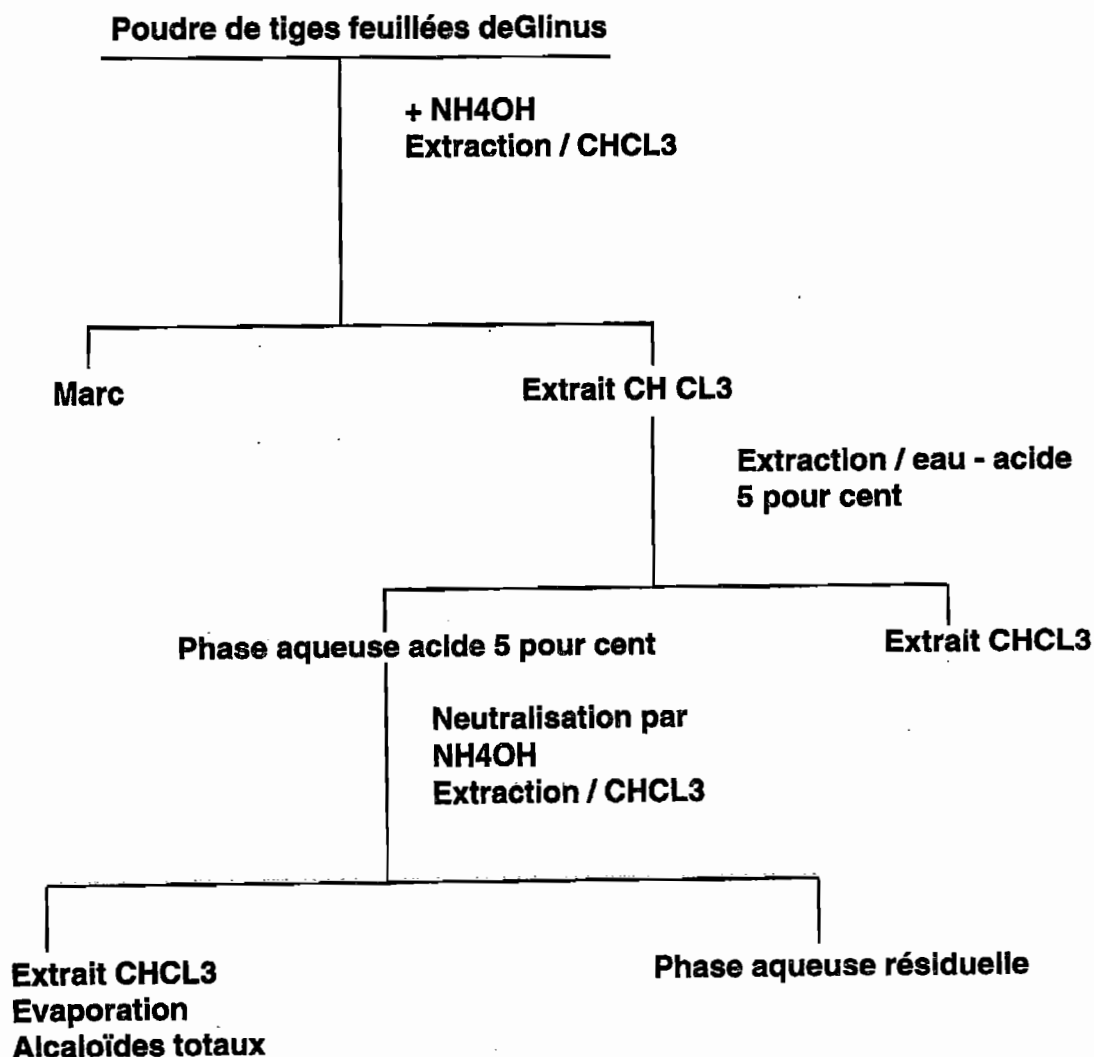
Nous avons utilisé la technique d'extraction en milieu alcalin.

La poudre de Glinus est mouillée avec de l'ammoniaque pour libérer les alcaloïdes de leurs combinaisons. Elle est ensuite épuisée par percolation avec du chloroforme. L'extrait chloroformique concentré au volume de un litre, est traité par un égal volume d'acide sulfurique à 5p.cent en ampoule à décantier (extraction - liquide - liquide).

Nous obtenons deux phases :

- une phase chloroformique et une phase aqueuse acide contenant les alcaloïdes sous forme de sels.

Cette dernière, neutralisée avec l'ammoniaque, est à nouveau épuisée par du chloroforme (extraction liquide-liquide en ampoule à décantier) ; l'évaporation à siccité du chloroforme permet d'obtenir les alcaloïdes bases totaux.



II. PURIFICATION

Pour la purification des alcaloïdes nous avons utilisé la chromatographie préparative sur plaque suivie d'une c.c.m. de contrôle.

1. Chromatographie Préparative

Support : plaque en verre de Silice G Art. 7734.

Solvant : CHCl_3 -AcO Et/9-1 (V-V).

Révélation : UV 254 nm

Après migration, les alcaloïdes apparaissent en fluorescence bleu violacé sous la lampe UV254, mais ils sont indécélabes à 366nm. Les trois (3) bandes repérées sont grattées et éluées séparément dans des burettes avec du méthanol pur. Les trois éluats sont soumis à la ccm de contrôle.

2. Chromatographie sur couche mince de contrôle

Support : plaque de silice.

Dépôt : 10 μ l.

Solvants : CHCl_3 -AcOET/9-1/v-v.

Révélation:

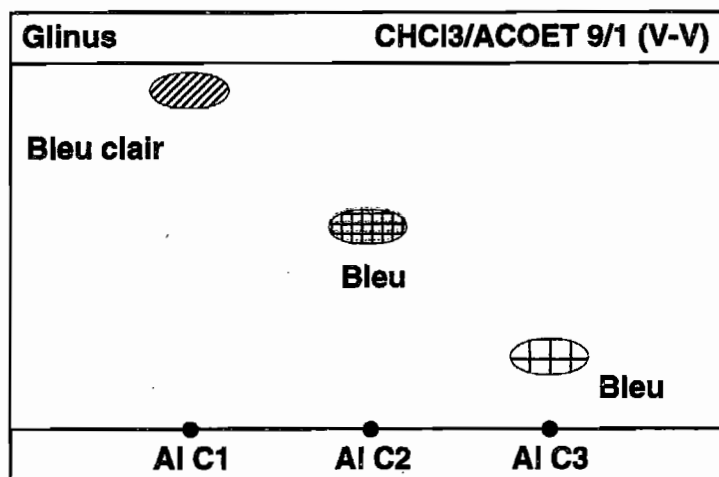
Après migration le chromatogramme laisse voir les composés sous forme de tâche violet sombre et bleu-clair à l'UV à 254nm. La pulvérisation de réactif de Dragendorff provoque un brunissement des tâches. A travers cette ccm nous avons pu calculer les Rf des trois alcaloïdes.

Alc1 : Rf=0,91

Alc2 : Rf=0,66

Alc3 : Rf=0,20

Schema du Chromatogramme des alcaloïdes de Glinus



III. IDENTIFICATION

1. Comportement chromatographique des alcaloïdes.

Désignation	Rf	Fluorescence à l'UV à 254 nm	Coloration après pulvérisation du Dragendorff
Alc1	0,91	Bleu-violacé	Brun
Alc2	0,66	Sombre	Brun-rouge
Alc3	0,20	Bleu-clair	Brun-clair

2. Spectres dans l'ultraviolet .

Nous avons réalisé les spectres U.V des alcaloïdes 1 et 2 dans le MeOH pur.

Pour l'Alc3, la quantité du produit obtenue était très faible.

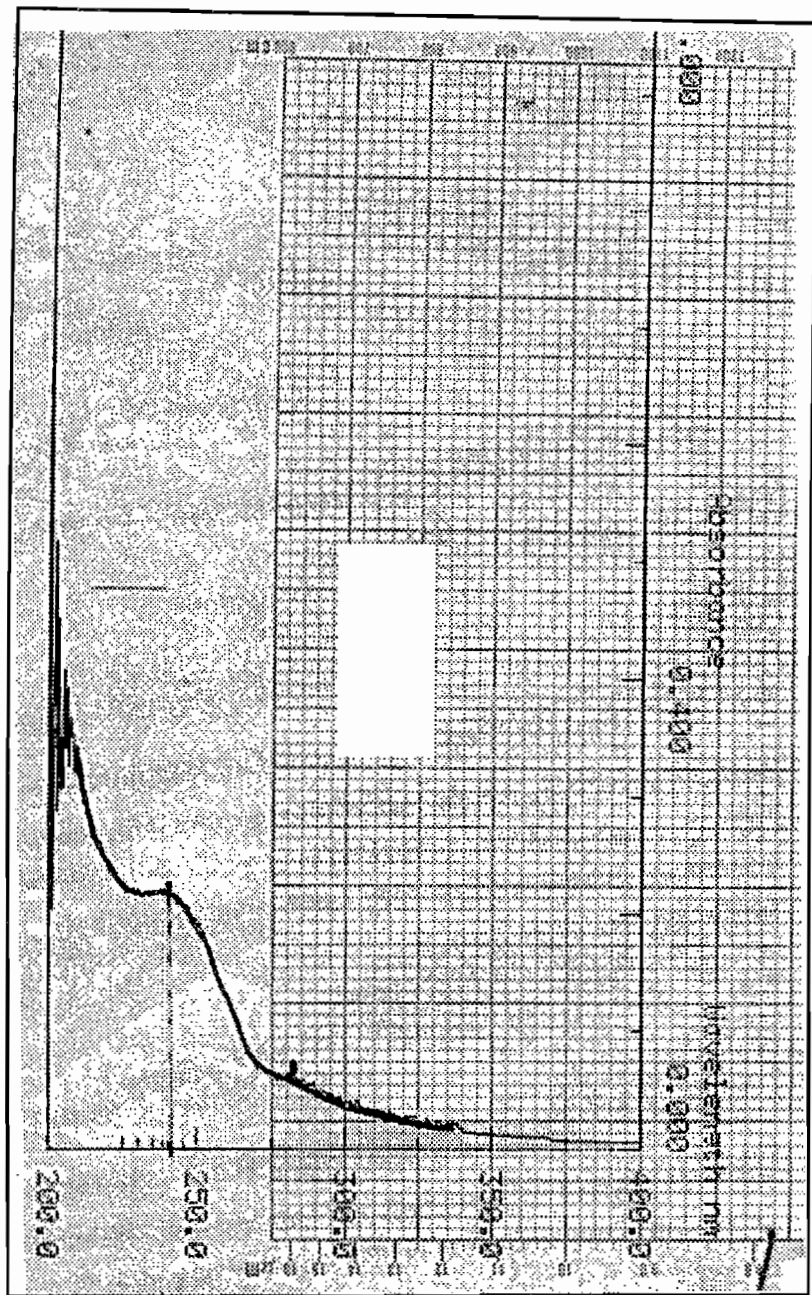


Figure n°14: Spectre UV de l'Alcaloïde 1 (dans le MeOH)
maximum = 240nm

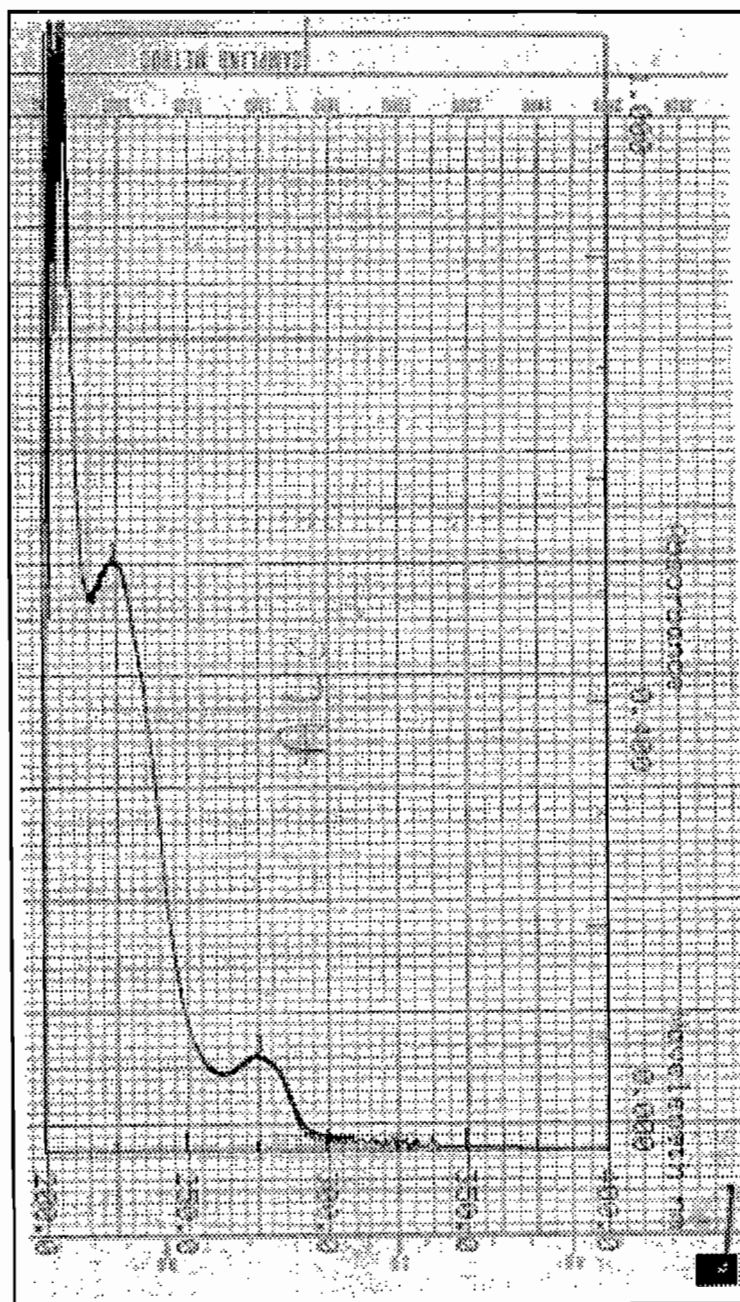


Figure n°15: Spectre UV de l'alkaloïde 2 (dans le MeOH)
maxima = 275nm, 228nm

23. RICH, L. C., NARA, T. K., GLEYE, J., LAVERGNE, E., STANISLAS E.
Avril 1977.
Flavonoïdes de Phyllanthus Niruri L. Phyllanthus urinaria L.
Phyllanthus orbiculatus .
Plantes médicinales et phytothérapie.
Tome 11 N°2.
Angers-France
24. SHIBATTA, K.
NAGAS, I. ;
KISHIDA, M. 1916.
Journ-biol-chem. 28, p. 96.
25. SILVESTEIN R.M,
BASSLER CC., 1968.
Paris.
Identification spectrométrique des composés organiques.
Masson & Cie, Gauthiers Villars.
26. STAHL E. 1974.
Analyse chromatographique et microscopique des drogues.
27. WILLSTAETTER, R.;
EVEREST A.E. 1913.
Ann. chem, 401, p 189.

Nom : TOURE
Prénom : Henda
Titre de la Thèse : Contribution à l'étude phytochimique de *Glinus oppositifolius* (Linn) A.DC.(Molulluginaceae).
Année : 1995-1996
Ville de la soutenance : Bamako
Pays d'origine : Mali
Lieu de dépôt : Bibliothèque Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie
Secteur d'intérêt : Médecine Traditionnelle

Résumé : Notre travail a porté sur l'étude phytochimique d'une Molluginaceae, *Glinus oppositifolius* (Linn) A.DC..

Plante des régions prédésertiques qui est a la fois alimentaire et médicinale. Des constituants chimiques ont été identifiés à partir de la poudre de plante entière, parmi lesquels les flavonoïdes et les alcaloïdes.

L'études des flavonoïdes à partir de l'extrait butanolique à permi la purificatio de trois composés dont un est identifié comme appartenant à la classe des flavonols. Il à été caractérisé par son spectre dans l'ultratviolet et dans l'infra-rouge. Pour les alcaloïdes l'extraction et la purification ont donné trois composés dont deux ont été caractérisés par leur spectre dans l'UV.

Mots - clés : *Glinus oppositifolius* Flavonoïdes alcaloïdes

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 couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

ABREVIATIONS

D.M.T.:	Département Médecine Traditionnelle.
ENMP:	Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie
Fig :	Figure.
INRSP:	Institut National de Recherche en Santé Public.
ml:	Millilitre.
N°:	Numéro.
P/V:	Poids pour volume.
V/V:	Volume pour volume.
%:	Pourcentage.
g:	Gramme.
mn:	Minute.
°C:	Dégré celsius.
h:	Heure.
HCl:	Acide Chlorhydrique.
H ₂ SO ₄ :	Acide sulfurique.
ISFRA:	Institut Supérieur de Formation et de Recherche Appliquées.
ccm:	Chromatographie sur couche mince.
μl:	Microlitre.
Rf:	Rapport frontal.
nm:	Nanomètre.
IR:	Infra-rouge.
BAW:	Butanol - Acide acétique - Eau.
U.V. :	Ultra - violet.
V :	Volume.

NH₄OH:	Ammoniaque.
CHCl₃:	Chloroforme.
BUOH:	Butanol.
NaOAc:	Acétate de sodium.
NaOH:	Soude.
H₃BO₃:	Acide borique.
C à S:	Cuillère à soupe.
MT:	Masse totale.
BM:	Bain Marie.
AcOET:	Acétate d'éthyle.

SOMMAIRE

DEDICACE	3
REMERCIEMENTS AUX MEMBRES DU JURY	6
INTRODUCTION	8
PREMIERE PARTIE : TRAVAUX ANTERIEURS	9
CHAPITRE I. : BOTANIQUE	10
A. Position dans la systématique	10
B. Description	10
C. Habitat	12
D. Synonymies	13
E. Noms vernaculaires	13
CHAPITRE II : UTILISATIONS EN MEDECINE TRADITIONNELLE	14
A. Appareil digestif	14
B. Symptômes particuliers	14
C. Paludisme	14
CHAPITRE III : CHIMIE - PHARMACOLOGIE	16
DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX PERSONNELS	17
CHAPITRE I : CONTROLE DE QUALITE DE LA DROGUE	18
A. Identité de la drogue	18
B. Teneur en eau	21
C. Pureté de la drogue	25
D. Détermination du pH	27
	70

CHAPITRE II : ETUDES PHYTOCHIMIQUES	29
ESSAIS CHIMIQUES PRELIMINAIRES	29
A. Préparation des extraits	29
B. Etude des extraits	29
C. Conclusion	30
ETUDE DES FLAVONOIDES	31
I. Extraction	31
II. Séparation	32
III. Purification	35
IV. Identification	37
ETUDE DES ALCALOIDES	56
I. Extraction - Séparation	56
II. Purification	57
III. Identification	58
IV. Détermination du pourcentage en alcaloïdes	61
CONCLUSION GENERALE	62
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	63
ABREVIATIONS	68