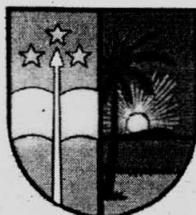


**UNIVERSITE DE KISANGANI**

**FACULTE DES SCIENCES**



**EXTRACTION DE QUELQUES PRINCIPES ACTIFS  
MAJEURS DES PLANTES MEDICINALES DE LA  
FAMILLE DE RUBIACEA**

*Par*

***Faustin ETUTU KALOME***

Mémoire présenté pour l'obtention de  
DEA en Gestion de la Biodiversité  
Promoteur : P.O. Dr. MBUYI MUSANGU  
Co-promoteur : P.O. Dr. NDJELE MIANDA

**ANNEE ACADEMIQUE : 2006-2007**

## **DEDICACE**

Louange et gloire à Dieu qui nous a permis de réaliser ce travail.

Je dédie ce travail à :

A ma mère Basua Bakowanga Marcelline, que tes sacrifices, peines et tes privations trouvent à travers ces lignes la récompense de ton travail, puisse le tout puissant nous accorder de t'avoir encore longtemps afin que tu puisses bénéficier du fruit que tu as si jalousement protégé et entretenu en dépit de ton état de santé que tu n'avais jamais épargné pour t'exposer aux différents marchés de Kisangani ;

A mon épouse Françoise Etutu Lemama,

A mes enfants : Dorcas, Deo Gracias, Siméon et Marc Etutu

## REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail qui marque la fin de notre formation en gestion de la biodiversité, qu'il nous soit permis de présenter nos vifs remerciements et de témoigner notre profonde gratitude à toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

Nous pensons au professeur Mbuyi Musangu notre référence dans le domaine de la chimie pour avoir accepté de diriger ce travail en dépit de ses multiples occupations.

Les moments de propices que nous avons passés ensemble resteront profondément graver dans notre mémoire.

Nous présentons tous nos remerciements les plus sincères au professeur Ndjele Mianda Co-Directeur de ce travail et initiateur de projet D.E.A. dans notre faculté.

Nous remercions infiniment la C.T.B. pour l'important moyen financier mis à notre disposition, moyen qui a rendu possible la réalisation de ce travail.

Que tous les éminents professeurs belges et congolais qui ont contribué à notre formation trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude.

Nous profitons également de cette occasion pour remercier sincèrement nos collègues d'auditoire pour la parfaite collaboration durant notre formation, mention spéciale à Lokoka qui nous a aidé à comprendre les rubiacées.

Le réconfort moral et les encouragements de mes collègues C.T. BAMAWA, CT BOKOTA et de notre département de chimie nous ont

permis de tenir bon jusqu'à la réalisation de ce travail, nos remerciements s'adressent aussi à eux.

Nous pensons à notre épouse Françoise Etutu et la remercions infiniment pour son aide combien louable qui nous a permis d'avoir en un temps record les poudres de notre travail.

Enfin, nous présentons nos remerciements à notre frère Demu Botowamungu pour sa contribution financière et morale lors de la réalisation de ce travail.

## RESUME

Le screening phytochimique et la détection des ions toxiques ont été effectués sur les écorces de racines, les écorces de tige ou les feuilles de 11 plantes de la famille de Rubiaceae et les principes actifs majeurs ont été extraits.

Les alcaloïdes ont été décelés dans tous les organes d'*O. unilocularis*, les écorces de tige de *P. ealaensis* et les écorces de racine de *Psychotria mongandjensis*. Les saponines sont présents dans *Mitragyna stipulosa*, *Mitracarpus scaber*, *Canthium vulgare* et *Canthium dewevrei*, *Morinda morindoides*, *Aidia micrantha* et dans les feuilles de *Psychotria mongandjensis*. Une seule plante est dépourvue de tanins (*P. ealaensis*). Nos analyses ont permis de déceler la présence de flavonoïdes dans les feuilles de *Craterispermum cerinanthum* et l'absence de quinones, de terpènes et de stérols dans tous ses organes. Les flavonoïdes ont été détectés dans *M. scaber*, *M. morindoïdes*, *A. micrantha* et dans les échantillons de *C. vulgare* alors que la présence de quinones a été signalée uniquement dans les deux espèces de *Canthium*, dans *M. scaber* et dans les feuilles de *P. mongandjensis*. Les terpènes et les stérols sont uniquement présents dans les feuilles de *M. morindoïdes* et *A. micrantha*.

Les nitrates sont présents dans *P. ealaensis* et les oxalates uniquement dans *P. vogeliana* et les feuilles de *M. morindoïdes*.

Toutes les espèces contiennent les ions nitrites, sauf *C. cerinanthum*, *C. vulgare*, *P. ealaensis* et *M. morindoïdes* ; les cyanures sont totalement absents.

L'extraction de tannins a donné les résultats suivants : *M. scaber* (17%), *M. sipulosa* (13,2%), *C. cerinathum* (22%), *M. morindoïdes* (17, 31%).

Les teneurs en alcaloïdes des feuilles, écorces de tronc et de racine de *O. unilocularis* sont respectivement 2%, 4,6% et 5,8% ; celles des écorces de tronc de *P. mongandjensis* et de racines *P. ealaensis* sont de 5% et 3,6%. *C. dewevrei* contient 0,12% de quinones, 2,8% de saponines et 5,35% de sapogénines de nature triterpénoides ; *M. scaber* contient 2,3% de saponines.

## SUMMARY

The phytochemical screening and detection of toxic ions have been made on the bark of roots, barks stem or leaves of 11 plants of the family Rubiaceae and major active ingredients have been extracted.

The alkaloids have been detected in all organs *O. unilocularis*, peel rod *P. ealaensis* bark and root *Psychotria mongandjensis*. Saponins are present in *Mitragyna stipulosa*, *Mitracarpus scaber*, *Canthium vulgare* and *Canthium dewevrei*, *Morinda morindoides*, *Aidia micrantha* and in the leaves of *Psychotria mongandjensis*. A single plant is devoid of tannins (*P. ealaensis*).

Our analysis revealed the presence of flavonoids in the leaves of *Craterispermum cerinanthum* and lack of quinones, terpenes and sterols in all its organs. Flavonoids have been detected in *M. scaber*, *M. morindoides*, *A. micrantha* and in samples of *C. vulgare* while the presence of quinones has been reported only in two species of *Canthium*, in *M. scaber* and leaves *P. mongandjensis*. The terpenes and sterols are only present in the leaves of *M. morindoides* and *A. micrantha*.

The nitrates are present in *P. ealaensis* and oxalates only to *P. vogeliana* and leaves *M. morindoides*.

All species contain nitrites ions, except *C. cerinanthum*, *C. vulgare*, *P. ealaensis* and *M. morindoides*; cyanide are totally absent.

The extraction of tannins gave the following results: *M. scaber* (17%), *M. stipulosa* (13.2%), *C. cerinanthum* (22%), *M. morindoides* (17, 31%).

The levels of alkaloids leaves, bark of the trunk and root *O. unilocularis* are respectively 2%, 4.6% and 5.8%; those bark of the trunk of *P. mongandjensis* and roots *P. ealaensis* are 5% and 3.6%. *C. dewevrei* contains quinones 0.12%, 2.8% and 5.35% saponins of sapogénines likely triterpénoides; *M. scaber* contains 2.3% saponin.

## INTRODUCTION

### 1. PROBLEMATIQUE

Les végétaux ont toujours été utilisés par l'homme dans l'alimentation, les soins médicaux ou la construction.

Ces végétaux renferment de nombreuses substances naturelles qui constituent une source des éléments utiles en thérapeutique.

Selon, l'OMS, environ 80% de la population mondiale dépendent de plantes médicinales pour leurs besoins de santé, et plus de 30% des produits pharmaceutiques proviennent de plantes. (Shinwari et Makhan, 1998).

La plupart de ces substances se trouvent dans les forêts tropicales africaines.

En effet, 30000 espèces végétales ont été inventoriées et seraient utilisées à des fins thérapeutiques par les populations indigènes.

Aujourd'hui avec la croissance démographique et surtout l'exploitation de la forêt par de sociétés étrangères, la déforestation prend des allures inquiétantes et peut à la longue compromettre de façon de façon irréparable la biodiversité de nos forêts.

La forêt tropicale africaine en général, et, en particulier celle de la RDC, renferme de nombreuses essences à vertu médicinale qui demeurent inexploitées voire inconnues. D'ou l'importance de l'analyse chimique qui a permis depuis de siècles d'isoler et d'identifier des substances telles les alcaloïdes, saponines, . . . retrouvées dans les plantes alors que la population utilisait depuis de millénaire comme remède et qui a permis aussi de réduire de risques liés à leur consommation.

Les ethnobotanistes sont constamment à la recherche de nouvelles plantes encore inconnues, particulièrement dans les forêts tropicales, en

constante diminution, avec l'espoir de trouver de nouvelles sources de principes actifs qui puissent intervenir dans les traitements de maladies modernes comme le sida, le cancer, l'hépatite. (William Johnson, 2003) Ceci rejoint notre préoccupation car, comme le souligne Fouché et al (2000), la destruction sauvage des forêts équatoriales nous privera d'une source intarissable de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de nouveaux médicaments.

La famille de rubiacée regorge de nombreuses plantes médicinales importantes parmi lesquelles nous pouvons citer le quinquina.

Or depuis la découverte de la quinine, aucune plante de la forêt humide n' avait suscité d' autant d'intérêt de la part de scientifiques que *Uncaria tomentosa*, plante de la famille de rubiacée. En effet, l'O.M.S. a organisé en 1994 la première réunion sur cette plante dont les bienfaits ont été unanimement reconnus. Six de ces alcaloïdes sont capables de guérir l'immunité([wikipedia.org/wiki/uncaria tomentosa](http://wikipedia.org/wiki/uncaria_tomentosa) ).

Notre pays recèle de nombreuses plantes de la famille de Rubiacée n'ayant pas encore fait l'objet des études approfondies et dont la disparition sera un préjudice non seulement pour notre pays mais aussi pour toute l'humanité.

## **2. HYPOTHESES**

L'action curative d'une plante est due principalement aux substances curatives contenues dans une plante.

Les plantes retenues dans cette étude sont utilisées pour soigner certaines maladies .Ce qui suppose que ces plantes renferment les principes actifs.

### 3. OBJECTIFS ET INTERETS

Nous nous sommes fixés comme tâche d'étudier les groupes phytochimiques les plus représentatifs de plantes de la famille de Rubiacée et de voir la présence des ions toxiques dont la présence peut préjudicier la santé des consommateurs.

La plupart de ces substances comme les alcaloïdes, les tannins sont utilisés en médecine et dans certaines industries. La connaissance de ces substances permettront de rationaliser l'exploitation de certaines essences et aussi de les inclure dans les transactions commerciales comme quinquina, le *Paunisystalia yohimbe* etc.

## **CHAPITRE PREMIER : GENERALITES**

### **1.1. GENERALITES SUR LA FAMILLE DE RUBIACEAE**

C'est une famille essentiellement tropicale mais atteignant les régions tempérées et même l'arctique. Elle comprend 500 genres et 6000 espèces dont la répartition en sous famille pose encore des problèmes fondamentaux.

Cette famille comprend des arbres, des arbustes, des herbes, des lianes ou des épiphytes à feuilles opposées, décussées, parfois verticillées, simples généralement entières, stipulées à stipules interpétiolaires ou intrapétiolaires, libres ou soudées et alors formant une gaine.

L'inflorescence est cimeuse avec des fleurs actinomorphes, épigynes. Les fleurs sont pentamères ou tétramère, petites et régulières. L'ovaire est infère et la graine est albuminée. (Chalandre, 2000)

#### **1.1.1. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE**

Famille cosmopolite, mais diversifiée dans les régions tropicales et subtropicales.

En Afrique tropicale, elle présente une grande importance phytogéographique car on y trouve de très nombreux arbustes et arbres des forêts ombrophiles, forêts claires et des savanes, suffrutex rhizomateux des steppes (NYAKABWA, 2006).

#### **1.1.2. IMPORTANCE ECONOMIQUE**

La famille de Rubiaceae a une importance économique considérable. Parmi les produits utiles qu'elle fournit, figurent des teintures et certains médicaments comme la quinine utilisée contre la malaria, et l'ipéca comme vomitif.

### 1.1.3. DESCRIPTION DES ESPECES ETUDIEES

#### 1. *Aidia micrantha*(K. Schum) F.White var *Congolana*(LOKOKA,2007)

Arbuste forestier, atteignant 6-9 m de haut ; rameaux glabres. Les feuilles sont opposées, simples, pétiolées ; stipules triangulaires, subulées au sommet ; limbe foliaire glabre, elliptique, de 10-16(-18) cm de long et 3-7cm de large, cunée à la base, acuminée au sommet, penninerve, à 6-8 paires de nervures latérales.

Fleurs pentamères, pédicillées, groupées en cymes latérales ; corolle tubuleuse ; lobes corollins 5 de 3-8mm de long, blancs ou jaunâtres, gorge de corolle longuement poilue.

Fruits globuleux, atteignant 8mm de diamètre, surmontés d'une cicatrice circulaire calycinale.

Nom vernaculaire : Botitinu boneni(Turumbu)

Usage : utiliser contre l'impuissance sexuelle et dans le piège.

#### 2. *Canthium dewevrei* De Wild.

Arbustes de 5-6mètres de haut, nombreux rameaux ; petites feuilles charnues vertes nigriscentes à sec; ombreux. Petits fruits globuleux.

Usage : La macération alcoolique (vin de palme) des racines ou des tiges fendues ou coupées est prescrite per os pour soigner l'impuissance érectile (WOME ,1985).

Nom vernaculaire : Botele bo lokonda (TURUMBU)

#### 3. *Canthium vulgare*

Usage : La calcination de 10g des feuilles produits de cendres qui sont mélangés avec deux cuillères à soupe d'huile de palme et qui seront

appliquées sur l'abcès afin de favoriser sa crevaison. (Kalanda et al, 1993)

Nom vernaculaire : Ekake (Turumbu et Lokele), Eke (Bambole)

#### 4. *Morinda morindoides* BAK. Milne-Rhed

Liane s'élevant jusqu'à 10m de haut dans les arbres voisins, largement répandue dans les galeries forestières, dans les forêts secondaires et dégradées.

Usage :

Les décoctions à base de feuilles sont utilisées pour :

- le traitement du paludisme et de la lombalgie,
- l'asthénie, les algies, les états fébriles et les verminoses et aussi dans le traitement du diabète (en association avec l'écorce de *Mangifera indica* et les feuilles de *Tetracera poggei*) (MABIKA, 1983)
- l'impuissance sexuelle (avec les feuilles de *Tetracera poggei* et de *Harungana madagascariensis* (MABIKA, 1983).

Nom vernaculaire : kongo bololo (lingala).

#### 5. Les Psychotries (LOKOKA, 2007).

##### *Psychotria ealaensis*

Liane héliophile étayée, de la grosseur du pouce et de 3 mètres de haut. Rameaux verts et luisants. Feuilles luisantes sur les deux purpurins. Inflorescences terminales en cymes corymbiformes. Boutons floraux bruns. Fleurs inodores de couleur verte, à lobes étalés en étoiles mastic teintées d'olivâtre un peu épais, à gorge densément pileuse gris-perle.

Nom vernaculaire : Ekase lo nenu (Turumbu).

##### *Psychotria vogelianna* Benth.

Arbuste forestier atteignant 5m de haut. Feuilles opposées, simples, pétiolées ; stipules ovales, bifides au sommet, atteignant 12cm de long ; limbe foliaire obovale oblancéolé ou elliptique, de 6-25cm de long et 2-12cm de large, cunée à la base, acuminé au sommet, pubescent roux en dessous, penninerve, à 7-17paires de nervures latérales. Fleurs 5-mères, hétéro styles, sessiles, groupées en capitules réunis en inflorescences paniculiformes ; corolle blanche, à tube atteignant 6mm de long, 5-lobée. Fruits drupacés atteignant 8mm de long, glabres, 2-séminés.

Nom vernaculaire : Likoke li kikerekena (TURUMBU)

#### 6. *Mitragyna stipulosa*.

Espèce ligneuse très commune en région tropicale humide, c'est un arbre de la forêt dense africaine en stations marécageuses et riveraines. Les grandes feuilles, elliptiques, arrondies à leur base atteignent 30 cm de long pour une largeur de 15 cm de large.

Les fleurs constituent des têtes assez discrètes (de 2 cm de diamètre environ) ; regroupés en panicules. (Boullard ,2001).

*Hallea stipulosa* est utilisé pour la fabrication de contre-plaqués, de baguettes, de moulures et en menuiserie intérieure. (Malaisse, 1997)

USAGE : Si l'on tient son écorce pour antidysentérique, emménagogue et fébrifuge au Gabon, on a contrôlé en hôpital au Gabon et au Mali la propriété anthelminthique de ce *Mitragyna* (efficace une fois sur deux) (Boullard ,2001).

#### 7. *Craterispemum cerinanthumum* Hiern (Syn : *C brachynematum* HIERN)

Usage : La décoction aqueuse des écorces de tronc est prescrite per os afin de guérir la constipation.

Les râpures internes des écorces de tronc sont consommées avec le manioc cru pour stimuler la lactation.

Les feuilles sèches ou les écorces de racine réduites en poudre sont mises sur les plaies comme vulnéraire (WOME, 1985).

Les écorces fraîches de tronc sont consommées crues également pour corriger le dysfonctionnement érectile.

#### 8. *Oxyanthus unilocularis*.

Arbuste à petit arbre, forestier, pouvant atteindre 8 m de haut ; rameaux quadrangulaires, creux, pubescents.

Feuilles opposées, courtement pétiolées ; limbe largement ovale elliptique ou elliptique obovale ; atteignant 60cm de long et 40cm de large, cordé et en général asymétrique à la base, acuminé au sommet, hispide à l'état jeune et souvent gaufré ; stipules ovales, atteignant 2cm de long.

Fleurs 5-mères, blanches ; calice à lobes subulés, atteignant 9 mm de long ; corolle à tube atteignant 20cm de long.

Fruits drupacés, largement ellipsoïdaux à subglobuleux, atteignant 3cm de long.

Nom vernaculaire : Likwamoko (Turumbu).

Usage : Les Monzombo utilisent les feuilles de cette plante pour stimuler la sécrétion de lait chez les femmes qui viennent d'accoucher. Un plat de feuilles coupées en petits morceaux, préparés avec de bananes à cuire.

Cette préparation doit bouillir très longtemps avant d'être consommée (Motte et al, 1982).

## **1.2. LES GROUPES PHYCHIMIQUES**

### **1.2.1. LES ALCALOÏDES**

#### **1.2.1.1. DEFINITION**

Les alcaloïdes constituent une classe de substances organiques, qui, outre le carbone et l'hydrogène renferme toujours l'azote, l'élément caractéristique. La presque totalité d'entre eux contient en plus de l'oxygène et d'une manière exceptionnelle, du soufre.

#### **1.2.1.2. PROPRIETE DES ALCALOÏDES**

La présence dans la molécule des alcaloïdes d'une molécule d'azote leur confère une basicité, ils se comportent de véritables alcalis.

Les alcaloïdes sont habituellement insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques, l'alcool, chloroforme, éther etc. ... tandis que leurs sels sont insolubles dans les solvants organiques et solubles dans l'eau.

Les sels d'alcaloïdes, en solution, possèdent de nombreuses réactions semblables : ils précipitent les tanins, les phosphomolybdates, l'acide picrique, les solutions des métaux lourds et les solutions d'iode dans l'iodure de potassium (Granderye, 1962)

Presque tous les alcaloïdes sont actifs dans la lumière polarisée, dans la plupart de cas, ils sont levogyres. Les composés racémiques sont physiologiquement moins actifs.

Ils fournissent avec certains réactifs spéciaux des réactions caractéristiques le plus souvent une coloration intense ou de précipité qui permet de les identifier. Les alcaloïdes non oxygénés sont liquides, volatils, entraînés à la vapeur d'eau (conine, nicotine...). Par contre,

les alcaloïdes oxygénés sont solides et cristallisables et parfois colorés (berbérine, sanguinarine).

### **1.2.1.3. LOCALISATION (Maurice-Marie Janot, 1988)**

Les alcaloïdes sont localisés dans les tissus périphériques : cellules épidermiques ou sous épidermiques, des feuilles, téguments de la graine, dans les assises sous liège des écorces de tiges et dans la partie la plus interne des écorces de racines.

Les plantes à alcaloïdes, à côté d'un alcaloïde prépondérant en quantité, en renferment de nombreux autres, souvent de types différents. Les variations les plus fréquentes portent sur la nature des fonctions : OH (hydroxyle ou phénolique) ; CH<sub>3</sub>COO (ester acétique) ; OCH<sub>3</sub> (méthoxyle) ; N(CH<sub>3</sub>) (N-méthyle) ; -CO-NH-(amide)...et sur l'emplacement de ces fonctions sur les cycles carbonés.

### **1.2.1.4. SOURCE DES ALCALOÏDES**

On trouve les alcaloïdes en grande partie chez les plantes à fleurs, mais la répartition n'est pas uniforme, ce qui constitue un élément important dans la chimiotaxonomie. Mais avec l'évolution de la science, on a trouvé également les alcaloïdes chez les insectes comme les fourmis et les concinelles, les organismes marins comme les dinoflagellés. Ils ont été trouvés chez les champignons comme l'ergot de seigle.

Ils sont rares chez les mammifères, par exemple la (-) castoramine trouvée chez le castor.

### 1.2.1.5. LES ALCALOÏDES DE RUBIACEAE

1. L'émétine : De formule brute  $C_{29}H_{40}O_4N_2$ , l'émétine a été isolée en 1817 par Pelletier et Magendie des racines et des rhizomes de différents ipécas, plante de la famille de rubiacées.

C'est le principal alcaloïde des ipécas, qui contiennent aussi de la céphaline, de la psychotrine, de l'émétamine et de l'orthométhylpsychotrine.

Du point de vue pharmacologique, cet alcaloïde est un émétique (provoquant le vomissement) et un antidysentérique, très efficace d'une façon plus spécifique, dans le traitement de l'hépatite amibienne.

2. La caféine ([fr.wikipedia.org/wiki/caféine](http://fr.wikipedia.org/wiki/caféine))

Formule brute :  $C_8H_{10}N_4O_2$

Nom IUPAC : Triméthyl—1, 3,7 xanthines

C'est une molécule de la famille de méthylxanthines qui comprend la théophilline et la théobronine.

Effets de la caféine :

De façon générale, la caféine est un psycho stimulant qui a pour principaux effets d'accélérer le rythme cardiaque au bout de quelques minutes puis de provoquer une sensation de réveil. Elle présente des effets au niveau des systèmes cardiovasculaires, respiratoires, et gastro-intestinal.

Une prise trop importante peut conduire à une intoxication. Les symptômes sont l'insomnie, la nervosité, l'excitation, le flushing cutané (le visage devient tout rouge), l'augmentation de la diurèse et des troubles intestinaux.

Chez certaines personnes, ils peuvent apparaître après une prise de 250mg par jour.

Plus d'un gramme par jour peuvent provoquer des contractions musculaires involontaires, de pensées décousues, de l'arytmie cardiaque ainsi qu'une agitation psychomotrice.

### 3. La quinine

La quinine de formule brute  $C_{20}H_{24}N_2O_3$  est un alcaloïde naturel ayant des propriétés antipyrétiques, antipaludiques et analgésiques (fr.Wikipedia.org/Wiki/Quinine).

### 4. La tubolosine( [www.mpl.fr/suds-en-ligne/fr/plantes/pdf/3A\\_quiqui.pdf](http://www.mpl.fr/suds-en-ligne/fr/plantes/pdf/3A_quiqui.pdf))

Cet alcaloïde est extrait d'une plante qui pousse dans le sud de la Bolivie dans le Chaca ou Pampa à la frontière du Paraguay et de l'Argentine.

Les indiens Chiriguanos ou Ava Guari utilise l'infusion de cet arbuste pour se soigner contre la malaria, il s'agit de *Pogonus tubolosus*.

L'activité de la tubolosine est comparable à celle de l'antipaludique de référence la chloroquine. Mais malheureusement, son activité est entachée d'une certaine toxicité qui ne permet pas de l'utiliser en tant que tel dans le développement d'un nouveau médicament antipaludique.

### 5. La yohimbine

Cet alcaloïde de formule brute  $C_{21}H_{26}N_2O_3$  est efficace pour corriger le dysfonctionnement érectile.

On trouve sur le marché des extraits d'écorce dont la teneur en yohimbine est normalisée à 1%, 2% ou 4%.

Cet alcaloïde représente 1 à 6% de la composition de l'écorce de *Pausinystalia yohimbe*.

### **1.2.2. LES SAPONINES (SAPONOSIDES) (Encarta, 2007).**

C'est un glucoside huileux naturel qui, lorsqu'il est placé en solution mousse abondamment lorsqu'on les agite.

Les saponines sont présentes dans une large gamme de plantes.

Elles entrent dans la composition des lessives, des savons et servent d'agents moussants notamment dans les extincteurs.

Elles ont un goût aigre, mais si elles sont consommées, elles ne sont pratiquement toxiques pour les animaux à sang chaud.

Cependant, elles peuvent être dangereuses si elles sont directement ingérées dans le sang car elles dissolvent rapidement les globules rouges. Les saponines sont aussi piscicides. Beaucoup ont de propriétés microbiennes et antifongiques.

D'après Makambo (2007), les saponines ont des propriétés expectorantes et antitussives, certaines sont anti-inflammatoires.

Les saponines servent probablement aux plantes comme substances défensives en particulier contre les agressions fongiques.

(Fr.Wikipedia.org/Wik/Saponine)

Il y a deux types de saponines selon la structure de la sapogénine.

(Bokota, 2006).

### **a) Saponines triterpénoidiques**

Il s'agit des produits qui résultent de la réaction entre l'hydroxyle glucidique et l'hydroxyle triterpénoidique avec libération d'une molécule d'eau.

### **b) Saponines stéroïdiques**

Ce sont des produits de condensation entre l'hydroxyle d'un stéroïde libre et l'hydroxyle d'un sucre. Tous les stéroïdes renferment le noyau commun, le cyclopentaperhydrophénanthrène.

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

## **1.2.3. LES TANINS**

Ce sont de substances d'origine végétale non azotées, de structure polyphénolique, soluble dans l'eau, acétone, peu soluble dans l'éther, de saveur astringente et ayant la propriété commune de tanner la peau en la rendant imputrescible et imperméable en se fixant sur les protéines.

Leur poids moléculaire varie de 500 à 3000.

Dans les plantes, les tanins existent à l'état de complexe, les tannoïdes ; certains sont combinés à des sucres dénommés tannosides.

Les tannins sont répandus dans le règne végétal surtout certaines familles :cupulifères,conifères,éricacées ,lamiacées,myrtacées,polygonacées,légumineuses,rosacées,rubiacees.Tous les organes de la plante peuvent en renfermer .

On distingue deux sortes de tanins :

- Les tanins hydrolysables (milieu acide ou alcalin ou par voie enzymatique) : ce sont des esters d'acides phénols et d'oses : tanins pyrogalliques car ils fournissent du pyrogallol par distillation.
- Les tannins condensés : non hydrolysables ou tanins catéchiques , dégradés en milieu acide en anthocyanidines colorés, réaction utilisée pour leur dosage colorimétrique ([Www .phytonpathos.com/.../chimie ...](http://www.phytonpathos.com/.../chimie...)).

#### **1.2.4. LES QUINONES (MAKAMBO ,2007)**

Les quinones sont de composés correspondant à l'oxydation de composés aromatiques (par ex le phénol) et caractérisés par un motif dicéto-1,4cyclohexadiène-2,5 (para quinone).

Les quinones naturelles appartiennent à trois groupes principaux :

- benzoquinones
- naphthoquinones
- anthraquinones (Makambo, 2007)

Les quinones constituent une série des diènes plutôt des composés aromatiques comportant un noyau benzène sur lequel deux atomes de l'hydrogène ont été remplacés par deux oxygènes formant deux liaisons carbonyles, c'est un dicétone éthylénique conjugué ([http:// fr.wikipedia.org/wik](http://fr.wikipedia.org/wik)).

##### **1.2.4.1. DISTRIBUTION DES QUINONES (Makambo ,2007)**

Les quinones sont fréquentes chez les végétaux supérieurs et chez les champignons.

Les benzoquinones simples, caractéristiques des arthropodes, sont rares chez les végétaux supérieurs, un peu répandu chez les champignons.

Les anthroquinones sont fréquentes chez les champignons, lichens et dans un nombre limité de familles d'angiospermes.

On les rencontre sous forme libres ou d'hétérosides.

#### 1.2.4.2. INTERET DE QUINONES

Ces composés ont une action spasmolytique, antibactérienne surtout contre les Gram -.

Les groupes C=O réagissent avec le S-H et empêche la croissance bactérienne, ils ont aussi une action fongicide parfois vermifuge et cytotoxique.

#### 1.2.5. LES TERPENES ([www.unice.fr/chim-org/data:terpene-def-pdf](http://www.unice.fr/chim-org/data:terpene-def-pdf))

Les terpènes sont isolés du règne végétal ou animal (plantes, insectes, microorganismes, éponges...), certains possèdent des propriétés aromatiques qui ont retenu l'attention de l'industrie des arômes, d'autres ont des propriétés pharmacologiques intéressantes comme le taxol qui est un anticancéreux puissant. Le taxol est un diterpène.

Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes qui sont incorporés dans leurs molécules en :

- monoterpènes ou terpènes simples en  $C_{10}$ ,  $n=2$
- sesquiterpènes  $C_{15}$ ,  $n= 3$
- diterpènes  $C_{20}$ ,  $n=4$
- sesquiterpènes  $C_{25}$ ,  $n=5$
- triterpènes  $C_{30}$ ,  $n=6$

### 1.3. LES IONS TOXIQUES ET LEURS EFFETS

#### 1.3.1. LES NITRITES (wikipedia)

Les nitrites sont les sels de l'acide nitreux.

Le présence de nitrites dans le sang empêche l'hémoglobine de fixer convenablement l'oxygène. C'est la maladie bleue de nourrissons, plus souvent appelé méthémoglobine. C'est la raison pour laquelle la teneur en nitrite potable est réglementée et, indirectement celle des nitrates en raison de leur capacité à se transformer en nitrites.

Ils transforment l'hémoglobine en méthémoglobine provoquant la vasodilatation.

Les nitrites, à forte dose, sont considérés comme des poisons et, selon les auteurs, comme ayant des actions tératogènes et/ou cancérogènes

#### 1.3.2. LES NITRATES

Les nitrates  $\text{NO}_3^-$  sont des composés chimiques constitués d'azote et oxygène. Ils résultent du cycle de l'azote qui est une substance nutritive indispensable à la vie végétale.

L'oxydation par les microorganismes des plantes, du sol ou de l'eau rend l'azote assimilable par les plantes sous forme de nitrates.

En milieu acide, les nitrites sont formés à partir des nitrates ; à leur tour les nitrites peuvent se combiner aux amines et aux amides pour former les nitrosamines ([www.julientap.free.fr/travail/fichier/LES\\_NITRATES\\_0,1pd](http://www.julientap.free.fr/travail/fichier/LES_NITRATES_0,1pd)).

#### 1.3.3. LES CYANURES

Les cyanures sont les composés de l'ion  $\text{CN}^-$ , formé d'un atome de carbone lié par une triple liaison à un azote.

Les sels de cet ion sont extrêmement toxiques, de même que l'acide qui leur est associé : l'acide cyanhydrique.

Les cyanures peuvent être produits par des bactéries, des moisissures et des algues et sont contenus dans de nombreux aliments et des plantes. Dans les plantes, les cyanures sont normalement liés à des molécules de sucres sous la forme de glycosides cyanogènes et servent aux plantes comme défense contre les herbivores.

Les racines du manioc ou encore les graines de lin contiennent des glucosides cyanogènes et, souvent, il faut les traiter avant la consommation (en général par ébullition prolongée). Les noyaux de fruits, comme les cerises et les abricots, contiennent souvent des cyanures ou des glycosides cyanogènes. Les pépins de pomme en contiennent également. Les amandes amères dont on fait de l'huile d'amande contiennent aussi un glycoside cyanogène, l'amygdaline.

L'ingestion de 50 amandes amères peut causer la mort d'un homme. Beaucoup d'enzymes hydrogénases contiennent des ligands cyanurés sur leurs sites actifs.

### 1.3.3. LES OXALATES ([fr.wikipedia.org/wiki/oxalate](http://fr.wikipedia.org/wiki/oxalate))

#### a) Production

L'acide oxalique et les oxalates sont des substances toxiques que l'on trouve dans de nombreuses plantes. On trouve parmi les aliments ayant une forte teneur en acide oxalique le cacao, le chocolat, les noix, les noisettes, les rhubarbes, les haricots et bien sûr l'oseille et les épinards.

Présent à l'état de naturel, essentiellement sous forme d'oxalate de calcium ou de potassium dans les racines et rhizomes de plantes telles

que l'oseille, la rhubarbe ou la betterave, il intervient dans constitution de certains minéraux.

#### b) Biologie

Cet acide peut irriter les voies oesophagiennes ou gastriques lors de son ingestion et provoquer des dommages (calculs, oligurie, albumine, hématurie). IL est mortel à forte dose, les précipitées d'oxalate de calcium pouvant obstruer les canaux rénaux. Il apparaît dans l'urine animale et humaine sous forme d'oxalate de calcium et d'acide oxalique ( $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CO}-\text{COOH}$ ).

#### c) Ingestion

La dose létale moyenne pour les oxalates chez les personnes adultes est estimée à 15-30 grammes avec la mort en quelques heures ou même en quelques minutes

([www.jtaker.com/msds/englishhtml/p5972.htm](http://www.jtaker.com/msds/englishhtml/p5972.htm)).

## CHAPITRE DEUXIEME : MATERIELS ET METHODES

### 2.1 MATERIELS VEGETAUX

Les matériels végétaux qui ont servi à la réalisation de cette étude sont les plantes suivantes :

- *Oxyanthus unilocularis* : écorce de tronc, écorce de racine, feuilles.
- *Psychotria mongandjensis* : écorce de tronc, écorce de racine, feuilles
- *Psychotria vogeliana Benth* : feuille
- *Psychotria ealaensis De wild.* : écorce de tronc
- *Craterispermum cerinanthum Hiern* : écorce de racine, écorce de tronc, feuilles
- *Canthium vulgare (K.Schum.) Bull.*: écorce de racine, écorce de tronc
- *Canthium dewevrei De Wild* : écorce de racine
- *Mitragyna stipulosa* : écorce de tronc, écorce de racine
- *Mitracarpus scaber*
- *Morinda morindoïndes* : feuilles
- *Aidia micrantha* : feuilles

Ces matériels ont été récoltés en différents endroits de la Province Orientale. *Psychotria mongandjensis*, *Psychotria ealaensis*, *Oxyanthus unilocularis* ont été récoltés dans la réserve forestière de l'I.N.E.R.A. par les éminents indicateurs forestiers de cette institution de recherche tandis que *Psychotria vogeliana*, *Mitragyna stipulosa*, *Mitracarpus scaber*, *Canthium vulgare* et *Canthium dewevrei* ont été récoltés dans la réserve forestière de Masako.

## **2.2. METHODES**

### **2.2.1. ECHANTILLONAGE**

Les différents organes de ces plantes ont été séchés à la température ambiante de notre laboratoire.

Nous les avons étalés sur les paillasses pendant plusieurs jours en vue d'obtenir un séchage complet. Après séchage, ces échantillons ont été pilés dans le mortier ordinaire par manque d'un broyeur conçu pour ce genre de travaux. Les poudres ont été gardées dans de flacons propres et secs.

### **2.2.2. SCREENING CHIMIQUE**

Le screening chimique est une méthode d'analyse qui a pour but de mettre en évidence les groupes phytochimiques contenus dans une plante.

#### **2.2.2.1. DETECTION DE GRANDS GROUPES PHYTOCHIMIQUES**

##### **2.2.2.1.1. RECHERCHE DES ALCALOÏDES**

Ils ont identifiés par la mise en évidence de l'azote que favorise l'interaction du complexe alcaloïde-réactif.

Différents réactifs sont utilisés pour la détection des alcaloïdes, nous avons utilisé les réactifs de Drangendorff et de Mayer.

Le réactif de Drangendorff, à base d'iodobismuthate, donne en présence d'un alcaloïde un précipité rouge ; le réactif de Mayer, par contre, donne un précipité blanc.

Le réactif de Drangendorff est un mélange de deux solutions A et B préparés comme suit :

##### Solution A :

Nitrate de Bismuth  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  : 1,70 g

Acide acétique glacial  $\text{CH}_3\text{COOH}$  : 20ml

Eau distillée : 80 ml.

Solution B :

Iodure de potassium KI : 10g

Eau distillée : 40 ml

### **PREPARATION**

Dissoudre le  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  dans 80 ml d'eau distillée ;

Ajouter 20 ml d'acétique glacial, c'est la solution A.

Dissoudre 10g de KI dans 40 ml d'eau distillée, c'est la solution B ;

Mélanger les deux solutions.

Réactif de Mayer

$\text{HgCl}_2$  : 1, 358g

KI : 2,5g

Eau distillée : 100ml

### **PREPARATION DE REACTIF DE MAYER**

Dissoudre 1, 358g de chlorure mercurique dans 60 ml d'eau ; et 5g d'iodure de potassium dans 10ml d'eau. Mélanger les deux solutions et compléter le volume à 100 ml. (F.A.O 5rev.1 ; 1983).

### **MODE OPERATOIRE**

1g de poudre végétale est laissé en macération dans 10 ml de HCl 1% pendant 24 heures. Filtrer et prélever 1ml de filtrat que l'on met respectivement dans deux tubes à essais auxquels on ajoutera quelques gouttes de réactifs de détection.

En présence, il se formera un précipité rouge avec le réactif de Drangendorff et blanc avec celui de Mayer.

### **2.2.2.1.2. DETECTION DE SAPONINES**

Les saponines sont identifiées par leur pouvoir moussant.

15 ml d'une décoction à 10g sont placés dans un tube à essai.

L'observation est faite après une agitation vigoureuse et un repos de 10 minutes. La formation d'une mousse persistante après ce temps révèle la présence de saponines.

### **2.2.2.1.3. DETECTION DES QUINONES**

#### **MODE OPERATOIRE**

5g de drogue broyée et humectée par quelques gouttes de HCl 0,2 N sont mis en macération pendant 24heures dans une fiole conique contenant 30ml de mélange Ether-Chloroforme (1 :1) .Après filtration ,2ml de solvant sont agités avec 2 ml de NaOH 0,1N ; on obtient en présence de quinone une coloration allant du rouge au violet.

### **2.2.2.1.4. DETECTION DE FLAVONOIDES**

#### **MODE OPERATOIRE**

5g de drogues en morceaux ou grossièrement broyée sont infusées pendant 30 minutes dans d'eau bouillante. Après filtration, on ajoute 5ml d'alcool éthylique, HCl ,2ml d'eau distillée.

On ajoute 0,5g de copeaux de magnésium et quelques gouttes d'alcool isoamylique.

L'apparition de la coloration rose, rouge ou violacée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre.

### 2.2.2.1.5. DETECTION DES TANINS

#### MODE OPERATOIRE

A 5ml de l'infusé précédent, on ajoute quelques gouttes d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  1%.

En cas de l'apparition d'une coloration ou d'un précipité, le test est positif.

Caractérisation des tannins

##### 1. Tannins galliques :

- Sur un infusé on fait une dilution à laquelle on ajoute quelques gouttes de perchlorure de fer. On obtient une coloration bleue à verte. En présence de tannins ou d'acide phénolique
- Réaction de Stiasny : permet de mettre en évidence les tannins condensés :
  - A l'infuser on ajoute 2 ml de réactif de stiasny
  - Porter au bain marie pendant 15 mn. En présence de tannins condensés ou non hydrolysable il se forme un précipité que l'on filtre. A ceci on ajoute 5 ml de tampon (acétate de plomb) et 3 ou 4 gouttes de perchlorure de fer à 2 %
  - La coloration bleue indique la présence de tannin hydrolysable
- Réaction de Bath Smith
  - à 2 ml d'infuser on ajoute 2 ml de HCl
  - porter au bain marie bouillant
  - en présence de tannins catéchiques on aura un précipité de couleur rouge brique

### Tannins catéchiques

- Sur un infusé on fait une dilution à laquelle on ajoute 1 ml de formol chlorhydrique et quelques gouttes de perchlorure de fer : on obtient une coloration bleue

## 2.2.2.1.6. DETECTION DES STEROLS ET TERPENES

### MODE OPERATOIRE

1g de matière végétale grossièrement broyée est mis en macération dans une fiole contenant 20ml d'éther, quelques gouttes sont évaporées sur un verre de montre.

Le résidu est repris par deux gouttes d'anhydride acétique.

L'addition d'une goutte de  $H_2SO_4$  concentré donne en présence des composés stéroliques et terpéniques une coloration mauve virant au vert.

## 2.2.3 IDENTIFICATION DES IONS TOXIQUES

### 2.2.3.1 LES Nitrates (Dessart, Jodogne et Paul, 1973)

#### 1. PRINCIPE

Le permanganate de potassium en solution acide est décoloré par les ions nitrite : il y a formation des ions  $Mn^{2+}$  incolores.

#### 2. MODE OPERATOIRE

Dans une solution de  $KMnO_4$  acidifiée dans un tube à essai, ajouter progressivement la solution de l'échantillon. S'il y a décoloration de la solution de permanganate, le test est positif, autrement dit, le test est positif.

### 2.2.3.2 Les nitrates (Feigl et al 1966)

**1 Principe :** Les nitrates libérés sous forme de  $\text{HNO}_3$  réagissent avec la diphénylamine pour donner le sel de quinoidimmonium II.

#### 2 Mode opératoire :

- Mélanger quelques grammes de diphénylamine avec l'acide sulfurique concentré jusqu'à dissolution complète (réactif). Ajouter environ un 1mg de soluté (échantillon) dans 1ml du réactif.
- Placer environ 0,5ml de la solution du réactif dans un endroit plat ou dans un tube à essai, et y ajouter l'échantillon.
- L'apparition d'une coloration bleu-violette qui se maintient pendant quelques instants à la surface de séparation de deux liquides indique la présence des nitrates.

### 2.2.3.3 LES CYANURES (Dessart, Jodogne et Paul., 1973)

#### 1. Principe

Une solution de cyanure traitée par le nitrate d'argent donne un précipité blanc à la zone de contact de deux solutions. Le précipité est soluble après agitation de la solution à cause de la formation de l'ion complexe argentocyanure dont le sel alcalin est soluble.

**2. Mode opératoire :** Mettre une solution de l'échantillon dans un tube à essai, ajouter progressivement la solution de  $\text{AgNO}_3$  en excès afin d'observer la formation d'un précipité blanc.

### 2.2.3.4. LES OXALATES (Feigl et al 1966)

Mode opératoire : Placer un peu de poudre à analyser dans un tube à essai, ajouter la diphénylamine puis chauffer jusqu'à sa fusion.

L'apparition de la coloration bleue indique la présence des oxalates.

## 2.3 EXTRACTION DE PRINCIPES ACTIFS

### 2.3.1 EXTRACTION DES ALCALOÏDES

Deux schémas ont été utilisés pour l'extraction des alcaloïdes.

#### 1. MÉTHODE D'EXTRACTION PROPOSÉE PAR DELAUDE (1969) MODIFIÉE PAR MBUYI

Dix grammes de matériel végétal réduit en poudre sont déposés dans un ballon jaugé, on y ajoute 100 ml d'eau acidulée (HCl%). Le mélange est laissé en macération pendant 72 heures. Les extraits sont recueillis dans un bécher de 500 ml et ensuite ils sont placés dans une ampoule à décanter.

On y ajoute successivement le chloroforme 50 ml 3 fois de suite en agitant chaque fois.

Après une forte agitation, les alcaloïdes de la plante sont extraits en fonction de leur solubilité préférentielle pour le solvant utilisé.

Il y a formation de deux phases : une phase aqueuse acide et une phase organique.

La phase organique est basifiée avec l'ammoniac  $\text{NH}_3$  0,5 N, on y ajoute de nouveau le solvant d'extraction. Après une seconde agitation, il se forme deux phases : la phase aqueuse acide et la phase organique où sont concentrés les alcaloïdes totaux. Après avoir filtré, le solvant est évaporé à l'air libre et on obtient les résidus d'alcaloïdes totaux qui sont séchés et pesés.

#### 2. EXTRACTION ALCALINE

Cette méthode a été utilisée pour l'extraction de *Psychotria ealaensis*.

10 grammes de matériel végétal réduit en poudre sont mis en macération dans 200 ml de  $\text{NH}_3$  2% pendant 72 heures. L'extrait recueilli

est placé dans une ampoule à décanter puis épuisé par 150 ml de mélange éther-chloroforme (3 :1).

La phase organique récupérée est placée dans une ampoule à décanter, puis épuisée par 150 ml de HCl 0,5 N

On récupère la phase aqueuse acide qui sera basifiée par le  $\text{NH}_3$  puis épuisée par 100 ml.

Ce dernier est récupéré, puis évaporé. Le résidu sec d'alcaloïdes est pesé.

### **2.3.2. EXTRACTION DES TANINS**

L'isolement de ces substances a été réalisé selon la méthode décrite par Pierre Thomas (1936).

50 grammes de l'organe végétal réduit en poudre sont placés dans une colonne en verre entre deux légers tampons d'ouate.

Un mélange de 4% d'éther diéthylique, 1% d'alcool éthylique et de l'eau distillée y est ajoutée.

Le contact est effectué pendant au moins 12 heures.

Après ce contact, le liquide est laissé goutte à goutte en ajoutant du liquide neuf, au fur et à mesure, dans la colonne jusqu'à ce que les gouttes qui coulent ne se colorent plus que faiblement.

Le liquide d'épuisement est réuni dans une ampoule à décanter. Un tiers de son volume d'éther diéthylique y est ajouté, et le mélange est agité vigoureusement puis mis au repos pendant 30 minutes. La couche inférieure contenant les tanins est récupérée, et la couche supérieure étherée contenant les résines, les corps gras, etc., est encore une fois agitée avec 1/3 de son volume d'eau et l'opération reprend.

### 2.3.3. EXTRACTION DES QUINONES

#### a. PRINCIPE GENERAL

Le principe général des quinones est basé sur la propriété qu'elles possèdent de formes des phénolates (NaOH 0,1N).

Ces sels sont solubles dans l'eau. On peut alors les extraire de la phase aqueuse grâce à leur solubilité différentielle dans un solvant organique (éthanol, chloroforme, dichlorométhane etc. ...) en fonction du PH du milieu.

#### b. MODE OPERATOIRE

Laisser macérer 25 grammes de poudre de matériel végétal dans l'eau alcaline (NaOH 0,1) pendant 24 heures puis filtrer le macéré alcalin sur l'ouate hydrophile.

Le filtrat est lavé avec le toluène dans une boule à décanter.

- La phase aqueuse est acidifiée avec 5 ml de HCl, puis épuisée avec le chloroforme (3 fois 50 ml), l'extrait organique est la fraction A.
- La phase aqueuse acide est chauffée à reflux pendant une heure à 105 °C, à près refroidissement, on épuise avec le chloroforme 3 fois 50 ml, c'est la fraction B
- La phase aqueuse résiduelle est acidifiée par quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, puis on ajoute 5 ml de FeCl<sub>3</sub> 1%, on chauffe à reflux à 105°C pendant une heure.
- Après refroidissement, on épuise comme précédemment, c'est la fraction C.
- Le mélange des fractions A, B et C constitue les quinones totales que l'on sèche à l'étuve à 37°C après évaporation du solvant au rotavapor (extrait sec des quinones).

- On confirme les résultats par la réaction avec le NaOH

### **2.3.4. EXTRACTION DES SAPONINES**

Nous avons réalisé l'isolement des saponines suivant la méthode décrite par Delaude modifiée par Mbudi (1978).

Chauffer à reflux pendant deux heures 50 grammes de poudre végétale avec 100 ml d'éthanol absolu. L'opération est répétée jusqu'à la clarification du solvant.

Les différents extraits sont rassemblés, filtrés à chaud sous vide et concentré à un petit volume. Les saponines sont ensuite précipitées plusieurs fois par addition de l'éther diéthylique.

Le solvant est éliminé par décantation puis conservé à part.

Le précipité de saponines obtenu est redissout dans le méthanol à 96%, puis traité par le charbon actif et chauffé à reflux jusqu'à ébullition.

La solution est ensuite filtrée sur l'ouate. Le filtre est lavé plusieurs fois avec le méthanol à 96% jusqu'à la clarification complète. Le filtrat est de nouveau concentré à petit volume, puis précipité par addition d'un volume égal d'éther diéthylique.

Le précipité est séparé par décantation puis séché jusqu'à poids constant et pesé.

#### **2.3.4.1. HYDROLYSE DES SAPONINES**

Les saponines sous l'action hydrolysante des acides minéraux se scindent en plusieurs sucres constitutifs et en produits de nature stéroïdique et tritpenoides appelés sapogénines ou aglycones.

De manière absolument générale, les génines sont insolubles dans l'eau.

Lors de l'hydrolyse en milieu fortement aqueux, les génines précipitent spontanément. Au terme de la réaction en milieu alcoolique, on les précipite par adjonction d'eau.

#### **a. HYDROLYSE CHLORHYDRIQUE**

Nous avons pesé 3 g de saponines que nous avons dissous dans 100 ml de mélange alcool éthylique, acide chlorhydrique, eau (10/5/5).

La solution est chauffée à reflux pendant 30 heures. Après refroidissement, la sapogénine précipitée par adjonction d'eau est séparée de la solution sucrée par centrifugation, le précipité isolé est lavé à l'eau jusqu'à la disparition de toute trace d'acidité et séché sous vide. La génine est récupérée après filtration sur un papier filtre à poids connu.

La solution sucrée est neutralisée au carbonate d'argent.

Le chlorure d'argent est éliminé par centrifugation et filtration. Le filtrat est concentré sous vide, le résidu sec est repris par l'eau.

#### **b. IDENTIFICATION DES SUCRES REDUCTEURS DANS L'HYDROLYSAT DES SAPONINES**

Les sucres ont été identifiés selon les méthodes décrites par HAVIER (1969), REDIES et MALLERU (1973) et V.A. DEGROOTE.

Les différentes réactions sont :

##### **1) Epreuve de Molish**

- Principe : l'action d'un acide minéral fort sur un sucre le transforme en furfural ou en hydroxyméthylfural, l'addition à un phénol colore le milieu.

- Mode opératoire : à 2 ml de la solution sucrée inconnue, ajouter 2 gouttes d' une solution alcoolique à 15-20% de  $\alpha$  - naphthol ; introduire ensuite 1 à 2 cm<sup>3</sup> de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (d=1, 836) sous la solution et observer la zone de contact ,il y a formation d'un anneau rouge violet.

## 2) Epreuve à l'iode

Principe : l'amidon, le glycogène et l'erythroextrine réagissent avec l'iodure pour former de complexes iodés.

Mode opératoire : ajouter une goutte de solution de 2,5 de I+5g KI dans 50 ml de solution à 2 ml à étudier.

L'apparition d'une coloration bleue révèle la présence de l'amidon.

L'absence de toute coloration indique la présence de mono et disaccharides.

## 3) Epreuve de Benedict

Principe : les sucres réducteurs réduisent l'hydroxyde de cuivre avec formation d'un précipité Cu<sub>2</sub>O jaune rougeâtre ou rouge selon la grosseur des particules.

Mode opératoire :

A 5 ml du réactif de Benedict dans une éprouvette, on ajoute 8gouttes de la solution inconnue, puis l'on chauffe le mélange 5 minutes au bain-marie bouillant .Un précipité vert, jaune ou rouge se forme au cas où on aurait affaire à une solution de sucres réducteurs.

#### 4) Epreuve de Barfoed

Principe : les monoses sont plus réductrices que les diholosides et cette différence s'observe lorsqu' on effectue la réduction du C en milieu acide.

Seuls les monoses réagissent.

Mode opératoire : introduire dans le tube à essai 4 ml de réactif de Barfoed (13,3 g de l'acétate de cuivre cristallin+200 ml d'eau distillée et 19 ml d'acide acétique glacial 96% d=1,058), ensuite ajouter 1 ml de la solution à analyser. Placer le mélange dans un bain-marie en ébullition pendant 30 minutes.

La présence d'un précipité rouge abondant dans intervalle de 4 à 7 minutes indique la présence d'un monosaccharide. Si le précipité apparaît dans un intervalle de temps plus long, il s'agit d'un disaccharide. L' absence d'un précipité révèle un sucrose.

#### 5) Epreuve de Tauber

Principe : la formation des osazones est un moyen pratique pour obtenir les dérivés cristallins de sucres. Ces osazones sont des produits cristallisés dont les caractéristiques physiques (aspect, point de fusion) peuvent permettre d'identifier les oses.

Mode opératoire : ajouter deux gouttes de solution sucrée à 1 ml de la solution de Benzidine à 1 à 2 % (réactif de Tauber).

On fait bouillir le mélange et on refroidit rapidement, l'apparition d'une solution violette révèle la présence des pentoses.

### **C. CARACTERISATION DES SAPOGENINES : REACTION DE ROSENTHALER**

Réactif : solution à 1% de vanilline dans l'acide chlorhydrique

Les solutions alcooliques des sapogénines stéroliques prennent une coloration violette avec le réactif.

Les solutions alcooliques des sapogénines triterpénoides ne donnent pas de coloration avec le réactif.

## CHAPITRE TROISIEME : RESULTATS ET DISCUSSION

### 3.1. SCREENING CHIMIQUE

Tableau 1 Détection de groupes phytochimiques de *C. cerinanthum*

Organe :	Ecorce de racine	Ecorce de tronc	Feuilles
Alcaloïdes	-	-	-
Saponines	-	-	-
Tanins	-	-	+++
Flavonoïdes	-	-	++
Quinones	-	-	-
Terpènes et stérols	-	-	-

Légende : +++ : Très abondant

++ : Moyennement abondant

- : absence

Les analyses effectuées sur cette plante ont révélés la présence de groupes phytochimiques uniquement dans les feuilles.

Notre échantillon, dans tous ses organes, est totalement dépourvu d'alcaloïdes et de saponines. En revanche, le tanin ne se retrouve qu'au niveau de feuilles.

Ces résultats sont en contradiction avec ceux de Mabika (1983) qui a travaillé sur une espèce du Kasai-occidental et qui n'a relevé aucun groupe phytochimique.

Ceci n'est surprenant car la littérature souligne que la composition chimique des métabolites secondaires n'est pas constante en tous points de la planète et peut varier en fonction de conditions écologiques, édaphiques et de mode de conservation (BOKOTA, 2007).

L'examen de ce tableau montre également l'absence de quinones, de terpènes et stéroïdes dans toutes les parties de la plante et l'existence de flavonoïdes uniquement dans les feuilles.

Tableau 2. Screening chimique de *Mitragyna stipulosa* et *Mitracarpus scaber*

Espèce végétale :	<i>Mitragyna stipulosa</i>		<i>Mitracarpus scaber</i>
	Ecorce de tronc	Ecorce de racine	
Alcaloïdes	-	-	-
Saponine	+++	++	+++
Tanins	+++	+++	+++
Flavonoïdes	-	-	++
Terpènes et Stéroïdes	-	-	-
Quinones	-	-	+

Légende : +++ : Très abondant

++ : Moyennement abondant

+ : abondant

- : absence

L'examen de ce tableau montre que les échantillons de *M. stipulosa* analysés sont totalement dépourvus d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de terpènes et stéroïdes alors que les tanins et les saponines se trouvent en quantité suffisante tel que l'a montré l'appréciation visuelle. En ce qui concerne les alcaloïdes, nous avons constaté leur absence, ce qui est en contradiction avec les travaux antérieurs réalisés en Côte d'Ivoire qui ont permis d'isoler les alcaloïdes et d'élucider leurs structures chimiques.

La teneur en principe actif varie beaucoup en fonction du cycle végétatif et de l'origine géographique (Gaillard et al, 2001).

En outre, la concentration en principe actif peut varier en fonction du stade de développement de la plante. Elle peut être maximale au début de la végétation (puis diminution et disparition en fin de croissance), au moment de la floraison et à la fin de la croissance. (Driss Lamnaouer, Thierry et collaborateurs (2004) ajoutent qu'il existe de variations de concentrations en métabolites secondaires en fonction de la phénologie. Ceci n'est pas aussi surprenant comme le montre cette observation faite en Thaïlande sur l'espèce *Mitragyna speciosa*.

En effet, des chercheurs ont observé de divergences sur la teneur en alcaloïde dominant qu'est la mitragynine qui change d'un endroit à l'autre et à différents moments de la journée. Et, aussi à chaque endroit, il y a variation quantitative en alcaloïde d'un mois à l'autre ([www.Kraton](http://www.Kraton)).

Trease et Evans (1989) cités par Anne-Marie Potel abordent dans le même sens et soulignent que la teneur du principe actif peut varier dans l'espace de 24 heures suite à l'interconversion de composés.

En ce qui concerne l'espèce *M. scaber*, l'analyse phytochimique a révélé la présence des tanins, des saponines et des flavonoïdes en quantité appréciable. Notre échantillon ne contient pas les alcaloïdes alors Abere et al (2007) ont détecté leur présence dans l'espèce béninoise.

Tableau 3. Evaluation phytochimique de *Canthium vulgare* et *Canthium dewevrei*.

Espèces végétales :	<i>C. vulgare</i> ET	<i>C. vulgare</i> ER	<i>C. dewevrei</i> ER
Alcaloïdes	-	-	-
Saponines	+++	+++	+++
Tanins	+++	+++	+++
Flavonoïdes	++	++	-
Terpènes & Stérols	-	-	-
Quinones	++	-	+++

Légende : +++ : Très abondant

++ : Moyennement abondant

- : absence

ET : écorce de tronc

ER : écorce de racine

Le screening chimique effectué sur ces deux espèces a fourni des résultats identiques en ce qui concerne les saponines, les tanins et les alcaloïdes.

On note l'absence d'alcaloïdes, de terpènes et de stérols et la présence de saponines et de tanins.

En ce qui concerne *Canthium dewevrei*, il y a une contradiction avec Mabika (1983) qui a signalé la présence des alcaloïdes, de terpènes et de stérols dans l'écorce de racine d'une espèce du Kasai occidental.

En revanche, nos résultats convergent avec ceux de ce dernier en ce qui concernent les saponines, les tannins et les quinones.

Pour *Canthium vulgare*, nos résultats sur les alcaloïdes et quinones rejoignent ceux de Bouquet et Debray (1974) signalés par Wome (1985).

Par contre, de divergences avec notre travail qui a pu révéler la présence de saponoside et tanins, divergences certainement pour des raisons susmentionnées.

Les racines de ces deux espèces sont dépourvues d'alcaloïdes, de terpènes et stéroïdes tandis que on note la présence de flavonoïdes dans l'écorce de racine de *C. vulgare* et l'absence dans l'autre espèce. En ce qui concerne les quinones, seule l'écorce de racine de *C. dewevrei* en contient.

Tableau 4 : Groupes phytochimiques des feuilles de *M. morindoides* et *A. micrantha*

Espèces végétales	Alcaloïde	Saponine	Tanin	Flavonoïde	Quinone	Terpènes et stéroïdes
<i>A. micrantha</i>	-	+++	++	++	-	++
<i>M. morindoides</i>	-	+++	+++	+++	-	++

Légende : +++ : Très abondant  
 ++ : Moyennement abondant  
 - : absence

L'analyse de ce tableau montre que ces deux espèces contiennent les saponines, les tanins, les flavonoïdes, les terpènes et les stéroïdes ; une grande concentration de tanins a cependant été observée chez *Morinda morindoides*. L'espèce est dépourvue totalement d'alcaloïdes et de quinones.

En ce qui concerne *Aidia micrantha*, nous avons relevé la présence de saponines, flavonoïdes, tanins, terpènes et de stéroïdes alors que Delaude et al (1979) n'avait pas décelé leur présence.

Hladik et Hladik cités par Wome ont obtenu en de traces d'alcaloïdes dans les feuilles sèches de l'espèce gabonaise alors que notre espèce

n'en contient pas, résultat identique à celui trouvé par les auteurs susmentionnés.

Tableau 4 : Détection de groupes phytochimiques des Psychotries

	Organe	Groupes phytochimiques					
		Alc	Sap	Tan	Fla	Te & Sté	Qui
<i>P. mongandjensis</i>	ER	++	*	*	*	*	*
	ET	-	*	*	*	*	*
	F	-	++	+++	++	-	+
<i>P. ealensis</i>	ET	++	++	-	+++	+	++
<i>P. vogeliana</i>	F	-	-	+++	-	-	-

Légende : +++ : Très abondant

++ : Moyennement abondant

+ : abondant ;

- : absence

\* : test non effectué

E.R. : écorce de racine

E.T. : écorce de tronc

F : feuilles

Alc : Alcaloïdes

Sap : Saponines

Tan : Tannins

Fla : Flavonoïdes

Qui : Quinones

Te & Sté : Terpènes et stérols

Du screening effectué, il apparaît clairement que les espèces *Psychotria* ne renferment pas les mêmes groupes phytochimiques.

Les alcaloïdes ont été détectés dans l'écorce de tronc de *Psychotria ealaensis* et l'écorce de racine de *Psychotria mongandjensis* alors que les saponines, tanins, flavonoïdes et les quinones ont été trouvés uniquement dans les feuilles de *Psychotria mongandjensis*.

En revanche, l'espèce *P. vogeliana* ne contient que les tanins.

### 3.2. EXTRACTION DE PRINCIPES ACTIFS

Tableau 5. Pourcentage et types de tanins des plantes analysées

Plantes	% de tanins	Types de tanins
<i>M. scaber</i>	17	Tanins catéchiques et galliques
<i>C. dewevrei</i> (Ecorce de racine)	*	Tannins catéchiques
<i>M. stipulosa</i> (Ecorce de racine)	13,2	Tanins catéchiques
<i>C. cerinanthum</i> (feuilles)	22	Tanins catéchiques et galliques
<i>M. morindoides</i> (Feuilles)	17,31	Tanins galliques
<i>C. vulgare</i> (Ecorce de racine)	*	Tanins catéchiques et galliques

- \* signifie analyse non effectuée

L'examen de ce tableau montre que les échantillons analysés sont abondamment pourvus de tanins. La teneur élevée a été observée dans les feuilles de *C. cerinanthum* (22%).

Le test de caractérisation de tanins a démontré que nos échantillons renferment l'un ou les deux types de tanins. Les feuilles de

*C. cerinanthum* contiennent les tanins catéchiques et les tanins galliques, il en est de même de *M. scaber* et de *C. vulgare*.

Par contre, ce test pratiqué sur *C. dewevrei* a révélé l'existence d'un seul type de tanin à savoir le tanin catéchique, les feuilles de *M. morindoides* recèlent les tanins galliques.

Notre étude a démontré la présence de tannins catéchiques dans l'écorce de racine de *Mitragyna stipulosa*.

Des études également effectuées au Gabon par Mbindzou en 2004 ont prouvées que l'espèce voisine *Hallea ciliata* est très riche en tannin. Le test de caractérisation de tanins a par contre identifié les deux types de tannins dans l'écorce de tronc.

Tableau 6 Teneur en alcaloïdes totaux (%)

Echantillon	Espèces : <i>O. unilocularis</i>	<i>P. mongadjensis</i>	<i>P. ealaensis</i>
Feuilles	2%	-	*
Ecorce de tronc	4,6%	-	3,6%
Ecorce de racine	5,8%	5,5%	*

\* signifie analyse non effectuée

L'analyse de ce tableau montre que les échantillons analysés renferment des teneurs élevées en alcaloïdes allant de 2 à 5,8%. Ces teneurs sont proches de celles des alcaloïdes pyrrolizidiniques des graines de *Crotalaria retusa* qui varient entre 5,1 et 5,2% (Culvenor et Smith in Mbindzou, 2004). On sait depuis longtemps que les concentrations des alcaloïdes rapportées à la masse totale de la plante sont très faibles, mais elles peuvent être élevées dans certains tissus particuliers ou certains organes. (William G Hopkins et al, 2003)

De teneurs élevées chez les rubiacées ont été trouvées dans les écorces de tronc de *Quinquina ledgerina* qui contiennent 5 à 15% d'alcaloïdes totaux (Romain et al, 19) alors que le *Paussinystalia yohimbe* contient 1 à 6% d'alcaloïdes. (Gaillard et al, 2001).

Maroy, A (2006) signale également des teneurs élevées en alcaloïde total dans *Voacanga africana* une plante de la famille des Apocynacées. En effet, la teneur en alcaloïde totale dans l'écorce des racines est de 5-10%, dans l'écorce de tronc 4-5% alors que les graines et les feuilles ont respectivement les teneurs suivantes : 1,5-3,5% et 0,3-0,45%

Ces résultats montrent également que les alcaloïdes sont inégalement répartis dans les organes de la plante comme le souligne Michelle Lorrain (1977).

En outre, soulignent les auteurs ci hauts cités, que leurs concentrations varient souvent dans de larges proportions au cours d'une période de 24 heures.

Les auteurs chinois renchérissent dans le même d'ordre d'idée en illustrant par une plante médicinale chinoise où la concentration en alcaloïde varie inversement au cours d'une même journée. Il s'agit de *Datura stramonium* qui a les alcaloïdes dont la teneur est élevée le matin dans les feuilles et l'après- midi dans les racines.

Ce tableau montre également que l'écorce de tronc de *P.ealaensis* contient les alcaloïdes alors que dans l'écorce de tronc de *P.mongandjensis*, aucune trace d'alcaloïde n'a été décelée.

Des études antérieures réalisées sur les rubiacées d'Océanie par les chercheurs français ont décelées la présence des alcaloïdes dans les feuilles de *Psychotria oleiodes* avec une teneur de 3,7% des alcaloïdes totaux alors que les feuilles de *Psychotria* que nous avons analysées en sont dépourvues. ( Françoise Libot et al, 1987).

Cette différence serait due à l'aptitude à synthétiser la quantité donnée de principe actif qui est le plus souvent contrôlée génétiquement, ce qui justifie d'ailleurs de larges variations dans la teneur en principes actifs observées dans les différentes variétés d'une même espèce botanique (Driss lamnaouer,).

On observe une faible concentration des alcaloïdes dans les feuilles de *Oxyanthus unilocularis*. Les alcaloïdes, comme les autres métabolites secondaires, sont synthétisés dans une partie de la cellule et stockés dans une autre (De Peter.Raven et al, 2002)

Tableau 7 Taux de quinones, des saponines et des sapogénines

Espèces végétales	Principes actifs isolés	Nature de sapogénines	Rendement (%)
<i>C. dewevrei</i>	Saponines	—	2,8
	Quinones	—	0,12
	Sapogénines	Triterpénoïde	5,35
<i>M. scaber</i>	Saponines	—	2,3

\* signifie analyse non effectuée

Il ressort de ce tableau que l'écorce de racine de *C. dewevrei* analysée a un rendement en saponines égale à 2,8%. Leur hydrolyse acide a donné 5,35% de sapogénines.

Le test d'identification de la nature de sapogénine effectué en utilisant la réaction de Rosenthaler, montre que la sapogénine est de nature triterpénoïdique. L'extraction de quinones a permis d'isoler 0,12 %.

L'extraction de saponines de *Mitracarpus scaber* a permis d'isoler 2,3%

### 3.2.1. IDENTIFICATION DE SUCRES DE L'HYDROLYSAT DE SAPONINES

Les différents tests d'identification de sucres ont donné les résultats consignés dans le tableau 8.

Tableau 8. Identification de glucides de l'hydrolysat de saponines de *C.dewevrei*

EPREUVE	OBSERVATION	INTERPRETATION
De Molish	Anneau rouge violet	Glucides
A l'iode	Absence de coloration	Mono ou disaccharides
De Benedict	Précipité vert	Sucres réducteurs
De Barfoed	Absence de précipité	Monosaccharides
De Tauber	Coloration violette	Pentose

Ce tableau montre que les saponines contiennent les sucres réducteurs.

Tableau 9 : Identification des ions indésirables

Echantillons	Nitrate	Nitrite	Oxalate	Cyanure
<i>M. scaber</i>	-	+	-	-
<i>C. cerinathum</i> (Ecorce de racine)	-	-	-	-
<i>C. cerinathum</i> (Ecorce de tige)	-	+	-	-
<i>C. cerinathum</i> (Feuilles)	-	+	-	-
<i>C. dewevrei</i> (Ecorce de racine)	-	+	-	-
<i>C. vulgare</i> (Ecorce de racine)	-	+	-	-
<i>C. vulgare</i> (Ecorce de tige)	-	-	-	-
<i>P. ealaensis</i> (Ecorce de tige)	+	-	-	-
<i>P. vogeliana</i> (Feuilles)	-	+	+	-
<i>M. morindoides</i> (Feuilles)	-	-	+	-

Legende + : test positif

- : test négatif

Hormis le nitrite qui se retrouve dans presque tous les échantillons, les autres ions toxiques sont quasi inexistant. Les oxalates ont été détectés uniquement dans les feuilles de *Morinda morindoides* alors que les nitrates n'ont été signalés que dans les feuilles de *Psychotria vogeliana*. Un travail effectué au Bénin sur la feuille de *Mitracarpus scaber* a permis de déceler la présence de l'oxalate de sodium, ceci est en désaccord avec notre travail.

## CONCLUSION

Notre travail avait pour but de faire l'évaluation *phytochimique* de plantes de la famille de Rubiacée et d'en extraire quelques principes actifs majeurs.

Il ressort de nos analyses que nos échantillons renferment l'un ou l'autre groupe phytochimique à savoir les alcaloïdes, les saponines, les tannins, les flavonoïdes, les quinones, les terpènes et les stérols.

Le test de détection des alcaloïdes a révélé la présence des alcaloïdes dans tous les organes d'*Oxyanthus unilocularis* à savoir les feuilles, les écorces de racine et de tige, dans les écorces de tige de *Psychotria ealaensis* et les écorces de racine de *Psychotria mongandjensis*.

Par contre, les autres espèces analysées sont totalement dépourvues d'alcaloïdes.

Les saponines ont été trouvées dans les espèces ci-après : *Mitragyna stipulosa*, *Mitracarpus scaber*, *Canthium vulgare* et *Canthium dewevrei*, *Morinda morindoides*, *Aidia micrantha* et dans les feuilles de *Psychotria mongandjensis*.

Hormis *Psychotria ealaensis*, les échantillons analysés contiennent les tanins. L'un ou les deux types de tanins galliques et catéchiques ont été décelés dans les espèces de rubiaceae analysées.

Nos analyses ont permis de déceler la présence de flavonoïdes dans les feuilles de *Craterispermum cerinanthum* et l'absence de quinones, de terpènes et de stérols dans tous ses organes.

Les flavonoïdes ont été détectés dans *Mitracarpus scaber*, *Morinda morindoides*, *Aidia micrantha* et dans les échantillons de *Canthium vulgare* analysés alors que la présence de quinones a été signalée

uniquement dans les deux espèces de *Canthium*, dans *Mitracarpus scaber* et dans les feuilles de *Psychotria mongandjensis*.

Les terpènes et les stéroïdes n'ont été trouvés que dans les feuilles de *Morinda morindoides* et *Aidia micrantha*.

L'extraction des alcaloïdes dans les espèces où le test de détection était positif à savoir les Psychotries, l'*Oxyanthus unilocularis* a donné respectivement les résultats suivants :

*Psychotria ealaensis*, écorce de tronc : 3,6%

*Psychotria mongandjensis*, écorce de racine : 5,5%

*Oxyanthus unilocularis*, écorce de tronc : 4,6% ; écorce de racine : 5,8% et les feuilles : 2%.

L'extraction de tannins dans les espèces analysées a donné les distributions :

- *Craterispermum cerinatum*, feuilles : 22%
- *Mitracarpus scaber* : 17%
- *Mitragyna stipulosa* : 13,2%
- *Morinda morindoides* : feuilles : 17,31%

En ce qui concerne les saponines, l'extraction n'a été faite que sur les *Canthium dewevrei* et *Mitracarpus scaber*.

A la fin de ces extractions, les résultats suivants ont été enregistrés :

– écorce de racine de *Canthium dewevrei* : 2,8 %

Les sapogénines : 5,35 %

En ce qui concerne la nature de sapogénines, la réaction de Rosenthaler a montré que la sapogénine de *Canthium dewevrei* est de nature triterpénoides.

Le test d'identification des sucres prouve qu'il y a présence de sucres réducteurs dans la saponine de *Canthium dewevrei*.

En ce qui concerne *Mitracarpus scaber*, le rendement de l'extraction de saponine est de 2,3 %.

L'extraction de quinone effectuée sur la racine de *Canthium dewevrei* nous a donné un taux de 0,12 %.

L'extraction de saponine a été également effectuée sur *Mitracarpus scaber*.

A l'issue de cette opération, nous avons obtenu 2,3%.

Nos espèces sont totalement dépourvues de cyanures, les nitrates ont été décelées dans l'écorce de tige de *P.ealaensis* et les oxalates uniquement dans *P.vogeliana* et les feuilles de *M. morindoïdes*.

Excepté l'écorce de racine de *C.cerinathum*, les écorces de tige de *C.vulgare* et de *P.ealaensis*, les feuilles de *M.morindoïdes* les ions nitrites sont dans les autres espèces.

L'utilisation de ces plantes doit se faire avec beaucoup de précautions dans les traitements traditionnels car ces ions toxiques peuvent avoir des effets néfastes sur le patient.

Pour nous épargner de cette situation, nous recommandons que notre pays s'inspire de l'exemple des études effectuées dans les Caraïbes avec l'expérience Tramil ( Lejoly 2006) qui a permis de valoriser la médecine traditionnelle de ces pays.

Notre travail montre que ces différentes espèces de Rubiaceae contiennent beaucoup de métabolites secondaires possédant des vertus pharmacodynamiques et responsables de multiples effets bénéfiques de ces plantes. Ce qui justifie leur utilisation dans le traitement de nombreuses maladies.

Une exploitation rationnelle et à bon escient de ses propriétés pharmacodynamiques en vue de faire bénéficier toute l'humanité implique des recherches beaucoup plus approfondies de ses principes actifs que nous n'avons pas pu effectuées faute d'équipements modernes d'analyses.

La déforestation intensive de notre patrimoine forestier compromettra, par conséquent, notre source intarissable de nouvelles molécules capables de soulager l'humanité en proie à de nombreuses maladies encore incurables ou au problème de résistance de certains microbes. La famille de Rubiaceae qui est la famille la plus abondante des plantes supérieures en zone forestière de l'Afrique centrale où elle représente 10% du total des espèces([www.Ulb.ac.be/sciences/botadiveacobjectif.htm](http://www.Ulb.ac.be/sciences/botadiveacobjectif.htm).) n'est pas exemptée de menaces qui pèsent sur la disparition des essences forestières, nous suggérons que des recherches plus approfondies soient menées en vue de mieux sérier des espèces endémiques, rares ou vulnérables et de proposer des stratégies, durables, efficaces et adaptés de conservation de nos forêts.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ABERE T.A. , ONWUKAENE D.N., EBOKA C.J., 2007 :  
Pharmacognostic evaluation of the leaves of *Mitracarpus scaber* Zucc, in  
Tropical Journal Pharmaceutical Research vol.6 N° 4
2. BOKOTA, T., 2007 : Contribution à la caractérisation des principes  
actifs de *Picralina nitida* (Stapf) Th & H. Dur : plante utilisée par les  
pygmées (Mbuté) pour combattre le paludisme à Mambassa en  
République Démocratique du Congo, Mémoire D.E.S. inédit Faculté des  
Sciences-UNIKIS.
3. BOULLARD, B., 2001 : Plantes médicinales du monde Réalités &  
croyances google livre, p 355
4. CHALLANDRE, M.C., 2000 : Eléments de botanique, cours de  
première année Pharmacie URF de pharmacie et d'Ingénierie de la  
santé ANGERS
5. DESSART, A., JODOGNE, J., PAUL, J., 1973 : Chimie analytique, A.  
De Boeck, Bruxelles
6. FEIGL, F.V, ANGERE, R.E., DESPER, 1966 : Spot tests in organic  
analysis, 7th, Elsevier Publishing Company, New York pp.
7. F.A.O. REV.1983 : Alimentation et nutrition, Rome p229-276
8. FLÉMAL, 2001 : In Raemaekers R.H. Agriculture en Afrique Tropicale  
DGCI Bruxelles, p 1219-1226
9. FOUCHÉ J.G., MARQUET A., HAMBUECKERS A., 2000 : Les plantes  
médicinales de la plante au médicament : observatoire du monde des  
plantes Start-Tilman, B 77, B-4000 LIEGE
10. GAILLARD, Y., CHEZ, M., PEPIN, G., 2001 : Annales de biologie  
clinique, volume 59, N°6 764-5 Decembre
11. GRANDYERE, 1962 : Dictionnaire de chimie, Dunod, Paris, p62.

12. KALANDA, K., LOMBA, L.B., 1993 : Contribution à l'études des plantes médicinales de la région de Yangambi, Annales de la faculté des Sciences UNIKIS. n° 9 51-52
13. LEJOLY, J (2006) : Valorisation de la biodiversité végétale, cours universitaire, Fac. des sciences, UNIKIS
14. LIBOT, F., MIET, C., KUNESCH N., POISSON, J. E. 1987 : Les rubiacées d'Océanie in Journal of Natural Products Vol .50, N°3 pp 468-473, May-June
15. LOKOKA N., 2007 : Les Rubiaceae des districts de Kisangani et de la Tshopo R.D.CONGO, Mémoire de D.E.A. inédit Fac. des sciences UNIKIS 127p.
16. MALAISSE, 1997 : Se nourrir en forêt claire Africaine, approche écologique et nutritionnelle, Presses Agronomiques de Gembloux C.T.A.
17. MAKAMBO L. 2007 : chimie des substances naturelles, cours universitaires Fac. des Sciences UNIKIS.
18. MAROYI, A. 2006 : Voacanga africana Stapf In : Schmelzer, G.H. & Gurib-Fakim, A ( Editeurs) Prota 11 : Medicinal plants/Plantesmédicinales [CD-ROM] Prota , Wagening, Pays-Bas.
19. Maurice-Marie-Jeanot 1988 : Les alcaloïdes in Encyclopédie universalis France pp 649-655
20. MIBINDZOU, A., 2004 : Screening phytochimique de deux plantes : *Crotalia retusa* L (Papillionaceae) et *Hallea cilita* Aubrev & Pellegr (Rubiaceae) récoltées au Gabon, Thèse de Doctorat inédit Faculté de Médecine Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Mali
21. MITCHELL LORRAIN 1977 : L'usine végétale in Secrets et vertus plantes médicinales, Selection Rider's Digest, S.A.p11-15
22. MOTTE E., MOTTE, E.F., 1982 : Les plantes chez les pygmées Aka et les Monzombo de la Lobaya , Africa people p407.

## WEBOGRAPHIE

1. Caféine : [fr.wikipedia.org/wiki/caféine](http://fr.wikipedia.org/wiki/caféine)
2. cyanure: [fr.wikipedia.org/wiki/cyanure](http://fr.wikipedia.org/wiki/cyanure)
3. GUETTE, C. : Les alcaloïdes, [W.W.W.med.univers-angers.fr / discipline/bio-cell/M 1%20TVPS% et 20%BV1/cours.ppt](http://W.W.W.med.univers-angers.fr/discipline/bio-cell/M%20TVPS%20et%20BV1/cours.ppt)
4. LAMNAOEOUR D. : Plantes médicinales du Maroc : usage et toxicité [W.W.W.uae.ma/dossiers /down /formations/unia+uae/4- plantes médicinales usage et toxicité](http://W.W.W.uae.ma/dossiers/down/formations/unia+uae/4-plantes_medicinales_usage_et_toxicite)
5. Mitragyna speciosa : [W.W.W.Kratom .fr/ le kratom.html-14k.](http://W.W.W.Kratom.fr/le_kratom.html-14k)
6. Nitrite: [fr.wikipedia.org/wiki/nitrite](http://fr.wikipedia.org/wiki/nitrite)
7. Phillipe Courrière, 2008 : [www .universalis.fr/encyclpedie/T321337/EMETINE.htm-50K](http://www.universalis.fr/encyclpedie/T321337/EMETINE.htm-50K)
8. QUININE : [fr.Wikipedia .org/Wiki/ Quinine](http://fr.Wikipedia.org/Wiki/Quinine)
9. SAPONINE : [fr.Wikipedia /org/Saponine](http://fr.Wikipedia.org/Saponine)  
*Uncaria tomentosa* : [wikipedia.org/wiki/Uncaria tomentosa](http://wikipedia.org/wiki/Uncaria_tomentosa)
10. TANNIN : [W.W.W.phyton .pathos.com/.../chimie/screening% 20 tanins% 20 tanins htm](http://W.W.W.phyton.pathos.com/.../chimie/screening%20tanins%20tanins.htm)
11. Tanin : [www.phyton.pathos.com/.../chimie/screening%20et%20purification%chimique/les%20tanins%20ou%20tanins.htm](http://www.phyton.pathos.com/.../chimie/screening%20et%20purification%chimique/les%20tanins%20ou%20tanins.htm)
12. Terpène : [www.unice.fr/chim-org/data/terpenedef-pdf](http://www.unice.fr/chim-org/data/terpenedef-pdf)
13. Tubolosine : [www.mpl.fr/suds-en-ligne/fr/plantes/pdf/3A-quinqui.pdf](http://www.mpl.fr/suds-en-ligne/fr/plantes/pdf/3A-quinqui.pdf)
14. [www.ulb.ac.be/sciences/botadiveaobjectif.htm.](http://www.ulb.ac.be/sciences/botadiveaobjectif.htm)

## TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION .....	1
1. PROBLEMATIQUE .....	1
2. HYPOTHESES .....	2
3. OBJECTIFS ET INTERETS .....	3
CHAPITRE PREMIER : GENERALITES .....	4
1.1. GENERALITES SUR LA FAMILLE DE RUBIACEAE .....	4
1.1.1. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE .....	4
1.1.2. IMPORTANCE ECONOMIQUE .....	4
1.1.3. DESCRIPTION DES ESPECES ETUDIEES .....	5
1.2. LES GROUPES PHYCHIMIQUES .....	9
1.2.1. LES ALCALOIDES .....	9
1.2.1.1. DEFINITION .....	9
1.2.1.2. PROPRIETES DES ALCALOIDES .....	9
1.2.1.3. LOCALISATION .....	10
1.2.1.4. SOURCE DES ALCALOIDES .....	10
1.2.1.5. LES ALCALOÏDES DE RUBIACEAE .....	10
1.2.2. LES SAPONINES (SAPONOSIDES) .....	13
1.2.3. LES TANINS .....	14
1.2.4. LES QUINONES .....	15
1.2.4.1. DISTRIBUTION DES QUINONES .....	15
1.2.4.2. INTERET DE QUINONE .....	15
1.2.5. LES TERPENES .....	16
1.3. LES IONS TOXIQUES ET LEURS EFFETS .....	16
1.3.1. LES NITRITES .....	16
1.3.2. LES NITRATES .....	17
1.3.3. LES CYANURES .....	17
1.3.4. LES OXALATES .....	18
CHAPITRE DEUXIEME : MATERIELS ET METHODES .....	20

2.1 MATERIELS VEGETAUX .....	20
2.2. METHODES .....	21
2.2.1. ECHANTILLONAGE .....	21
2.2.2. SCREENING CHIMIQUE .....	21
2.2.2.1. DETECTION DE GRANDS GROUPES PHYTOCHIMIQUE ...	21
2.2.2.1.1. RECHERCHE DES ALCALOIDES .....	21
2.2.2.1.2. DETECTION DE SAPONINES .....	23
2.2.2.1.3. DETECTION DES QUINONES .....	23
2.2.2.1.4. DETECTION DE FLAVONOIDES .....	23
2.2.2.1.5. DETECTION DES TANINS .....	24
2.2.2.1.6. DETECTION DES STEROLS ET TERPENES .....	25
2.2.3 IDENTIFICATION DES IONS TOXIQUES .....	25
2.2.3.1 LES NITRITES .....	25
2.2.3.2. LES NITRATES .....	26
2.2.3.3. LES CYANURES .....	26
2.2.3.4. LES OXALATES .....	26
2.3 EXTRACTION DE PRINCIPES ACTIFS .....	27
2.3.1 EXTRACTION DES ALCALOIDES .....	27
2.3.2. EXTRACTION DES TANINS .....	28
2.3.3. EXTRACTION DES QUINONES .....	29
2.3.4. EXTRACTION DES SAPONINES .....	30
2.3.4.1. HYDROLYSE DES SAPONINES .....	30
CHAPITRE TROISIEME : RESULTATS ET DISCUSSION .....	35
3.1. SCREENIG CHIMIQUE .....	35
3.2. EXTRACTION DE PRINCIPES ACTIFS .....	41
3.2.1. IDENTIFICATION DE SUCRES DE L'HYDROLYSAT DE SAPONINES .....	45
CONCLUSION .....	47
BIBLIOGRAPHIE .....	51