

## INTRODUCTION

De tout temps la plante a été un centre d'intérêt pour l'homme tant pour son caractère utilitaire (habitations, ponts, pirogues...), que pour ses vertus thérapeutiques et cosmétiques. Face au caractère disparate de cette dernière, naît de l'utilisation des écorces, des racines, des feuilles ou des graines, l'homme a été amené, lui aussi, à se spécialiser. Ceci a entraîné l'émergence de bons nombres de domaines d'activités tels que la phytochimie, l'agro-alimentaire, la biochimie des produits naturels, la médecine traditionnelle pour ne citer que ceux-ci.

De même, le développement de la phytothérapie a permis en outre de traiter beaucoup de maladies.

Le choix de la graine de *Carapa procera* comme matériel dans cette étude, trouve dès lors sa pertinence, vus toutes les vertus qu'on reconnaît aux plantes et graines d'une manière générale et plus spécifiquement à la graine de *Carapa procera*.

Très peu connu dans le reste du Sénégal, le *Carapa procera* est bien apprécié pour son usage en Casamance dans le sud du pays. Cela se justifie par ses nombreuses vertus thérapeutiques comme nous l'atteste une étude ethnopharmacologique effectuée dans le Blouf (Casamance) [1].

De nos jours un certain nombre d'études ont été faites sur la plante, allant de l'écorce, le bois, les graines, les racines, les feuilles et même certaines molécules chimiques ont pu être extraites de la graine [2].

Le sujet que nous avons choisi « Saponifiables et Insaponifiables de la graine de *Carapa procera* » nous permettra de mieux connaître la composition chimique de l'huile et de vérifier la véracité de certaines activités, principalement anti-inflammatoires, par rapport aux connaissances empiriques du milieu traditionnel.

Cette étude est faite en trois grandes étapes :

- En première partie, la synthèse bibliographique, dans laquelle nous avons essayé de décrire les généralités sur la plante en donnant les différentes activités qui sous-tendent la plante et aussi les méthodes d'extraction utilisées dans le milieu traditionnel.
- La deuxième partie concerne les matériels et méthodes où nous avons déterminé la méthode d'extraction chimique.

Les indices de caractérisation des huiles tels que l'indice de saponification, l'indice d'acide, l'indice de peroxyde ; la teneur en acides gras et en insaponifiables ont été mesurés.

Le screening phytochimique a été effectué pour déterminer la composition des différents extraits obtenus en alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, hétérosides cardiotoniques et hétérosides anthracéniques. En dernier lieu, l'étude concernant l'activité anti-inflammatoire de la graine de *Carapa procera* a été menée.

- Une troisième partie consacrée aux résultats et discussions.



## I- GENERALITES SUR LE *CARAPA PROCERA*

### I-1- Ecologie :

*Carapa procera* est un arbre qui appartient à la famille des Méliacées et recouvre plusieurs espèces en Amérique et en Afrique tropicale particulièrement en Casamance au Sud du Sénégal. Plusieurs noms sont employés pour le désigner nous avons : Carapa en français, Andiroba en portugais, Crabwood en anglais.

*Carapa procera* est un arbre à feuillage persistant qui peut atteindre jusqu'à 60 m de hauteur et 2 m de diamètre.

Le fruit est composé de 5 coques (chaque coque porte entre 0 et 4 graines), parvient à maturité au bout de 6 mois et est récolté de mars à juin.

L'enveloppe de la graine est dure, rugueuse, unie et de couleur brun/roux. Les graines sont grosses et anguleuses et leur croissance est déterminée par la taille du fruit et le nombre de graines qu'il contient [3].



**Figure 1 :** Graines de *Carapa procera*

## **I-2- Etude ethnopharmacologique de *Carapa procera***

Les vertus de *Carapa procera* sont nombreuses, et concernent toutes les parties de l'arbre : le bois, l'écorce, les graines, les feuilles, les racines... Notre étude portera essentiellement sur l'huile dont les propriétés sont diverses et diffèrent d'une zone à une autre.

### **I-2-1- Le bois**

Le bois de *Carapa procera* est doux et très recherché par les scieries. Il est utilisé dans le cadre de la fabrication de contreplaqué, ameublement, ébénisterie, placages décoratifs, menuiseries extérieures et intérieures, parquets, escaliers, charpentes industrielles, revêtement extérieur, pirogues, canoës...

### **I-2-2- L'écorce**

L'écorce des plantes de la famille des Méliacées est souvent utilisée contre la toux, les fièvres et comme tonique, ce qui est également le cas de *Carapa procera*. L'écorce contient des principes amers (touloucounin, carapin), des matières colorantes jaunes et rouges, de la gomme et des traces d'amidon et peut être sous forme de teinture, de vin ou de sirop [4]. Les écorces contiendraient des triterpènes amers (touloucounin) fébrifuges, insecticides et insectifuges non toxiques pour l'homme (applications agricoles) ainsi que des colorants.

Des tests ont confirmé que l'écorce de *Carapa procera* possède des propriétés antibactériennes. Des tests, effectués au *Muséum of Medicinal Plants in Macapa* Brésil, ont également montré que le *Carapa procera* aurait une activité anti-tumorale.

Chez les Amérindiens et les Créoles l'écorce et les feuilles sont employées sous forme de décoction, pour traiter les ulcères, les plaies, les rhumes, les angines, les pneumonies et les rhumatismes [3].

Au Nicaragua, au Brésil, en Colombie, au Pérou, le décocté d'écorce sert contre les fièvres, le paludisme. L'écorce de *Carapa procera* est également utilisée au Sénégal contre les rhumatismes, comme purgatif, fébrifuge, pour traiter les conjonctivites ou encore les problèmes de peau.

### **I-2-3- L'huile**

L'huile est utilisée pour traiter les inflammations, les rhumatismes, les maux de gorge, les petites tumeurs, les déchirements musculaires et les crampes dans plusieurs pays [5].

Au Brésil, l'huile de *Carapa procera* est utilisée contre les piqûres des insectes, le paludisme et la fièvre jaune [6-8].

L'huile a une CL<sub>10</sub>, CL<sub>50</sub>, CL<sub>90</sub> (concentration létale pour une population de 10, 50, 90%) respectivement de 9,9 ; 57 ; 330 µg/l pour les larves de *Aedes aegypti*. Elle a une mortalité de 100% pour toute concentration supérieure à 800 µg/l. L'*Aedes aegypti* étant l'agent responsable de la fièvre jaune [9].

Une étude américaine menée en 1997 a également décrit que les lipides de *Carapa procera* ont un effet inhibiteur sur la glucose-6-phosphate déshydrogénase (fig. 7). Un effet inhibiteur sur la différenciation des adipocytes a été également décelé, ce qui pourrait en faire un traitement efficace contre la cellulite [8].

Les propriétés anti-inflammatoires de l'huile de *Carapa procera* seraient dues à la présence de limonoïdes et de triterpènes (fraction non saponifiable) qui sont solubles dans la fraction insaturée de l'huile [10].

	ACTIVITES	PAYS
<b>ECORCE ET FEUILLES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- traitement des ulcères, des plaies, coupures et mycoses</li> <li>- rhumatismes, rhumes, angines, pneumonies et dépression</li> <li>- fièvres, paludisme, helminthes</li> <li>- purgatif, fébrifuge, conjonctivites, dermatoses</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nicaragua</li> <li>- Brésil</li> <li>- Colombie</li> <li>- Pérou</li> <li>- Sénégal</li> </ul>
<b>HUILE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inflammations, rhumatismes, maux de gorge, petites tumeurs et déchirements musculaires ou crampes</li> <li>- Paludisme</li> <li>- Eczémas infectés, brûlures dues aux plantes urticantes, piqûres d'insectes, petites plaies, contusions, douleurs d'arthrite</li> <li>- traitement des cancers internes, fièvre jaune...</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Guyane</li> <li>- Créoles</li> <li>- Bresil</li> <li>- Senegal</li> </ul>

**Tableau 1 :** Tableau récapitulatif des activités de *Carapa procera*

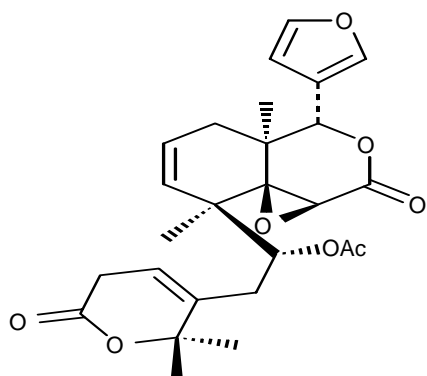
Ce sont toutes ces propriétés qui nous ont poussé à faire une étude plus approfondie de la graine de *Carapa procera*.

### I-3- Molécules extraites de la graine de *Carapa procera*

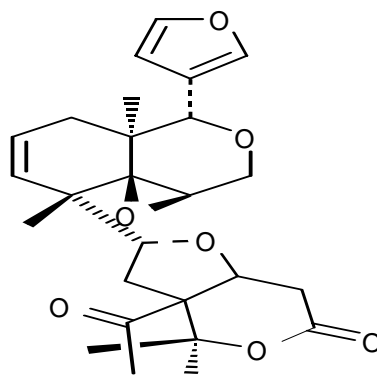
De nos jours, un certain nombre de molécules ont pu être isolées de la graine de *Carapa procera* comme les tétranortriterpénoïdes (Fig. 2, 3) [11, 12].

Les tétranortriterpénoïdes sont des substances toxiques pour les insectes.

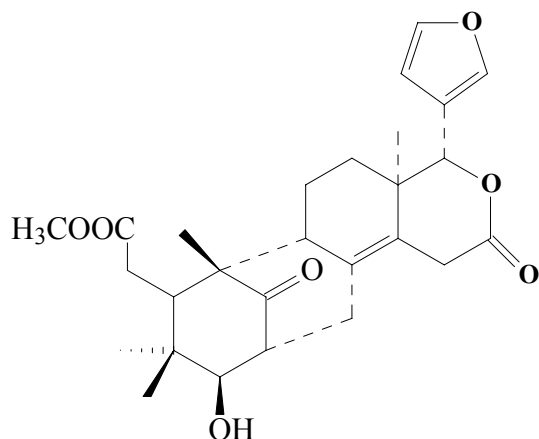
D'autres composés ont pu être isolés comme le Carapolide A (Fig. 2) et le Méthylangolensate (Fig. 3).



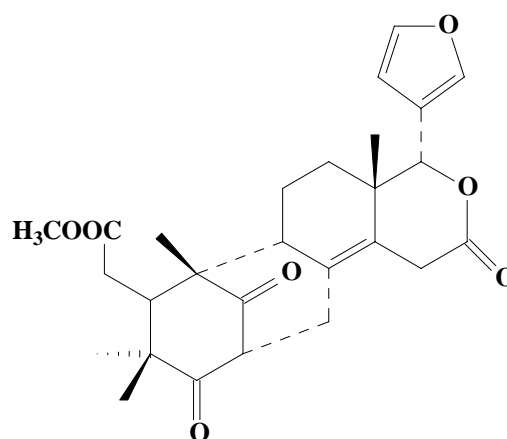
**Figure 2 :** Carapolide A



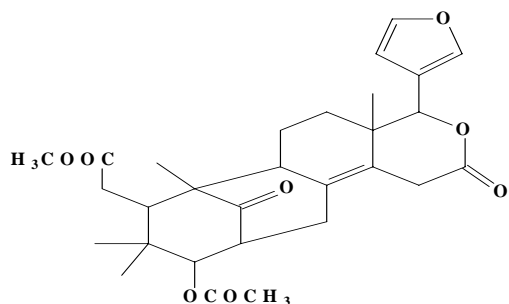
**Figure 3 :** Méthylangolensate



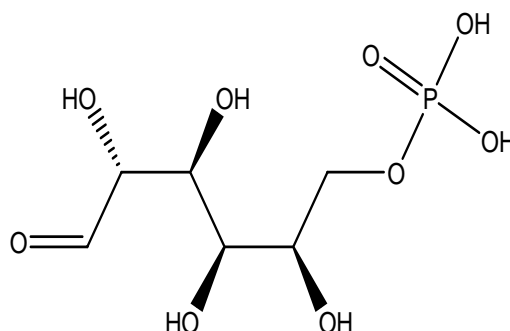
**Figure 4 :** Proceranolide



**Figure 5 :** Mexicanolide



**Figure 6 : Fissinolide**



**Figure 7 : glucose-6-phosphate**

L'oxydation du Proceranolide (3 $\beta$  diacéthylfissinolide) (Fig. 4) conduit à un composé identifié le Mexicanolide (Fig. 5). L'acétylation du même proceranolide conduit au Fissinolide (Fig. 6).

#### I-4- Méthodes d'extraction traditionnelles

Dans la plupart des procédés d'extraction, les graines sont bouillies et laissées à décomposer pendant une à deux semaines. La pulpe est ensuite extraite des graines et placée sur des plaques de zinc, exposées au soleil. Le soleil chauffe le zinc et la pulpe, ainsi l'huile s'écoule des graines. Il faut environ 100 kg de graines pour obtenir 25 L d'huile selon ce procédé.

Certains agriculteurs brésiliens utilisent le procédé d'extraction suivant : Les graines sont ramassées dès qu'elles tombent, (en plus de pourrir très rapidement, elles sont très vulnérables à l'attaque des insectes et des rongeurs). Elles sont ensuite bouillies jusqu'à ce qu'elles deviennent molles, et après les avoir égouttées, elles sont épluchées et mélangées. La pâte est disposée dans un plan incliné pendant un mois. Un récipient récolte l'huile qui coule lentement.

Il existe également des procédés industriels de production d'huile, mis en œuvre dans certaines fabriques d'Amazonie. Les graines sont cassées en morceaux et acheminées vers une étuve où elles sont pressées à 90 °C dans des presses hydrauliques. Le rendement pour un tel procédé est de 18 l d'huile pour 100 kg de graines. On constate qu'il est du même ordre de grandeur que pour les procédés traditionnels.

Au Sénégal, la méthode consiste en une extraction à chaud en phase aqueuse, la poudre de noix, préalablement séchée, torréfiée et pilée est extraite avec l'eau bouillante. L'huile surnage et est recueillie au moyen d'une grosse cuillère [1].

# MATERIELS & METHODES

## A- MATERIELS

### I-1- Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans cette étude est constitué de :

- la graine de *Carapa procera* récoltée en Casamance
- L'huile commerciale extraite par la méthode traditionnelle

### I-2- Appareillage

- Extracteur soxhlet
- Chauffe ballon à température réglable
- Balance analytique
- Etuve à dessiccation réglable
- Papier filtre, exempt de matières grasses
- Broyeur mécanique
- Fiole conique 250 mL
- Réfrigérant à reflux
- Burette
- Nacelle en verre de capacité 3 mL
- Becher 250 mL

## B- METHODES D'ANALYSE

### I- METHODE D'EXTRACTION CHIMIQUE

#### I-1- Principe

Le produit est soumis à l'action successive de l'hexane, du dichlorométhane et du méthanol dans un extracteur soxhlet puis les solvants sont éliminés et les extraits récupérés.

#### I-2- Réactifs

Hexane, Dichlorométhane, Méthanol.



### **I-3- Mode opératoire**

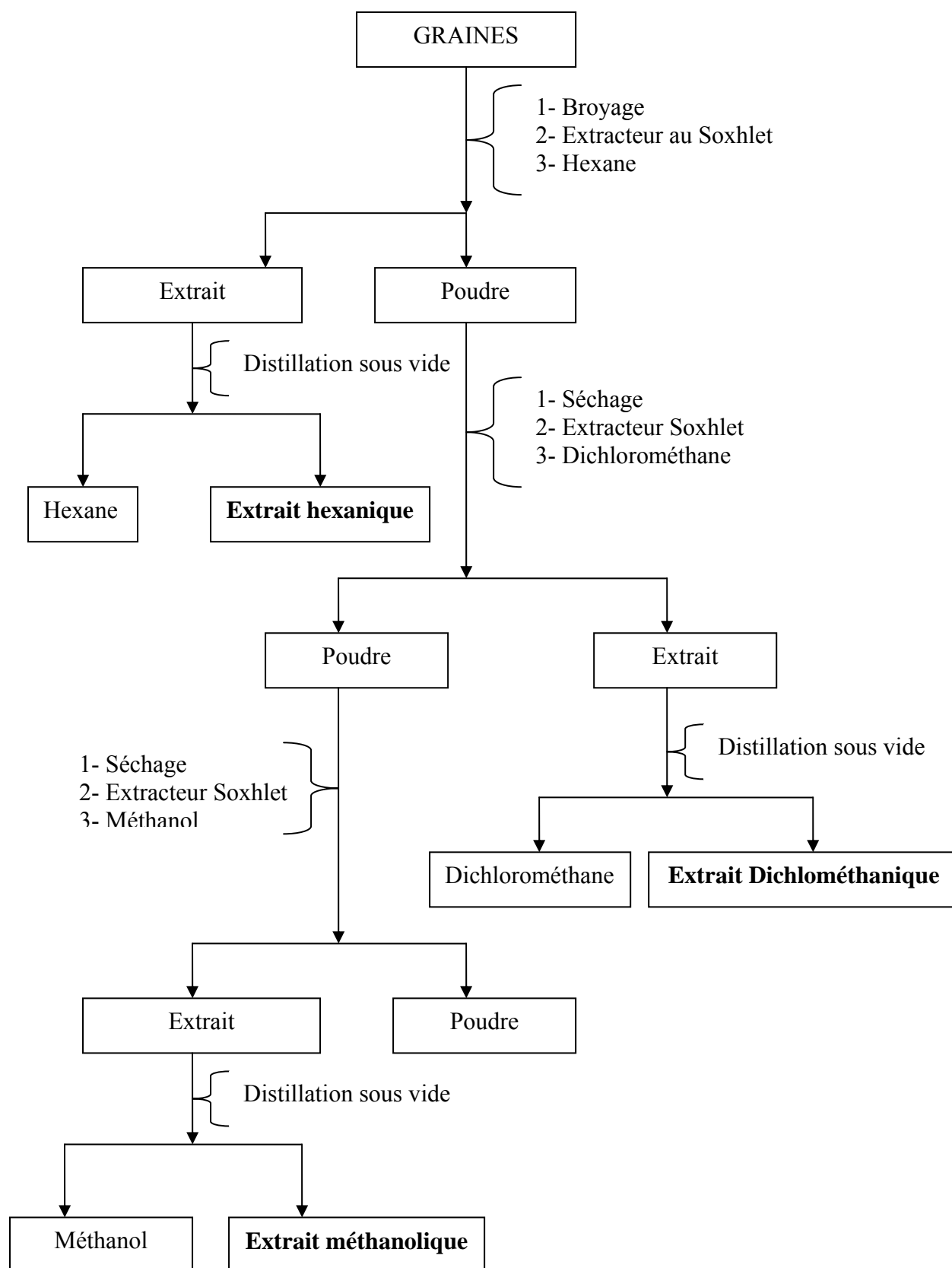
Broyer l'échantillon (graine de *Carapa. procera*) dans un broyeur mécanique jusqu'à obtention de particules ayant au moins 2 mm de diamètre dans leur plus grande dimension.

### **I-4- Prise d'essai**

Peser à 1mg près toute la poudre obtenue.

### **I-5- Extraction**

Adapter le ballon à l'appareil d'extraction (soxhlet) et placer le tout sous chauffage électrique de façon à ce que le reflux soit au moins de 3 gouttes à la seconde.



**Figure 8 :** Résumé des différentes étapes de l'extraction.

## II- DETERMINATION DES INDICES

Afin de mieux connaître la qualité de l'huile, nous déterminerons les indices suivants : indice de peroxyde, indice de saponification, indice d'acide de l'extrait hexanique et de l'huile commerciale. Il existe aussi l'indice d'iode que nous n'avons pas pu déterminer faute de manque de réactifs.

### II-1- DETERMINATION DE L'INDICE DE SAPONIFICATION (AFNOR NF T 60-206)

#### II-1-1- Méthodologie

##### II-1-1-1- Définition

On entend par **indice de saponification** d'un corps gras, le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour saponifier un gramme de produit [13,14].

##### II-1-1-2- Principe

L'échantillon est mis à ébullition, sous réfrigérant, avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium. L'excès d'hydroxyde de potassium est titré avec une solution aqueuse d'acide chlorhydrique, ce qui permet d'en déduire l'indice de saponification.

##### II-1-1-3- Réactifs

1- Hydroxyde de potassium : solution de 0,5 N dans l'éthanol à 95-96 % (en volume). Ce titre doit être connu et vérifié avant emploi. Utiliser une solution préparée au moins 5 jours auparavant et décantée. La solution doit être incolore ou jaune paille.

2- Acide chlorhydrique 0,5 N.

3- Phénolphthaléine : solution à 1 g pour 10 mL dans l'éthanol à 95-96 %.

**NB :** Il est recommandé de purifier l'éthanol par addition de 5 à 10 g d'hydroxyde de potassium par litre d'éthanol et de le porter à ébullition pendant une heure avant de le distiller.

#### II-1-2 - Mode opératoire

##### II-1-2-1- Prise d'essai

Peser à 0,001 g près dans la fiole environ 2 g de corps gras.

## **II-1-2-2- Détermination de l'indice de saponification**

### **Détermination du volume réel $V_0$**

Ajouter 25 mL exactement mesurés de solution éthanolique d'hydroxyde de potassium, adapter un réfrigérant à la fiole contenant la solution éthanolique d'hydroxyde de potassium. Porter à légère ébullition en agitant de temps en temps, arrêter le chauffage après 60 mn d'ébullition. Ajouter 4 à 5 gouttes de phénophtaléine, titrer la solution savonneuse encore chaude avec la solution d'acide chlorhydrique.

### **Détermination du volume témoin $V_t$**

Prendre 25 mL exactement mesurés de solution éthanolique d'hydroxyde de potassium, adapter au réfrigérant la fiole contenant la prise d'essai et la solution éthanolique d'hydroxyde de potassium. Porter à légère ébullition en agitant de temps en temps, après 60 mn, arrêter le chauffage. Ajouter 4 à 5 gouttes de phénophtaléine, titrer la solution savonneuse encore chaude avec la solution d'acide chlorhydrique.

## **II-2- DETERMINATION DE L'INDICE DE PEROXYDE (NORME NFT 60-204)**

### **II-2-1- Méthodologie**

#### **II-2-1-1- Définition**

L'**indice de peroxyde** d'un corps gras est le nombre de microgrammes actifs du peroxyde contenu dans un gramme de produit et oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode.

#### **II-2-1-2- Principe**

Le corps gras en solution dans l'acide acétique et du chloroforme est traité par une solution d'iodure de potassium puis l'iode libéré est titré par une solution de thiosulfate de sodium.

#### **II-2-1-3- Réactifs**

Tous les réactifs doivent être exempts d'oxygène dissout.

- 1- Chloroforme de qualité analytique privé d'oxygène par barbotage d'un courant de gaz inerte pur et sec.
- 2- Acide acétique cristallisable privé d'oxygène par barbotage d'un courant de gaz inerte pur et sec.

- 3- Iodure de potassium exempt d'iode et d'iodates : solution aqueuse saturée fraîchement préparée.
- 4- Thiosulfate de sodium : solution 0,01 N ou 0,002 N de titre connu et fraîchement vérifié.
- 5- Empois d'amidon : dispersion aqueuse à 1 g pour 100 mL récemment préparée à partir d'amidon natif.

## **II-2-2- Mode opératoire**

L'essai est effectué en lumière du jour diffuse. Tout le matériel utilisé est exempt de substances réductrices ou oxydantes.

### **II-2-2-1- Prise d'essai**

Peser à 1mg près, 0,3 à 2,0 g de corps gras.

### **II-2-3- Détermination de l'indice de peroxyde**

- Déboucher le flacon
- Ajouter 10 mL de chloroforme. Dissoudre rapidement le corps gras en agitant.
- Ajouter 15 mL d'acide acétique puis 1 mL de solution d'iodure de potassium.
- Boucher aussitôt le flacon, l'agiter pendant une minute et l'abandonner pendant cinq minutes à l'abri de la lumière puis ajouter 75 mL d'eau distillée.
- Titrer en agitant vigoureusement en présence d'empois d'amidon comme indicateur, l'iode libéré avec la solution de thiosulfate de sodium 0,002 N (pour les indices inférieurs ou égaux à 100) et 0,01 N (pour les indices supérieurs à 100).

Effectuer deux déterminations pour chaque échantillon.

### **Essai à blanc**

Effectuer sans le corps gras un essai à blanc. Si le résultat de cet essai excède 0,05 mL de solution 0,01 N de thiosulfate de sodium, de nouveaux réactifs doivent être préparés.

## **II-3- DETERMINATION DE L'INDICE D'ACIDE (NFT 60-221)**

### **II-3-1- Méthodologie**

#### **II-3-1-1- Définition**

L'**indice d'acide** d'un corps est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour neutraliser l'acidité d'un gramme de corps gras.

### **II-3-1-2- Principe**

Titration des acides gras libres présents à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium, après dissolution d'une quantité connue du corps gras dans un mélange d'éthanol et d'oxyde diéthylique.

### **II-3-1-3- Réactifs**

- 1- Faire un mélange à volume égal d'oxyde diéthylique et d'éthanol à 95-96 %. Neutraliser le mélange exactement au moment de l'emploi à l'aide de la solution éthanolique d'hydroxyde de potassium 0,1 N, en présence de 0,3 mL de phénolphthaléine pour 100 mL de mélange.
- 2- Hydroxyde de potassium : solution 0,1 N ou si nécessaire 0,5 N dans l'éthanol à 95-96 % (en volume). Le titre doit être connu et vérifié avant emploi. Utiliser une solution préparée au moins cinq jours auparavant et décantée. La solution doit être incolore ou jaune paille.
- 3- Phénolphthaléine : solution à 1 g pour 100 mL dans l'éthanol à 95-96 % (en volume).

### **II-3-2- Mode opératoire**

#### **II-3-2-1- Prise d'essai**

Peser à 0,01 g près dans la fiole conique de 250 mL, 5 à 10 g de l'échantillon préparé de corps gras selon l'acidité présumée.

#### **II-3-3- Détermination**

Dissoudre la prise d'essai dans 100 mL environ du mélange à parties égales d'éthanol et d'oxyde diéthylique, neutralisé au moment de l'emploi. Si la solution obtenue n'est pas limpide, ajouter un volume supplémentaire de solvant. Effectuer deux déterminations pour chaque échantillon.

#### **Remarque**

Pour les corps gras contenant de l'acide laurique, la température de la solution d'éthanol et d'oxyde diéthylique doit être maintenue entre 15 et 20° C pendant le titrage.

## **III- TENEUR EN INSAPONIFIABLES ET EN ACIDES GRAS**

### **III-1- TENEUR EN INSAPONIFIABLES**

#### **III-1-1- Méthodologie**

##### **III-1-1-1- Définition**

On appelle **insaponifiables**, l'ensemble des constituants naturels des corps gras qui ne réagissent pas avec la soude ou la potasse pour donner des savons [15, 16].

##### **III-1-1-2- Principe**

Après saponification d'un corps gras par la potasse alcoolique, la solution contient en plus du KOH en excès et des savons, du glycérol et des constituants insaponifiables. Ceux-ci sont solubles dans l'alcool à 50 % et sont extractibles de leur solution hydro alcoolique à 50 % par l'éther de pétrole.

##### **III-1-2- Mode opératoire**

Il faut d'abord réaliser la saponification en prélevant dans un ballon de 1L, muni d'un réfrigérant à reflux, 5,8 g de matière grasse (extrait hexanique). Ajouter 50 mL de KOH alcoolique 2 N et chauffer à ébullition douce pendant 1 h. Après saponification, ajouter dans le ballon 50 mL d'eau distillée. Distiller l'alcool sous vide et transvaser la solution dans une ampoule à décanter. Extraire 4 fois avec 50 mL d'éther de pétrole ou d'hexane.

- Laver successivement la solution hexanique avec 50 mL d'eau distillée en fractionnant la solution hexanique, 50 mL d'une solution aqueuse de KOH à 1 %, enfin avec de l'eau distillée jusqu'à neutralité.
- Sécher la phase organique avec du sulfate de sodium anhydre, évaporer à sec sous vide puis peser le résidu.

### **III-2- TAUX D'ACIDES GRAS**

#### **III-2-1- Méthodologie**

##### **III-2-1-1- Mode opératoire**

La phase aqueuse alcaline est acidifiée par l'acide chlorhydrique jusqu'à pH = 3. On extrait par 1L d'éther de pétrole ou d'hexane. La solution hexanique est lavée à l'eau jusqu'à neutralité puis séchée par du sulfate de sodium anhydre.

Après évaporation à sec sous vide de l'hexane le résidu obtenu est pesé.

## **VI- SCREENING PHYTOCHIMIQUE**

Nous avons recherché les principales classes de métabolites secondaires, à savoir : les alcaloïdes, les hétérosides anthracéniques, les hétérosides cardiotoniques, les flavonoïdes et les tanins. Cette recherche a été effectuée sur tous les extraits que nous avons obtenus : extrait hexanique, extrait dichlorométhanique, extrait méthanolique ainsi que l'huile commerciale [17].

### **VI-1- MISE EN EVIDENCE DES ALCALOÏDES**

#### **VI-1-1- Principe**

La caractérisation des alcaloïdes est basée sur trois tests fondés sur la capacité qu'ont les alcaloïdes à se combiner avec les métaux lourds ou avec l'iode [18].

Vérification de la solubilité dans l'eau des différents extraits.

##### **Préparation des solutions :**

- 9 mL d'éthanol + 2 g d'extrait hexanique
- 9 mL d'éthanol + 2 g d'extrait dichlorométhanique
- 9 mL d'éthanol + 2 g d'extrait méthanolique
- 9 mL d'éthanol + 2 g d'huile commerciale

#### **VI-1-2- Réaction de caractérisation**

Mettre 0,5 mL de chaque solution à caractériser dans 3 tubes à essai distincts.

Ajouter 3 gouttes de réactif pour chaque solution :

- Bouchardât (solution iodo-iodurée) dans le premier tube
- Dragendorff (solution iodo-bismuthite) dans le second tube
- Valser Mayer (solution mercuri iodure de potassium) dans le troisième tube

En présence d'alcaloïdes, il se forme des précipités dont les colorations sont les suivantes :

- Avec le réactif de Bouchardât : coloration brune
- Avec le réactif de Dragendorff : coloration brune
- Avec le réactif de Valser Mayer : coloration jaunâtre



### VI-1-3- Identification par Chromatographie sur Couche Mince

Support : plaque de silice

Solvant : { Chloroforme 45  
Diéthylamine 5

Témoin : Atropine

## VI-2- MISE EN EVIDENCE DES TANINS

### VI-2-1- Principe

L'ajout de  $\text{FeCl}_3$  1 % permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques [19, 20].

### VI-2-2- Réaction de caractérisation

#### Préparation des solutions

- 1) 9 mL d'éthanol + 2 g d'extrait hexanique
- 2) 9 mL d'éthanol + 2 g d'extrait dichlorométhanique
- 3) 9 mL d'éthanol + 2 g d'extrait méthanolique
- 4) 9 mL d'éthanol + 2 g d'huile commerciale

#### Caractérisation par le chlorure ferrique

A 5 mL de solution, ajouter quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique à 2 %, agiter. Il se développe une coloration brun vert qui indique la présence de tanins catéchiques.

#### Caractérisation par l'acide phosphotungstique

Diluer l'infusé au 1 /10

A 1 mL de la solution, ajouter :

- 1 mL d'une solution d'acide phosphotungstique
- 9 mL d'une solution aqueuse de carbonate de sodium 25 %

Il se développe une coloration bleue qui indique la présence de tanins galliques.

### VI-2-3- Différenciation des tanins

#### a- Précipitation par le réactif de Stiasny

##### Mode opératoire

- A 8 mL de solution ajouter 4 mL de réactif de Stiasny
- Chauffer 30 mn au bain marie à ébullition, la précipitation montre la présence de tanins condensés.

- Filtrer puis saturer le filtrat par l'acétate de sodium. Ajouter quelques gouttes de la solution de chlorure ferrique à 2 %, il apparaît une coloration bleue noire qui indique la présence de tanins hydrolysables, non précipités par le réactif de Stiasny.

#### b- Oxydation des tanins condensés

Par chauffage en milieu chlorhydrique, les tanins condensés s'oxydent en phlobaphènes donnant une coloration rouge.

##### Mode opératoire

- A 5 mL de l'infusé ajouter 1 mL de HCl et porter à ébullition.
- Il se développe une coloration rouge due à la formation de phlobaphènes.

### VI-2-4- Identification par Chromatographie sur Couche Mince

Support : plaque de silice

Solvant de migration : 

{	Acétate d'éthyle	7
	Méthanol	13
	Eau	10

Révéléateur :  $\text{FeCl}_3$  à 2 %

Témoin : Acide Tannique

### VI-3- MISE EN EVIDENCE DES FLAVONOIDES

#### VI-3-1- Principe

Les flavonoïdes sont extractibles par l'alcool ou par l'eau chaude, ils sont peu solubles dans l'eau froide [21, 22].

## **VI-3-2- Coloration en milieu alcalin**

### **VI-3-2-1- Principe**

En milieu alcalin, les flavonoïdes se dissolvent facilement en donnant des colorations allant du jaune au brun.

### **VI-3-2-2- Mode opératoire**

Dans un tube à essai, ajouter 2 mL de la solution extractive et quelques gouttes d'une solution de soude au 1/10 : noter la coloration orangée

## **VI-3-3- Coloration par le perchlorure de fer**

### **VI-3-3-1- Principe**

Les flavonosides, du fait de la présence des fonctions phénoliques dans leur génine, donnent des colorations variées avec des solutions diluées de  $\text{FeCl}_3$ .

### **VI-3-3-2- Mode opératoire**

A 2 mL de la solution extractive ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution diluée de  $\text{FeCl}_3$  : observer une coloration verdâtre.

## **VI-3-3- Réaction de la cyanidine**

### **VI-3-3-1- Principe**

En solution alcoolique, en présence d'hydrogène naissant produit in situ par action de l'acide chlorhydrique sur du magnésium, les flavonoïdes donnent des colorations variées allant du rouge orangé au violet.

### **VI-3-3-2- Mode opératoire**

- Introduire dans un tube à essai environ 2 mL de solution extractive.
- Ajouter 2 mL d'alcool chlorhydrique composé de :
  - $\left\{ \begin{array}{l} \text{Alcool 96 (2v)} \\ \text{Eau distillée (2v)} \\ \text{HCl concentré (1v)} \end{array} \right.$   $v = \text{volume}$
- Ajouter quelques fragments de magnésium (attention réaction exothermique), une coloration rose puis rouge se développe lentement.

### VI-3-4- Identification par Chromatographie sur Couche Mince

Support : plaque de silice

Solvant éluant : acide acétique à 15 % dans l'eau

Témoins : Luteolin et Vitexin

Révélation :


- Examen sous lampe UV à 366 nm
- Après séchage dans une étuve à 100 °C pendant 5 mn, pulvériser la plaque de silice avec une solution de chlorure d'aluminium à 5 % dans le mélange eau-méthanol (1/1 : v/v). Remettre à l'étuve pendant 5 à 10 mn puis observer à la lampe UV à 366 nm.

## VI-4- MISE EN ÉVIDENCE DES DROGUES À HETEROSIDES ANTHRACENIQUES

### IV-4-1- Principe

Les génines anthracéniques donnent en présence d'un alcali, une coloration rouge. Cette coloration est intense avec les génines oxydées. La réaction de coloration est appelée : réaction de Borntraeger.

### VI-4-2- Mode opératoire

- ❖ Mélanger : 
  - 25 mg d'extrait
  - 20 mL d'eau distillée
  - 1 mL d'HCl concentré
- ❖ Porter au bain marie bouillant pendant 15 mn.
- ❖ Laisser refroidir.
- ❖ Extraire, après filtration, avec 10 mL de CHCl<sub>3</sub>.
- ❖ Récupérer la phase chloroformique.
- ❖ Ajouter au résidu 2 mL d'ammoniaque.

On observe une coloration jaune qui vire au rouge par chauffage au bain-marie.

### VI-4-3- Identification par Chromatographie sur Couche Mince

Support : plaque de silice

Solvant éluant	n-butanol	4	(V/V phase supérieure)
	Acide acétique	1	
	Eau	5	

Témoin : Rhein

#### Révélation :

- Examen sous lampe UV à 366 nm
- Après séchage dans une étuve à 100 °C pendant 5mn, pulvériser la plaque de silice avec une solution d'acide périodique à 1 % dans l'éthanol.
- Chauffer la plaque dans une étuve à 100 °C pendant 10 mn.
- Pulvériser la plaque de silice avec une solution de potasse à 10 % dans l'éthanol à 50 °C.

### VI-5- MISE EN EVIDENCE DES HETEROSIDES CARDIOTONIQUES

#### VI-5-1- Principe

Les hétérosides cardiotoniques sont caractérisés par des réactions colorées de Kedde, Baljet, Raymond Marthoud

#### VI-5-2- Mode opératoire

Les extraits sont répartis dans 3 tubes à essai distincts.

- Verser dans chaque tube respectivement :
  - tube 1 : 0,5 mL de réactif de Baljet
  - tube 2 : 0,5 mL de réactif de Kedde
  - tube 3 : 0,5 mL de réactif de Raymond Marthoud
- Ajouter dans chaque tube 2 gouttes de lessive de soude diluée au 1/5 dans l'alcool à 95° ; agiter (s'assurer que le pH est bien alcalin). Observer les colorations :
  - tube 1 : rouge orangé stable
  - tube 2 : rouge pourpre stable
  - tube 3 : violet fugace.

**Remarque :**

Réactif de Baljet : acide picrique

Réactif de Kedde : acide-3,5-dinitrobenzoïque

Réactif de Raymond Marthoud : m-dinitro-benzene

**VI-5-3- Identification par Chromatographie sur Couche Mince**

Support : plaque de silice

Solvant éluant :  $\left\{ \begin{array}{l} \text{Butanol/éthanol (4/1) : Solution A} \\ \text{Solution A / Eau (3/1)} \end{array} \right.$

Témoin : digitaline

**Révélation :**

- Examen sous lampe UV à 366 nm
- Après séchage dans une étuve à 100 °C pendant 5 mn pulvériser avec l'acide-3,5-dinitrobenzoïque (Réactif de Kedde).
- Remettre à l'étuve 5 à 10 mn puis observer à l'UV à 366 nm.

## **V- DETERMINATION DE L'ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE**

### **V-1- INTRODUCTION**

Du latin rubor (rougeur); calor (chaleur); tumor (gonflement); dolor (douleur); functio laesa (impotence fonctionnelle), l'inflammation est une réaction de défense immunitaire stéréotypée de l'organisme à une agression qui peut être une infection, une brûlure, une allergie... Elle peut se manifester par :

- une rougeur (érythème) : il y a une vasodilatation locale ;
- un gonflement ou œdème ;
- une démangeaison, une sensation de chaleur ;
- une altération du fonctionnement de l'organe touché (impotence fonctionnelle), par exemple une difficulté à bouger dans le cas d'une articulation.

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui préviennent ou inhibent le processus inflammatoire, particulièrement quand il est exagéré par rapport à la cause initiale comme dans le cas de certaines maladies rhumatismales, des réactions immunitaires et des dégénération cartilagineuses des articulations. Les anti-inflammatoires sont divisés en deux groupes :

- les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS),
- les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).

Les AINS constituent un ensemble chimiquement hétérogène. Ce sont des acides faibles, liposolubles et de faible poids moléculaire ce qui explique la facilité de leur absorption par la muqueuse digestive.

Les AIS ou glucocorticoïdes inhibent la phospholipase A2, enzyme nécessaire à la production de l'acide arachidonique, substrat des médicaments de l'inflammation.

Les méthodes d'étude des anti-inflammatoires sont nombreuses. Les études peuvent être réalisées soit in vivo, soit in vitro [23, 24, 25]. Nous avons le :

- Test de l'érythème cutané aux UV ou au nicotinate d'éthyle chez le Cobaye
- Test de perméabilité chez le lapin
- Test de granulome à la carragénine chez le rat
- Test de l'évolution de l'œdème de l'oreille de souris à l'huile de croton
- Test de l'évolution de l'œdème aigu de la patte de rat

Nous utiliserons le test in vivo de l'évolution de l'œdème aigu de la patte de rat comme protocole d'étude pour la détermination de l'activité anti-inflammatoire des extraits de *Carapa procera*.

## **V-2- PROTOCOLE D'ETUDE**

Les rats, répartis en lots de 10 sont mis à jeun pendant une durée de 16 heures avant l'expérimentation [26, 27]. On mesure pour chacun d'eux le volume initial ( $V_0$ ) de la patte gauche, ensuite on administre les différents traitements par gavage selon le protocole suivant :

- lot traité à l'eau distillée, en raison de 1 mL pour 100 g de poids corporel (témoin)
- lot traité avec les extraits, si les extraits sont insolubles dans l'eau, on y ajoute de la tuine pour la solubilisation.

Le gavage est fait de sorte que la dose soit égale à 100 mg/kg de poids du rat, avec une concentration égale à 10 mg/mL dans une solution physiologique de NaCl de concentration 9 g/L.

30 minutes après gavage, on injecte à chaque rat 0,05 mL de carragénine sous le coussinet plantaire de la patte arrière gauche pour provoquer l'inflammation.

L'évolution de l'œdème de la patte est déterminée toutes les 30 mn pendant 4 heures.

Afin d'apprécier l'importance de l'œdème, on détermine le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (% AUG) et le pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème en fonction du temps.



# RESULTATS & DISCUSSIONS

## I- METHODES D'EXTRACTION CHIMIQUE

### A- RESULTATS

La quantité de fruits (graines + coques) que nous avons obtenue de la Casamance en mars 2005 était de **785 g**, après décorticage la masse de graines obtenue était de **325 g**, soit une masse de **460 g** de coques et graines pourries du fait de la durée de conservation (8 mois).

Après broyage, la quantité de poudre obtenue était de **285 g**.

#### Extraction à l'hexane

- Insérer les **285 g** de poudre dans le compartiment A du soxhlet en ayant placé auparavant du coton au fond pour éviter le passage du produit.
- Insérer 500 mL d'hexane dans le compartiment B (ballon).
- Chauffer au reflux de l'hexane au moins 3 gouttes à la seconde.
- Après 8 h d'extraction, laisser refroidir la solution.
- Distiller l'hexane à l'évaporateur rotatif pour séparer l'huile de l'hexane.
- Sécher à l'air libre la poudre.
- Isoler le produit obtenu dans un ballon de 500 mL.

Après séchage de 48 h de la poudre, la quantité obtenue est de **138,7 g**.

La quantité d'huile obtenue après distillation sous vide est de **146,3 g**.

#### Extraction au dichlorométhane

- Insérer les 138,7 g de poudre dans le soxhlet.
- Introduire 700 mL de dichlorométhane dans le ballon.
- Après 8 h d'extraction au reflux du dichlorométhane, laisser refroidir la solution.

Après séchage de 24 h de la poudre, la quantité obtenue est de **124,9 g**.

La quantité d'huile obtenue après distillation sous vide est de **13,8 g**.

#### Extraction au méthanol

- Insérer les 124,9 g de poudre dans le soxhlet.
- Introduire 700 mL de méthanol.
- Après 8 h d'extraction au reflux du méthanol, laisser refroidir la solution.

Après séchage de 48 h de la poudre, la quantité obtenue est de **100,6 g**.

La quantité d'huile obtenue après distillation sous vide est de **24,3 g**.

## B- DISCUSSIONS

Ayant introduit une masse de **285 g** de poudre de graine de *Carapa procera*, la masse d'extrait hexanique obtenue est de **146,3 g**, la masse d'extrait dichlorométhanique **13,8 g** et la masse d'extrait méthanolique **24,3 g**.

Au cours de l'extraction, nous apercevons un produit blanchâtre insoluble dans l'hexane qui cristallise sur le bord du soxhlet. Nous l'appellerons par la suite **résidu d'extrait hexanique**, sa masse est de 4,9 g.

La proportion de l'extrait hexanique est de **51,33 %**, celle de l'extrait dichlorométhanique **4,84 %** et celle de l'extrait méthanolique **8,53 %**, donnant ainsi un rendement total de **64,70 %** d'extrait pour 100 g de graines.

Nos résultats confirment ceux de Gbaya (2005) qui a obtenu une teneur en huile de 59,38 % en utilisant l'hexane comme solvant d'extraction. Il en est de même pour Diémé (1992) qui a obtenu une teneur en huile de 57,3 % en utilisant le diéthyl éther comme solvant d'extraction.

Tous les deux n'ont utilisé que des solvants apolaires, en outre plus un solvant est polaire plus il extrait des produits polaires. Cela nous laisse supposer qu'ils n'ont pas extrait toutes les substances contenues dans la graine.

C'est dans cette optique que nous avons choisi l'hexane, le dichlorométhane et le méthanol comme solvants (solvants apolaires aprotique, polaire protique). Cela nous a permis en sus d'avoir un gradient de polarité allant de produits moins polaires vers les produits plus polaires, d'extraire la quasi-totalité des substances contenues dans les graines.

L'hexane extrait les substances apolaires, les huiles, les insaponifiables de même que les glycérides.

Le dichlorométhane extrait les résidus apolaires et une partie des substances faiblement polaires.

Le méthanol extrait toutes les substances polaires.

La méthode traditionnelle utilisant l'eau comme solvant d'extraction n'extrait que la fraction lipidique.

## II- DETERMINATION DES INDICES

### A- RESULTATS

#### Indice de saponification

#### Expression des résultats

L'indice de saponification (**Is**) se détermine ainsi :

$$\mathbf{Is = \frac{(V_0 - V_t) \times N \times 56,1}{M}}$$

**V<sub>0</sub>** : Volume en millilitres de la solution d'acide chlorhydrique utilisée pour l'essai témoin

**V<sub>t</sub>** : Volume en millilitres de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour l'essai réel

**M** : Masse en grammes de la prise d'essai.

**N** : Normalité de la solution d'acide chlorhydrique.

**56,1** : Masse molaire de KOH

Extrait hexanique

**V<sub>0</sub>** = 20 mL

**V<sub>1</sub>** = 3 mL

**V<sub>2</sub>** = 3,2 mL

**M** = 2,5 g

Huile commerciale

**V<sub>0</sub>** = 20 mL

**V<sub>1</sub>** = 2,1 mL

**V<sub>2</sub>** = 1,9 mL

**M** = 2,5 g

L'indice de saponification de l'extrait hexanique est de **Is = 191,45**.

L'indice de saponification de l'huile commerciale est de **Is = 201,96**.

## Indice de peroxyde

### Expression des résultats

**L'indice de peroxyde ( $I_p$ )**, exprimé en micro grammes d'oxygène actif par gramme, est :

$$I_p = 8000 \times \frac{N \times V}{E}$$

**V** : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisée par l'essai, corrigé compte tenu de l'essai à blanc, exprimé en millilitres de solution 0,01 N.

**E** : Masse en grammes de la prise d'essai.

**N** : Normalité du thiosulfate de sodium.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations.

#### Extrait hexanique

**V** = 18,5 mL

**E** = 2 g

**V<sub>0</sub>** = 2 mL

#### Huile commerciale

**V** = 2,5 mL

**E** = 2 g

**V<sub>0</sub>** = 2 mL

L'indice de peroxyde de l'extrait hexanique est :  **$I_p = 0,66$ .**

L'indice de peroxyde de l'huile commerciale est :  **$I_p = 0,02$ .**

## Indice d'acide

### Expression des résultats

En tenant compte du fait que 1 mL de solution normale de KOH correspond à 56,1 mg de potassium, l'**indice d'acide (Ia)** est égal à :

$$Ia = \frac{V \times C \times 56,1}{E}$$

**V** : volume de la solution éthanolique de KOH utilisé, exprimé en mL de solution 1N.

**E** : masse en grammes de la prise d'essai.

**C** : concentration exacte en moles par litre de la solution titrée d'hydroxyde de potassium.

**56,1** : masse molaire de KOH

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations effectuées.

**NB** : le résultat divisé par 10 donne le pourcentage.

#### Extrait hexanique

C = 0,1 N

V<sub>1</sub> = 6,75 mL

E<sub>1</sub> = 5,327 g

V<sub>2</sub> = 9,1 mL

E<sub>2</sub> = 7,341 g

$$\left. \begin{array}{l} Ia_1 = 7,1 \\ Ia_2 = 6,9 \end{array} \right\} Ia = 7$$

L'indice d'acide de l'extrait hexanique est : **Ia = 7.**

#### Huile commerciale

C = 0,1 N

V<sub>1</sub> = 6,1 mL

V<sub>2</sub> = 5,9 mL

$$\left. \begin{array}{l} Ia_1 = 5,7 \\ Ia_2 = 5,5 \end{array} \right\} Ia = 5,6$$

L'indice d'acide de l'huile commerciale est : **Ia = 5,6.**

	Extrait Hexanique	Huile Commerciale
Indice d'acide	7	5,6
Indice de peroxyde	0,66	0,02
Indice de Saponification	191,45	201,96

**Tableau 2** : Tableau récapitulatif des différents indices

## B- DISCUSSIONS

### Indice d'acide

Dans une matière grasse, l'acidité libre peut provenir de la présence éventuelle de groupements carboxyles appartenant à différents types d'acides. Ce sont : les acides organiques (acide citrique, acide malique, acide malonique, acide oxalique,...), les acides gras à chaîne carbonée courte provenant de l'oxydation des liaisons éthyléniques d'un lipide ou encore d'acides gras libres présents dans les extraits végétaux.

L'indice d'acide (Ia) de l'extrait hexanique est de **7** et celui de l'huile commerciale est de **5,6**. Une huile de bonne qualité doit présenter une acidité faible ou nulle, la norme est de 1 au maximum. Cette valeur élevée de l'indice d'acide est certainement due aux mauvaises conditions de conservation, ou au manque de stabilité de l'huile. En effet au cours du stockage les matières grasses peuvent s'altérer et libérer de l'acidité libre provenant, soit de la libération d'acides gras (hydrolyse des glycérides), soit de l'oxydation des liaisons éthyléniques des acides gras constitutifs des glycérides. Cette oxydation peut s'accompagner de l'ouverture des liaisons éthyléniques conduisant à l'obtention d'acides gras fortement odorants à chaîne carbonée plus courte, c'est le phénomène de rancissement.

### Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (encore appelé indice de Léa) est recherché pour évaluer l'état de conservation d'une matière grasse au cours du stockage. En effet, les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de certains facteurs favorisant (UV, eau, enzyme, traces de métaux,...). Cette oxydation, appelée auto oxydation ou rancissement aldéhydique, conduit à la formation de peroxydes par fixation d'une mole d'oxygène sur le carbone situé en position  $\alpha$  par rapport à une liaison éthylénique des acides gras insaturés constitutifs du glycéride.

Les deux indices de peroxyde que nous avons obtenus **0,66** pour l'extrait hexanique et **0,02** pour l'huile commerciale sont faibles et cela témoigne d'une forte résistance à l'oxydation.

Ces résultats vont dans le même sens que ceux observés par Gbaya [13] qui trouve un indice de peroxyde de **0,87** pour l'huile extraite des noix anciennes et des valeurs allant de **0,17** à **0,76** pour les huiles commerciales.

Nous pourrions donc penser que nous avons une bonne stabilité face à l'oxydation mais une mauvaise stabilité face à la libération d'acides par hydrolyse des glycérides.

## Indice de saponification

L'indice de saponification de l'extrait hexanique est de **191,45** et celui de l'huile commerciale de **201,96**. L'indice de saponification représente la masse de KOH en mg nécessaire pour neutraliser les acides gras libres et pour saponifier les acides gras combinés dans un 1 gramme de corps gras.

La quantité de KOH varie avec la masse molaire des acides gras. Ainsi plus la masse molaire est élevée, plus l'indice de saponification est faible : l'indice de saponification serait donc une mesure indirecte de la masse molaire des acides gras.

Le résultat que nous avons confirmé ceux de Gbaya [13] qui a obtenu un indice de saponification de l'huile provenant des noix anciennes égal à 166,3. Cela est d'autant plus vrai que des études effectuées sur des échantillons originaires de l'Ethiopie et de la République Démocratique du Congo ont trouvé des valeurs similaires respectivement 199 et 197 [12].

## III- TENEUR EN INSAPONIFIABLES ET EN ACIDES GRAS

### A- RESULTATS

#### - Teneur en insaponifiables

#### Expression des résultats

$$\% \text{ Insaponifiables} = \frac{P - T}{P'} \times 100$$

T = Tare

P = Poids total du ballon + résidu

P' = Poids d'essai de corps gras

La teneur en insaponifiables est : **% Ins = 7,8 %**

Masse d'insaponifiables obtenue est égale à : **0,4574 g**

## Teneur en acide gras

### Expression des résultats

$$\% \text{ Acides Gras} = \frac{P - T}{P'} \times 100$$

**T** = Tare

**P** = Poids total du ballon + résidu

**P'** = Poids d'essai de corps gras

Le pourcentage en acide gras obtenu est : **% AG = 92,2 %**

Masse d'acide gras obtenue est égale à : **5,3704 g**

### B- DISCUSSIONS

Une huile est constituée pour sa majeure partie par des glycérides. Ce sont des esters d'acides gras à longueur de chaîne variable (acides laurique, myristique, palmitique, oléique, stéarique, linoléique, etc.) et de glycérine.

Lorsqu'on soumet une huile à l'action d'un alcalin (soude caustique ou potasse), il y a hydrolyse des esters gras glycéridiques avec formation de savon et de glycérine.

Le mot insaponifiable désigne ce qui n'a pas été transformé en savon : une fraction faible en pourcentage dans les huiles. Cependant, cette fraction ne correspond pas exactement à l'ensemble des éléments non glycéridiques se trouvant dans le corps gras traité. En effet certains éléments non glycéridiques (donc non saponifiables) sont initialement soit libres, soit combinés avec des acides gras ; dans l'insaponifiable ils sont toujours libres.

La teneur en insaponifiable que nous avons obtenue est de 7,8 % et celle en acides gras est de 92,2 %.

Les graines de *Carapa procera* sont composées d'environ 74 % de chair et 26 % de téguments (Pinto 1963).



L'analyse de la chair de la graine donne une composition en acides gras (Pinto 1963) :

- insaponifiables (%) 0,6-2,6
- acides gras (%) 97,4-99,4

La teneur en insaponifiables que nous avons obtenue est largement supérieure à celle obtenue par Pinto (1963), cela nous laisse croire que la fraction insaponifiable se trouve en partie dans les téguments de la graine.

## VI- SCREENING PHYTOCHIMIQUE

### A- RESULTATS

Classe de composés		EXTRAITS			
		Extrait hexanique	Extrait dichlorométhanique	Extrait méthanolique	Huile commerciale
Alcaloïdes	Dragendorff	+	+	+++	+
	Mayer	+	+	+++	+
	Bouchardât	+	+	+++	+
Tanins	Catéchiques	-	-	+++	-
	Galliques	-	-	+++	-
	Phlobaphènes	-	-	+++	-
Flavonoïdes	Milieu alcalin	-	-	+++	-
	Perchlorure de fer	-	-	+++	-
	Cyanidine	-	-	+++	-
Hétérosides anthracéniques	Réaction de Borntraeger	-	-	-	-
Hétérosides cardiotoniques		-	-	-	-

**Tableau 3 :** Tableau récapitulatif du screening phytochimique

+ : Présent

- : non détecté

+++ : très présent

## B- DISCUSSIONS

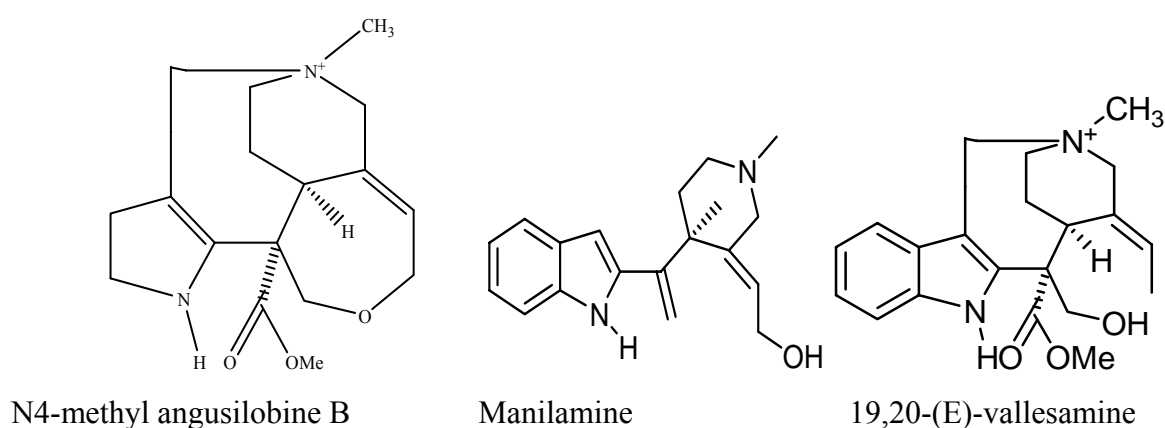
Le screening phytochimique a été effectué sur les différents extraits à savoir l'extrait hexanique, l'extrait dichlorométhanique, l'extrait méthanolique et l'huile commerciale de la graine de *Carapa procera*. Cette étude nous a permis de mettre en évidence plusieurs familles de composés : les tanins, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les hétérosides cardiotoniques et les hétérosides anthracéniques.

### Les tanins :

Nous avons une forte présence de tanins catéchiques, de tanins galliques et de phlobaphènes dans l'extrait méthanolique, mais les autres extraits n'en contiennent pas.

### Les alcaloïdes :

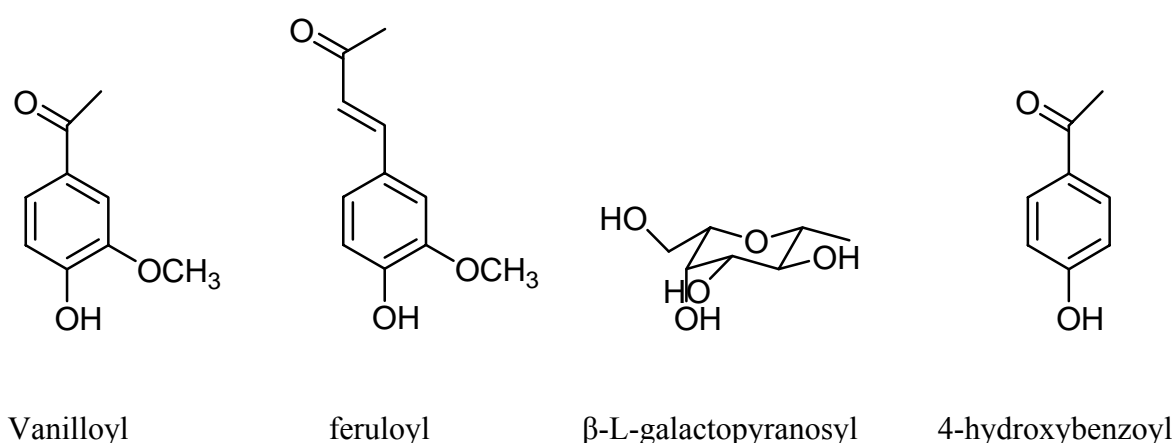
La caractérisation par les réactifs de Dragendorff, Valser Mayer et Bouchardad nous a permis de mettre en évidence la présence d'alcaloïdes dans tous les extraits (hexanique, dichlorométhanique, méthanolique et huile commerciale). La présence d'alcaloïdes est, cependant, plus marquée dans l'extrait méthanolique (Tab. 3). La présence d'alcaloïdes est décrite dans la littérature pour certaines Méliacées telles que le *Alstonia scholaris* et même des molécules ont pu être isolées et caractérisées [28]. Parmi celles-ci nous pouvons citer : Manilamine, N4-methyl angusilobine B, 19,20-(E)-vallesamine...



**Figure 9** : Molécules alcaloïdes extraites des méliacées

### Les flavonoïdes :

La caractérisation par le perchlorure de fer, la cyanidine et en milieu alcalin, nous a permis de mettre en évidence une forte présence d'alcaloïdes dans l'extrait méthanolique. Les extraits hexanique, dichlorométhanique et l'huile commerciale n'en contiennent pas. L'extrait méthanolique de la fleur de *Trollius ledebouri* (Méliciées), contient des flavonoïdes parmi ceux-ci, nous pouvons citer : vanilloyl, feruloyl, 4-hydroxybenzoyl,  $\beta$ -L-galactopyranosyl [29].



**Figure 10** : Molécules flavonoïdes extraites des méliciées

### Les hétérosides cardiotoniques :

Les extraits hexanique, dichlorométhanique, méthanolique et l'huile commerciale ne contiennent pas d'hétérosides cardiotoniques.

### Les hétérosides anthracéniques :

Les extraits hexanique, dichlorométhanique, méthanolique et l'huile commerciale ne contiennent pas d'hétérosides anthracéniques.

## V- ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

### A- RESULTATS

**Expression des résultats** (voir annexes)

$$\% \text{ AUG} = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100$$

$$\% \text{ INH} = \frac{\% \text{ AUG(T)} - \% \text{ AUG(E)}}{\% \text{ AUG(T)}} \times 100$$

$V_t$  : volume de la patte au temps t

$V_0$  : volume de la patte à l'état initial

% AUG : pourcentage d'augmentation du volume de la patte.

% AUG (T) : Pourcentage d'augmentation du témoin

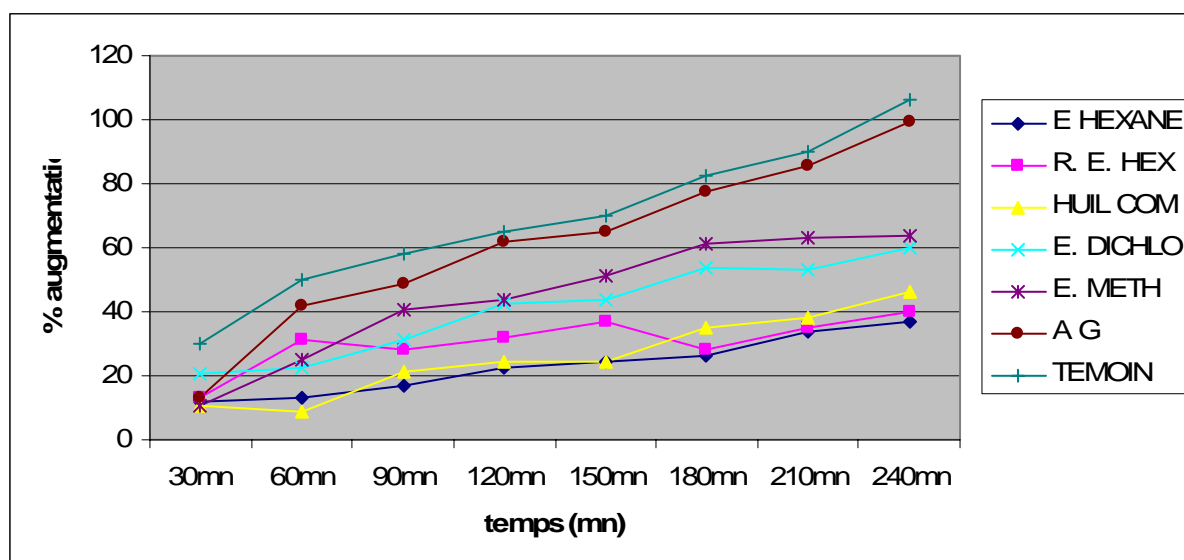
% AUG (E) : Pourcentage d'augmentation de l'extrait choisi.

Les tests ont été faits sur différents extraits [23, 30-33]:

- huile commerciale (HUIL. COM.)
- Extrait hexanique (E. HEXANE)
- Extrait méthanolique (E. METH)
- Extrait dichlorométhanique (E. DICHLO)
- Résidu d'extrait hexanique (R. E. HEX)
- Acide gras (A G)

	E HEXANE	R. E. HEX	HUIL COM	E. DICHLO	E. METH	A G	TEMOIN
30mn	12,17	13,31	10,47	20,75	10,93	13,18	30,2
60mn	13,13	30,98	8,52	22,24	25,17	41,91	50,1
90mn	16,91	27,83	21,22	31,11	40,33	48,45	58,3
120mn	22,33	32,01	24,61	42,81	43,54	61,71	65,3
150mn	24,41	36,63	24,49	43,91	51,31	65,3	70,1
180mn	26,21	28,15	35,1	53,9	61,31	77,77	82,3
210mn	34,01	34,79	38,1	52,84	63,36	85,57	90
240mn	37,14	40,04	46,06	59,76	63,61	99,41	106,3

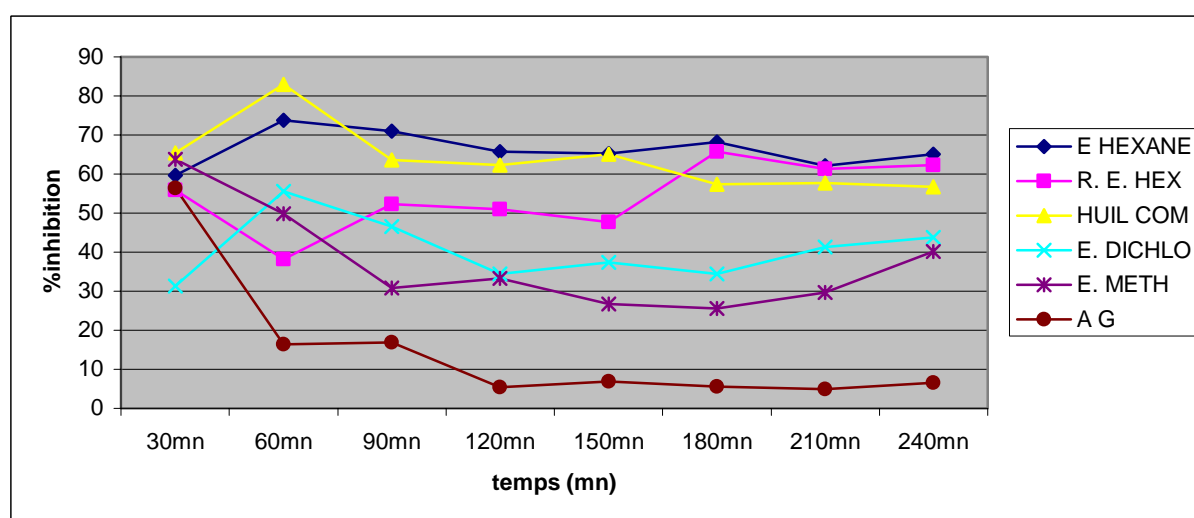
**Tableau 4** : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat.



**Figure 11 :** Pourcentage d'augmentation du volume de la patte de rat en fonction du temps

	E HEXANE	R. E. HEX	HUIL COM	E. DICHLO	E. METH	A G
30mn	59,70	55,92	65,33	31,29	63,80	56,36
60mn	73,79	38,16	82,99	55,60	49,76	16,34
90mn	70,99	52,26	63,60	46,63	30,82	16,89
120mn	65,80	50,98	62,31	34,44	33,32	5,49
150mn	65,17	47,74	65,06	37,36	26,80	6,85
180mn	68,15	65,79	57,35	34,50	25,50	5,50
210mn	62,21	61,34	57,66	41,28	29,60	4,92
240mn	65,06	62,33	56,66	43,78	40,159	6,48

**Tableau 5 :** Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte de rats en fonction du temps



**Figure 12 :** Pourcentage d'inhibition de l'œdème en fonction du temps.

## B- DISCUSSIONS

L'allure des différentes courbes de la figure 8 montre une hausse du pourcentage d'augmentation de la patte de rats dans le temps pour tous les extraits. Mais la variation est beaucoup plus faible pour l'extrait hexanique, le résidu d'extrait hexanique et l'huile commerciale. Elle est beaucoup plus élevée pour le témoin.

La figure 8 nous permet ainsi de diviser les extraits en 3 groupes. Le témoin et les acides gras comme 1<sup>er</sup> où aucune activité n'est observée. Le 2<sup>ème</sup> groupe concerne l'extrait dichlorométhanique et l'extrait méthanolique. Et enfin, le 3<sup>ème</sup> groupe qui concerne l'extrait hexanique, le résidu d'extrait hexanique et l'huile commerciale.

D'un pourcentage d'augmentation de 12 % et 13 % dès les 30 premières minutes, on est passé à 37 % et 40 % après 4 h pour l'extrait hexanique et le résidu d'extrait hexanique respectivement. On observe la même tendance pour l'huile commerciale bien que moins active, on note une augmentation de l'œdème de 46 %. L'activité anti-inflammatoire n'est donc significative que pour les extraits du 3<sup>ème</sup>.

Pour les autres extraits dichlorométhanique et méthanolique du 2<sup>ème</sup> groupe, nous avons une activité intermédiaire à celle du 1<sup>er</sup> groupe (témoin et acides gras) et celle du 3<sup>ème</sup> groupe (extraits hexanique et résidu d'extrait hexanique huile commerciale) respectivement de 59% et 63%. Nous constatons d'une part que plus la polarité des solvants est grande, plus l'activité anti-inflammatoire est faible. D'autre part l'activité des AG est quasi nulle, telle que nous pouvons l'observer sur la figure 8. Cette absence d'activité des AG, combinée à la diminution de l'activité lorsqu'on passe d'un solvant apolaire à un solvant polaire nous permet de conclure que :

Les principes actifs responsables de l'activité anti-inflammatoire sont solubles dans l'hexane où ils se trouvent en majorité. De plus nous pouvons dire que ces principes actifs sont dans les composés insaponifiables que nous avons isolés

Cette affirmation est confirmée par la figure 9 caractérisant le pourcentage d'inhibition de l'œdème en fonction du temps. Pour les extraits du 3<sup>ème</sup> groupe, nous avons un pourcentage d'inhibition moyen respectivement de 66,35 % et de 54,34 % alors que pour les autres extraits leur moyenne est d'environ 40 %.

En effet, l'extrait hexanique est constitué des AG et des insaponifiables, de ce fait des tests d'activité sont programmés pour vérifier l'activité des insaponifiables. D'autres tests sont également envisagés sur les fractions chromatographiques et les résultats seront publiés ultérieurement.

## CONCLUSION

*Carapa procera* est très utilisé pour ses nombreuses vertus mais malgré cela peu d'études ont été menées sur le plan scientifique.

C'est dans cette optique que nous avons entrepris l'étude des insaponifiables et saponifiables de la graine de *Carapa procera*.

Nos travaux se sont articulés autour de trois points essentiels :

- L'extraction par des solvants de polarité croissante
- Les aspects chimiques :
  - Détermination des indices de saponification, peroxyde et d'acide
  - Détermination de la teneur en acides gras et en insaponifiables
  - Screening phytochimique
- L'activité anti-inflammatoire

A l'issue de ce travail nous avons obtenu trois types d'extraits : hexanique, dichlorométhanique et méthanolique.

La détermination des différents indices de saponification, peroxyde et d'acide pour l'extrait hexanique nous a donné des résultats très intéressants et confirment ceux des travaux décrits dans la littérature [13].

Nous notons un fort taux d'insaponifiables ; des études peuvent être envisagées notamment en application cosmétique pour la lutte contre le vieillissement cutané, le *Carapa procera* étant utilisé traditionnellement pour les soins de la peau.

Le screening phytochimique a donné les résultats suivants :

- Extrait hexanique : présence d'alcaloïdes avec un faible taux.
- Extrait dichlorométhanique : présence d'alcaloïdes avec un faible taux.
- Extrait méthanolique : présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de tanins catéchiques, galliques et de phlobaphènes avec un fort taux.
- Huile commerciale : présence d'alcaloïdes avec un faible taux.

Enfin, les tests d'activité anti-inflammatoire effectués sur la patte arrière des rats nous ont confirmé que l'extrait hexanique et le résidu d'extrait hexanique préviennent de façon importante l'œdème aigu de la patte de rat.

Pour la détermination de la molécule active, nous avons entrepris d'autres études à savoir l'utilisation de la chromatographie sur colonne de silice pour la séparation des extraits par rapport à la polarité. Ces résultats ne sont pas publiés dans ce rapport.

Des tests biologiques supplémentaires permettraient de déterminer la fraction active. Après une purification par HPLC (Chromatographie Liquide Haute Pression) et l'isolement des molécules actives, une étude de La RMN corrélée à la Masse et à l'Infrarouge (IR) devrait nous permettre d'identifier la structure des molécules responsables de cette activité anti-inflammatoire.

Nous avons par ailleurs démarré des tests d'activité anti-bactérienne. Les extraits hexaniques se sont révélés actifs sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus*. Les études permettant de déterminer la concentration inhibitrice de 50% des bactéries (**CI<sub>50</sub>**) et la concentration minimale inhibitrice (**CMI**) sont en cours.



## BIBLIOGRAPHIE

- [1] Dieme S. Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle diola ; enquête ethnopharmacologique dans le blouf (Casamance) ; étude particulière de *Carapa procera*. D.C. UCAD. BU Méd-Sciences., **1992**, Thèse. M39039-40.
- [2] Sondengam B.L., Kamga C.S., Connolly J.D., *Tetrahedron Letters*, **1979**, 20(15), 1357-1358.
- [3] Gourlet-Fleury S., Guehl J.-M., and Laroussinie O. Lessons drawn from Paracou, a long-term experimental research site in French Guiana. Editors, *Ecology and management of a Neotropical rainforest*, **1991**, 191-203.
- [4] Caventou E. Du Carapa touloucouna, *J. Pharm. Chim.*, **1859**.
- [5] Leslie T. Le pouvoir guérissant d'herbes de forêt tropicale Inc., **2004**.
- [6] Milliken W. Plants for Malaria, plants for fever, *London 7<sup>e</sup> Royal Botanic Gardens Kew*, **1997**.
- [7] Balbachas A. As plantas curam. São Paulo 7<sup>e</sup> Ed., *Missionária A Verdade Presente*, **1960**, 53.
- [8] Gilbert B., Teixeira D.F., Carvalho E.S., De Paula A.E., Pereira J.F., Ferreira J.L. et al., *An Acad Brasileira Ciência*, **1999**, 71, 265.
- [9] Consoli R.A.G., De Oliveira R.L. Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil. Rio de Janeiro 7<sup>e</sup> Ed. *Fiocruz*, **1998**.

- [10] Traoré M.A. Les données statistiques sur les produits forestiers (Archives de documents de la FAO), **1999**.
- [11] Le Brazidec J.Y., Kocienski P.J., Connolly J.D. and Muir K.W. Synthetic approaches to pseudopterosin G aglycone dimethyl ether, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1998**, *1*, 2475-2477.
- [12] Vila J., Balderrama L., Bravo J.L, Almanza G., Codina C., Bastida J. and Connolly J.D. Prenylisoflavanones from *Geoffroea decorticans*, *Phytochemistry*, **1998**, *49*, 2525-2528.
- [13] Gbaya K.J.C. Caractérisation des constantes chimiques de l'huile de *Carapa procera* (Meliaceae) du Sénégal. Mémoire de DEA en Chimie et Biochimie des produits naturel, **2005**.
- [14] AFNOR (Association Française pour la Normalisation). *Recueil des normes françaises. Corps gras graines oléagineuses, produits dérivés*, 2e édition, afnor, Paris, **1981**, 438.
- [15] Raoul le coq, *Manuel d'analyses alimentaires et d'expertise usuelles*, TomeII, Edition Doin, **1965**.
- [16] Ucciani E., Costagliola G., Ferlay V., Mimoun-Labe S., Victor C. Lipides foliaires, extraction de l'insaponifiable, *Oléagineux Corps Gras Lipides*, **1995**, *2*, 75-78.
- [17] Badji Y. Contribution à l'étude de *Landolphia owariensis* P. DE BEAUV. APOCYNACEES : Screening phytochimique et pharmacologique, n°5, **1992**.
- [18] Randerath K. Chromatographie sur couches minces. Paris: Édition Gauthier-Villars, **1971**, 337-339.
- [19] Rizk A.M. Constituents of plants growing in Qatar, *Fitoterapia*, **1982**, *52*, 35-42.

- [20] Garcia-Granados A., Saenz de Buruaga J.M. Thymeleacea photochemistry. II. Flavone and coumarin components of *Thymelea tartonraira* L. (espagnol), *Anales Quim., Ser. C: Quim. Org. Bioquim.*, **1980**, 76, 96-97.
- [21] Hariri E.B., Sallé G., Andary C. Involvement of flavonoids in the resistance of two poplar cultivars to mistletoe (*Viscum album* L.), *Protoplasma*, **1991**, 162(1), 20-26.
- [22] Lebreton P., Jay M., Voirin B. Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes. *Chim. Anal.*, (Paris), **1967**, 49, 375-383.
- [23] Winder C.Y. Wax J. Burr V. Beem M. A study of pharmacological influences on UV. Erythema in guinea pigs, *Arch. int. Pharmacodyn.*, 116, **1958**, 261-292.
- [24] Messadi J.E. Etude critique des méthodes quantitatives de l'inflammation expérimentale application pharmacologique, Thèse pharmacie, Tunis, **1962**.
- [25] Marcy R. Les méthodes d'études pharmacologiques des stéroïdes anti-inflammatoires, *Produits pharmaceutiques*, **1991**, 16(9), 402.
- [26] Ndiaye M. , Dieye A.M. , Mariko F., Tall A., Sall D.A., Faye B. Contribution à l'étude de l'activité anti-inflammatoire de *Moringa oleifera* (moringacea), *Dakar Médical*, **2002**, 47(2), 210-212
- [27] Ampai P., Duangla K. Anti-inflammatory activity of methanolic extracts from *Ventilago harmandiana*. *Journal of ethnopharmacology*, **2004**, 91, 237-242
- [28] Allan Patrick G. M., Karsten K., Dietmar G., Indole alkaloids from the leaves of Philippine *Alstonia scholaris*, *Phytochemistry*, **2005**, (66), 1158–1162.

- [29] Jian-Hua Z., Jun-Shan Y., Yue-Sheng D., Liang Z., Geng L., Flavone C-glycosides from flowers of *Trollius ledebouri*, *Phytochemistry*. **2005**, (66), 1121–1125
- [30] Dongmo A.B., Kamanyi A., Dzikouk G. et al. Anti-inflammatory and analgesic properties of the stem bark extract of *Mitragyna Ciliata* (Rubiaceae), *Journal of ethnopharmacology*, **2003**, 84, 17-21
- [31] Gepdiremen A., Mshvidadze V., Elias R. Acute anti-inflammatory activity of four saponins isolated from ivy : alpha-hederin, hederasaponin-c, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F in Carrageenan induced rat paw edema, *Phytomedicine*, **2005**, 12, 440-44.
- [32] Wei J., Wen-Yuan G. Anti-inflammatory effects of an herbal medicine on carrageenan and adjuvant induced paw edema in rat, *Journal of ethnopharmacology*, **2003**, 89, 139-141.
- [33] Moustapha T.T. Activité anti-inflammatoire de *Annona reticulata* (annonaceae) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carragenine, **2006**, Thèse de doctorat en pharmacie n°52.

## ANNEXES

Les différents tableaux obtenus lors du test de l'évolution de l'œdème aigu de la patte des rats

<b>Vx</b>	<b>V0</b>	<b>V30</b>	<b>V60</b>	<b>V90</b>	<b>V120</b>	<b>V150</b>	<b>V180</b>	<b>V210</b>	<b>V240</b>
R1	1,69	1,9	1,75	1,96	2,06	2,15	2,05	2,28	2,38
R2	1,54	1,63	1,54	1,86	1,93	1,97	2,33	2,17	2,31
R3	1,7	1,97	1,91	2,08	2,16	1,95	2,36	2,41	2,69
R4	1,47	1,66	1,75	1,92	1,9	1,94	2,11	2,17	2,23
R5	1,69	1,78	1,82	1,97	2,02	2,04	2,04	2,12	2,19
MOY	1,61	1,70	1,72	1,77	2,02	2,01	2,18	2,23	2,35
± ESM	± 0,47	± 0,14	± 0,14	± 0,16	± 0,08	± 0,07	± 0,07	± 0,05	± 0,09
<b>%AUG</b>		<b>10,47</b>	<b>8,52</b>	<b>21,22</b>	<b>24,61</b>	<b>24,43</b>	<b>35,10</b>	<b>38,10</b>	<b>46,06</b>
<b>± ESM</b>		<b>± 2,09</b>	<b>± 3,33</b>	<b>± 2,64</b>	<b>± 1,75</b>	<b>± 3,08</b>	<b>± 6,12</b>	<b>± 3,76</b>	<b>± 4,97</b>

**Tableau 1** : Test d'activité anti-inflammatoire de l'huile commerciale

**Vx** : Volume de la patte de rat à x minutes, x allant de 0 à 240mn.

**ESM** : Erreur Standard à la Moyenne

**%AUG** : Pourcentage d'augmentation de l'œdème aigu de la patte de rat.

**MOY** : Moyenne

**R** : Rat

<b>Vx</b>	<b>V0</b>	<b>V30</b>	<b>V60</b>	<b>V90</b>	<b>V120</b>	<b>V150</b>	<b>V180</b>	<b>V210</b>	<b>V240</b>
R1	1,75	1,89	1,77	1,82	1,88	1,92	2,13	2,3	2,57
R2	1,89	2,13	2,3	2,44	2,67	2,72	2,82	3,07	3,27
R3	1,57	1,7	1,64	1,7	1,83	1,79	1,82	1,87	1,85
R4	1,9	2,23	2,22	2,22	2,24	2,27	2,29	2,31	2,23
R5	1,86	2,13	2,26	2,35	2,39	2,51	2,3	2,52	2,43
MOY±	1,79±	2,02±	2,03±	2,11±	2,20±	2,24±	2,27±	2,41±	2,47±
ESM	0,06	0,09	0,12	0,14	0,16	0,17	0,16	0,19	0,23
<b>%AUG</b>		<b>12,17±</b>	<b>13,12±</b>	<b>16,91±</b>	<b>22,33±</b>	<b>24,41±</b>	<b>26,2±5</b>	<b>34,00±</b>	<b>37,08±</b>
<b>±ESM</b>		<b>1,81</b>	<b>4,34</b>	<b>4,89</b>	<b>5,79</b>	<b>6,48</b>	<b>,88</b>	<b>7,72</b>	<b>10,44</b>

**Tableau 2** : Test d'activité anti-inflammatoire de l'extrait hexanique

$\backslash V_x$	V0	V30	V60	V90	V120	V150	V180	V210	V240
R1	1,59	1,65	1,96	2,21	2,39	2,4	2,75	2,6	2,47
R2	1,79	2,12	2,27	2,57	2,65	2,8	2,95	3,05	2,87
R3	1,51	1,72	1,84	1,98	1,97	2,13	2,17	2,08	2,31
R4	1,83	2	2,08	2,36	2,26	2,52	2,6	2,77	2,86
R5	1,59	1,74	2,23	2,53	2,63	2,71	2,91	3,09	3,07
MOY± ESM	1,66±0 ,06	1,85±0 ,09	2,08±0 ,08	2,33±0 ,11	2,38±0 ,13	2,51±0 ,12	2,68±0 ,14	2,73±0 ,33	2,71±0 ,14
%AUG ±ESM		11,22± 2,44	25,17± 4,34	40,33± 2,00	43,34± 7,33	51,31± 5,84	59,30± 6,87	63,35± 9,51	63,61± 7,46

**Tableau 3** : Test d'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique

$\backslash V_x$	V0	V30	V60	V90	V120	V150	V180	V210	V240
R1	1,27	1,72	1,69	1,6	1,92	1,89	2,06	2,03	2,1
R2	1,53	1,95	1,98	2,06	2,18	1,99	2,42	2,26	2,49
R3	1,66	1,97	1,98	2,12	2,36	2,27	2,43	2,5	2,56
R4	1,64	1,84	1,94	2,12	2,19	2,42	2,4	2,5	2,53
R5	1,79	1,98	1,99	2,47	2,59	2,8	2,8	2,75	2,94
MOY± ESM	1,57±0 ,09	1,89± 0,05	1,92± 0,06	2,07± 0,14	2,25± 0,11	2,27± 0,16	2,42± 0,12	2,41± 0,12	2,54± 0,13
%AUG ±ESM		20,75± 4,70	22,24± 3,97	31,11± 2,24	42,81± 2,83	44,026 ±4,60	53,90± 3,22	52,84± 2,01	59,76± 2,71

**Tableau 4** : Test d'activité anti-inflammatoire de l'extrait dichlorométhanique

$\backslash V_x$	V0	V30	V60	V90	V120	V150	V180	V210	V240
R1	1,82	2,1	2,43	2,39	2,48	2,45	2,23	2,33	2,41
R2	2,02	2,42	2,4	2,69	2,75	2,9	2,82	3,19	3,09
R3	1,95	2,19	2,07	2,1	2,05	2,34	2,15	2,2	2,34
R4	1,93	2,25	2,68	2,43	2,51	2,5	2,4	2,55	2,68
R5	2,02	2,07	2,35	2,85	3,08	3,14	2,91	2,89	3,15
MOY± ESM	1,95± 0,04	2,20± 0,06	2,38± 0,09	2,49± 0,13	2,57± 0,17	2,67± 0,15	2,50± 0,15	2,63± 0,18	2,73± 0,17
%AUG ±ESM		13,31± 2,96	30,98± 8,77	27,83± 5,59	30,08± 7,68	36,63± 6,05	28,15± 6,12	34,78± 7,46	40,04± 6,64

**Tableau 5** : Test d'activité anti-inflammatoire du résidu d'extrait hexanique

$\backslash V_x$	V0	V30	V60	V90	V120	V150	V180	V210	V240
R1	2,15	2,38	3,09	3,52	4,02	3,99	4,11	4,27	4,9
R2	1,65	1,86	1,9	2,25	2,41	2,6	2,83	3,06	2,97
R3	2,47	2,76	3,4	4	4,3	4,35	4,72	5,15	5,97
R4	1,51	1,78	1,92	2,18	2,24	2,46	2,32	2,72	2,6
R5	1,94	2,19	2,37	2,88	2,97	2,84	3,52	3,04	3,4
MOY± ESM	1,94±0 ,17	2,19± 0,18	2,54± 0,30	2,97± 0,35	3,19± 0,42	3,25± 0,38	3,5± 0,43	3,65± 0,46	3,97± 0,63
%AUG ±ESM		13,18± 1,24	38,60± 8,58	50,97± 5,22	61,71± 8,03	64,50± 7,59	77,77± 7,04	85,54± 8,77	99,40± 14,67

**Tableau 6** : Test d'activité anti-inflammatoire des acides gras

## SOMMAIRE

INTRODUCTION .....	1
<b>PREMIERE PARTIE: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>I- GENERALITES SUR LE <i>CARAPA PROCERA</i> .....</b>	<b>3</b>
<b>I-1- Ecologie : .....</b>	<b>3</b>
<b>I-2- Etude ethnopharmacologique de <i>Carapa procera</i> .....</b>	<b>4</b>
I-2-1- Le bois.....	4
I-2-2- L'écorce .....	4
I-2-3- L'huile .....	4
<b>I-3- Molécules extraites de la graine de <i>Carapa procera</i> .....</b>	<b>6</b>
<b>I-4- Méthodes d'extraction traditionnelles .....</b>	<b>7</b>
<b>DEUXIEME PARTIE: MATERIELS ET METHODES</b>	
<b>MATERIELS &amp; METHODES .....</b>	<b>8</b>
<b>A- MATERIELS.....</b>	<b>8</b>
<b>I-1- Matériel biologique .....</b>	<b>8</b>
<b>I-2- Appareillage.....</b>	<b>8</b>
<b>B- METHODES D'ANALYSE .....</b>	<b>8</b>
<b>I- METHODE D'EXTRACTION CHIMIQUE .....</b>	<b>8</b>
<b>I-1- Principe .....</b>	<b>8</b>
<b>I-2- Réactifs.....</b>	<b>8</b>
<b>I-3- Mode opératoire .....</b>	<b>9</b>
<b>I-4- Prise d'essai .....</b>	<b>9</b>
<b>I-5- Extraction .....</b>	<b>9</b>
<b>II- DETERMINATION DES INDICES.....</b>	<b>11</b>
<b>II-1- DETERMINATION DE L'INDICE DE SAPONIFICATION (AFNOR NF T 60-206).....</b>	<b>11</b>
II-1-1- Méthodologie.....	11
II-1-2 - Mode opératoire.....	11
<b>II-2- DETERMINATION DE L'INDICE DE PEROXYDE (NORME NFT 60-204)..</b>	<b>12</b>
II-2-1- Méthodologie.....	12
II-2-2- Mode opératoire.....	13
II-2-3- Détermination de l'indice de peroxyde .....	13

<b>II-3- DETERMINATION DE L'INDICE D'ACIDE (NFT 60-221).....</b>	<b>13</b>
II-3-1- Méthodologie.....	13
II-3-2- Mode opératoire.....	14
II-3-3- Détermination .....	14
<b>III- TENEUR EN INSAPONIFIABLES ET EN ACIDES GRAS.....</b>	<b>15</b>
<b>III-1- TENEUR EN INSAPONIFIABLES.....</b>	<b>15</b>
III-1-1- Méthodologie .....	15
III-1-2- Mode opératoire .....	15
<b>III-2- TAUX D'ACIDES GRAS.....</b>	<b>15</b>
III-2-1- Méthodologie .....	15
<b>VI- SCREENING PHYTOCHIMIQUE.....</b>	<b>16</b>
<b>VI-1- MISE EN EVIDENCE DES ALCALOÏDES.....</b>	<b>16</b>
VI-1-1- Principe .....	16
VI-1-2- Réaction de caractérisation .....	16
VI-1-3- Identification par Chromatographie sur Couche Mince.....	17
<b>VI-2- MISE EN EVIDENCE DES TANINS.....</b>	<b>17</b>
VI-2-1- Principe .....	17
VI-2-2- Réaction de caractérisation .....	17
VI-2-3- Différenciation des tanins .....	18
VI-2-4- Identification par Chromatographie sur Couche Mince.....	18
<b>VI-3- MISE EN EVIDENCE DES FLAVONOÏDES.....</b>	<b>18</b>
VI-3-1- Principe .....	18
VI-3-2- Coloration en milieu alcalin.....	19
VI-3-3- Coloration par le perchlorure de fer.....	19
VI-3-3- Réaction de la cyanidine .....	19
VI-3-4- Identification par Chromatographie sur Couche Mince.....	20
<b>VI-4- MISE EN ÉVIDENCE DES DROGUES À HÉTÉROSIDES ANTHRACÉNIQUES.....</b>	<b>20</b>
IV-4-1- Principe .....	20
VI-4-2- Mode opératoire .....	20
VI-4-3- Identification par Chromatographie sur Couche Mince.....	21



<b>VI-5- MISE EN EVIDENCE DES HETEROSIDES CARDIOTONIQUES .....</b>	<b>21</b>
VI-5-1- Principe .....	21
VI-5-2- Mode opératoire .....	21
VI-5-3- Identification par Chromatographie sur Couche Mince.....	22
<b>V- DETERMINATION DE L'ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE .....</b>	<b>23</b>
<b>V-1- INTRODUCTION .....</b>	<b>23</b>
<b>V-2- PROTOCOLE D'ETUDE.....</b>	<b>24</b>
<b>TROISIEME PARTIE: RESULTATS ET DISCUSSIONS</b>	
<b>RESULTATS &amp; DISCUSSIONS .....</b>	<b>25</b>
<b>I- METHODES D'EXTRACTION CHIMIQUE .....</b>	<b>25</b>
<b>II- DETERMINATION DES INDICES.....</b>	<b>27</b>
<b>III- TENEUR EN INSAPONIFIABLES ET EN ACIDES GRAS .....</b>	<b>31</b>
<b>VI- SCREENING PHYTOCHIMIQUE.....</b>	<b>33</b>
<b>V- ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE.....</b>	<b>36</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>39</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>41</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>45</b>

## FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 : Graines de <i>Carapa procera</i> .....	3
Figure 2: Carapolide A.....	6
Figure 3: Méthylangolensate.....	6
Figure 4: Proceranolide .....	6
Figure 5: Mexicanolide .....	6
Figure 6: Fissinolide.....	7
Figure 7: glucose-6-phosphate .....	7
Figure 8 : Résumé des différentes étapes de l'extraction.....	10
Figure 9 : Molécules alcaloïdes extraites des méliacées .....	34
Figure 10 : Molécules flavonoïdes extraites des méliacées .....	35
Figure 11 : Pourcentage d'augmentation du volume de la patte de rat en fonction du temps .	37
Figure 12 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème en fonction du temps. ....	37
Tableau 1 : Tableau récapitulatif des activités de <i>Carapa procera</i> .....	5
Tableau 2 : Tableau récapitulatif des différents indices.....	29
Tableau 3 : Tableau récapitulatif du screening phytochimique .....	33
Tableau 4 : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat.....	36
Tableau 5 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte de rats en fonction du temps....	37

# GLOSSAIRE

**AC GRAS** : Acide gras

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**AINS** : anti-inflammatoires non stéroïdiens

**AIS** : anti-inflammatoires stéroïdiens

**AUG** : augmentation

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince

**CI<sub>50</sub>** : Concentration Inhibitrice pour une population de 50 %

**CL** : Concentration Létale

**HPLC** : Chromatographie Liquide Haute Performance

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**EXT DICHLO** : Extrait Dichlorométhanolique

**EXT HEXAN** : Extrait Hexanique

**EXT METHA** : Extrait Méthanolique

**Ia** : Indice d'Acide

**Ip** : Indice de Peroxyde

**Is** : Indice de Saponification

**INH** : inhibition

**RES EXT HEX** : Résidu d'Extrait Hexanique

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

**UV** : Ultra Violet

# **TITRE : SAPONIFIABLES ET INSAPONIFIABLES DE LA GRAINE DE *CARAPA PROCERA***

Soutenu publiquement le 04 Mai 2007 par Joseph Mbeur Faye Maître ès Science. Pour l'obtention du Diplôme d'Etude Approfondie (DEA) en Chimie et Biochimie des produits naturels.

## **MEMBRES DU JURY**

**Président** : Mohamed L. GAYE.....Professeur  
**Membres** : Yoro Gatte SY.....Maître Assistant  
Emmanuel TINE.....Maître Assistant  
Matar SECK.....Maître Assistant

## **Résumé**

Le *Carapa procera*, de la famille des Méliacées est très prisé du fait de ses nombreuses vertus thérapeutiques et cosmétiques. C'est fort de tous ses intérêts que nous avons entrepris d'étudier les saponifiables et les insaponifiables de la graine. Cette étude a eu comme objectif majeur l'extraction de tous les constituants de la graine, allant des substances apolaires aux substances polaires. L'obtention des différents extraits nous a permis de déterminer la teneur en insaponifiables et en acides gras. Le screening phytochimique a été effectué pour mettre en évidence les tanins, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les hétérosides cardiotoniques et les hétérosides anthracéniques. De même les tests d'activité anti-inflammatoire se sont révélés positifs sur les extraits apolaires. Les tests d'activité anti-bactérienne que nous avons initiés sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus* se sont révélés actifs sur l'extrait hexanique.

**MOTS CLES :** *Carapa procera*, Méliacées, saponifiables, insaponifiables, screening phytochimique, activité anti-inflammatoire.