

## ABREVIATIONS

$\lambda$	: Longueur d'onde
%	: Pourcent
AcOH	: Acide acétique
AcOEt	: Acétate d'éthyle
C	: Degré Celsius
CCM	: Chromatographie sur couche mince
CHCl <sub>3</sub>	: Chloroforme
Cm	: Centimètre
CP	: Chromatographie sur papier
ED	: Eau Distillée
EtOH	: Ethanol
FeCl <sub>3</sub>	: Trichlorure de fer
g	: Gramme
H	: Heure
h	: Hauteur
HCl	: Acide chlorhydrique
H <sub>2</sub> O	: Eau
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: Acide sulfurique
MeOH	: Méthanol
Mg	: Magnésium
ml	: Millilitre
mn	: Minute
N	: Normalité
NaCl	: Chlorure de Sodium
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: Sulfate de Sodium
NH <sub>4</sub> OH	: Ammoniac
N.I	: Non identifié
nm	: Nanomètre
Rf	: Rapport frontal
s	: Seconde
UV	: Ultra violet
V	: Volume
v/v	: Volume/volume

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Calcul de  $R_f$

Figure 2 : Couleur des taches dans le système CP Whattman n°3 AcOH 60%

Figure 3 : Couleur des taches dans le système CP Whattman n°3 AcOH 15%

Figure 4 : Comportement chromatographiques des divers extraits suivant le système

Figure 5 : Chromatogrammes des extraits éthérés

Figure 6 : Chromatogrammes des extraits acétates

Figure 7 : Chromatogrammes des extraits butanoliques

## LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Fèves : *Faba* (Fabacées)

Photo 2 : Trèfle : *Trifolium* (Fabacées)

Photo 3 : Fleur du Genêt à balais *Cytisusscoparius* (Papilionacées)

Photo 4 : Fleur de Fabacées

Photo 5 : Protection de l'attaque contre les prédateurs par les terpénoïdes

Photo 6 : Attraction des polliniseurs par les flavonoïdes

Photo 7 : Plante de Kirikitsa

Photo 8 : Feuilles de *sennaoccidentalis*

Photo 9 : Fleurs de *sennaoccidentalis*

Photos 10 : Fruits de *sennaoccidentalis*

Photo 11 : Extraction par chauffage à reflux

Photo 12 : Extraction liquide-liquide

Photo 13 : Evaporation à l'aide d'un rotavapor Büchi 461 Water Bath

## **LISTE DES SCHEMAS**

Schéma 1 : Exemples de structure des terpénoïdes

Schéma 2 : Exemples de structure des alcaloïdes

Schéma 3 : exemple de squelette des flavonoïdes

Schéma 4 : exemple de structure des flavonoïdes

Schéma 5 : exemple de structure de saponine

Schéma 6 : Structure de l'anthraquinone

Schéma 7 : Exemple de structure de polysaccharides

Schéma 8 : Exemple de structure de tanins hydrolysables

Schéma 9 : Exemple de structure de tanins vrais

Schéma 10 : structure des coumarines

Schéma 11 : Exemple de structure des stéroïdes

Schéma 12 : screening des alcaloïdes

Schéma 13 : mécanisme du test à la cyanidine

Schéma 14 : mécanisme du test de Bate-Smith

Schéma 15 : mécanisme du test de Salkowski

Schéma 16 : mécanisme de l'hydrolyse de Grignard

Schéma 17 : structures de quelques aglycones

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : Classification des fabacées selon Cronquist

Tableau 2 : Classification de *Senna occidentalis* selon Cronquist

Tableau 3 : usages de *Senna occidentalis*

Tableau 4 : Barèmes utilisés pour les appréciations

Tableau 5 : Résultats des criblages des Alcaloïdes

Tableau 6 : Résultats des criblages des Flavonoïdes et des Leucoanthocyanes

Tableau7: Résultats des criblages des Tanins et des Polyphénols

Tableau 8 : Résultats des criblages des Anthraquinones

Tableau9 : Résultats des criblages des Stérols insaturés et des Triterpènes

Tableau 10 : Résultats des criblages des Cardénolides et des Bufadiénolides

Tableau 11 : Résultats des criblages des Saponines

Tableau12 : Résultats des criblages des Hétérosides Cyanogénétiques

Tableau 13 : Résultats des criblages des Polysaccharides

Tableau 14 : Résultats des criblages des Coumarines

Tableau 15 : récapitulation des résultats des screening phytochimique

Tableau 16 : Hypothèses de structure des aglycones

Tableau 17 : hypothèse de structure des monoglycosides

Tableau 18 : hypothèse de structure des polyglycosides

# DÉDICACE

*Je remercie Dieu de m'avoir donnée la force pour accomplir ce travail.*

*Je dédie ce mémoire à :*

*Ma famille, qui n'a jamais baissé les bras, m'a soutenue moralement et matériellement durant mes études et dans la réalisation de ce travail.*

*Mes proches, qui m'ont conseillé et m'ont encouragé dans l'aboutissement de ce travail.*

**QUE DIEU VOUS BENISSE**

# REMERCIEMENTS

## **REMERCIEMENTS**

Nous adressons nos vifs remerciements à :

**Monsieur Dimby RALAMBOMANANA**

**Maître de Conférences**

Enseignant chercheur à la faculté des sciences de l'université d'Antananarivo.

Nous vous remercions d'honorer de votre présence ce moment, vous avez surement sacrifié des activités importantes pour être avec nous en ce jour.

**Monsieur RAKOTONDRAMASY Vokatsoa Christian**

**Maitre de conférences**

Enseignant chercheur à la faculté des sciences et à l'Ecole Normale Supérieure, université de Fianarantsoa.

Nous vous remercions d'avoir accepté d'être parmi le jury de ce mémoire. Vos suggestions et vos critiques seront appréciés pour compléter nos connaissances.

**Monsieur RASAMOELISENDRA Richard**

**Maitre de conférences**

Enseignant chercheur à la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo

Je dois beaucoup à monsieur RASAMOELISENDRA Richard pour le précieux temps que vous nous avez consacré tout au long de l'élaboration de ce travail

Madame le directeur de l'Ecole Normale Supérieure

Tous les professeurs et responsable de la formation

Et tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

*Du fond du cœur merci.*

# INTRODUCTION

# INTRODUCTION

Madagascar notreîle, est particularisée par sa diversité géographique de l'est à l'ouest, entraînant une variation considérable au point de vue climatique, écologique, géologique, culturelle et économique. Le climat varie du climat tropical humide de la forêt de l'est au climat semi-désertique du sud de l'île. Cette diversité lui procure une richesse inestimable en matière de biodiversité et le classe en premier rang mondiale par ses espèces endémiques (22 familles de faunes et flore endémiques).

Les plantes sont à elles seules, une source immense de molécules chimiques complexes utilisées entre autre dans les parfumeries, l'agroalimentaire, l'industrie pharmaceutique et la médecine.

Pour le cas de l'ex province de Fianarantsoa par exemple, le corridor forestier de Ranomafana à Andringitra qui abrite le parc national de Ranomafana et le réserve d'Anjà au sud d'Ambalavao, site où nous avons prélevé la plante objet de notre étude, renferme quelques centaines d'espèces végétales endémiques (800 espèces : inventaire biologique en 2001). Plusieurs sont utilisés en médecine traditionnelle et d'autres sont exploités pour la médecine moderne.

Le *Senna occidentalis* très répandu et réputé pour sa vertu thérapeutique pour traiter les brûlures, la dermatose (le prurit, la lèpre, l'érysipèle), les embarras gastriques, la pneumonie, l'asthme et la fièvre, même non endémique a incité notre curiosité.

Ce travail intitulé « Contribution à l'étude phytochimique de *Senna occidentalis* (L.)Link (Fabaceae) » entre dans le cadre du mémoire de CAPEN.

Il suit le plan IMRD.

- La première partie donne des généralités sur les Fabacées et les métabolites secondaires.
- La deuxième partie décrit les matériels et méthodes que nous avons utilisés
- La dernière montre les résultats et la discussion de nos travaux.

Avant de conclure, nous proposons une éducation à l'environnement.

# GENERALITES

## **CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR LES FABACÉES**

### **I. Généralité**

Les Fabacées, au sens large, sont des plantes herbacées, des arbustes, des arbres ou des lianes.

Les Fabacées, longtemps dénommées papilionacées, se distinguent à cause de la forme particulière de leurs fleurs où l'on reconnaît un pétales supérieur ou étendard, deux pétales latéraux ou ailes et deux pétales inférieures unis ou carène.

Les fabacées les plus importantes sont les haricots (*Phaseolus*), les fèves (*Faba*), les pois (*Pisum*), les lentilles (*Lens*) qui fournissent les légumes secs ; le robinier faux acacia (*Robinia*), les palissandres ou les cytises (*Laburnum*) qui sont des arbres ; le trèfle (*Trifolium*), les vesses (*Vicia*) qui fournissent des fourrages, l'arachide (*Arachis*) pour son huile, les lupins (*Lupinus*) dont les variétés non toxiques ont une grande valeur alimentaire dans certaines régions.



Photo 1  
Fèves : *Faba* (Fabacées)



Photo 2  
Trèfle : *Trifolium* (Fabacées)

Parmi ceci, le *Senna occidentalis* qui est un sous-arbuste de la famille des Césalpiniacées, ou des Fabaceae, sous-famille des Caesalpinioidées qui a un intérêt thérapeutique intéressant.

## **II.Familles des légumineuses**

La famille des Fabacées appartient au groupe des Légumineuses. Parmi ce groupe on peut citer :

- Les Césalpiniacées, dont les fleurs sont pseudo-Papilionacées.
- Les Mimosacées, dont les fleurs sont régulières.

Pourtant c'est la famille de fabacées qui est la plus nombreuse du Règne Végétal avec environ 12 000 espèces réparties en 400 Genres.

## **III.Classification des fabacées**

Le nom Fabacées, au sens limité, est adopté en classification classique de Cronquist (1981). Ce groupe est nommé Fabacée ou Papilionacée. En classification classique, ce groupe des plantes serait l'ordre des Fabales avec trois familles.

Le nom Fabacées, au sens large, est adopté en classification phylogénétique APG II (2003). Ce groupe est nommé Fabacée ou Légumineuse. Cette famille comprend 18 000 espèces réparties dans trois sous-familles. En classification phylogénétique, ce groupe des plantes serait la sous-famille Faboideae.

La famille des Fabacées est une famille de plantes dicotylédones.

Le tableau 1 présente sa classification selon cronquist.

**Tableau 1 : Classification selon Cronquist**

Classification de Cronquist	
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	Fabacées

## IV. Sous famille des fabacées

En classification classique, ce groupe des plantes serait l'ordre des *Fabales* avec trois sous familles.

- sous-famille *Caesalpinoideae*
- sous-famille *Mimosoideae*
- sous-famille *Faboideae* ou *Papilionoideae*

## V. Genres

Dans cette famille, on peut citer les genres suivants :

- ***Sous-famille Mimosoideae***

Par exemple l'arbre de soie ; *Acacia*, avec le *mimosa* ; *Mimosa*.

- ***Sous-famille Caesalpinoideae***

Parmi ceci :

- le *Caesalpinia* avec le Pernambouc ou le Pau-Brasil *Cassia* ;
- le *Ceratonia*, avec le Caroubier (*Ceratonia siliqua*) ;
- le *Cercis*, avec l'arbre de Judée (*Cercis siliquastrum*) ;

- le *Colophospermum* ;
  - le *Gleditsia* avec le févierépineux ;
  - le *Parkinsonia* ;
  - le *Peltophorum* ;
  - le *Senna* ;
  - le *Tamarindus* avec le tamarinier.
- **Sous-famille Faboideae ou Papilionoideae**
    - *Abrus*
    - *Anthyllis*, avec la vulnéraire ;
    - *Arachis*, l'arachide ;
    - *Aspalathus*, le rooibos ;
    - *Astragalus*, les astragales ;*Bowdichia*; *Brongniartia*;
    - *Cicer*, le pois chiche ;
    - *Cyclopia*, le *Honeytea* ;
    - *Cytisus* ;
    - certains genêts comme le genêt à balais ; *Coronilla*, Coronille *Dorycnium*, les dorycnies et bonjeanies ; *Eutaxia*, genre australien; *Genista*, c'est le genêt poilu ou le genêt des teinturiers ;
    - *Glycine*, qui donne le soja (ne pas confondre avec les « glycines » du genre *Wisteria*);
    - *Glycyrrhiza*, la réglisse ;
    - *Hippocrepis* le fer à cheval ;
    - *Laburnum*, le cytise faux ébénier ; *Lathyrus*,
    - les gesses ;
    - *Lens*, avec la lentille cultivée ;
    - *Lotus*, le lotier ;
    - *Lupinus*, le lupin ;
    - *Medicago*, les luzernes ;
    - *Melilotus*, les mélilotis ;
    - *Onobrychis* lessainfoins ;
    - *Ononis* les bugraneas ;
    - *Phaseolus*, les haricots ;
    - *Physostigma*, avec la fève de Calabar ;
    - *Pisum*, les pois fourrager ou potager ;
    - *Robinia*, le robinier faux-acacia avec son bois dur imputrescible ;
    - *Trifolium*, les trèfles ;
    - *Trigonella*, le fenugrec ;
    - *Ulex*, ce sont les ajoncs ;
    - *Vicia*, la vesce et la fève *Vigna*, avec le dolique à œil noir ; *Wisteria*, avec les « glycines ».

## VI. Description

Elles peuvent être : herbacées, ligneuses (Ulex, Robinia, Cytisus, Genista...) et il en existe même sous forme de lianes.

Les Fabacées sont présentes partout dans le monde, aussi bien dans les zones froides que tropicales.

Les feuilles sont à phyllotaxie alterne le plus souvent et revêtissent différentes formes : simples, composées, épineuses.

Le limbe peut-être entier ou divisé en plusieurs folioles.

Les feuilles sont généralement stipulées, quelques fois les stipules se sont transformés en épine : Ulex.

Les nombreuses représentantes des Fabacées montrent divers types d'inflorescences : en grappe le plus souvent, en corymbe, en ombelle (*Anthyllis Coronilla*) ou encore en fleurs solitaires.

Les fleurs sont hermaphrodites et régulières. L'architecture des fleurs est caractéristique de la Famille. La structure des fleurs est semblable à toutes les espèces, on dit qu'elles sont Papilionacées.



Photo 3 : Fleur du Genêt à balais  
*Cytisus scoparius* (Papilionacées)

Deux grandes familles de plantes possèdent des fleurs irrégulières : les Papilionacées (ou Fabacées ou Légumineuses) et les Orchidées.

La fleur d'une légumineuse est bâtie selon le schéma suivant : Le calice est soudé, un grand pétales, ou étandard, coiffe le reste de la fleur. Deux pétales, les ailes, sont disposés de chaque côté de la fleur et enveloppent partiellement les deux pétales inférieurs. Ceux-ci sont souvent réunis entre eux et forme la carène. Celle-ci peut prendre la forme d'un bec plus ou moins pointu.

Les étamines sont généralement soudées entre elles et forment un tube autour du pistil.

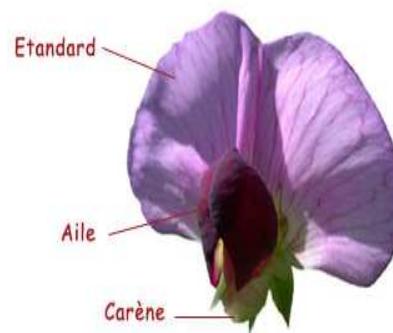


Photo 4 : Fleur de Fabacées

## VII. Utilisations

- En Agriculture, on utilise des légumineuses (Luzerne, Trifolium, Lotus, etc.) en alternance avec les autres cultures, car leurs racines restituent l'azote atmosphérique absorbé au sol à la fin de leur vie. L'azote restitué de cette façon pourra alors profiter aux cultures ultérieures. La plupart des Fabacées sont donc des engrains verts. La Famille des Fabacées présente des ressemblances avec la Famille des Rosacées.
- Sur l'alimentation : production de variétés importantes de fruit sec (haricot, lentille)
- Sur le plan énergétique, une tasse de Haricots Rouges, de Lentilles ou de Pois Chiches apporte en moyenne 16 grammes de protéines, c'est à dire deux fois plus qu'un œuf dur ou à la coque.

C'est une bonne source de potassium, de magnésium, de fer, de cuivre et de fibres, qui en plus a l'avantage d'être pauvre en cholestérol.

- Elles sont aussi extrêmement importantes pour l'homme aux points de vue médicinal et industriel.

# LES MÉTABOLITES SECONDAIRES

## **CHAPITRE 2 : LES MÉTABOLITES SECONDAIRES**

### **I. Définition**

Un métabolite secondaire est une molécule qui, par exclusion, n'appartient pas au métabolisme primaire.

Les métabolites secondaires sont plus spécifiques aux plantes, bactéries et champignons. Contrairement aux métabolites primaires, ils ne participent pas directement à l'assimilation des nutriments et donc, au développement de la plante.

A ce jour, plus de 100 000 métabolites secondaires ont été identifiés et on estime que chaque végétal produit au moins une centaine de molécules différentes.

### **II. Rôles des métabolites**

Les métabolites secondaires participent à la vie de relation de la plante, ils ont des rôles très variés. Ils peuvent par exemple:

- servir de défense (sécrétions amères ou toxiques pour les prédateurs) ;
- Ou au contraire, attirer certaines espèces ayant des rôles bénéfiques (polliniseurs).

Ce sont des molécules qui sont aussi très utiles pour l'homme, comme colorants, arômes, antibiotiques, herbicides, drogues.

### **III. Types des métabolites secondaires**

On peut identifier trois types de métabolites secondaires: les terpénoïdes, les alcaloïdes et les molécules phénoliques.

#### **III. 1 Les Terpénoïdes**

Les terpénoïdes sont des molécules à nombre de carbones multiple de 5. Il existe 20 000 molécules connues avec comme motif commun cette base isoprène.

Ils sont stockés dans les vacuoles au niveau de l'écorce, des épines, des racines ou des feuilles. On en retrouve également dans le latex.

### ***III.1.1 Rôles des terpénoïdes pour la plante***

Les terpénoïdes sont pour la plupart des anti-herbivores. Ils ont des effets différents selon la plante, ils peuvent provoquer des convulsions, des allergies de la peau. Ils ont un goût amer.

Les terpénoïdes contenus dans le latex sont utiles à la plante pour lutter contre les prédateurs. En effet, quand des insectes, comme les chenilles, pénètrent dans l'écorce d'un arbre producteur de latex, celui-ci va réagir en leur envoyant un gel collant. Celui-ci empêche les insectes de se nourrir et ces derniers finissent par mourir de faim.

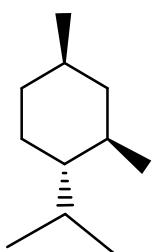


Photo 5 : Protection de l'attaque contre les prédateurs par les terpénoïdes

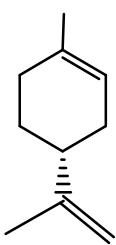
Les terpénoïdes sont également utiles au développement de la plante. Ils peuvent stimuler par exemple la croissance des feuilles.

### ***III.1.2 Utilisations par l'Homme***

De nombreux terpénoïdes ont la particularité de dégager de fortes odeurs : le menthol et le limonène permettent la fabrication d'huiles essentielles. Ils sont utilisés comme antiseptiques et dans certains domaines comme la cosmétique.



menthol



limonène

Schéma 1 : Exemples de structure des terpénoïdes

### **III .2 Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont les principaux composants du métabolisme secondaire. Il en existe environ 12000 répertoriés à ce jour.

Ce sont des produits d'origine végétale souvent basiques (goût amer) et plutôt hydrophiles.

Les alcaloïdes sont des hétérocycles possédant tous au moins un atome d'azote. Ils possèdent de nombreuses propriétés pour la plante jouant un rôle de défense et sont également utilisés en médecine et pharmacie

#### ***III.2.1 Rôles pour la plante***

Le principal rôle des alcaloïdes est de défendre la plante contre les mammifères herbivores et les insectes.

Chez les Solanacées, ces plantes possèdent des composés toxiques qui entraînent la formation de pores dans les membranes.

En général, lors de l'absorption par l'insecte, les alcaloïdes sont réduits en molécules non chargées, toxiques en milieu alcalin.

Mais quelques insectes ont la faculté de reconvertisir les molécules toxiques en molécules non toxiques, ces insectes deviennent alors résistants à l'alcaloïde absorbé et peuvent par la suite les réémettre à leur tour pour se protéger.

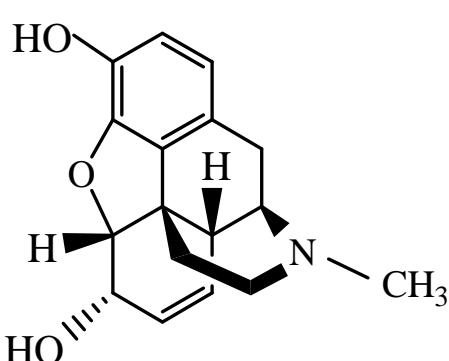
L'herbivore détourne alors les métabolites végétaux à son profit.

#### ***III.2.2 Utilisations par l'Homme***

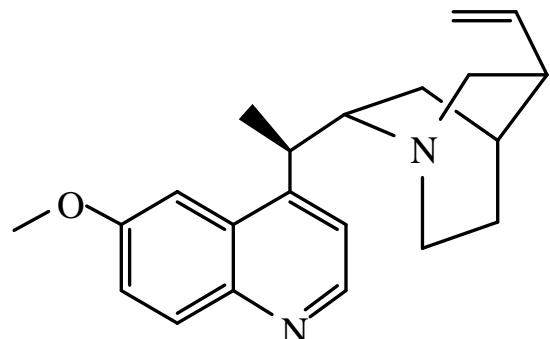
De nombreux alcaloïdes sont utilisés en pharmacie :

- La morphine est un antalgique majeur extrait des graines du Pavot Somnifère (*Papaver somniferum*) ;
- La codéine est utilisée en tant qu'analgésique et antitussif ;
- La quinine permet de lutter contre le paludisme ;
- La scopolamine est utile au traitement de certaines douleurs et pour la prévention du mal des transports ;
- L'atropine dilate les pupilles, ce qui facilite les examens ophtalmologiques ;
- La vinblastine est utilisée en chimiothérapie anticancéreuse.

D'autres alcaloïdes ont des usages plus courants comme la nicotine employée dans la fabrication d'insecticides et de cigarettes, ou encore la caféine (propriétés stimulantes ou sédatives). La cocaïne est une drogue ayant une action stimulante.



Morphine



Quinine

Schéma 2 : Exemples de structure des alcaloïdes

### III.3 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des molécules aromatiques constituées d'un groupement phényle (C<sub>6</sub>) et d'un hydroxyle (-OH). Il en existe environ 4500.

On peut nommer dans cette famille les flavonoïdes, les tanins ou encore les coumarines.

#### III.3.1 Rôles pour la plante

Les composés phénoliques comme les flavonoïdes possèdent des rôles variés.

Ce sont des phyto-œstrogènes, ils ont une action néfaste sur l'activité testiculaire de certains prédateurs.

Ces molécules sont principalement responsables de la couleur, des arômes et des parfums des plantes.

Les flavonoïdes ont également d'autres fonctions, ils ont un effet attracteur sur les polliniseurs et protègent également les plantes des rayons UV.



Photo6 : Attraction des polliniseurs par les flavonoïdes

Les coumarines interviennent dans un mécanisme de défense contre les herbivores.

Les tanins ont également cette propriété. Ils sont présents dans l'écorce, le bois et les feuilles et stockés dans des vacuoles.

Certains composés phénoliques ont également des propriétés œstrogéniques, ils diminuent la fertilité des herbivores.

### **III.3.2 Utilisations par l'Homme**

Les coumarines et les tanins ont des propriétés anti-oxydantes. Les coumarines dégagent une odeur rappelant la vanilline, elles sont utilisées en parfumerie et également par de grands chefs cuisiniers.

On parle aussi de métabolites secondaires pour qualifier les composés que produisent les micro-organismes (bactéries, champignons...) lorsque leur milieu de culture s'appauprit en éléments nécessaires à sa croissance et donc lorsqu'ils entrent dans une phase décroissante de développement.

Ces composés sont en général toxiques mais ils peuvent aussi présenter un intérêt économique, voire une haute valeur ajoutée (médicale).

## **III.4 Les flavonoïdes**

### **III.4.1 Définition**

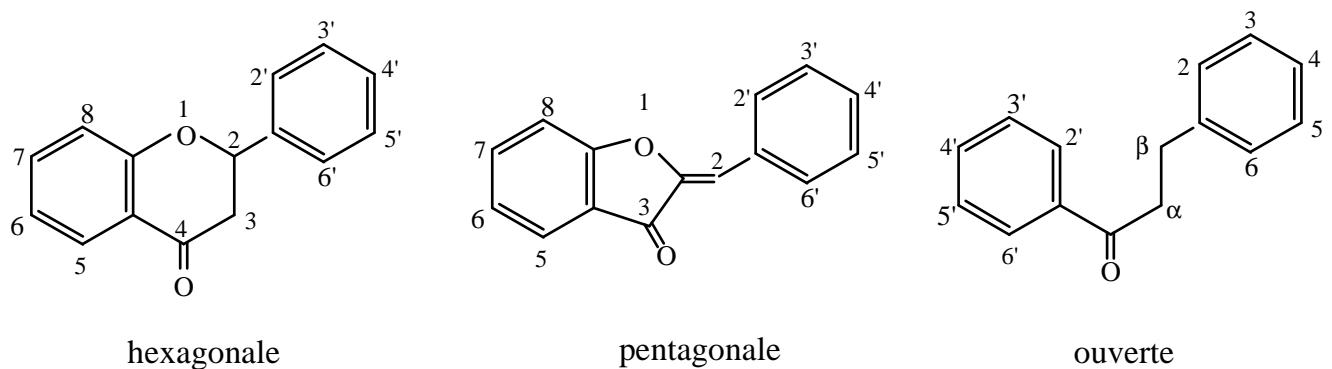
Les flavonoïdes sont naturellement présents dans les fruits et légumes de notre alimentation. On les retrouve aussi dans de nombreuses boissons : vin, bière, lait de soja, thé et chocolat.

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux noyaux aromatiques et d'un noyau central pyranique, pourvus d'au moins une fonction hydroxyle.

Selon, entre autres, le degré d'oxydation du noyau pyranique, on classe les flavonoïdes sur base du nombre, de la position et de la nature des substituants (groupements hydroxyles -OH et methoxyles  $OCH_3$  principalement), sur la base des deux cycles aromatiques A et B et sur celle de la chaîne de carbone intermédiaire.

Ils ont donc en commun une même structure, dont les multiples substitutions permettent de les diviser en plusieurs classes.

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques ayant un squelette de base en  $C_6 - C_3 - C_6$  dans lequel  $C_6$  représente un noyau benzénique et  $C_3$  une chaîne carbonée à trois atomes de carbones, qui peut être :



### Schéma 3 : exemple de squelette des flavonoïdes

### III.4.2 Répartition

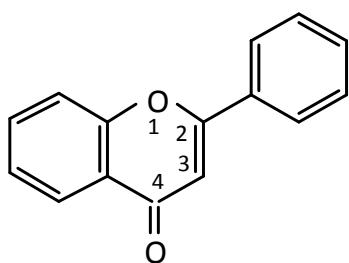
Les flavonoïdes sont largement distribués dans le règne végétal où ils existent le plus souvent sous la forme soluble d'hétérosides. Quasiment absents chez les Algues, ils apparaissent chez les Bryophytes.

Chez les Fougères et les Gymnospermes, ils sont présents mais leur variété structurale est faible. Ils sont par contre très largement représentés chez les Angiospermes où leur variété structurale est maximale.

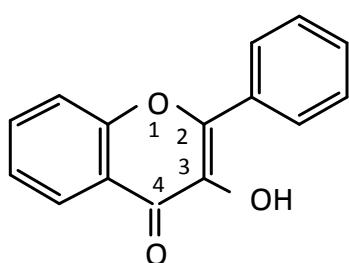
### III.4.3 Fonctions

Comme beaucoup d'autres métabolites secondaires, la fonction physiologique des flavonoïdes est loin d'être connue. La fonction écologique de ces pigments est plus évidente: responsable de la coloration de nombreuses fleurs et de certains fruits - mais aussi "guide à nectar", motifs visibles par les seuls insectes en UV- ils attirent et guident les polliniseurs favorisant ainsi la reproduction de l'espèce. Chez les Orchidacées, le marquage flavonoïdique disparaît après la pollinisation, incitant ainsi l'insecte à ne visiter que des fleurs non pollinisées.

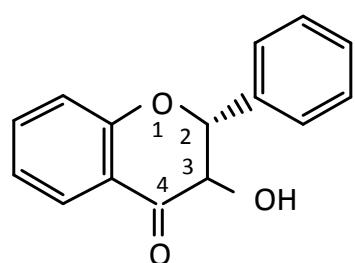
### III.4.4 Quelques structures des flavonoïdes



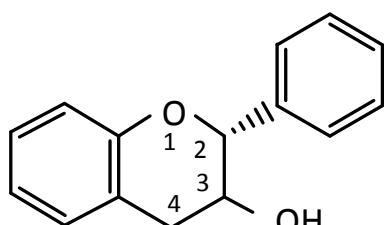
## Flavones



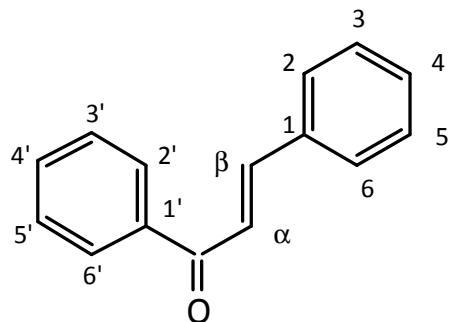
## Flavonols



## Flavanonols



## Flavanols



## Chalcones

#### Schéma 4 : exemple de structure des flavonoïdes

### III.5 Hétérosides cyanogénétiques

Ce sont des substances d'origine végétale qui par, hydrolyse, libèrent de l'acide cyanhydrique (très toxique) ; fréquent chez les plantes inférieures (fougères, gymnospermes) et dans certaines familles de plantes supérieures : rosacée, fabacée, poacée, aracée, euphorbiacée, passifloracée...

Sur le plan chimique on distingue deux familles d'hétérosides cyanogénétiques :

- celles qui libèrent par hydrolyse de l'acétone
- et celles qui libèrent par hydrolyse de l'aldéhyde benzoïque

## **III.6 Saponosides**

### **III.6.1 Définition**

Une saponine est un hétéroside complexe, appartenant aux terpènes cycliques (nom générique donné aux hydrocarbures saturés cycliques ou acycliques ayant pour motif de base le terpène) ou aux stéroïdes, se trouvant chez de nombreux végétaux sous forme d'hétérosides (Saponosides).

### **III.6.2 Propriétés**

Douées de propriétés tensioactives, les saponines font mousser leurs solutions et servent de détergent.

Les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon quand on les agite dans l'eau (lat. *sapo* = savon).

Les saponines sont très fréquentes dans les végétaux supérieurs, surtout dans les tissus riches en substance nutritive, comme les racines, les tubercules, les feuilles, les fleurs et les graines.

On les trouve dans les légumes, comme le soja, les petitspois, les épinards, les tomates, les pommesdeterre, l'ail et ils constituent en outre des agents dans les herbes aromatiques, le thé et le ginseng. Les saponines sont présentes en grande quantité dans les châtaignes .On trouve aussi des saponines dans les concombresdemer, les étoiles de mer, les éponges et le plancton.

### **III.6.3 Structure**

Un exemple de structure est donné ci-dessous.

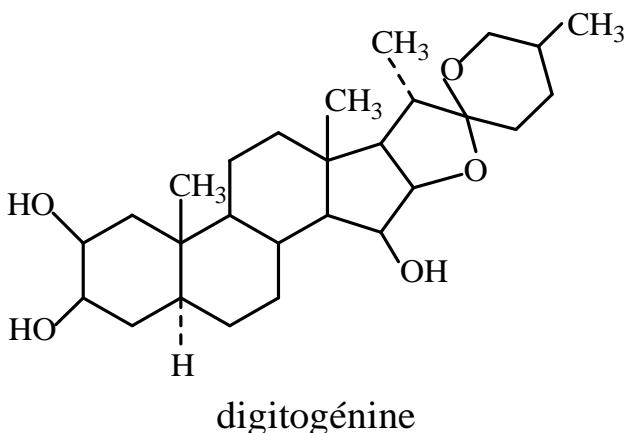


Schéma 5 : exemple de structure de saponine

### III.7 Les anthraquinones

#### III.7.1 Définition

L'anthraquinone appartient à la famille chimique des hydrocarbures aromatiques polycycliques. C'est un dérivé de l'anthracène.

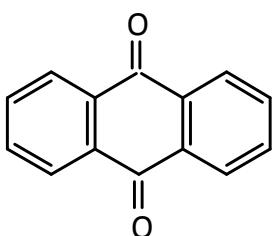


Schéma 6 : Structure de l'anthraquinone

Anthraquinone

#### III.7.2 Répartition

L'anthraquinone existe à l'état naturel dans certaines plantes (la bourdaine, le séné (senna), l'aloès, la rhubarbe, un type de nerprun nord-américain parfois appelé le cascara), les champignons, les lichens, et la plupart des insectes, où il sert de squelette de base aux pigments.

Les dérivés naturels de l'anthraquinone ont tendance à avoir des effets laxatifs.

Présent à l'état naturel chez un certain nombre d'animaux et de plantes, il est aussi une substance active de produit phytosanitaire (ou produit phytopharmaceutique, ou pesticide), qui présente un effet répulsif à l'égard des oiseaux. Isolé, il a l'apparence d'une poudre cristalline solide, du jaune et du gris-clair au gris-vert.

### **III.7.3 Applications médicales**

L'anthraquinone et ses dérivés naturels sont dotés d'un pouvoir thérapeutique avéré pour soigner tous les troubles fonctionnels intestinaux comme la colopathie fonctionnelle, la laxophobie, la constipation etc.

L'anthraquinone et ses dérivés actifs comme les glucosides d'anthraquinone stimulent le péristaltisme de l'intestin grêle et augmentent les mouvements péristaltiques du côlon. Les glucosides d'anthraquinone se transforment dans le côlon en sennosides.

Ces derniers sont hydrophiles et réduisent l'absorption de l'eau en vue d'avoir un bol fécal fluide. Ils évitent par conséquent, la formation de selles grumeleuses.

## **III.8 Les polysaccharides**

### **III.8.1 Définition**

Les polysaccharides (parfois appelés *glycans*, polyosides ou polyholosides) sont des polymères constitué de plusieurs oses liés entre eux par des liaisons O-osidiques.

### **III.8.2 Répartition**

Les polysaccharides les plus répandus du règne végétal sont la cellulose et l'amidon, tous deux polymères du glucose.

De nombreux polysaccharides sont utilisés comme des additifs alimentaires sous forme de fibre (inuline) ou de gomme naturelle.

### **III.8.3 Catégories des polysaccharides**

On distingue deux catégories de polysaccharides :

- les homopolysaccharides (ou homoglycans) constitués du même monosaccharide : fructanes, glucanes, galactanes, mannanes ;
- les hétéropolysaccharides (ou hétéroglycans) formés de différents monosaccharides : hemicelluloses.

Les constituants participant à la construction des polysaccharides peuvent être très divers : hexoses, pentoses, anhydrohexoses, éthers d'oses et esters sulfuriques.

Selon l'architecture de leur chaîne, les polysaccharides peuvent être :

- linéaires : cellulose ;
- ramifiés : gomme arabique, amylopectine, dextrane, hémicellulose.
- mixtes : amidon.

### III.8.4 Exemple de structure

Un exemple de structure est donné ci-dessous.

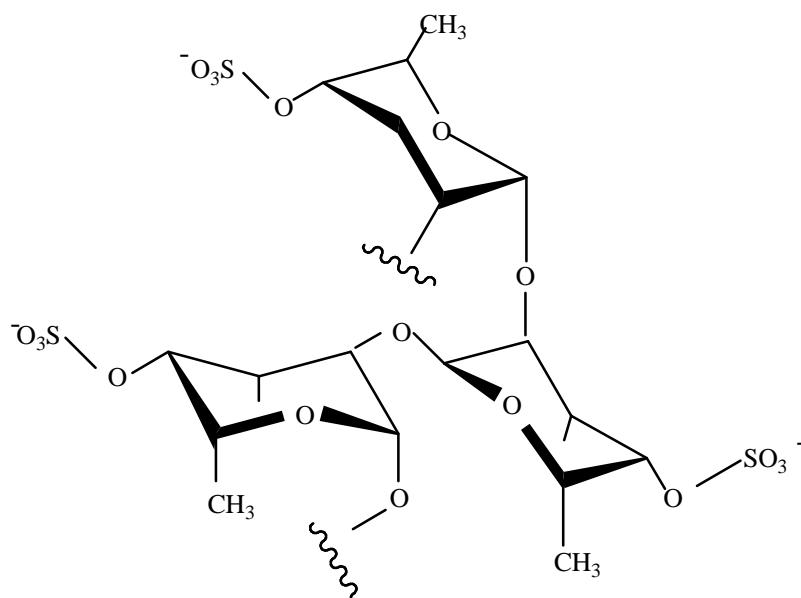


Schéma 7 : Exemple de structure de polysaccharides

### III.8.5 Utilisation par l'homme

Des recherches récentes sur les polysaccharides ont montré que ceux-ci empêchaient la formation de biofilms.

En présence de ces polysaccharides, des bactéries tel le staphylocoque doré, deviennent incapables de s'organiser en biofilms. Ils jouent le rôle d'antiadhésif et empêchent les contacts entre les micro-organismes.

Les polysaccharides de formule  $(C_6H_{10}O_5)_n$  comme l'amidon, la cellulose, l'inuline sont des substances de réserves exclusivement végétales.

On rencontre l'amidon dans les tubercules (pomme de terre, manioc) et dans les céréales, la cellulose dans les légumes, les herbes, et l'inuline dans les bulbes (d'ail, d'oignon etc.) et les racines de radis, de dahlia et beaucoup d'autres encore.

### **III.8.6 Utilisation énergétique**

Les polysaccharides constituent une ressource renouvelable pouvant se substituer aux dérivés pétroliers pour créer des polymères biologiques.

## **III.9 Les tanins**

### **III.9.1 Définition**

Les tanins sont des substances naturelles phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses.

Ce sont des métabolites secondaires des plantes supérieures que l'on trouve dans pratiquement toutes les parties des végétaux (écorces, racines, feuilles, fruits etc.) où ils jouent le rôle d'armes chimiques défensives contre certains parasites.

### **III.9.2 Structure**

Sur le plan chimique, ils sont constitués soit de polyol (glucose le plus souvent), ou de catéchine ou de triterpénoides auquel sont attachés des unités galloyles (ou leurs dérivés) soit d'oligomères ou polymères de flavanols.

Les deux catégories de tanins distinguées depuis Freudenberg et Gross, les tanins hydrolysables (gallotanins et ellagitanins) et les tanins condensés, sont d'origines biosynthétiques différentes. On les trouve dans les plantes supérieures mais on n'en trouve pas chez les algues ou les animaux.

Khanbabae et van Ree proposent de répartir les tanins en quatre classes suivant leurs structures chimiques :

a. Les gallotanins sont des tanins formés d'unités galloyles ou de leurs dérivés méta-depsidiques liées à diverses unités polyol-, flavanols- ou triterpénoides.

b. Les ellagitanins sont des tanins formés d'au moins deux unités galloyles C-C couplées entre elles et sans liaison glycosidique avec des unités flavanols (catéchines).

c. Les tanins complexes sont des tanins formés par une unité gallotanins ou ellagitanins comportant une liaison glycosidique à un flavanol.

d. Les tanins condensés sont des proanthocyanidols comportant des liaisons entre le C-4 d'une unité flavanol et un C-8 (ou C-6) d'une autre flavanol monomère.

### III.9.3 Les tannins hydrolysables ou tannoïdes

Ce sont des esters de sucre, généralement du glycose ou de polyol apparenté et d'un nombre variable de molécule d'acides phénoliques tels que l'acide gallique ou l'acide éllagique

Un exemple de structure de tanins hydrolysables est présenté dans la figure ci-dessous.

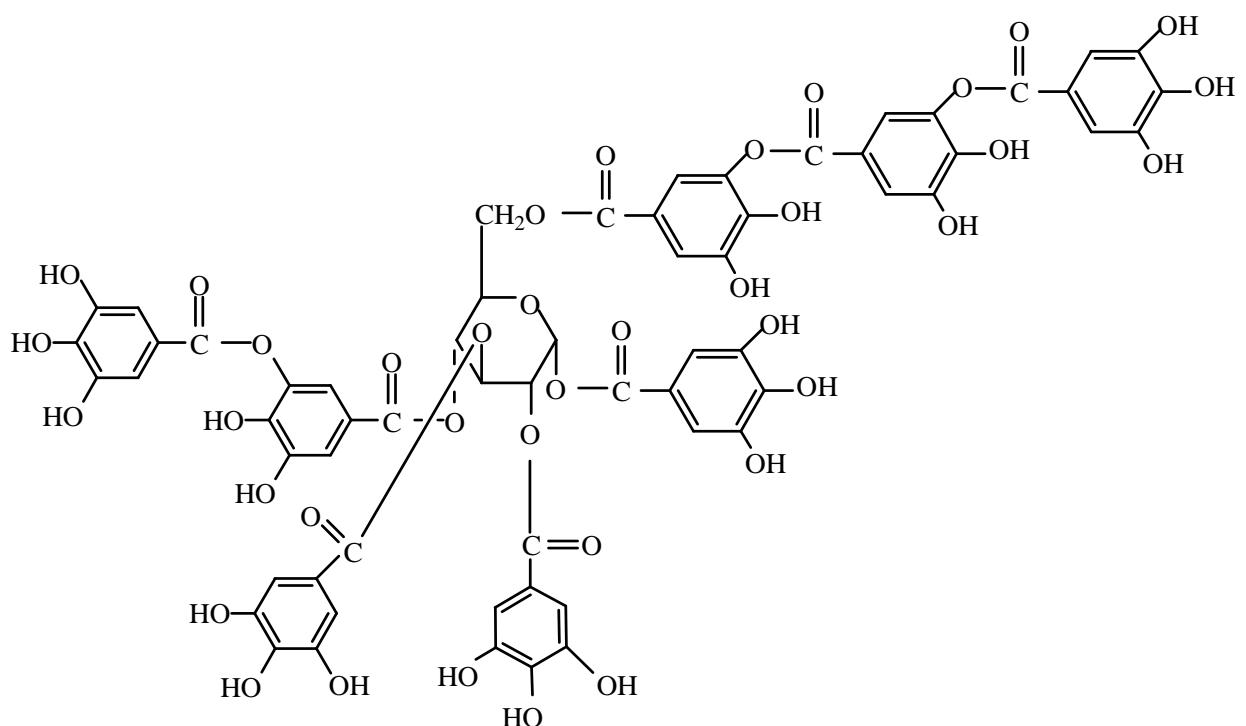


Schéma 8 : Exemple de structure de tanins hydrolysables

### III.9.4 Les tannins vrais ou proanthocyanidines condensés

Ce sont des polymères flavaniques, constitués par des unités de flavan-3-ol liées entre elles par des liaisons carbones – carbone. Les liaisons les plus courantes sont de types 4→8 et/ou 4→6.

Un exemple de structure est présenté dans la figure ci-dessous.

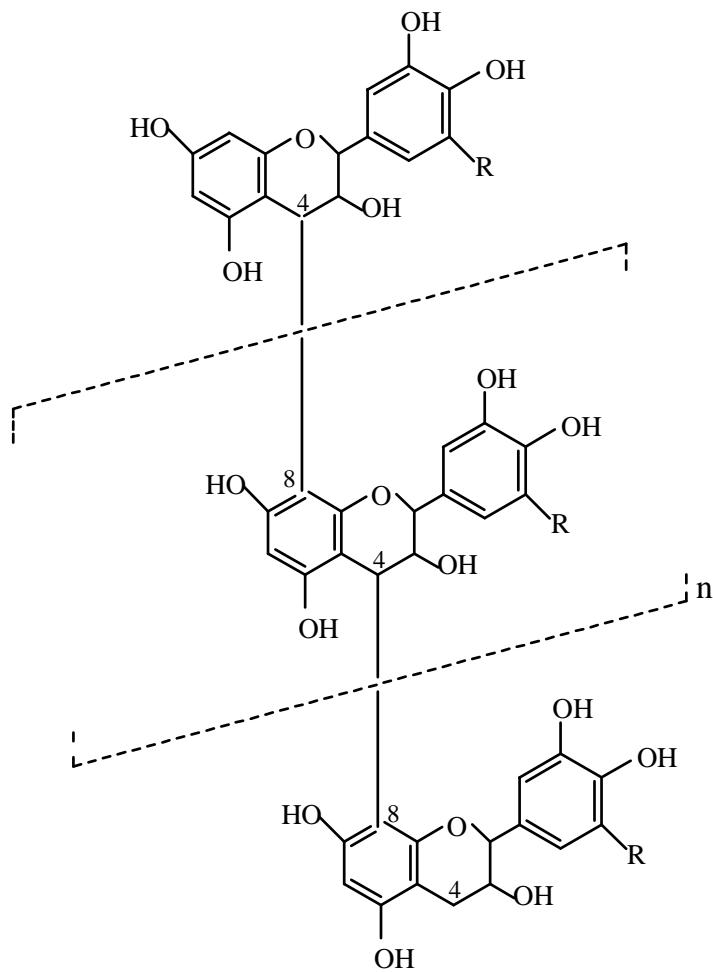


Schéma 9 : Exemple de structure de tanins vrais

### III.9.5 Utilisations par l'homme

On emploie les tanins pour protéger le cuir, car ils transforment les protéines contenues dans le cuir en produits insolubles résistant à la décomposition organique.

La principale utilisation du tanin est le tannage (comme son nom l'indique) des peaux. Les tanins confèrent aux cuirs leurs qualités d'imputrescibilité.

Autres utilisations : encres (par réaction avec des sels ferriques) ; teinture d'étoffes ; encollage du papier ou de la soie ; coagulation du caoutchouc ; clarification des vins et des bières ; recherchés également pour leurs propriétés antioxydantes.

### III.10 Les coumarines

La coumarine est une substance naturelle organiquearomatique connue dans la nomenclature internationale comme le 1-benzopyrane-2-one qui peut être considérée en première approximation, comme une lactone de l'acide 2-hydroxy-Z-cinnamique.

Le même terme de coumarine désigne aussi la classe des composés phénoliques dérivés de cette dernière molécule.

Ces composés possèdent des hydroxyles phénoliques qui peuvent être méthylés ou être engagés dans des liaisons hétérosides.

Elles sont très largement distribuées dans le règne végétal.

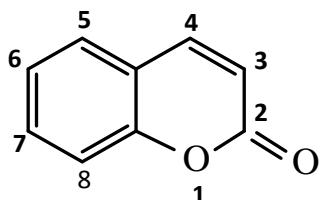


Schéma 10 : structure des coumarines

### III.11 Les stéroïdes

#### III.11.1 Définition

Les stéroïdes constituent un groupe de lipides dérivant de triterpénoides (lipides à 30 atomes de carbones).

Ils se caractérisent par un noyaucyclopentanophénanthrénique (stérane) hydrophobe partiellement ou totalement hydrogéné. Habituellement, les carbones C<sub>10</sub>, C<sub>13</sub> sont liés à un groupe méthyle -CH<sub>3</sub> et le carbone C<sub>17</sub> à un groupe alkyle.

#### III.11.2 Exemple de structure des stéroïdes

Un exemple de structure des stéroïdes est donné dans la figure ci-dessous.

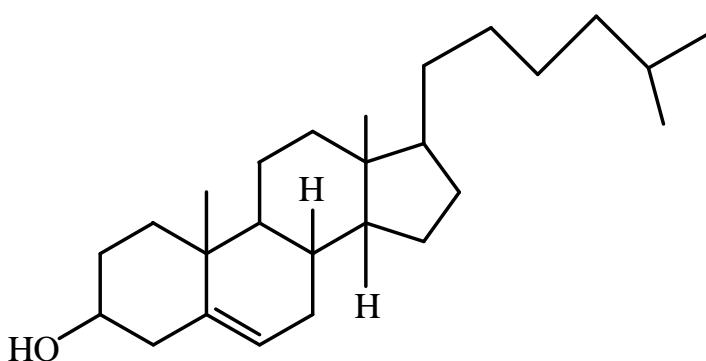


Schéma 11 : Exemple de structure des stéroïdes

# MATERIEL ET METHODE

## **CHAPITRE 3 : MATÉRIELS ET MÉTHODES**

### **I. Matériels**

#### **I.1 Matériel végétal**

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes de *Senna Occidentalis* (L.) Link.

Les feuilles ont été récoltées à Anjà-commune Iaritsena-District d'Ambalavao au mois de mai 2011.

##### **I.1.1 Nomenclature de la plante**

*Noms vernaculaires* : Tsotsorinangatra, Sanatrindolo, kirikitsa

*Nom systématique* : *Senna Occidentalis* (L.) Link - Fabaceae - Dicotylédone

*Synonymes* : *Cassiaoccidentalis* L., *Ditremexoccidentalis* (L.) Britton & Rose ex Britton & P. Wilson

Noms communs :

Comores : Hasa (Anjouan), Sanamaka (Grande Comores)

Maurice : Casse puante, Coffee Senna

Réunion : Indigo, Gros indigo sauvage, Souveraine

Seychelles : Casse puante, Kaspiant

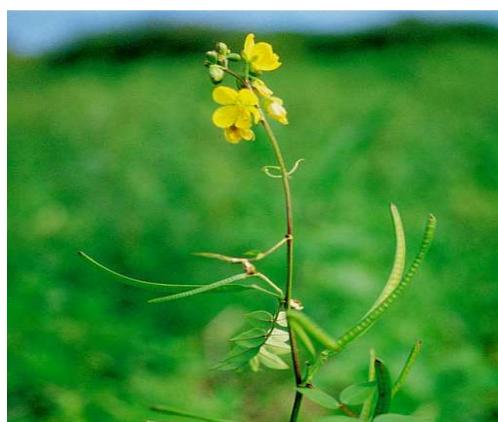


Photo 7  
Plante de Kirikitsa

### I.1.2 Classification systématique

La plante a été identifiée par le service botanique au Parc Botanique et Zoologique Tsimbazaza Antananarivo.

Le tableau suivant donne sa classification systématique.

**Tableau 2 :Classification de *Senna occidentalis* selon Cronquist**

Classification de Cronquist	
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	Fabacées
genre	Senna
espèce	Occidentalis

### I.1.3 Description botanique

*Sennaoccidentalis* est une plante arbustive à fleurs jaunes et à feuillage vert brillant malodorant.

C'est un arbrisseau habituellement assez peu branchu, sans poil ou presque.

Les feuilles sont disposées alternativement le long de la tige. Elles sont composées de 4 à 6 paires de petites feuilles indépendantes, terminées en pointe et portées par un court pétiole, le long de la nervure centrale. Elles sont légèrement duveteuses dessous et sur le bord.



Photo 8 Feuilles de *sennaoccidentalis*

Les fleurs sont de couleur jaune. Elles sont groupées au sommet des branches.



Photo 9  
Fleurs de *sennaoccidentalis*

Le fruit est une longue gousse légèrement courbe et aplatie. Il présente des renflements au niveau des graines et s'ouvre le long des deux bords.

Les graines sont aplatis et de couleur marron.



Photos 10  
Fruits de *sennaoccidentalis*

#### **I.1.4 Description biologique**

*Senna occidentalis* est une espèce annuelle qui peut vivre plus d'un an dans des conditions favorables. Elle se multiplie uniquement par graines. A Madagascar l'espèce rudérale peut être trouvée le long des chemins des villages et des canaux d'irrigation).

#### **I.1.5 Propriété pharmacologique**

Laxatif, anti-inflammatoire, antibactérien et antifongique.

#### **I.1.6 Usages**

*Senna occidentalis* est une plante dont l'action thérapeutique est connue depuis de nombreuses générations.

La récolte de la plante se fait généralement dans la journée soit le matin ou le soir. Les feuilles, les graines et les racines constituent les drogues principales utilisées en pharmacopée.

Les modes d'administration peuvent être variées : une décoction, une infusion, une poudre, ou une pâte.

En décoction, les plantes sont bouillies dans de l'eau. Le décocté est souvent le médicament.

L'action de mettre en contact prolongé avec un liquide pour y dissoudre des parties solides d'une matière est la macération. La macération dans un liquide chaud est l'infusion.

Dans les inflammations, on réalise des pansements locaux.

Les usages suivant les parties de la plante sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 3 :usages de *Senna occidentalis***

Maladies et utilisations	Partie de la plante	Mode d'emploi
<b>Asthme</b>	Feuille	Interne
	Graine	Interne
	Racine	Décoction
<b>Brûlures</b>	Feuille	Usage externe
	Graine	Usage externe
	Racine	Décoction
<b>Dermatoses</b>	Feuille	Usage externe
	Graine	Usage externe
	Racine	Décoction
<b>Diurétique</b>	Feuille	Interne
	Graine	Interne
	Racine	Décoction
<b>Embarras gastrique</b>	Feuille	Interne
	Graine	Interne
	Racine	Décoction
<b>Fatigue, antifatigue</b>	Feuille	Interne
	Graine	Graine
	Racine	Décoction
<b>Fièvre</b>	Feuille	Interne
	Graine	Interne
	Racine	Décoction
<b>Hépatite</b>	Feuille	Interne
	Graine	Interne
	Racine	Décoction
<b>Pneumonie</b>	Feuille	Interne
	Graine	Interne
	Racine	Décoction
<b>Punaise des lits</b>	Feuille	Interne
	Graine	Interne
	Racine	Décoction
<b>Sudorifique</b>	Feuille	Interne
	Graine	Interne
	Racine	Décoction

Source: [LiberHerbarum/Pn6588](#)

## ***Préparation du matériel végétal***

Après séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, le matériel végétal est broyé grossièrement dans un moulin électrique.

### **I.2 Matériel au laboratoire**

#### **I.2.1 Verrerie**

- **Büchner**

Le Büchner en porcelaine est employé pour la filtration sous vide. Il doit être pourvu d'un filtre rond en papier qui est éliminé et remplacé après chaque filtration.

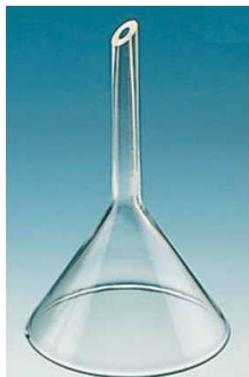
Il est utilisé pour isoler un solide d'un milieu réactionnel.



Büchner

- **Entonnoir en verre**

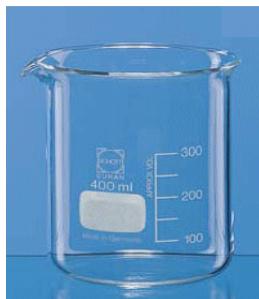
L'entonnoir en verre sert au transvasement des liquides. Equipé d'un filtre en papier plissé, il convient à la filtration par gravité.



Entonnoir en verre

- **Bécher**

Le bécher est le récipient classique en chimie, les situations où l'on peut l'employer sont si nombreuses qu'il est inutile de les répertorier. Notons qu'il est utile pour prélever des solutions avec une pipette par exemple.



Bécher

Les graduations d'un bécher donnent uniquement un ordre de grandeur du volume contenu, elles sont très peu précises. (Erreur de 10 ou 20 ml possible...)

- **Erlenmeyer**

L'rlenmeyer est le récipient idéal si on veut éviter les projections de la solution contenue, c'est pourquoi on l'utilise pour des dosages colorimétriques par exemple.

De même, si on mélange deux liquides très réactifs, son utilisation est préférable pour des raisons de sécurité.

Son col étroit permet de fixer un bouchon mais il ne permet pas de prélèvement avec une pipette ou de faire passer une sonde de pH-mètre.

Comme pour le bécher les graduations ne sont pas précises.



Erlenmeyer

### 1.2.2 Extraction

- ***Extraction à chaud***

Le chauffage est souvent utilisé pour l'extraction. Il est alors indispensable d'utiliser un réfrigérant pour éviter la perte du solvant. Il permet la condensation des vapeurs émises par le milieu réactionnel qui retombent ainsi goutte à goutte à goutte dans le ballon auquel est adopté le réfrigérant.

Nous avons utilisé le réfrigérant à boule pour le chauffage à reflux.



Photo 11  
Extraction par chauffage à reflux

- ***Extraction liquide liquide***

Il s'agit ici d'une des opérations les plus pratiquées dans un laboratoire de chimie organique.

Elle consiste à transférer un composé d'une phase aqueuse à une phase organique ou inversement, en utilisant pour cela deux solvants (l'un aqueux et l'autre organique), non miscibles, mis en contact intime.

On bouche l'ampoule et on la sort de son support. On place alors la paume d'une main sur le bouchon, les doigts enserrant le goulot de l'ampoule.

L'autre main tient l'allonge de l'ampoule, près du robinet de façon à pouvoir ouvrir celui-ci rapidement en cas de surpression.



Photo 12  
Extraction liquide-liquide

Un évaporateur rotatif est un appareil de laboratoire utilisé généralement en chimie organique pour évaporer rapidement des solvants après avoir été utilisés dans une extraction ou dans un milieu réactionnel.

Le plus souvent, l'évaporation du solvant est menée sous pression réduite (afin d'accélérer l'étape) que l'on obtient au moyen d'une trompe à eau ou d'une pompe à vide. L'évaporateur rotatif est souvent appelé, par abus de langage, *Rotavapor* ou "Büchi" (noms de deux marques très courantes).

Il est composé de plusieurs parties :

- un réfrigérant en spirale, équipé d'une prise de vide et d'un robinet pour casser le vide,
- un ballon de recette pour le distillat, situé dans la partie basse du réfrigérant,
- un moteur, qui assure la rotation du ballon évaporateur (en forme de poire), par l'intermédiaire d'un tube rotatif d'admission des vapeurs. Le ballon évaporateur contient la solution dont on doit chasser le/les solvant(s),
- un bain marie, chargé de chauffer le ballon évaporateur (car l'évaporation est un processus endothermique).

Nous avons utilisé un évaporateur rotatif Büchi 461 Water Bath



Photo 13  
Evaporation à l'aide d'un rotavapor  
Büchi 461 Water Bath

## II Méthodes

### II.1 Screening phytochimique

La détection des familles chimiques constitue le screening ou criblage phytochimique. C'est une étude basée soit :

- sur la formation de complexes insolubles : i.e. utilisant des réactions de précipitation
- sur la formation de complexes colorés : réaction de coloration.

La coloration observée est due généralement à la formation d'une conjugaison ou d'une insaturation dans une molécule. Dans les tests de caractérisation on provoque cette insaturation par utilisation d'un réactif approprié.

Les tests chimiques de coloration ou de précipitation sont effectués sur des extraits hydroalcooliques des organes des plantes étudiées. (Méthodes de FONG H. *et al.* )

#### ***Préparation des extraits bruts pour le screening phytochimique***

- Placer 25 g de plantes séchées, broyées dans un ballon rodé de 250ml ;
- Additionner 100ml d'éthanol 80% ;
- Adapter un réfrigérant ;
- Porter le ballon dans un bain-marie bouillant pendant 1 heure ;
- Refroidir sous courant d'eau le contenu du ballon et filtrer sur Büchner ;
- Laver le ballon avec 50 ml d'éthanol 80% et réunir les solutions alcooliques ;
- Mesurer le volume de la solution alcoolique et calculer l'équivalent de plante par ml d'extrait alcoolique.

La solution servira à la réalisation des divers tests phytochimiques.

## II.1.1 Screening des Alcaloïdes

Tous les alcaloïdes présentent des propriétés alcalines plus ou moins marquées et forment des sels avec les acides (sulfates, chlorhydrates...).

Ils peuvent aussi précipiter les hydrates de métaux lourds tels que le bismuth, le mercure, le tungstène, l'iode, leur permettant ainsi d'adopter une structure d'ammonium quaternaire :

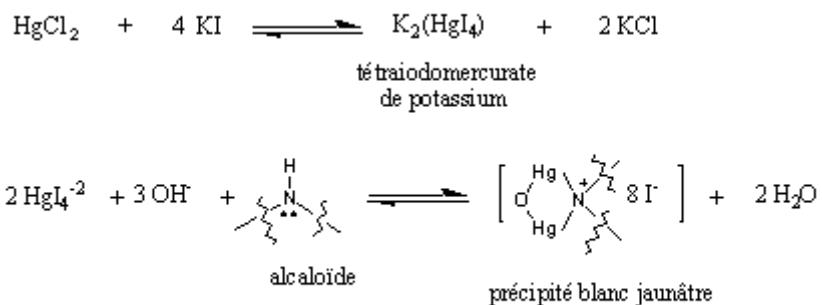


Schéma 12 : screening des alcaloïdes

Les alcaloïdes peuvent être caractérisés par les réactifs généraux suivants :

- réactif au mercuri-iodure de potassium (Valser Mayer): précipité blanc jaunâtre
- réactif à l'iodobismuthite de potassium (Dragendorff): précipité orange
- réactif à l'iodo-ioduré (Wagner): précipité rouge orangé

Le screening des alcaloïdes est effectué en 3 étapes :

- Macération
- Test préliminaire
- Test de confirmation

### II.1.1.1 Macération chlorhydrique

- Prendre environ 5g de poudre sèche. Faire macérer dans HCl 12% pendant 15 mn
- Filtrer éventuellement sur coton
- Diviser le filtrat dans 4 tubes à essais
- Ajouter un peu de solution acide si nécessaire pour avoir une solution limpide et claire

Faire les tests :

Tube n°1 : sert de témoin

Tube n°2 : ajouter 5 gouttes de Réactif de Wagner

Tube n°3 : ajouter 5 gouttes de Réactif de Mayer

Tube n°4 : ajouter 5 gouttes de Réactif de Dragendorff

L'apparition de précipité indique que le test est positif

### ***II.1.1.2 Test préliminaire***

A partir de la solution hydroalcoolique précédemment préparée

- Prendre un volume équivalent à 25g de plante et placer dans un cristallisoir
- Evaporer l'alcool jusqu'à obtention d'un résidu de consistance sirupeuse
- Ajouter 10ml de solution HCl 2N et agiter à l'aide d'une baguette de verre tout en chauffant dans un bain marie bouillant pendant 3 à 5 mn
- Refroidir la solution acide jusqu'à température ambiante
- Additionner 0,5 g de NaCl. Agiter et filtrer. Laver le précipiter avec un volume suffisant de HCl 2N
- Diviser le filtrat en 4 et procéder comme en II.1.1.1

### ***II.1.1.3 Test de confirmation de la présence d'alcaloïdes***

Il sera effectué surtout quand les 2 premiers sont positifs

- (1) Prendre l'équivalent de 5g de plantes.
- (2) Evaporer l'alcool jusqu'à obtention d'un résidu de consistance sirupeuse
- (3) Ajouter 10ml de solution HCl 2N et agiter à l'aide d'une baguette de verre tout en chauffant dans un bain marie bouillant pendant 3 à 5 mn
- (4) Refroidir la solution acide jusqu'à température ambiante
- (5) Additionner 0,5 g de NaCl. Agiter et filtrer. Laver le précipiter avec un volume suffisant de HCl 2N
- (6) Alcaliniser la solution acide avec une solution de NH<sub>4</sub>OH à 50% jusqu' pH = 9 ; les alcaloïdes repassent sous sa forme libres
- (7) Extraire 3 fois au chloroforme
- (8) Laver à l'eau les solutions chloroformiques regroupées
- (9) Sécher sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre
- (10) Filtrer. Evaporer à sec
- (11) On obtient ainsi l'extrait brut d'alcaloïdes totaux (AT)
- (12) Reprendre le test comme en II.1.1.1 et II.1.1.2

### ***II.1.1.4 Test des ammoniums quaternaires et des N-Oxydes***

La présence de N<sup>+</sup> (ammonium quaternaire) des N-oxydes éventuellement présents se trouvent dans la phase aqueuse alcaline (6)

Prendre un certain volume de cette solution, réacidifier

Faire directement le test comme en II.1.1.1 et II.1.1.2

## II.1.2 Screening des Flavonoïdes et des Leucoanthocyanes

### **Test à la cyanidine**

Les composés flavoniques sont réduits en présence d'un acide concentré et de magnésium.

Après élimination d'une molécule d'eau, le produit de réduction conduit à des anthocyanidines de couleur rouge.

Ceci est réalisé à l'aide de deux tests

- test de Wilstater : HCl concentré en présence de trois ou quatre tournures de magnésium. Le changement de coloration est observé : · virage au rouge (flavones), virage au rouge pourpre (flavonols), rouge violacée (flavanones et flavanols)
- test de Wilstater modifié : même protocole expérimental mais ajouter dans le 3ème tube 1ml d'eau distillée et 1ml d'alcool isoamylique. C'est la coloration de la phase supérieure qui est alors notée.

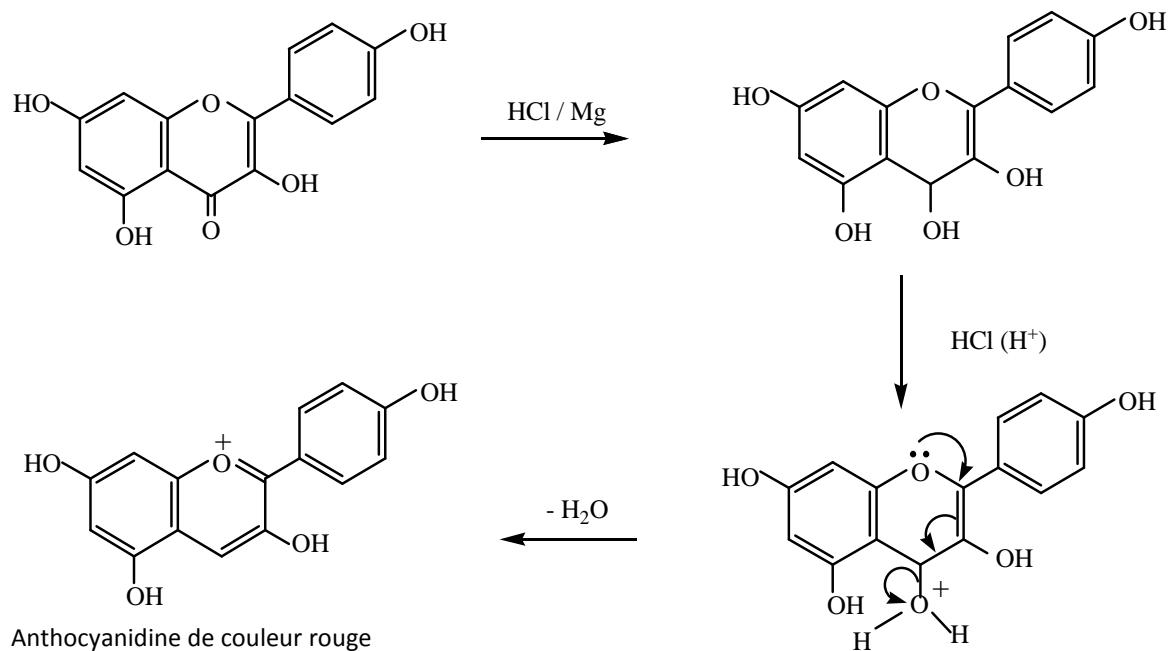


Schéma 13 : mécanisme du test à la cyanidine

### **Test de Bate-Smith**

Les Leucoanthocyanes ou proanthocyanidols monomères qui sont des dérivés du flavan -3,4-diols se transforment en anthocyanidols correspondants par traitement acide.

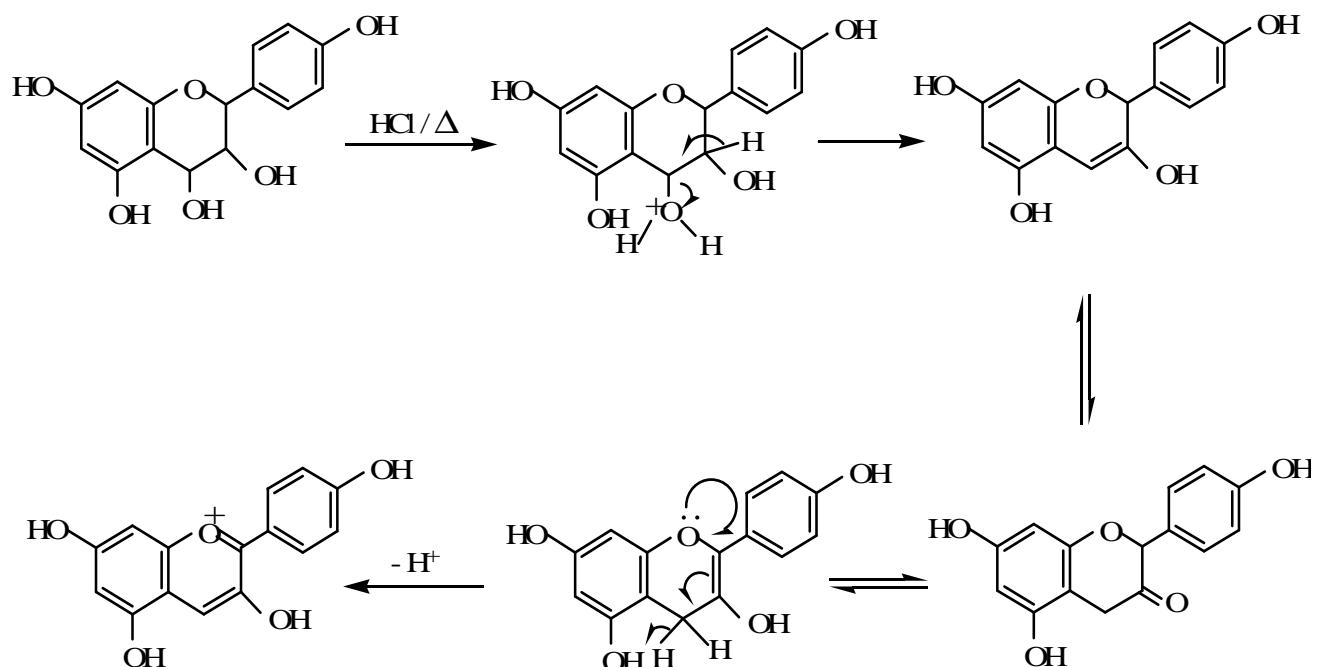


Schéma 14 : mécanisme du test de Bate-Smith

#### Protocole expérimentale :

Evaporer la solution hydroalcoolique équivalente à 3 g de plantes dans un cristallisoir au bain-marie.

Refroidir et éliminer les pigments par un épuisement à l'éther de pétrole.

Répartir le filtrat dans 5 tubes à essai.

Tube n°1 : Témoin

- **Test de Wilstater**

Tube n°2 : Additionner 0,5 ml de HCl concentré

Quelques tournures de Mg

Après 10 mn, si la coloration est :

Rouge : présence de flavones

Rouge à pourpre : présence de flavonols

Rouge violacée : présence de flavanones et flavanols

- **Test de Wilstater modifié**

Tube n°3 : Additionner 0,5 ml de HCl concentré

Quelques tournures de Mg

Et après dissolution de Mg

1ml d'eau et 1 ml d'alcool isoamylique

Après 10 mn, si la coloration de la phase supérieure est :

Rouge : présence de flavones

Pourpre : présence de flavonols

(Pourpre = rouge foncé tirant sur le violet)

- **Test de Bat-Smith**

Tube n°4 : Additionner 0,5ml de HCl concentré

Chauffer pendant 30mn au bain-marie

Laisser refroidir

Si la coloration est rouge : violacée présence de leucoanthocyanes

Tube n°5 : Additionner 0,5ml de HCl concentré à froid

Si la coloration est rouge : présence d'anthocyanes

### **II.1.3 Screening des Tanins et des Polyphénols**

Les tanins constituent une grande famille dans les composés phénoliques. Ce sont des dérivés hydroxylés de carbures aromatiques.

Les hydroxyles peuvent être libres ou engagés dans des substitutions de type O-méthyle, O-glycosyle, O-prényle.

Le chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) en solution diluée forme avec les phénols des colorations variant du bleu au violet, qui sont dues à la formation de complexes d'oxydation.

#### ***Protocole expérimental***

Evaporer la solution équivalente à 5g de plantes dans un cristallisoir

Additionner 15 ml d'eau distillée

Chauffer et agiter

Ajouter 4 gouttes de NaCl 10%

Filtrer

Repartir le filtrat dans 4 tubes à essai

Tube n°1 Témoin

Tube n°2 Additionner 4 à 5 gouttes de gélatine à 1%

Si on observe un précipité : présence de polyphénols

Tube n°3 Additionner gouttes à gouttes de gélatine sale (1% de gélatine + NaCl 10% v/v, 50/50)

Si on observe un précipité : présence de tanins

Tube n°4 Additionner 4 à 5 gouttes de  $\text{FeCl}_3$  10% dans le MeOH

Si la coloration est :

Bleu-vert : présence de tanins condensés (catéchiques ou flavan-3ols condensés et Leucoanthocyanes flavan-3,4-diols)

Noir bleuâtre : présence de tanins hydrolysables (galliques ou ellagiques)

Incolore : absence de tanins

La réaction négative à la gélatine salée accompagnée d'une coloration verte ou bleu noir avec  $\text{FeCl}_3$  signifie qu'on est en présence d'autres types de composés phénoliques.

#### II.1.4 Screening des Quinones

Le criblage phytochimique est effectué à l'aide d'une extraction liquide-liquide.

##### *Protocole expérimental*

Evaporer la solution alcoolique équivalente à 5g de plantes dans un cristallisoir

Dissoudre le résidu dans 15 ml d'eau distillée.

Filtrer

Extraire le filtrat avec un mélange d'éther – chloroforme 3/1 (v/v) ou du benzène (petite ampoule à décanter)

Additionner 5ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  au  $\frac{1}{2}$  ; Agiter

Observer le changement de la coloration de la phase alcaline (phase inférieure)

Si la coloration est rouge violacée : présence de quinone

N.B Le benzène est un solvant très toxique. Par conséquent, il faut travailler sous hotte

#### II.1.5 Screening des Stéroïdes et des Terpénoïdes

##### • *Test de Salkowski*

Dans le test on met en évidence les stérols insaturés par une réaction qui provoque l'apparition de coloration rouge: l'addition d'acide sulfurique concentrée entraîne l'élimination d'une molécule d'eau et conduit à la formation d'insaturation supplémentaire.

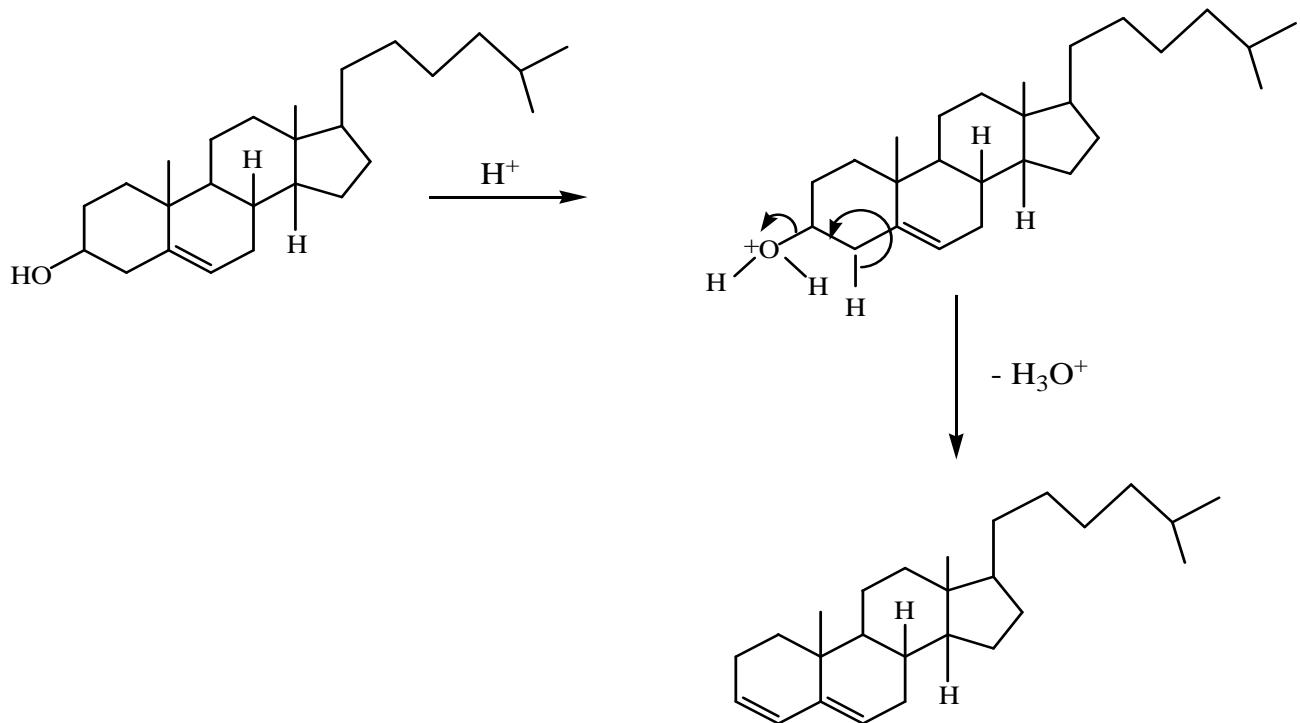


Schéma 15 : mécanisme du test de Salkowski

- **Test de Liebermann-Burschard**

Le groupement OH en 3 est protégé par addition d'anhydride acétique. Cette réaction est suivie soit d'une isomérisation soit d'une transposition moléculaire, ce qui provoque le changement de coloration.

- une coloration bleu-vert indique la présence de stéroïdes
- une coloration rouge-violet à rose dénote la présence de triterpènes.

- **Test de Badjet-Kedde**

L'addition d'acide picrique entraîne l'ouverture du cycle lactonique insaturé puis formation de complexe entre l'hydrocarbure et l'acide picrique.

L'apparition d'une coloration orange est due aux stéroïdes lactoniques.

**Protocole expérimental**

Les stéroïdes diffèrent des triterpènes par des tests de coloration et de fluorescence.

Evaporer complètement la solution hydroalcoolique équivalente à 5g de plante dans un cristallisoir au bain marie.

Laisser refroidir

Additionner 5 ml d'éther de pétrole. Agiter. Filtrer

Répéter l'opération jusqu'à élimination des pigments  
Additionner 10ml de chloroforme et agiter pendant 5 à 10mn  
Décanter et sécher la solution avec  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydre  
Filtrer  
Répartir le filtrat dans 6 tubes à essai propres et sec

Tube n°1 : Témoin  
Tube n°2 : Additionner un peu de solution saturée d'antimoine (dissous dans le chloroforme ou dichlorométhane)  
S'il y a apparition d'une fluorescence  
Bleue : présence de triptérène  
Jaune : présence de stéroïdes

- **Test de Liebermann Burchard**

Tube n°3 : Additionner 3 à 4 gouttes d'anhydride acétique

3 à 4 gouttes de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré

Si la coloration est :

Pourpre : présence de tripténoïdes

Violet ou bleu vert : présence de stéroïdes

- **Test de Salkowski**

Tube n°4 : Incliner le tube à 45°

Ajouter 1ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré

Si l'anneau est rouge : présence de stérols insaturés

- **Test de BadjetKedde**

Tube n° 5 : Additionner quelques grains d'acide picrique

Si la coloration est rouge : présence de stéroïdes lactoniques

- **Test de Keller - Killiani**

Tube n°6 : Additionner quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  10%

Quelques gouttes d'acide acétique glacial

Incliner le tube à 45°

Si l'anneau de séparation est rouge pourpre : présence deoxy-2-sucre

## II.1.6 Screening des hétérosides cyanogénétiques

Ces composés sont faiblement hydrolysables en présence de quelques gouttes d'eau et de chloroforme. Ils libèrent ainsi un sucre et une cyanhydrine. Ce dernier, instable se décompose en acide cyanhydrique et composé carbonylé (cétone ou aldéhyde)

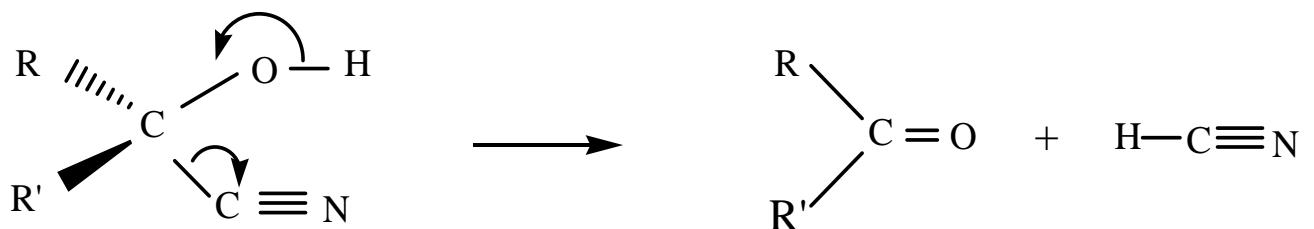


Schéma 16 : mécanisme de l'hydrolyse de Grignard

L'acide HCN formé que l'on détecte par la coloration rouge du papier picro-sodé de Grignard permet de caractériser les hétérosides cyanogénétiques.

- **Protocole expérimental**

Humecter dans un erlen 2g de poudre végétale avec une quantité suffisante d'eau. Ajouter 1ml de chloroforme.

Tremper une bande de papier filtre Whatman n°1 dans une solution fraîchement préparée de picrate de sodium (5g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ; 0,5g d'acide picrique et 100ml d'eau distillée) puis égoutter. Introduire un morceau de la bande de papier ainsi préparée dans l'erlen juste au-dessus de la drogue et plier sur le bord du récipient.

Fermer l'erlen et laisser à la température ambiante pendant trois heures.

L'absence de glycosides cyanogénétiques est prouvée si aucun changement de coloration ne se produit pendant trois heures.

## II.1.7 Screening des Saponines

- **Protocole expérimental**

Mettre 1g de poudre dans un tube à essai

Additionner 10ml d'eau distillée et agiter vigoureusement pendant 30 secondes

Placer le tube verticalement pendant 30minutes

Si la hauteur de la mousse est supérieure ou égale à 3 cm la plante contient des saponines

Noter l'abaissement de la hauteur de la mousse

### **II.1.8 Screening des Polysaccharides**

Les polysaccharides se précipitent en présence d'une quantité suffisante d'alcool. Cette propriété est mise à profit pour sa détection dans une matière végétale.

#### ***Protocole expérimental***

Avec 5g de poudre, préparer un décocté.

Filtrer

Prendre 1ml, ajouter 3ml d'EtOH

La formation de précipité indique la présence de polysaccharides

## **II.2 Extraction des flavonoïdes**

Suivant le protocole d'extraction décrit par Merghem R. et al.

Le matériel végétal broyé (25 g) est soumis à une extraction par macération dans le mélange éthanol / eau (80/20 : v/v) pendant 72 heures avec renouvellement de solvant chaque 24 heures et agitation de temps en temps.

Les macéras sont réunis puis ils sont filtrés sur Büchner. Les filtrats sont évaporés presque à sec au moyen d'un évaporateur rotatif.

Le résidu sec est repris dans 25 ml d'eau distillée bouillante. L'intérêt de l'utilisation de l'eau distillée bouillante, c'est pour assurer la récupération des composés restés accolés à la paroi du ballon d'évaporation), après une décantation de toute une nuit on récupère la phase limpide qui va subir des affrontements par des solvants de polarité croissante :

- Affrontement par éther éthylique
- Affrontement par acétate d'éthyle
- Affrontement par n-butanol

Ces affrontements se font dans des ampoules à décanter, la phase aqueuse et le solvant sont agités énergiquement puis laissés au repos pendant 30 minutes, la phase aqueuse (qui est au fond de l'ampoule) et la phase chargée de molécules spécifiques sont récupérées séparément.

Les différentes phases récupérées (éther, acétate d'éthyle, butanol) sont évaporées à sec puis reprises par 10 ml du méthanol, les extraits obtenus sont ensuite stockés à une température ambiante jusqu'à leur utilisation.

## II.3 La chromatographie analytique sur couche mince

### II.3.1 Principe

La chromatographie est une technique très puissante de séparation d'un mélange de substances de nature chimique variée. Le phénomène ou les procédés varient selon les types de méthodes choisies mais celles-ci ont toutes en commun un certain nombre de principes:

- les composés se répartissent dans deux phases non ou très peu miscibles jusqu'à l'établissement d'un équilibre. Ce partage dépend des propriétés de chaque composé vis-à-vis des phases considérées.
- Le renouvellement continu de la phase mobile remet en cause cet équilibre et entraîne par une succession d'autres équilibres, la migration des substances tout au long de la phase stationnaire.
- La séparation des différents composés tient au fait que chaque constituant migre avec une vitesse qui lui est propre.

### II.3.2 Chromatographie sur Couches Mince (CCM)

La CCM est une des premières approches pour l'étude qualitative de la composition chimique d'un extrait et joue de ce fait un rôle primordial dans l'identification de différentes substances.

La phase stationnaire est déposée en un film très adhérent de faible épaisseur (0,1 à 2,5mm) sur une surface solide rigide (verre) ou souple (aluminium ou plastique).

Pour la CCM en phase normale, les plaques généralement utilisées et que l'on trouve dans le commerce sont constituées de feuilles (plastique ou aluminium) recouvertes de silice (gel de silice 60 F254) fluorescentes à 254nm.

La première révélation se fait par observation de la plaque bien séchée, à la lumière UV 254nm. Les composés qui absorbent à cette longueur d'onde donneront des tâches sombres sur la plaque de silice et sont repérés.

La pulvérisation d'un réactif approprié constitue la 2ème étape de la révélation.

### II.3.3 Chromatographie sur papier

- **Principe de la technique et applications:**

La technique ressemble à celle de la CCM mais le principe repose sur des phénomènes de partage.

La phase mobile est le plus souvent un solvant organique et l'eau; la phase stationnaire est constituée par l'eau elle-même adsorbée sur la cellulose du papier ou liée chimiquement à elle.

Comme en chromatographie sur couche mince, l'échantillon, mis en solution, est déposé en un point repère du papier et le solvant, qui se déplace par capillarité, fait migrer les composants de l'échantillon à des vitesses variables selon leur solubilité. Généralement, les composés les plus solubles dans l'eau ou ceux qui forment facilement des associations par liaisons hydrogène sont fortement retenus par la phase stationnaire et migrent donc lentement.

Lorsque l'eau est un des solvants de la phase mobile, le ou les solvants organiques doivent y être assez solubles.

Nous avons utilisés l'acide acétique en mélange avec de l'eau pour développer un chromatogramme.

La chromatographie sur papier est employée principalement pour l'analyse de composés très polaires, tels les acides aminés, les sucres et les composés polyfonctionnels, et les flavonoïdes.

Ses plus grands inconvénients par rapport à la CCM sont :

- une durée de développement beaucoup plus longue
- une séparation généralement moins bonne.

- **Papier**

On peut utiliser du papier filtre ordinaire, mais il est préférable de se procurer du papier conçu pour cet usage, ayant un faible taux d'impuretés et dont les caractéristiques sont uniformes.

Les marques principales sont Whatman, Schleicher et Schüll, Durieux, Arches. Il existe huit catégories de papier Whatman, classés selon leur épaisseur, la texture de leur surface et la vitesse avec laquelle l'eau y diffuse.

Nous avons utilisé dans ce travail le papier Whatman n° 3

La description de l'analyse par chromatographie sur papier est identique à celle sur couche mince.

### II.3.4 Rapport frontal

On appelle rapport frontal,  $R_f$  (ou référence front, coefficient de migration), le rapport suivant :

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par le soluté}}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

La figure ci-dessous montre comment calculer le  $R_f$  dans le cas d'une chromatographie liquide-liquide ascendante :

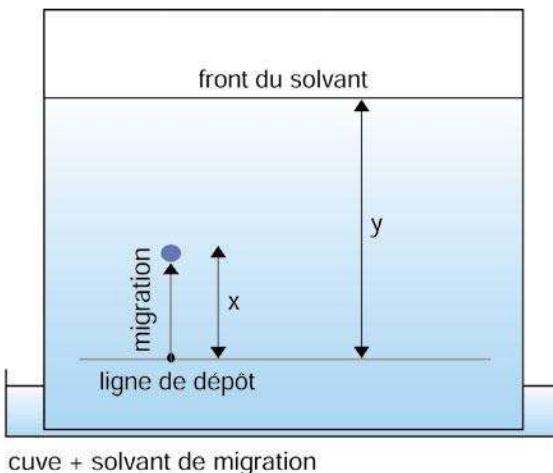


Figure 1  
Calcul de  $R_f$

Le rapport frontal est donc égal à :

$$R_f = \frac{x}{y} \quad (R_f < 1)$$

Un soluté très soluble dans la phase fixe aura un  $R_f$  faible ; très soluble dans la phase mobile, son  $R_f$  sera élevé et proche de 1.

## **RESULTATS ET DISCUSSIONS**

## **CHAPITRE 4 :RESULTATS ET DISCUSSIONS**

### **I Résultats des criblages phytochimiques**

#### **I.1 Barèmes utilisés**

Les barèmes utilisés pour l'appréciation des résultats sont inscrits dans le tableau 4 ci-dessous.

**Tableau 4 :Barèmes utilisés pour les appréciations**

Notation	Précipitation	Coloration	Indice de mousse
-	Négatif	Pas de changement	0 à 2 cm
+	Faible	Faible	2 à 4 cm
++	Abondante	Franche	4 à 5 cm
+++	Forte	Intense	Supérieure à 5 cm

#### **I.2 Criblage des alcaloïdes**

Les résultats des criblages des alcaloïdes sont donnés dans le tableau 5.

**Tableau 5 :Résultats des criblages des Alcaloïdes**

Réactif	Mayer	Wagner	Dragendorff
Macération chlorhydrique	+	+	+
Test préliminaire	+	+	+

### I.3 Criblage des Flavonoïdes et des Leucoanthocyanes

Les résultats des criblages des Flavonoïdes et des Leucoanthocyanes sont donnés dans le tableau 6

**Tableau 6 :Résultats des criblages des Flavonoïdes et des Leucoanthocyanes**

Test	Wilstater		Wilstater modifié		Bate Smith	
Coloration	rouge	++	pourpre	++	Rouge violacée	++
Interprétation	Présence de flavones		Présence de flavonols		Présence de leucoanthocyanes et d'anthocyanes	

### I.4 Criblage des Tanins et des Polyphénols

Les résultats des criblages des Tanins et des Polyphénols sont donnés dans le tableau 7.

**Tableau 7 :Résultats des criblages des Tanins et des Polyphénols**

Test	Gélatine		Gélatine salée		FeCl <sub>3</sub>	
Précipitation /Coloration	précipitation	+	précipitation	++	Coloration Noir bleuâtre	+
Interprétation	Présence de Polyphénols		Présence de tanins		Présence de tanins hydrolysables	

### I.5 Criblage des Anthraquinones

Les résultats des criblages des Anthraquinones sont donnés dans le tableau 8.

**Tableau 8 : Résultats des criblages des Anthraquinones**

Test	Borntrager
Coloration de la phase alcaline	-
Interprétation	Absence d'anthraquinone

### I.6 Criblage des Stérols insaturés et des Triterpènes

Les résultats des criblages Stérols insaturés et des Triterpènes sont donnés dans le tableau 9.

**Tableau 9 :Résultats des criblages des Stérols insaturés et des Triterpènes**

Test	Test à l'antimoine		Liberman Burchard		Salkowski	
Coloration	Fluorescence jaune	+	violet	+	rouge	+
Interprétation	Présence des Stéroïdes		Stéroïdes		Présence des Stérols insaturés	

### I.7 Criblage des Cardénolides et des Bufadiénolides

Les résultats des criblages des Cardénolides et des Bufadiénolides sont donnés dans le tableau 10.

**Tableau 10 :Résultats des criblages des Cardénolides et des Bufadiénolides**

Test	Badjet	Kedde	Keller-Killiani	
Coloration	Absence de coloration jaune	-	Anneau de séparation jaune	++
Interprétation	Absence de stérols lactoniques		Présence de desoxy-2 sucre	

## I.8 Criblage des Saponines

Les résultats des criblages Saponinessont donnés dans le tableau 11.

**Tableau 11 :Résultats des criblages des Saponines.**

Temps	t = 0 s	t = 30 min
Hauteur des mousses persistantes	0	0
Résultats	-	-
Interprétation	Absence des saponines	

## I.9 Criblage des Hétérosides Cyanogénétiques

Les résultats des criblages des Hétérosides Cyanogénétiques sont donnés dans le tableau 12.

**Tableau12 :Résultats des criblages des Hétérosides Cyanogénétiques**

Test	Grignard
Coloration	-
Interprétation	Absence des hétérosides cyanogénétiques

## I.10 Criblage des Polysaccharides

Les résultats des criblages des Polysaccharidessont donnés dans le tableau 13.

**Tableau 13 :Résultats des criblages des Polysaccharides**

Test	Solubilité
Précipitation	+
Interprétation	Présence de polysaccharides

## I.11 Criblage des Coumarines

Les résultats des criblages des Coumarines sont donnés dans le tableau 14.

**Tableau 14 :Résultats des criblages des Coumarines**

Test	Fluorescence en U.V	
Coloration	Jaune autour de la tache	+
Interprétation	Présence de coumarines	

## II. Récapitulation des résultats des tests de criblage phytochimique

Les résultats des screening phytochimiques sont rassemblés dans le tableau suivant.

**Tableau 15 :Résultats des screening phytochimiques**

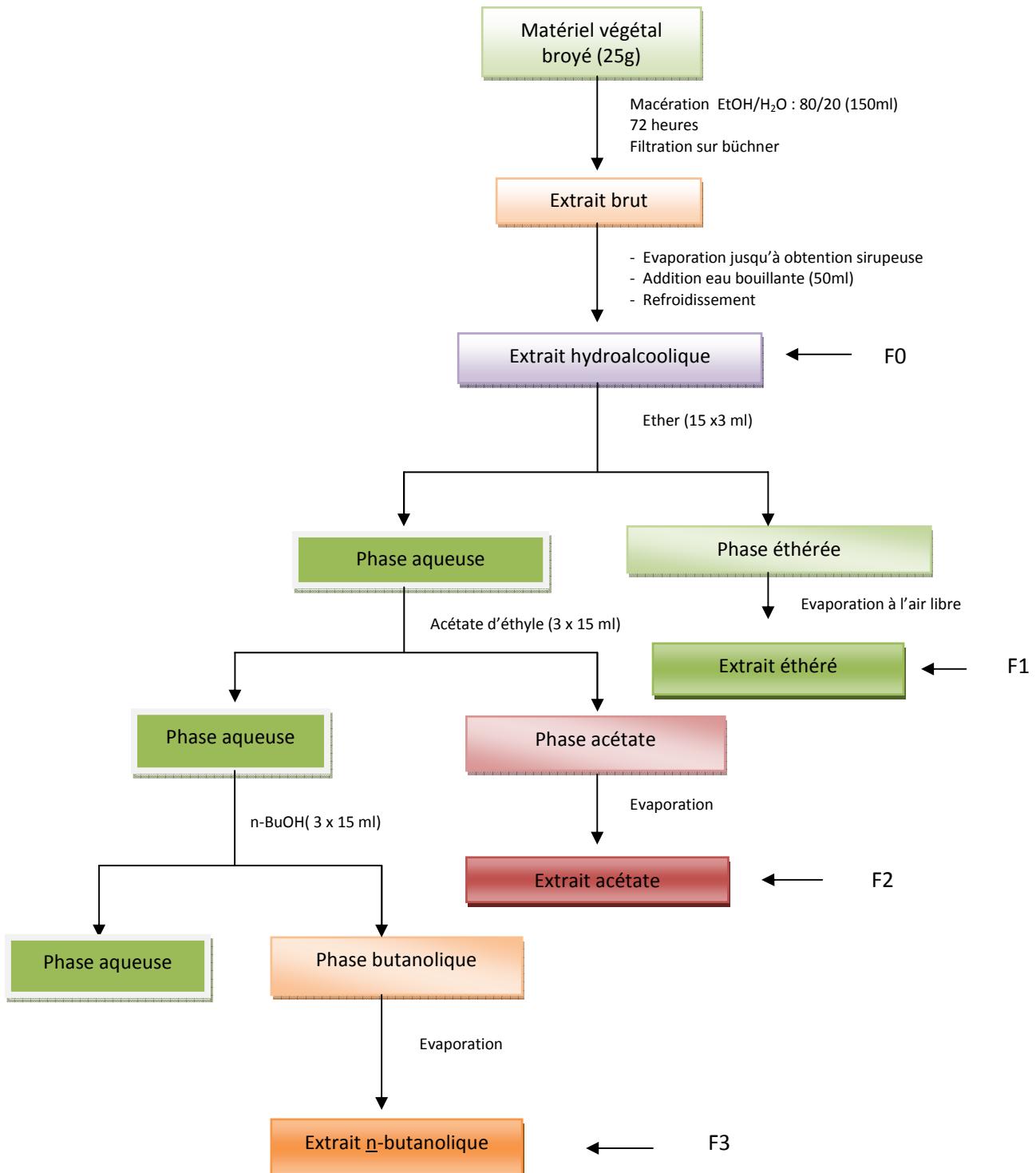
<b>Famille chimique</b>		<b>Résultats obtenus</b>
Alcaloïdes		+
Flavonoïdes	Flavones	+
	Flavonols	+
	Leucoanthocyanes	+
	Anthocyanes	+
Tanins	Tanins hydrolysables	+
	Tanins non hydrolysables	-
Polyphénols		-
Anthraquinones		-
Triterpènes		-
Stéroïdes	Stéroïdes insaturés	+
	Stéroïdes lactoniques	-
	Desoxy-2-sucre	+
Saponines		-
Hétérosides cyanogénétiques		-
Polysaccharides		+
Coumarines		+

### III .Interprétation des résultats des criblages phytochimiques

Parmi les dix sept familles chimiques recherchées, dix sont présentes dans les feuilles de *Senna Occidentalis*. Ce qui représente 60% des métabolites secondaires ciblés.

Ceci confirme l'usage médicinal de cette plante.

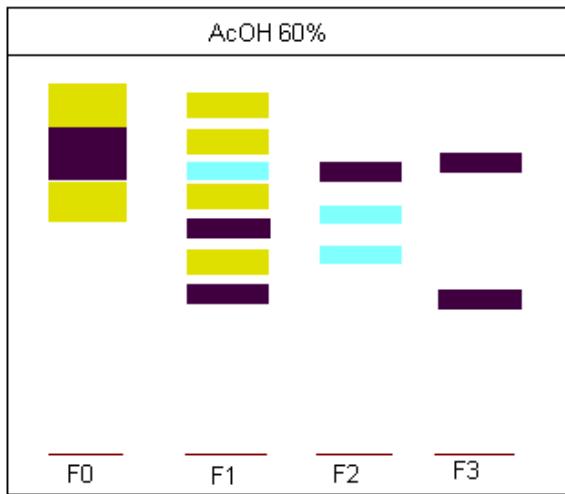
#### **IV .Extraction des flavonoïdes**



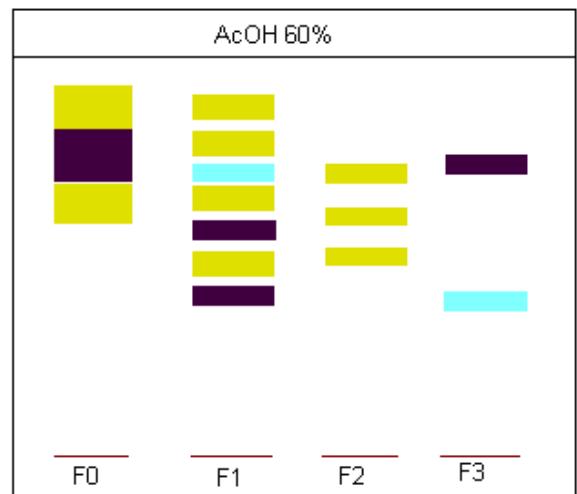
## V Chromatographie

Les couleurs des taches obtenues sont reportées dans les figures suivantes :

## V.1 Système CP Whatman n°3 AcOH 60 %



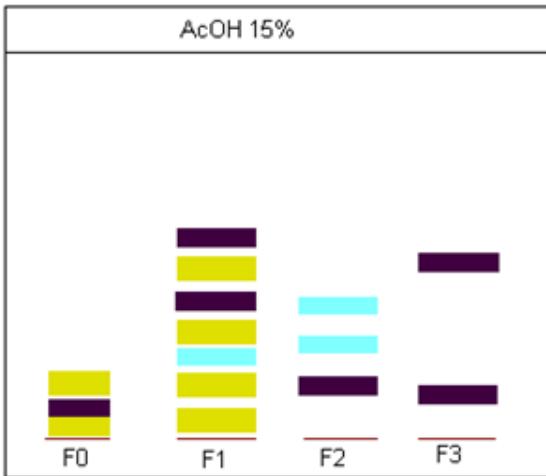
U.V 365 nm (sans NH<sub>3</sub>)



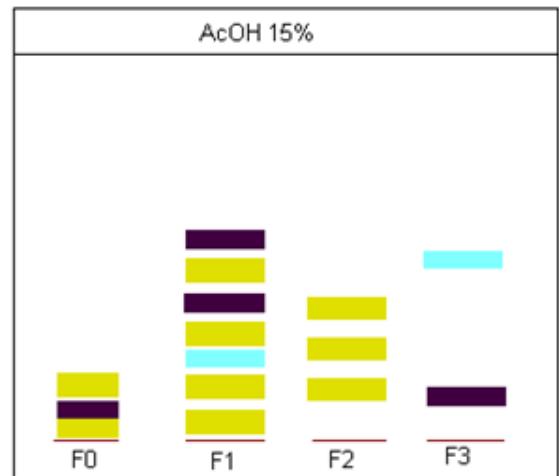
U.V 365 nm (avec NH<sub>3</sub>)

Figure2 : Couleur des taches dans le système CP Whatman n°3 AcOH 60%

## V.2 Système CP Whatman n°3 AcOH 15%



### U.V 365 nm sans NH<sub>3</sub>



U.V 365 nm avec NH<sub>3</sub>

Figure 3 : Couleur des taches dans le système CP Whatman n°3 AcOH 15%

## V.3 Interprétation des résultats

### V.3.1 Comportement chromatographique

Les chromatogrammes observés dans le système CP AcOH 15% sont inversés par rapport à ceux du système AcOH 60%.

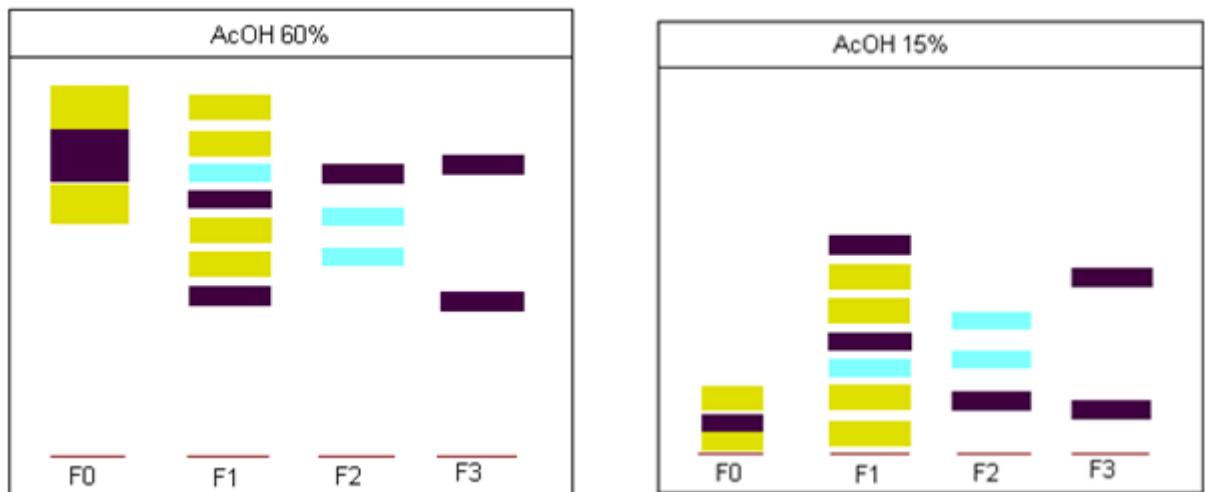


Figure 4 : Comportement chromatographiques des divers extraits suivant le système

Ceci est tout à fait normal. Les composés moins polaires migrent plus haut dans le système organique AcOH 60%. Par contre, les composés plus polaires ont un  $R_f$  plus élevé dans le système aqueux AcOH 15%.

### V.3.2 Identification des aglycones

Les observations des taches des extraits éthérés à l'U.V 365 nm avant et après vaporisation à l'ammoniac ont donné les résultats suivants :

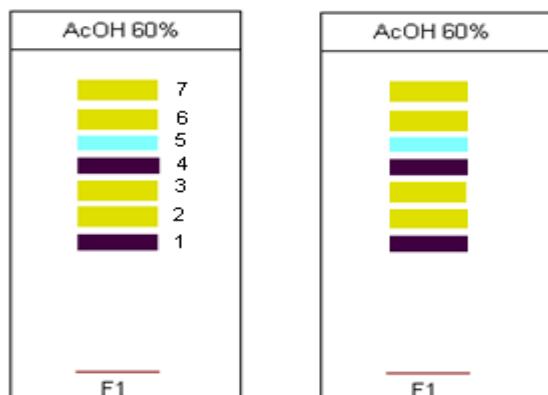


Figure 5  
Chromatogrammes  
des extraits éthérés

L'éther permet d'extraire les aglycones flavonoïdiques.

La comparaison de la couleur des taches et de leurs Rf avec les données de la littérature permet d'avancer les hypothèses de structure des aglycones contenus dans cette plante.

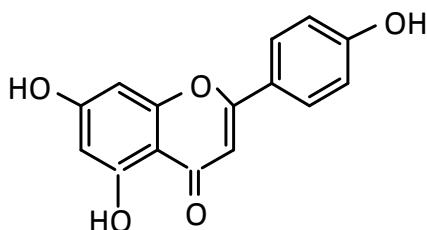
**Tableau 16 :Hypothèses de structure des aglycones**

N° des taches	Rf calculés	Rf Littérature*	Couleur des taches U.V 365 nm (sans NH <sub>3</sub> )	Couleur des taches U.V 365 nm (avec NH <sub>3</sub> )	Structure probable
1	0,41	0,40	Violet noire	Violet noire	Apigénine
2	0,48	0,46	jaune	jaune	Kaempférol
3	0,58	0,59	jaune	jaune	Kaempféride
4	0,61	0,60	Violet noire	Violet noire	3-méthyl Quercétine
5	0,71	-	bleu	bleu	isoflavone
6	0,8	-	jaune	jaune	Flavonol avec ou sans OH libre en 5
7	0,9	-	jaune	jaune	N.I

\*Chimie analytique vol. 49 n°7 juillet 1967. P. LEBRETON, M. JAY et B. VOIRIN.

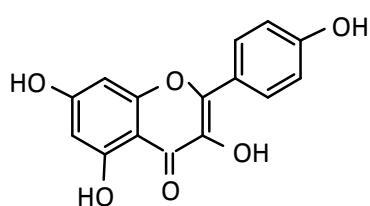
Cette plante renferme au moins sept aglycones dont quelques structures probables sont données ci-dessous.

- Flavones

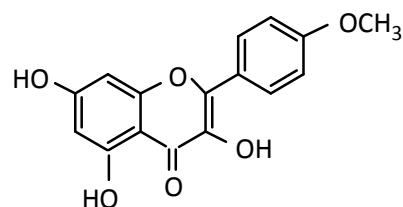


Apigénine

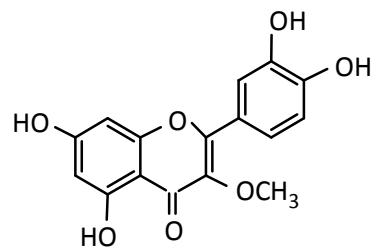
- Flavonols



Kaempférol



Kaempférideride



3-méthylquercétine

Schéma 17 : Hypothèses de structures des aglycones

### V.3.3 Identification des monoglycosides

Les observations des taches des extraits acétates à l'U.V 365 nm avant et après vaporisation à l'ammoniac ont données les résultats suivants :

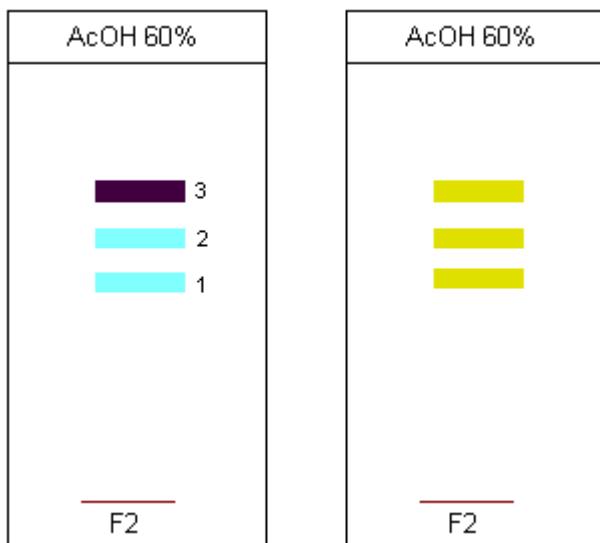


Figure 6  
Chromatogrammes  
des extraits acétates

Avant NH<sub>3</sub>

Après NH<sub>3</sub>

L'acétate d'éthyle permet d'extraire les monoglycosidesflavonoïdiques.

La comparaison de la couleur des taches avec celle des données de la littérature (MABRY et al.) permet d'avancer les hypothèses de structure des monoglycosidesflavonoïdiques contenus dans cette plante.

**Tableau 17 :hypothèses de structure des monoglycosides**

N° des taches	Rf calculés	Couleur des taches U.V 365 nm (sans NH <sub>3</sub> )	Couleur des taches U.V 365 nm (avec NH <sub>3</sub> )	Structure probable de la partie non glycosidique
1	0,50	bleu	jaune	Flavone Flavanone sans OH en 5 Flavanol sans OH en 5 mais substitué en 3
2	0,63	bleu	jaune	Flavone Flavanone sans OH en 5 Flavanol sans OH en 5 mais substitué en 3
3	0,72	violet noire	jaune	Flavone avec OH en 5 et 4' Flavonol avec OH en 5 et 4' Flavanone avec OH en 5 Chalcone sans OH en 4'

Cette plante renferme au moins trois monoglycosidesflavonoïdiques

### V.3.4 Identification des polyglycosides

Les observations des taches des extraits acétates à l'U.V 365 nm avant et après NH<sub>3</sub> ont donné les résultats suivants :

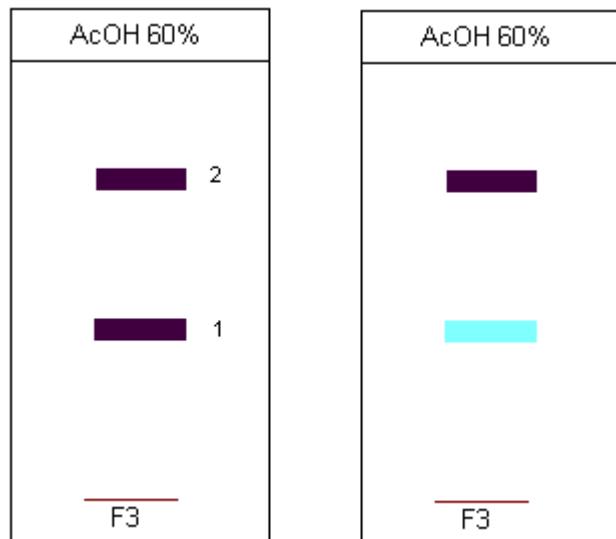


Figure 7  
Chromatogrammes  
des extraits butanoliques

Le n - butanol permet d'extraire les polyglycosidesflavonoïdiques.

La comparaison de la couleur des taches avec celle des données de la littérature (MABRY et al.) permet d'avancer les hypothèses de structure des polyglycosidesflavonoïdiques contenus dans cette plante.

**Tableau 18 :Hypothèse de structure des polyglycosides**

N° des taches	Rf calculées	Couleur des taches U.V 365 nm (sans NH <sub>3</sub> )	Couleur des taches U.V 365 nm (avec NH <sub>3</sub> )	Structure probable de la partie non glycosidique
1	0.40	Violet noire	bleu	Quelques flavanones avec OH en 5
2	0.72	Violet noire	Violet noire	Flavone Flavonol avec OH en 5 mais substitué en 4' Isoflavone Dehydroflavonol Flavanone avec OH en 5 Chalcone avec OH en 2' et 6' sans OH libre en 2 ou 4

Cette plante renferme au moins deux polyglycosidesflavonoïdiques.

# EDUCATION À L'ENVIRONNEMENT

## **Education environnementale**

La richesse inestimable en matière de biodiversité de Madagascar est actuellement menacée de disparaître .Des constats et des études font ressortir des résultats alarmants démontrant la dégradation de plus en plus rapide de la belle « île verte » qu'était Madagascar autrefois en « île rouge » dégradé écologiquement.

L'objectif de l'éducation environnementale est de renforcer la prise de conscience environnementale des générations jeunes et moins jeunes malgaches.

Cette éducation doit être réalisée sous différentes formes et à différents niveaux.

Elle doit cibler les autorités communales ; les autorités et notables au niveau du Fokontany, les élèves et les enseignants, les Corps administratifs, les groupements et associations et les communautés villageoises.

Pour qu'une éducation environnementale soit effective, elle doit prévoir les formes suivantes : animation, éducation, information et communication.

Concernant l'animation, elle doit être participative au niveau des organisations paysannes portant sur différents thèmes : le reboisement et l'arboriculture, la protection des infrastructures, la gestion des ressources forestières, la lutte contre les feux de brousse, la planification participative et l'économie du bois

Quant à l'éducation, elle sera assurée au niveau des écoles par les enseignants. Les thèmes traités peuvent être variés mais ils vont de la biodiversité de Madagascar aux différentes activités du projet de l'éducation.

Il faut reconnaître cependant que les thèmes de l'environnement sont difficiles à assimiler et l'éducation environnementale est un travail de longue haleine.

Et, pour la communauté, souvent les gens ne prennent pas au sérieux la question car tout sera perçu dans le long terme : la production de bois, l'impact négatif de toutes les pressions comme les feux de brousse etc.

Pour l'information et la communication, les Corps administratifs peuvent concevoir, éditer et diffuser des affiches portant sur les thèmes suivant : le reboisement, la gestion des ressources forestières et les feux de brousse.

Ceci peut être réalisé avec le Partenariat du Programme Education du WWF.

# CONCLUSION

## CONCLUSION

Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique de *sennaoccidentalis*.

Les screening phytochimiques effectués sur les feuilles de cette plante ont permis de détecter la présence des certaines familles chimiques telles que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les stéroïdes.

Par ailleurs, l'étude des composés flavonoïdiques nous révèle l'existence des quatre produits dont le Rf et la couleur avoisinent les données de la littérature, dans le même système chromatographique.

Ces composés sont des aglycones naturels obtenus dans les extraits éthérés.

- La flavone pourrait être l'Apigénine.
- Les flavanols pourraient être le Kaempférol, le Kaempféride et le 3-méthylquercétine

En outre, nous avons détecté trois monoglycosides et deux polyglycosidesflavonoïdiques.

Enfin, ce travail nous a permis de nous familiariser aux différentes techniques et méthodes d'extraction ainsi que l'analyse chromatographique et les screening phytochimiques.

# ANNEXES

## PREPARATION DES REACTIFS

- Préparation du réactif de Dragendorff :

Solution A. : on pèse 0,85g de sous nitrate de Bismuth et 10g d'acide picrique .on dissout le tout dans 15 ml d'ED.

Solution B : on pèse 8 g d'iodure de potassium KI et on dissout dans 20 ml d'ED.

- Préparation du réactif de Mayer :

Dissoudre 0,375 mg de chlorure mercurique (II) dans 47 ml d'ED.

Agiter 2,5 g d'iodure de potassium. Bien agiter jusqu'à dissolution complète. Ramener à 50 ml de volume total avec de l'eau.

- Préparation du réactif de Wagner :

Peser 1g d'iodure de potassium et 0,635 g d'iode. Mélanger ces produits dans un erlenmeyer de 125 ml et ajouter 50ml d'eau. Agiter jusqu'à dissolution complète.

- Préparation de l'acide acétique AcOH 15% :

Mélanger 1,5 ml d'AcOH et 8,5 ml d'ED pour avoir 10 ml.

- Préparation de l'acide acétique AcOH 60% :

Mélanger 6 ml d'AcOH et 4 ml d'ED pour avoir 10 ml.

- Préparation de HCl 2N à partir de HCl 12N :

On  $aN_1V_1=N_2V_2$

$N_1$  : Normalité de HCl 12N

$V_1$  : volume de HCl 12N à chercher

$V_2$  : Volume de HCl 2N = 100 ml

$$V_1 = \frac{N_2V_2}{N_1} = \frac{2 \times 100}{12} = 17 \text{ ml}$$

Ajouter 83 ml d'ED pour avoir 100ml.

- Préparation de HCl 12% à partir de HCl 12N :

On prélève 24 ml de HCl 12N et on ajoute de l'ED jusqu'à 200ml.

- Préparation de NaCl à 10%:

10 g de NaCl solide est dissout dans 100ml d'ED.

- Préparation de la gélatine :

1g de gélatine est mis en suspension dans 100ml d'ED.

- Préparation de la gélatine salée :

Mélanger un volume égal de la solution de gélatine 1% et de NaCl 10%.

# GLOSSAIRE

**Aile** : Il désigne les pétales latéraux des fabacées.

**Analgésique** : se dit d'une substance, d'un médicament qui produit la disparition de la sensibilité à la douleur.

**Antalgique** : qui combat la douleur.

**Antifongique** : ce sont les médicaments qui détruisent les champignons parasites du corps.

**Anti-inflammatoire** : qui permet de lutter contre l'inflammation.

**Antioxydant** : agent qui ralentit la dégradation des aliments et de certains matériaux ou composées organiques due aux effets de l'oxydation.

**Antiseptique** : se dit de ce qui détruit les microbes et évitent l'infection.

**Antitussif** : se dit d'un médicament qui calme ou supprime la toux.

**Atropine** : alcaloïde extrait de la belladone (plante herbacée de la famille des solanacées).

**Bryophyte** : nom scientifique des mousses.

**Carène** : pétales inférieurs des fabacées (ou légumineuses) plus ou moins soudés entre eux.

**Codéine** : alcaloïde extrait de l'opium.

**Convulsion** : contraction intéressant la musculature du corps.

**Corymbe** : inflorescence simple indéfinie, ressemblant à une ombelle.

**Dermatose** : Toute maladie de peau.

**Diurétique** : Qui stimule la sécrétion de l'urine.

**Embaras gastrique** : Ensemble de troubles gastro-intestinaux de nature et de durée variables.

**Erysipèle** : maladie infectieuse due à un streptocoque caractérisée par une inflammation de la peau siégeant le plus souvent à la face.

**Etendard** : pétales supérieurs des fleurs des fabacées (ou légumineuses).

**Folioles** : chacune des petites feuilles qui forment une feuille composée.

**Gymnosperme** : se dit des plantes dont les graines nues se trouvent sur des écailles sans être enfermées dans un fruit (exemple : les conifères).

**Hépatite** : Inflammation du foie d'origine, d'origine toxique ou infectieuse.

**Humecter** : mouiller

**Hydrophile** : qui absorbe l'eau.

**Inflorescences** : mode de groupement des fleurs d'une plante, ou groupe de fleurs.

**Limbe** : partie la plus importante, généralement large et aplatie, d'une feuille.

**Ligneuse**: se dit d'une plante dont la tige a la consistance du bois.

**Métabolisme** : terme général désignant toute les réactions par lesquelles les cellules d'un organisme produisent et utilisent l'énergie et se reproduisent. Toutes les formes de vie dépendent de centaines de réaction métaboliques simultanées pour leur permettre de survivre. Chacune de ces réactions est initiée, contrôlée etachevée par des enzymes ou des catalyseurs chimiques spécifiques, et chaque réaction est coordonnée avec de nombreuses autres réactions à travers l'organisme.

**Métabolite** : substance formée au cours du métabolisme.

**Nervure** : ensemble des vaisseaux conducteurs de la sève formant un réseau à la surface d'une feuille.

**Ombelle** : mode d'inflorescence dans lequel les pédoncules floraux partent tous d'un même point et arrivent à peu près au même niveau.

**Phyllotaxie** : disposition des feuilles sur la tige ou foliation.

**Phytothérapie** : traitement préventif ou curatif basé sur l'emploi des plantes.

**Pétiole** : partie rétrécie de certaines feuilles unissant le limbe à la tige.

**Plancton** : ensemble des organismes en suspension dans la mer ou l'eau douce, vivant à la surface ou près de la surface de l'eau.

**Pneumonie** : Infection aigue d'un lobe (division arrondie) entier du poumon.

**Prurit**: vive démangeaison

**Scopolamine** : alcaloïde extrait des solanacées.

**Sédatif** : qui apaise la douleur.

**Stipules**: petite feuille supplémentaire produite par une expansion du pétiole, qui s'incère de chaque côté de la base de certaines feuilles.

**Sudorifique** : Qui provoque la sudation (production de sueur physiologique ou artificielle dans un but thérapeutique).

**Tensioactive** : se dit d'une substance qui modifie la tension superficielle du liquide dans lequel elle est dissoute.

**Vinblastine** : alcaloïde qui s'oppose à la mitose (division cellulaire).

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ET  
WEBOGRAPHIQUES**

## Références Bibliographiques

- [1] Bayle J.-P. « 400 manipulations commentées de chimie organique volume 1 », 2006, Ellipses.
- [2] Berthillier,A.,1972. « La chromatographie et ses applications », Dunod, Paris.
- [3] Bruneton, J., Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, 2009, 1288 p.
- [4] Drouin J. « Manipulations commentées de chimie organique », De Boeck Université, 1999, De Boeck.
- [5] FONG H. H., TIN-WA M., FARNSWORTH N. R. (1997) Phytochemical Screening Plants, Documents of Department of Pharmacognosy and Pharmacology ; University of Illinois .
- [6] George S. Clark, « Coumarin », dans Perfumer & Flavorist, vol. 20, 1995, p. 23-34
- [7] KaramaliKhanbabae, Teunis van Ree, « Tannins: classification and definition », dans Nat. Prod. Rep., vol. 18, 2001, p. 641-649
- [8] Klyne, W.,1966. « La chimie des steroides», Gauthier-villars,Paris, pp .13,18.
- [9] Lebreton P., Jay M. et Voirin B. Sur l'analyse quantitative et qualitative des flavonoïdes, Chimie analytique vol. 49 n°7 juillet 1967.
- [10] Markham, K.R.and Mabry,T.J.,1968. Phytochemistry,7,pp.1197..
- [11] Markham K. R., 1992. Techniques of flavonoid identification biological techniques series.Ed.Treherme J. E. et Rubery P. H. Academic Press., 113p.
- [12] Merghem R., Jay M., Viricel M. R., Bayet C. et Voirin B. 1995. Five 8-C benzylated flavonoids from Thymus hirtus (Labiateae).Phytochemistry., 38 (3) : 637-640.
- [13] PaulosCornelis Maria Jansen, Dominique Cardon, Colorants et tanins, Fondation PROTA/Backhuys Pub./CTA Wageningen, 2005
- [14] Pharmacopéeeuropéenne 5.5, EDQM, 12/2005
- [15] Simon Mole, « The Systematic Distribution of Tannins in the Leaves of Angiosperms: A Tool for Ecological Studies », dans Biochemical Systematics and Ecology, vol. 21, no 8, 1993, p. 833-846
- [16] Skoog D. ; West D., Holler J., « Chimie analytique », 7ème éd. 1997. De Boeck Université.

- [17] Tadeusz Aniszewski, Alkaloids - Secrets of Life, Alkaloid Chemistry, Biological significance, Applications and Ecological Role, Elsevier, 2007
- [18] Ueli A. Hartwig, Cecilia M. Joseph, and Donald A. Phillips, « Flavonoids Released Naturally from Alfalfa Seeds Enhance Growth Rate of Rhizobium meliloti », dans Plant Physiol., vol. 95, no 3, 1991, p. 797-803

### **Webographiques**

- [19] <http://fr.wikipedia.org/wiki/Fabaceae>
- [20] [http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p222/2\\_Metabolisme\\_Secondaire.pdf](http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p222/2_Metabolisme_Secondaire.pdf)
- [21] <http://fr.wikipedia.org/wiki/Tanin>
- [22] <http://www.liberherbarum.com/minor/fr/Pn6588.htm>
- [23] [http://plantes.sauvage.free.fr/pages\\_famille/fabacees.htm](http://plantes.sauvage.free.fr/pages_famille/fabacees.htm)
- [24] <http://bioeco.free.fr/photo/familles/fabac.htm>
- [25] <http://www.liberherbarum.com/minor/fr/Pn6588.htm>
- [26] [http://fr.wikipedia.org/wiki/M%C3%A9tabolite\\_secondaire](http://fr.wikipedia.org/wiki/M%C3%A9tabolite_secondaire)
- [27] <http://fr.wikipedia.org/wiki/Fabaceae>
- [28] <http://fr.wikipedia.org/wiki/Flavono%C3%AFde#R.C3.A9f.C3.A9rences>
- [29] <http://fr.wikipedia.org/wiki/Saponine>

Nom : NDRIAMBOAVONJY

Prénom : Nome Dinaniony

■ (261) 0330704487

Adresse email : nome\_dinaniony@yahoo.fr

Nombre de pages 61

Nombre de photos 13

Nombre des schémas 17

Nombre de tableaux 18

Nombre de figure 07

Titre du mémoire : Contribution à l'étude phytochimique de *Senna occidentalis* (L.) Link (Fabaceae)

### Résumé

L'étude phytochimique chimique de *Senna occidentalis* nous a permis de déceler la présence de certaines grandes familles chimiques telles que les Alcaloïdes, les Flavonoïdes, et les Stéroïdes.

Par ailleurs, *Senna occidentalis*, semble contenir des aglycones flavonoïdiques naturels tels que : l'Apigénine, le Kaempférol, le Kaempférideride et le 3-méthylquercétine.

**Mots clés :** *Senna occidentalis* (Fabaceae), screening phytochimique, l'Apigénine, Kaempférol, le Kaempférideride.

### Abstracts

The chemical phytochimic study of *sennaoccidentalis* enabled us to detect the presence of certain great chemical families such as Alkaloids, Flavonoïdes, and the Steroids.

In addition, *sennaoccidentalis* seems to contain natural flavonoïdicaglycones such as: Apigenine, Kaempferol, Kaempferide and the 3-méthylquercetine.

**Key words:** *sennaoccidentalis* (Fabaceae), screening phytochimic, Apigénine, Kaempférol, Kaempférideride.

Encadreur : Monsieur Richard RASAMOELISENDRA

Maître de Conférences à la Faculté des Sciences

Université d'Antananarivo

Directeur du Laboratoire de Chimie Organique –Spectrométrie de Masse

# Table des matières

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Généralités sur les fabacées .....</b>	<b>2</b>
I. Généralité.....	2
II. Familles des légumineuses.....	3
III. Classification des fabacées .....	3
IV. Sous famille des fabacées .....	4
V. Genres .....	4
Sous-famille Mimosoideae.....	4
Sous-famille Caesalpinoideae .....	4
Sous-famille Faboideae ou Papilioideae.....	5
VI. Description.....	6
VII. Utilisations .....	7
<b>Chapitre II : les métabolites secondaires .....</b>	<b>8</b>
I. Définition .....	8
II. Rôles des métabolites .....	8
III. Types des métabolites secondaires .....	8
III.1. Les Terpénoïdes .....	8
III.2. Les alcaloïdes .....	10
III.3. Les composés phénoliques .....	11
III.4. Les flavonoïdes .....	12
III.5. Hétérosides cyanogénétiques.....	14
III.6. Saponosides .....	15
III.7. Les anthraquinones .....	16
III.8. Les polysaccharides .....	17
III.9. Les tanins .....	19
III.10. Les coumarines .....	21
III.11. Les stéroïdes .....	22
<b>Chapitre III : Matériels et méthodes .....</b>	<b>23</b>
I. Matériels .....	23
I.1. Matériel végétal .....	23
I.2. Matériel au laboratoire .....	28

II. Méthodes .....	32
II.1. Screening phytochimique .....	32
II.2. Extraction des flavonoïdes.....	42
II.3. La chromatographie analytique sur couche mince .....	43
<b>Chapitre IV : Résultats et discussions .....</b>	<b>46</b>
I. Résultats des criblages phytochimiques .....	46
I.1. Barèmes utilisés .....	46
I.2. Criblage des alcaloïdes .....	46
I.3. Criblage des Flavonoïdes et des Leucoanthocyanes.....	47
I.4. Criblage des Tanins et des Polyphénols .....	47
I.5. Criblage des Anthraquinones .....	47
I.6. Criblage des Stérols insaturés et des Triterpènes.....	48
I.7. Criblage des Cardénolides et des Bufadiénolides.....	48
I.8. Criblage des Saponines .....	49
I.9. Criblage des Hétérosides Cyanogénétiques.....	49
I.10. Criblage des Polysaccharides .....	49
I.11. Criblage des Coumarines .....	50
II. Récapitulation des résultats des tests de criblage phytochimique .....	50
III. Interprétation des résultats des criblages phytochimiques .....	52
IV. Extraction des flavonoïdes .....	52
V. Chromatographie .....	53
V.1. Système CP Whatman n°3 AcOH 60% .....	53
V.2. Système CP Whatman n°3 AcOH15% .....	53
V.3. Interprétation des résultats .....	54
<b>Education environnementale .....</b>	<b>60</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>61</b>