

# SOMMAIRE

Liste des abréviations et des formules chimiques.....	13
Liste des schémas.....	15
Liste des figures.....	16
Liste des tableaux.....	17
Introduction.....	19
<b>Partie-1 : GENERALITES.....</b>	<b>20</b>
I-Généralités sur les Astéracées.....	21
I-1-Caractéristiques générales et particularités des Astéracées.....	22
I-2-Types des fleurs des Astéracées.....	22
I-3-Utilisations.....	23
I-4-Listes des genres de la famille des Astéracées.....	24
I-5-Le genre <i>Helichrysum</i> .....	24
I-5-1-Caractéristiques généraux du genre.....	24
I-5-2-Répartition du genre <i>Helichrysum</i> dans le monde.....	25
I-5-3-Clefs des groupes.....	25
I-5-4-Listes de quelques espèces du genre <i>Helichrysum</i> .....	26
I-5-5-Classification phylogénétique d' <i>Helichrysum Chermezonii</i> .....	27
<b>Partie-2 : MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>30</b>
II-1-Matériels.....	31
II-1-1-Matériel végétal.....	31
II-1-1-a-Noms vernaculaires et scientifiques.....	31

II-1-1-b-Etude ethnobotanique.....	31
II-1-1-c-Etude botanique.....	32
II-1-1-d-Répartition d' <i>Helichrysum Chermezonii</i> à Madagascar.....	33
II-1-2-Matériels techniques.....	35
II-2-Méthodes.....	35
II-2-1-Extraction liquide-liquide.....	35
II-2-2-Extraction solide-liquide.....	35
II-2-2-1-Méthode continue.....	36
II-2-2-2-Méthode discontinue.....	36
II-2-3-Distillation.....	36
II-2-4-Extraction par reflux au bain-marie.....	37
II-2-5-Screening phytochimique.....	38
II-2-5-1-Les alcaloïdes.....	39
a-Définition.....	39
b-Localisation.....	39
c-Propriétés physico-chimiques.....	39
d-Criblage des alcaloïdes.....	42
d <sub>1</sub> -Criblage sur la poudre des feuilles.....	42
d <sub>2</sub> -Test préliminaire.....	42
II-2-5-2-Les flavonoïdes et leucoanthocyanes.....	43
II-2-5-2-1-Les flavonoïdes.....	43
a-Définition.....	43
b-Localisation.....	43

c-Structure.....	43
II-2-5-2-2-Les leucoanthocyanes.....	46
II-2-5-2-3-Eléments communs entre flavonoïdes et leucoanthocyanes.....	47
II-2-5-2-4-Criblage des flavonoïdes et des leucoanthocyanes.....	47
II-2-5-3-Les tanins et les polyphénols.....	49
a-Définition.....	49
b-Structure des tanins.....	50
b <sub>1</sub> -Tanins hydrolysables.....	50
b <sub>2</sub> -Tanins non hydrolysables.....	50
c-Propriétés physiques et chimiques des tanins.....	52
d-Criblage des tanins et polyphénols.....	52
II-2-5-4-Les coumarines.....	53
a-Définition.....	53
b-Structure chimique.....	53
c-Criblage des coumarines.....	54
d-Propriétés physico-chimiques.....	54
II-2-5-5-Les caroténoïdes.....	55
II-2-5-6-Les anthraquinones.....	55
a-Définition.....	55
b-Structures.....	55
c-Criblage des anthraquinones.....	57
d-Propriétés physico-chimiques.....	57

II-2-5-7-Les saponosides (saponines).....	57
a-Structures.....	57
b-Propriétés physico-chimiques.....	58
c-Criblage des saponines.....	58
II-2-5-8-Les anthocyanes.....	58
II-2-5-9-Les hétérosides cyanogénétiques.....	59
a-Définition.....	59
b-Structure.....	59
c-Criblage des hétérosides cyanogénétiques.....	61
II-2-5-10-Stéroïdes et triterpènes.....	61
a-Structure.....	61
b-Criblages des stéroïdes et triterpènes.....	63
II-2-5-11-Polysaccharides.....	64
II-2-5-12-Les cardénolides et bufadiénolides.....	66
II-3-Extraction des flavonoïdes.....	68
II-4-Chromatographie.....	70
II-4-1-Généralités.....	70
II-4-2-Chromatographie sur Couche Mince (CCM).....	70
II-4-2-1-Définition et appareillage.....	70
II-4-2-2-Principe de la technique.....	71
II-4-2-3-Application de la CCM.....	71
II-4-2-3-Adsorbants et plaques chromatographiques.....	72
II-4-2-4-Choix de l'éluant.....	72

II-4-2-6-Dépôt de l'échantillon.....	72
II-4-2-7-Développement de la plaque.....	73
II-4-2-8-Révélation.....	73
II-4-2-9-Calcul de $R_f$ (Référence frontal).....	74
II-4-2-10-Description d'une analyse par CCM selon l'ordre chronologique.....	75
II-4-3-Chromatographie sur papier.....	75
II-4-4-Chromatographie sur colonne.....	76
II-4-4-1-Remplissage de couche par voie humide.....	76
II-4-4-2-Remplissage par voie sèche.....	77
II-4-5-Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).....	77
<b>Partie-3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS.....</b>	<b>78</b>
III-1-Barèmes utilisés.....	79
III-2-Résultats des screening phytochimiques des feuilles.....	79
III-2-1-Criblage des alcaloïdes.....	79
III-2-2-Criblage des saponines.....	80
III-2-3-Criblage des hétérosides cyanogénétiques.....	80
III-2-4-Criblage des flavonoïdes.....	81
III-2-5-Criblage des leucoanthocyanes.....	81
III-2-6-Criblage des tanins et polyphénols.....	82
III-2-7-Criblage des stéroïdes triterpènes.....	82
III-2-8-Criblage des coumarines.....	83
III-2-9-Criblage des anthocyanes.....	83

III-2-10-Criblage des quinones.....	83
III-2-11-Criblage des polysaccharides.....	84
III-2-12-Criblage des cardénolides et bufadiénolides.....	84
III-2-13-Criblage de caroténoïdes.....	84
III-3-Détermination des alcaloïdes par colorimétrie.....	85
III-4-Tableau récapitulatif des criblages phytochimiques.....	86
III-5-Résultats des chromatographies sur papier et interprétations.....	87
III-5-1-Résultats des chromatographies sur papier avant la révélation à l'ammoniaque.....	87
III-5-2-Résultats des chromatographies sur papier après la révélation à l'ammoniaque.....	89
III-5-3-Interprétation des résultats des chromatographies.....	90
<b>Partie-4 : .....</b>	<b>92</b>
I-Propriétés biologiques et pharmacologiques de chaque famille chimique.....	93
I-1-Alcaloïdes.....	94
I-2-Flavonoïdes.....	94
I-3-Tanins et polyphénols.....	96
I-4-Coumarines.....	97
I-5-Anthraquinones (quinones).....	97
I-6-Les saponosides (saponines).....	98
I-7-Les anthocyanes.....	99
I-8-Les hétérosides cyanogénétiques.....	99
I-9-Les stéroïdes et terpènoïdes.....	99
II-Education à l'environnement.....	100

III-CONCLUSION.....	104
Préparation des réactifs.....	105
Préparation des extraits.....	107
Résumé.....	108
Références bibliographiques.....	110

# *Liste des abréviations et formules chimiques*

%	: pour cent
$\lambda$	: longueur d'onde
$^{\circ}\text{C}$	: degré Celsius
AcOEt	: acétate d'éthyle
AcOH	: acide acétique
ADN	: acide desoxyrybonucléique
Bi(NO <sub>3</sub> )	: nitrate de bismuth
CC	: Chromatographie sur Colonne
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	: dichlorométhane
CHCl <sub>3</sub>	: chloroforme
cm	: centimètre
CPG	: Chromatographie en Phase Gazeuse
$\Delta$	: à chaud
ED	: eau distillée
Et <sub>2</sub> O	: éther éthylique
EtOH	: éthanol
FeCl <sub>3</sub>	: trichlorure de fer
g	: gramme
h	: heure
H <sub>2</sub> O	: eau

$\text{H}_2\text{SO}_4$	: acide sulfurique
$\text{HCl}$	: acide chlorhydrique
$\text{HCN}$	: acide cyanhydrique
$\text{HgCl}_2$	: dichlorure de mercure
$\text{KI}$	: iodure de potassium
$\text{MeOH}$	: méthanol
$\text{Mg}$	: magnésium
$\text{ml}$	: millilitre
$\text{N}$	: normal
$\text{N}^\circ$	: numéro
$\text{Na}_2\text{SO}_4$	: sulfate de sodium
$\text{NaCl}$	: chlorure de sodium
$\text{n-BuOH}$	: butanol normal
$\text{NH}_4\text{OH}$	: ammoniaque
$\text{NH}_3$	: vapeur d'ammoniac
$\text{nm}$	: nanomètre
$\text{PBZT}$	: Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza
$\text{Rf}$	: référence frontal
$\text{s}$	: seconde
$\text{t}$	: temps
$\text{UV}$	: Ultra-violet

## **LISTE DES SCHEMAS**

<b><u>Schéma n°1</u></b>	: classification botanique des végétaux.....	24
<b><u>Schéma n°2</u></b>	: mécanisme de la réaction de Bate-Smith.....	43
<b><u>Schéma n°3</u></b>	: mécanisme de la réaction de Wilstater.....	45
<b><u>Schéma n°4</u></b>	: équilibre anthrone-anthranol.....	52
<b><u>Schéma n°5</u></b>	: hydrolyse de Grignard.....	57
<b><u>Schéma n°6</u></b>	: mécanisme du test de Liebermann Burschard.....	60
<b><u>Schéma n°7</u></b>	: protocole d'extraction des flavonoïdes.....	65
<b><u>Schéma n°8</u></b>	: description d'un papier chromatographique.....	70
<b><u>Schéma n°9</u></b>	: chromatogrammes des flavonoïdes issues des feuilles avant révélation a l'ammoniac.....	84
<b><u>Schéma n°10</u></b>	: chromatogramme des flavonoïdes issus des feuilles après révélation l'ammoniac.....	86

## LISTES DES FIGURES

<b>Figure n°1</b>	: aspect de <i>Helichrysum chermezonii</i> .....	28
<b>Figure n°2</b>	: répartition géographique de <i>Helichrysum chermezonii</i> .....	30
<b>Figure n°3</b>	: montage à reflux.....	34
<b>Figure n°4</b>	: structures de quelques alcaloïdes.....	37
<b>Figure n°5</b>	: structures de pénicilline.....	37
<b>Figure n°6</b>	: structures de quelques flavonoïdes.....	41
<b>Figure n°7</b>	: convention de numérotation des carbones dans un squelette flavonoidique.....	42
<b>Figure n°8</b>	: structures des tanins.....	46
<b>Figure n°9</b>	: structures des tanins condensés.....	47
<b>Figure n°10</b>	: structure d'une coumarine.....	49
<b>Figure n°11</b>	: structure d'anthraquinone.....	52
<b>Figure n°12</b>	: structures des saponosides.....	54
<b>Figure n°13</b>	: structure des anthocyanes.....	55
<b>Figure n°14</b>	: exemples d'hétérosides cyanogénétiques.....	56
<b>Figure n°15</b>	: structures de base des stéroïdes et des triterpènes tetracycliques.....	58
<b>Figure n°16</b>	: quelques structures de polysaccharides.....	61
<b>Figure n°17</b>	: structures des cardénolides et bufadiénolides.....	64
<b>Figure n°18</b>	: structures de conessines et de brucines.....	82
<b>Figure n°19</b>	: structure du Chrysoériol.....	87

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b><u>Tableau n°1</u></b> : Barèmes utilisés pour les appréciations.....	75
<b><u>Tableau n°2</u></b> : Résultats des criblages des alcaloïdes sur les feuilles.....	75
<b><u>Tableau n°3</u></b> : Résultats du criblage des saponines sur les feuilles.....	76
<b><u>Tableau n°4</u></b> : Résultats de test des hétérosides cyanogénétiques sur les feuilles.....	76
<b><u>Tableau n°4</u></b> : Résultats de test des hétérosides cyanogénétiques sur les feuilles.....	77
<b><u>Tableau n°6</u></b> : Résultats du test des leucoanthocyanes sur les feuilles.....	77
<b><u>Tableau n°7</u></b> : Résultats des tests des tanins et polyphénols sur les feuilles.....	78
<b><u>Tableau n°8</u></b> : Résultats des criblages des stéroïdes et triterpènes sur les feuilles.....	78
<b><u>Tableau n°9</u></b> : Résultat des tests des coumarines sur les feuilles.....	79
<b><u>Tableau n°10</u></b> : Résultat du test des anthocyanes sur les feuilles.....	79
<b><u>Tableau n°11</u></b> : Résultat du test des quinones.....	79
<b><u>Tableau n°12</u></b> : Résultat du test des polysaccharides sur les feuilles.....	80
<b><u>Tableau n°13</u></b> : Résultats des tests des cardénolides et bufadiénolides sur les feuilles.....	80
<b><u>Tableau n°14</u></b> : Résultat du test des caroténoïdes sur les feuilles.....	80
<b><u>Tableau n°15</u></b> : Résultats des tests des alcaloïdes par colorimétrie.....	81
<b><u>Tableau n°16</u></b> : Récapitulation des tests de screening effectués sur les feuilles.....	82
<b><u>Tableau n°17</u></b> : Evaluation des tests des chromatographies sur papier.....	86
<b><u>Tableau n°18</u></b> : Quelques propriétés pharmacologiques des alcaloïdes.....	93
<b><u>Tableau n°19</u></b> : quelques propriétés pharmacologiques des tanins et polyphénols.....	95

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

Les maux de ventre font partis des maladies courantes dont les gens souffrent beaucoup. Les diarrhées sanglantes ou non, les colopathies<sup>1</sup>, les coliques<sup>2</sup> parmi tant d'autres s'avèrent fréquentes chez les petits enfants. Leurs effets favorisent l'accroissement du taux de mortalité infantile. Malgré l'utilisation des produits pharmaceutiques, on n'arrive pas à déraciner cette maladie.

A Madagascar les tradipracticiens utilisent le « AHIPOTSY » pour traiter et soigner les maux de ventre.

Ahipotsy est une plante endémique de Madagascar connue sous le nom scientifique de « *Helichrysum Chermezonii* ».

Les principes actifs contenus dans cette plante possèdent des activités pharmacologiques qui seraient, à leur tour, responsable de son utilité thérapeutique.

Par curiosité, dans le cadre de notre mémoire ; nous avons choisi d'étudier cette plante pour déterminer les différentes familles chimiques susceptibles d'être présentes afin d'en extraire.

Notre travail intitulé : « Contribution à l'étude phytochimique de *Helichrysum Chermezonii* (Asteraceae) » comporte 4 grandes parties :

- La première partie traite le point bibliographique
- La seconde partie met en évidence les matériels et méthodes que nous avons utilisés.
- La troisième partie expose les résultats de notre travail effectué sur cette plante.
- La dernière partie présente les propriétés pharmacologiques de chaque famille chimique suivie d'une éducation à l'environnement.

---

<sup>1</sup> Terme générique désignant les affections du côlon (gros intestin).

<sup>2</sup> Douleurs ressenties dans les entrailles.

## Partie-I

# GENERALITES

# GENERALITES

## I-GENERALITE SUR LES ASTERACEES [1]

Les Astéracées étaient (et sont encore) aussi connues comme les ‘*Compositae*’ ou *Composées*. Ce deuxième nom vient du latin ‘*compositus*’ qui signifie, dans l’un de ses sens, convenablement disposé, convenablement arrangé. Ceci fait évidemment référence aux différents fleurons arrangés ensemble dans l’inflorescence.

La famille des Astéracées ou *Compositae* (Astéracées ou Composées) est une importante famille de plantes dicotylédones comprend près de 13 000 espèces réparties en 1 500 genres. Ce sont essentiellement des plantes herbacées même si elles peuvent exister sous forme d’arbres, d’arbustes ou de lianes dans cette famille. Ce sont des plantes herbacées, rarement arbustives, arborées ou rampantes.

Les composées se caractérisent surtout par leur inflorescence, le capitule, formé d’un réceptacle dilaté, plus ou moins fréquemment convexe, sur lequel s’insèrent beaucoup de fleurs sessiles. Les fleurs, stériles, unisexuées ou hermaphrodites, sont diversement combinées dans le capitule qui est entouré d’un involucre de bractées ; elles sont toujours tubuleuses, soit régulières avec une corolle terminée par 5 dents, soit irrégulières à cause de la présence d’un côté d’une languette extrêmement développée, la ligule. On divise les composées en trois sous-familles : les tubuliflores, les radiées et les liguliflores<sup>1</sup>. Les premières ont une inflorescence uniquement composée de fleurs tubuleuses régulières ; les secondes ont des fleurs tubuleuses régulières au centre (c'est ce qu'on appelle le disque) et des fleurs tubuleuses irrégulières ou ligulées tout autour en forme de couronne (c'est le rayon). Le calice de chaque fleur est très réduit mais peut également être absent ou transformé en une touffe de poils, qui demeure autour de la graine et en facilite la dissémination<sup>2</sup>.

Le fruit, ou akène, est sec et indéhiscent. La fécondation est généralement entomogame.

Un grand nombre de Composées sont ornementales (chrysanthèmes, dahlias, zinnias, etc.), certaines fournissent des légumes (laitue, chicorée, artichaut, topinambour), des plantes médicinales (camomille, arnica, armoise), des insecticides (pyrèthre).

---

<sup>1</sup> Sous-famille de composées dont les capitules comportent des fleurs toutes semblables en corolle à languette à 5 dents.

<sup>2</sup> Dispersion des graines au moment de leur maturité

## I-1-CARACTERISTIQUES GENERALES

### ET PARTICULARITES DES ASTERACEES [1], [2]

Les Astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelé un involucre.

Ainsi, contrairement à l'opinion populaire, ce qu'on appelle une « fleur » de tournesol, de chardon, ou des pissenlits... n'est en réalité pas « une » fleur mais un capitule de fleurs.

La fleur des Astéracées est très particulière : les étamines sont soudées par leurs anthères déhiscentes vers l'intérieur. Sous les stigmates sont situées des « brosses à pollen ». La croissance rapide du style permet un brossage du pollen et sa récupération. Une fois que le stigmate a traversé le tube formé par les anthères, les stigmates se déplient et exposent leur face gluante au pollen. Il faut penser qu'à ce moment-là, du nectar est sécrété.

Certaines Astéracées sont des plantes succulentes, principalement dans les genres *Senecio* et *Othonna*. D'autres sont connues pour le caractère allergène<sup>1</sup> de leur pollen (genre *Ambrosia*).

On peut aussi citer une plante emblématique de la flore montagnarde : l'*edelweiss*.

## I-2-TYPES DES FLEURS DES ASTERACEES [3]

On peut diviser les fleurs des astéracées, appelées aussi fleurons, en trois groupes suivant l'aspect des capitules :

- les liguliflores (chicorée, pissenlit, laitue etc.) composées uniquement de fleurons ligulés. Elles présentent des languettes, ou ligules, dans lesquelles les équivalents des pétales sont soudés, généralement par cinq, parfois par trois, reconnaissables seulement aux dents de la languette, et où un pétales prédomine,

---

<sup>1</sup> Qui est susceptible de provoquer une allergie dans l'organisme

- les tubuliflores (chardon, cirse, centaurée etc.) dont le capitule n'est composé que de fleurons tubulés (ou fleurs tubulaires). Elles présentent des tubes terminés par des lèvres imperceptibles ou s'ouvrant plus ou moins largement en cinq lobes.
- les radiées aux fleurons périphériques ligulés entourant un disque de fleurons tubulés (marguerite, aster, séneçon etc.).



Liguliflore : Fleurons tous ligulés (pissenlit)



Tubuliflore : Fleurons tous tubulés (artichaut)



Radiée : Fleurons ligulés et tubulés (marguerite)

Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée pappus qui favorise la dispersion des graines par le vent.

Pour déterminer la plupart des plantes de cette famille, il est nécessaire de récolter des capitules défleuris, portant des fruits mûrs ou, au moins, déjà bien formés. L'observation des bractées de l'involucré est également très importante.

## I-3-UTILISATIONS [4]

Dans cette famille nombreuse, certains genres sont comestibles, on y trouve :

- *Lactuca*, les laitues,
- *Cichorium*, les chicorées dont l'endive (ou chicon) et la scarole,
- *Cynara*, l'artichaut,
- *Tragopogon*, le salsifis,
- *Helianthus*, le topinambour,

Ainsi que des oléagineux:

- *Helianthus*, le tournesol.

Plus de 200 genres sont cultivés comme plantes ornementales (aster, chrysanthème, etc.). Certains comme le genre *Pyrethrum* fournissent un insecticide. Les Grecs utilisaient l'herbe aux moucherons, sèche, étendue sous le blé pour éloigner les rongeurs. En compagnonnage, l'Armoise est connue pour être un répulsif des rongeurs. D'autres (genre *Artemisia*) sont utilisés dans la fabrication de liqueurs comme l'absinthe ou le génépi.

## I-4-LISTES DES GENRES DE LA FAMILLE DES ASTERACEES [5]

*Achillea, Acroptilon, Bellis, Bellium, Berardia, Bidens, Blumea, Bombycilaena, Brachycome, Buphthalmum, Cacalia, Calendula, Callistephus, Calotis, Chrysanthemum, Cicerbita, Cichorium, Cineraria, Cirsium, Cnicus, Coleostephus, Conyza, Coreopsis, Eriophyllum, Eupatorium, Euryops, Evax, Felicia, Filago, Helichrysum, Hemizonia, Heteranthemis, Hieracium, Homogyne, Hyoseris, Hypochaeris, Inula, Ismelia, Jasonia, Jurinea, Lactuca, Lagenophora, Leucanthemopsis, Onopordum, Orminis, Osteospermum, Otanthus, Xanthium, Xeranthemum, Zinnia.*

## I-5-LE GENRE *HELICHRYSUM* [6]

### I-5-1-CARACTERISTIQUES GENERAUX DU GENRE

*Helichrysum* est un genre de sous-arbrisseaux dans la famille des Astéracées. Ce sont les différentes espèces d'immortelles.

Capitules ou hétérogames : Fleurs toutes mâles, fertiles ; ou les externes femelles, généralement peu nombreuses, exceptionnellement 2-3-séries, mais moins nombreuses que les fleurs mâles (sauf dans quelques espèces que l'ensemble des caractères ne permet pas de séparer de leur plus proche alliées), toutes fertiles (sauf parfois les fleurs mâles les plus externes stériles). Involucre hémisphérique, campanulé, globuleux, ovoïde ou cylindracé, à bractées plurisériées, imbriquées, indurées-onguiculées à la base; onglets des bractées les plus souvent très courts ; tantôt peu distinct de l'onglet petit plus ou moins dressé ; tantôt très distinct, dressé ou rayonnant, formant souvent presque à lui seul la bractée dont les premiers tours de spires, appendices régulièrement imbriqués ou rapprochés en couronne dans le haut de l'involucre. Réceptacle plan ou convexe, parfois presque conique, scorbiculé, aréolé ou

alvéolé, nu ou fimbriolé. Couleurs des fleurs mâles filiformes, finement dentées au sommet ; corolles des fleurs femelles régulières, tubuleuses, peut élargies vers le haut, 5-dentées, rarement 4-dentées. Anthères sagittées à auricules petites finement caudiculées, caudicules simples ou finement divisés. Branches du style demi-cylindracées, tronquées au sommet, celui-ci parfois un peu élargie. Akènes petits cylindracées à 5 angle ou à peine comprimés, sans côtés saillantes ; pappus formés de soie nombreuses ordinairement unisérié, finement denticulées-scabres, souvent un peu épaissies et parfois sub-plumeuses dans le haut, parfois élargies et plus longuement denticulées vers la base, libre ou plus ou moins connées à la base exceptionnellement aplatis-lamelleuses.

Plantes herbacées généralement vivacées ou suffrutescentes, parfois sarmenteuses-lianoïdes, ou arbustes de port ou d'aspect extrêmement divers à feuilles alternes (très rarement les plus inférieures opposées), entières. Capitules grands, médiocres ou petits, solitaires ou en corymbes au sommet des tiges et des rameaux, exceptionnellement axillaires ; appendices bractéaux mats ou brillants, opaques ou translucides, blancs purs, blancs jaunâtre, jaune-citrons ou orangés parfois brunâtres, rosés ou rouges. Fleurs jaunes en nombre extrêmement varié de 1 à plusieurs centaines.

## I-5-2-REPARTITION DU GENRE *HELICHRYSUM* DANS LE MONDE

Plus de 400 espèces, toutes de l'ancien monde, nombreux surtout en Afrique austral, à Madagascar et en Australie.

A Madagascar, 115 espèces toutes endémiques de la grande îles sont actuellement connues. Au Comores, le genre *Helichrysum* n'est représenté que par 5 espèces dont 2 endémiques de cet archipel, 2 existant d'autre part en Afrique, et une probablement importée de Madagascar à titre de plante médicinale. La plupart des autres espèces habite les pays circuméditerranéens, l'Europe occidentale, la Nouvelle Zélande.

## I-5-3-CLEF DES GROUPES

Arbrisseaux ou arbustes, dressés rarement sarmenteux, à capitules très petits, pauciflores, très nombreux, en glomérules agencés en corymbes terminaux, ou dans quelques

espèces en inflorescences paniculliformes<sup>1</sup> feuillées. Appendices bractéaux de l'involucre petits, non rayonnants.

#### I-5-4-LISTE DE QUELQUES ESPECES DU GENRE HELICHRYSUM

<ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Helichrysum angustum</i></li><li>• <i>Helichrysum anomalum</i></li><li>• <i>Helichrysum antennaria</i></li><li>• <i>Helichrysum anthemoides</i></li><li>• <i>Helichrysum apiculatum</i></li><li>• <i>Helichrysum appendiculatum</i></li><li>• <i>Helichrysum argentissimum</i></li><li>• <i>Helichrysum argyroglossis</i></li><li>• <i>Helichrysum argyrolepis</i></li><li>• <i>Helichrysum argyrophyllum</i></li><li>• <i>Helichrysum argyrosphaerum</i></li><li>• <i>Helichrysum bracteatum</i> (<i>Vent.</i>) <i>Andr.</i></li><li>• <i>Helichrysum brownei</i></li><li>• <i>Helichrysum buftonii</i></li><li>• <i>Helichrysum bupthalmoides</i></li><li>• <i>Helichrysum caespititium</i></li><li>• <i>Helichrysum calvertianum</i></li><li>• <i>Helichrysum candolleanum</i></li><li>• <i>Helichrysum crispum</i></li><li>• <i>Helichrysum cunninghamii</i></li><li>• <i>Helichrysum cylindrifolium</i></li><li>• <i>Helichrysum heldreichii</i></li><li>• <i>Helichrysum herbaceum</i></li><li>• <i>Helichrysum hirtoviscosum</i></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Helichrysum kempeii</i></li><li>• <i>Helichrysum kilimanjari</i></li><li>• <i>Helichrysum kraussii</i></li><li>• <i>Helichrysum krookii</i></li><li>• <i>Helichrysum lanuginosum</i></li><li>• <i>Helichrysum lawrencella</i></li><li>• <i>Helichrysum ledifolium</i></li><li>• <i>Helichrysum lepidophyllum</i></li><li>• <i>Helichrysum leptolepis</i></li><li>• <i>Helichrysum leucocephalum</i></li><li>• <i>Helichrysum paralium</i></li><li>• <i>Helichrysum patulum</i></li><li>• <i>Helichrysum pedunculatum</i></li><li>• <i>Helichrysum petiolare</i> <i>Hilliard et Burtt</i></li><li>• <i>Helichrysum pholidotum</i></li><li>• <i>Helichrysum pilosellum</i></li><li>• <i>Helichrysum pleurandroides</i></li><li>• <i>Helichrysum stellatum</i></li><li>• <i>Helichrysum stipitatum</i></li><li>• <i>Helichrysum stirlingii</i></li><li>• <i>Helichrysum sulcaticaulis</i></li><li>• <i>Helichrysum superbum</i></li><li>• <i>Helichrysum sutherlandii</i></li></ul>
--	---

<sup>1</sup> En forme de panicule (grappe composée, de forme conique)

## I-5-5-CLASSIFICATION PHYLOGENETIQUE D'*HELICHRYSUM [7], [8]* *CHERMEZONII*

En botanique, on distingue généralement deux grandes catégories des plantes à savoir :

- LES CRYPTOGAMES.
- LES PHANEROGAMES ou SPERMAPHYTES.

Les **cryptogames** sont des plantes sans fleur, ni graine. Ce sont des plantes possédant des feuilles souvent très divisées, des vaisseaux et racines, des tiges, des sporanges<sup>1</sup> émettant des spores, mais sans cotylédons. Les cryptogames possèdent trois embranchements tels que :

- **Les ptéridophytes** (vasculaires)

Exemples : les fougères, les lycopodes.

- **Les thallophytes** (non vasculaires)

Exemples : algues, champignons, lichens

- **Les bryophytes** (non vasculaire)

- Exemples : mousse, hépatiques.

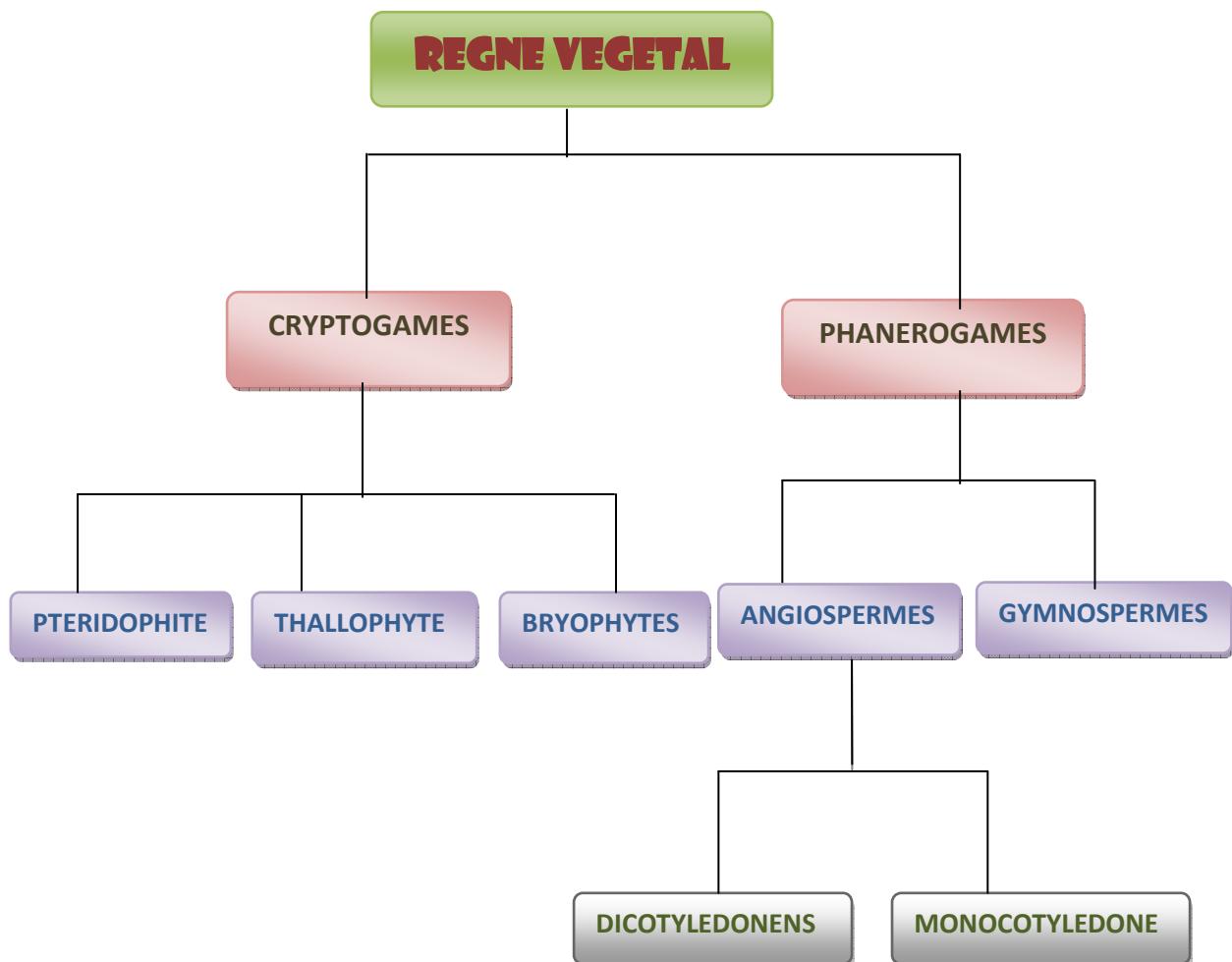
Les **phanérogames** ou **spermaphytes** sont des plantes à fleurs et graines. Elles se divisent en deux types :

- **Les gymnospermes,**
- **Les angiospermes.**

Les **gymnospermes** sont des plantes qui présentent des ovules nus de façon que les graines ne soient pas enfermées dans un fruit tandis que les **angiospermes** sont celles qui présentent cette fois ci des ovules mais les graines sont enfermées dans un fruit. En effet, il existe, d'une part ,des **angiospermes monocotylédones** qui portent des embryons à un seul cotylédon, des feuilles à nervures parallèles et démunies de pétioles, ( exemple un palmier), et d'autre part, **les angiospermes dicotylédones** possédant des plantules à deux cotylédons et des feuilles à nervures centrales, comme par exemple le manguier, le letchis.

---

<sup>1</sup> Sac ou urne produisant les spores chez les fougères, les mousses, les moisissures, les algues



### Schéma n°1 : Classification botanique des végétaux

La classification botanique d'une plante consiste au moins à définir les termes suivants :

- ♦ **Règne** : Niveau le plus élevé de classification scientifique du monde vivant
- ♦ **Embranchement** : la division principale des plantes.
- ♦ **Classe** : chacune des grandes divisions d'un embranchement.
- ♦ **Famille** : ensemble des plantes ayant des caractères communs et portant des noms latins.

- ◆ **Ordre** : ensemble des plantes de la même famille.
- ◆ **Genre** : des plantes d'espèces voisines.
- ◆ **Espèces** : ensemble des plantes ayant des aspects identiques dans le même habitat.
- ◆ **Variétés** : ensemble des plantes de même famille, même classe mais des aspects différents.
- ◆ La classification phylogénétique de notre plante *Helichrysum Chermezonii* est définie comme suit :

<b><u>Règne</u></b>	: Plantae
<b><u>Sous-règne</u></b>	: Tracheobionta
<b><u>Division</u></b>	: Magnoliophyta
<b><u>Classe</u></b>	: Magnoliopsida
<b><u>Sous-classe</u></b>	: Asterideae
<b><u>Ordre</u></b>	: Asterales
<b><u>Famille</u></b>	: Asteraceae
<b><u>Genre</u></b>	: <i>Helichrysum</i>
<b><u>Espèce</u></b>	: <i>Chermezonii</i>

## Partie-II

# MATERIELS ET METHODES

## **MATERIELS ET METHODES**

### **II-1-MATERIELS**

#### **II-1-1-MATERIEL VEGETAL**

La plante a été récoltée au mois de Mars 2010 dans la commune rurale d'Ivoamba, district de Fianarantsoa-II.

L'identification de cette plante a été effectuée en collaboration avec les botanistes du Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza (PBZT) le mois d'Avril 2010.

L'étude phytochimique de la plante s'est déroulée au mois de Juillet 2010 au laboratoire de chimie de l'Ecole Normale Supérieure (Université de Fianarantsoa).

#### **II-1-1-a-NOMS VERNACULAIRES ET SCIENTIFIQUES [9]**

A l'intérieur de la Grande Ile, notre plante est connue sous des noms différents. Cette différence est due à l'existence de divers tribus, régions à Madagascar.

Dans la région du Betsileo et de l'Imerina, elle s'appelle AHIPOTSY. Ce nom vient du mot français « herbe » pour dire « ahitra » et « blanche » pour dire « FOTSY ». D'autres Betsileo l'appelle aussi « Kelivoloinavavy » ; certains Merina l'appellent aussi «Sisikondana ».

Dans la région Bara, ils l'appellent « Farimboay » et tant d'autre région, on l'appelle « Tsatsabaitra ».

Ces différents noms désignent la même plante *Helichrysum Chermezonii*.

#### **II-1-1-b-ETUDE ETHNOBOTANIQUE**

La décoction de *Helichrysum Chermezonii* à partir des feuilles est utilisée contre les diarrhées profuses, les coliques et même l'épilepsie. Ce procédé consiste à faire bouillir dans l'eau les feuilles de *Helichrysum Chermezonii*. Puis la solution obtenue est à consommer dont la posologie est de prendre une tasse le matin, le midi et le soir.

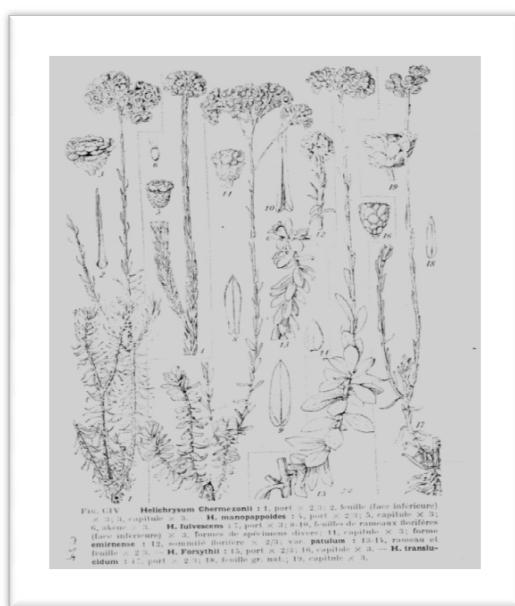
La décoction à partir du mélange des feuilles de « Ahipotsy » (*Helichrysum Indutum* Humbert, Famille des composés), du «Hazotsora» (*Schefflera Bojeri*), du «Rambiazina » (*Helichrysum Gymnocéphalum* Humbert, famille des composées), du «Aposa » (*Acaliphtaréticula* Muller d'Argovie, famille des Euphorbiacées), est utilisée contre l'albumine.

## II-1-1-c-ETUDE BOTANIQUE [10]

*Helichrysum Chermezonii* est une plante suffrutescente (de 2 à 4dm), à rameaux stériles courts (3 à 5cm), à rameaux florifères allongés ; couvert d'un tomentum aranéux.

Feuilles petites, membraneuses, sessiles ; étroitement linéaires (de 10-6 x 0.5-1mm) obtusiuscules ou acutiuscules mucronnées au sommet, révolutées finement bulleuses tomenteuses sur les deux faces, lâchement en dessus ; densement en dessous ; uninerves très rapprochées étoilées sur les rameaux stériles et à la base des rameaux florifères progressivement redressées vers le haut de ceux-ci. Capitules hétérogames campanulés-subglobuleux (long et large de 3-4mm) ; à pédoncules égalant à peu près la longueur des involucres, en corymbes terminaux assez lâches.

Involucres hémisphériques en dessous en appendices bractéaux (long et large d'environ 3.5mm), à bractées externes, lancéolées lâchement aranéuses en dehors les moyennes plus courtes ; les internes à onglets légèrement aranéux et garnis des grandes sessiles extérieurement, appendices suborbiculaires (long et large d'environ 1mm) concaves extérieurement étalés, rapprochées en couronne à la partie supérieure de l'involucre presque transparent ; jaune d'où luisant. Réceptacles fimbriolifères ; fleur 25-30 dont quelques unes mâles Akènes glabres ; soies du pappus filiformes légèrement cohérentes à la base, atténuées au sommet. Sa période de floraison est comprise entre le mois de Juillet et Novembre. La figure 1 montre l'aspect de l'*Helichrysum Chermezonii*.



**FIGURE 1: ASPECT D'HELICHRYSUM CHERMEZONII**

## II-1-1-d-REPARTITION D'*HELICHRYSUM CHERMEZONII* A MADAGASCAR [10]

Cette plante se trouve sur des endroits où poussent les savanes. Les régions de Madagascar citées ci-dessous figurent des lieux que nous pouvons rencontrer *Helichrysum Chermezonii* :

- ♣ Dans l’Imerina et le vakinakaratra
- ♣ Aux environs de Tanà : Fenoarivo, Miarinarivo
- ♣ Dans la région du Betsileo
- ♣ Tsiroanomandidy (forêt d’Ambohibiby)
- ♣ Dans les massifs du Vavavato : Rocailles silicieuses découvertes clairières de la forêt basse sclérophylle d’où il est suspendu ça et là dans la végétation secondaire sur les argiles latéritiques dénudés.

L’utilisation du matériel technique comme le GPS<sup>1</sup> rend plus précis l’indication du milieu où pousse la plante. En effet, voici quelques milieux locaux situés géographiquement par le GPS où les « Ahipotsy » poussent en grand nombre.

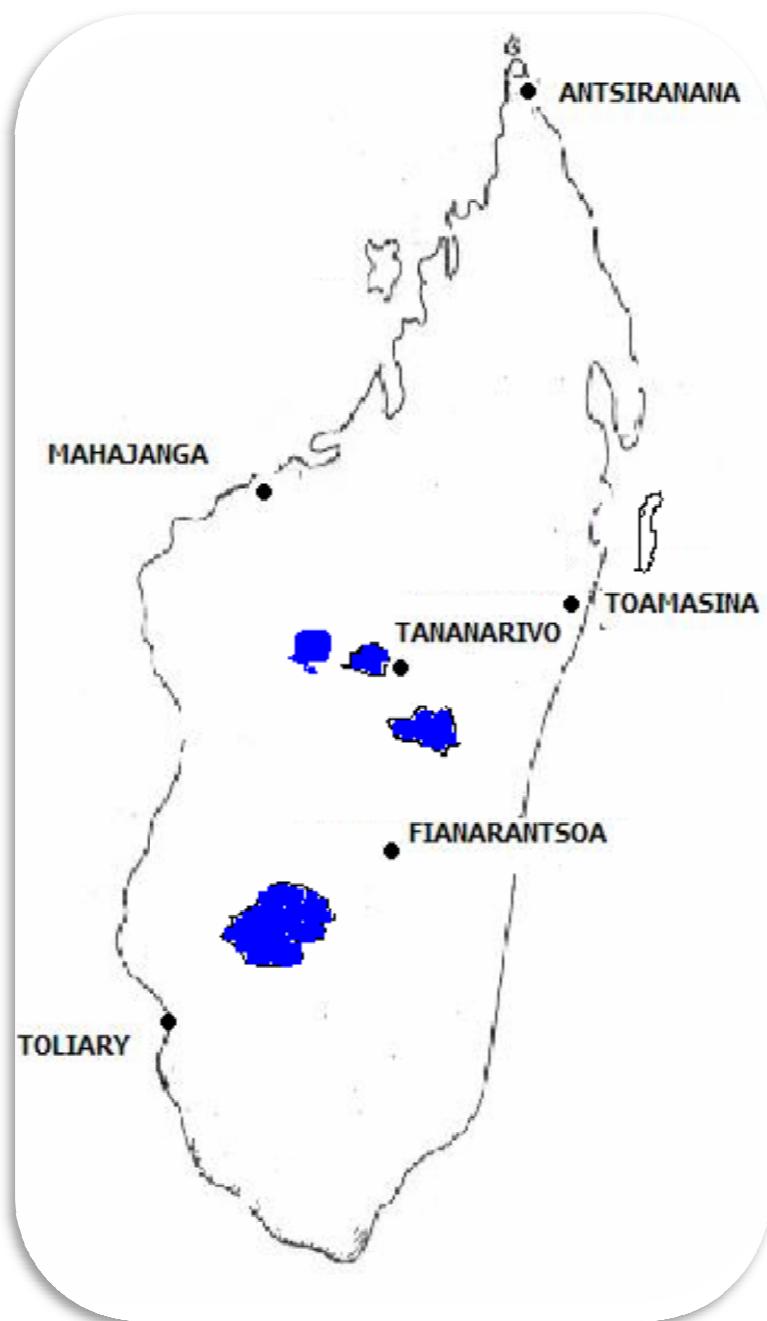
Antananarivo	Fianarantsoa
Antsirabe, Ibity, Beapombo. Sur un rocher de granite noir, au sud de village d’Ibity, terrain très accidenté. 20°05’20”S, 47°00’55”E	Isalo, RN7, Ca.10Km SW of RANOHIRA (22°29’S, 45°24’E). Rock outcrops interspersed with savannah.
Antananarivo	22°29’S, 45°24’E
Antsirabe, Ibity, sommet de Vohibongo Cf. Carte : 20°06’14”S, 47°02’08”E	Low shrub

**Notation :** S=Sud      E=Est      SW (anglais)=Sud-ouest

RN7=Route Nationale n°7      °=degré      '=minute      "=seconde

La figure suivante montre la répartition de *Helichrysum Chermezonii* à Madagascar.

<sup>1</sup> Global Positioning System (système de positionnement par satellite)



**FIGURE N°2 : REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE L'HELICHRISUM CHERMEZONII**

**Légendes**

 Zones localisées par *Helichrysum Chermezonii*

## II-1-2-MATERIELS TECHNIQUES

En chimie, les travaux effectués en laboratoire nécessite l'emploi des divers matériels techniques comme les tubes à essais, l'éprouvette, l'ampoule à décanter, la fiole jaugée... En effet, il est évident que les laborantins doivent connaître l'usage de chacun des matériels qu'ils utilisent avant de les manipuler.

## II-2-METHODES

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées en chimie au fur et à mesure qu'on réalise des manipulations. En, effet, il est nécessaire et indispensables de savoir la méthode la plus adéquate à l'étude effectuée. Certaines d'entrent-elles sont expliquées ci-dessous.

### II-2-1-EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE

Cette opération consiste à faire passer une substance d'un solvant dont elle souvent difficile à séparer à un autre dont elle sera facilement isolable. La réalisation habituellement par agitation est possible à condition que les deux solvants soient très peu ou pas miscibles entre eux. Généralement, un mélange d'eau et d'un solvant organique est utilisé.

Le solvant organique extrait les produits apolaires et les produits moyennement polaires selon sa polarité. L'eau extrait les produits polaires.

La décantation sépare la différence de densité entre les deux phases liquides non miscibles.

L'ampoule à décanter est le matériel utilisé pour l'extraction liquide-liquide.

### II-2-2-EXTRACTION SOLIDE-LIQUIDE

Dans la méthode d'extraction solide-liquide nous pouvons employer deux types :

- ◆ Méthode continue
- ◆ Méthode discontinue

## II-2-2-1-METHODE CONTINUE

Cette méthode met en jeu la percolation ou lixiviation : Entrainement à la vapeur

La percolation consiste à faire passer lentement un solvant à travers une couche de substance pulvérisée, habituellement contenue dans une cartouche de papier épais et poreuse.

L'extracteur de Soxhlet est l'appareil conçu pour l'extraction continue solide-liquide.

On tire d'avantage en utilisant cet extracteur car le solvant condensé s'accumule dans un réservoir à chiffon, ce qui augmente la durée du contact entre le solvant et le produit à extraire. Quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute.

## II-2-2-2-METHODE DISCONTINUE

La méthode discontinue consiste à faire une extraction solide-liquide faisant appel au procédé de « macération ». Dans ce cas, on laisse tremper le solide dans un solvant à température ambiante ; chaud ou à l'ébullition pour en extraire les constituants solubles.

Après filtration, le résidu peut être remis dans le récipient d'extraction avec une nouvelle portion de solvant. La quantité du solvant nécessaire est estimée de dix à vingt fois la masse de l'échantillon traitée.

On tire d'avantage de cette méthode car elle est si rapide surtout avec les solvants à l'ébullition. Par contre, le processus d'extraction n'est pas toujours efficace.

## II-2-3-DISTILLATION

Souvent, on utilise la méthode de distillation pour séparer les constituants d'un mélange liquide. Par exemple : L'alcool est obtenu par distillation du vin, du cidre.

Il existe deux types de méthodes de distillation :

- ◆ Distillation sous pression réduite
- ◆ Extraction par reflux au bain-marie

Cette méthode est applicable si on veut séparer rapidement l'extrait du solvant. Son mécanisme se déroule comme suit. L'action de la chaleur met en mouvement sans cesse les molécules d'un corps pur à l'état liquide. Lorsque ces molécules passent au voisinage de la surface libre, elles ont la possibilité de s'échapper et de passer à l'état gazeux. Cette tendance de molécule est due à la tension de vapeur. On peut dire que la volatilité augmente en fonction de la tension de vapeur d'un composé.

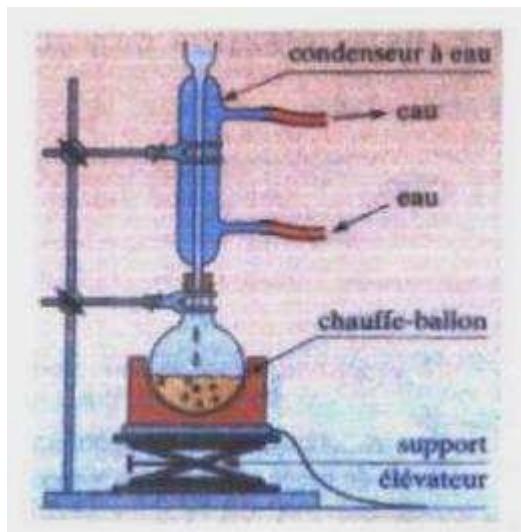
Exemple : Ether, alcool, chloroforme

L'évaporateur rotatif est l'appareil le plus commode utilisé pour réaliser une distillation. Plusieurs avantages peuvent être tirés par l'usage de ce matériel :

- Plus pratique en science
- Distillation rapide
- Pas de surchauffage du résidu
- Possibilité de distiller de grandes quantités dans un ballon d'évaporation de capacité réduite
- Possibilité d'évaporer à sec

#### **II-2-4-EXTRACTION PAR REFLUX AU BAIN-MARIE**

L'extraction par reflux au bain-marie est le second type de distillation ; son application tient compte le méthanol ou l'éthanol comme solvant de première extraction car ces solvants entraînent toutes la famille chimique. Le principe de montage est décrit selon le schéma figuré ci-dessous.



**FIGURE N°3 : MONTAGE A REFLUX**

Le matériel et le solvant sont placés dans un ballon surmonté d'un réfrigérant à boule, le tout est placé ensuite dans un bain-marie.

## **II-2-5-SCREENING PHYTOCHIMIQUE**

Le screening phytochimique, première étape de l'étude chimique, est effectué afin de déterminer la présence des substances naturelles contenues dans une plante. Le « screening ou criblage » phytochimique est une méthode pour exploiter les vertus médicinales d'une plante.

Il s'agit de faire l'inventaire des grandes classes des composés présents dans la plante : Alcaloïdes, flavonoïdes et leucoanthocyanes, tanins et les polyphénols, quinones, stéroïdes et terpénoïdes, les cardénolides et les bufadiénolides, saponosides et polysaccharides, les coumarines et les hétérosides cyanogénétiques.

Pour ce faire, la méthode est basée sur des réactions colorimétriques et/ou par précipitations. Les diverses réactions effectuées sont simples, rapides pour des équipements pas forcément sophistiqués.

## II-2-5-1-LES ALCALOIDES [11]

### a-Définition

Ce sont des substances azotées d'origine biologique le plus souvent végétal (il n'existe pas que des rares représentants dans les règnes animaux). Par exemple : La caféine, la mescaline, la nicotine. . .

Les alcaloïdes sont particulièrement utilisés en pharmacologie (fabrication des médicaments). Le premier alcaloïde découvert a été la morphine en 1805 dans l'opium, vienne ensuite la strychnine en 1818 et la caféine en 1819.

### b-Localisation

Les alcaloïdes sont des composés présents chez les angiospermes surtout dans certaines familles : Lognacées, Lauracées. . .

Ils sont localisés dans les téguments de la graine assise externe des écorces des tiges et des racines, épidermes et couches sous-épidermiques des feuilles. En d'autre terme, ils sont principalement localisés dans les tissus périphériques.

### c-Propriétés physico-chimiques

Les alcaloïdes non oxygénés sont liquides, volatils entraînables à la vapeur d'eau (nicotine. . .). Les alcaloïdes oxygénés sont solides, cristallisables et parfois colorés. Certains alcaloïdes sont doués de pouvoir rotatoire. Les alcaloïdes présentent toutes propriétés alcalines (basiques). Ils sont généralement dosés par :

- Le dosage volumétrique (dosage retour)
- Le dosage pondéral
- Le dosage colorimétrique

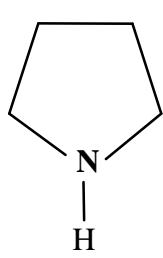
Sa basicité est très variable à cause de la disponibilité du doublet libre de l'azote. Dans ce sens, les groupes attracteurs adjacents à l'azote diminuent la basicité et inversement.

On utilise les spectres RMN, UV, IR pour la détermination de structure des alcaloïdes.

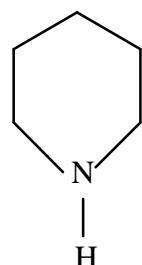
La masse moléculaire des alcaloïdes varie de 100 à 900g/mol. Prenons l'exemple de  $C_8H_{17}N$  (conicine) ;  $M= 127g/mol$ .  $C_{46}H_{56}N_4O_{10}$  (vincristine) ;  $M=824g/mol$ .

On peut classer les alcaloïdes par trois grands types : Les alcaloïdes acycliques, monocycliques et bicycliques. La figure montrée ci-dessous représente quelques structures d'alcaloïdes (figure 4)

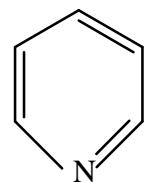
### Monocyclique



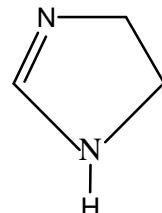
Pyrrolidine



Pipéridine

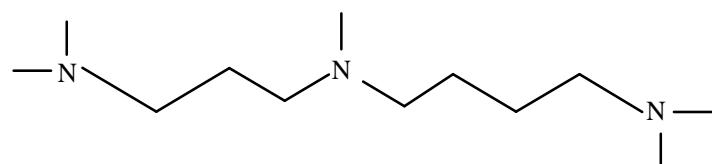


Pyridine



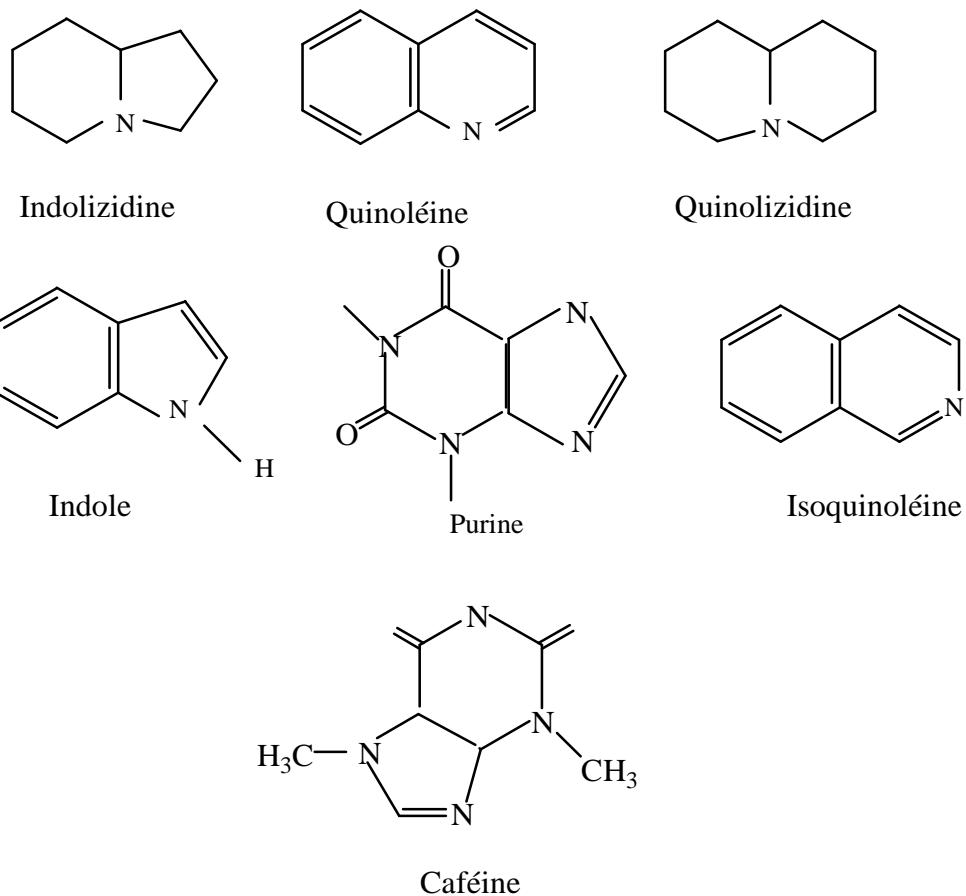
Imidazole

### Acylique



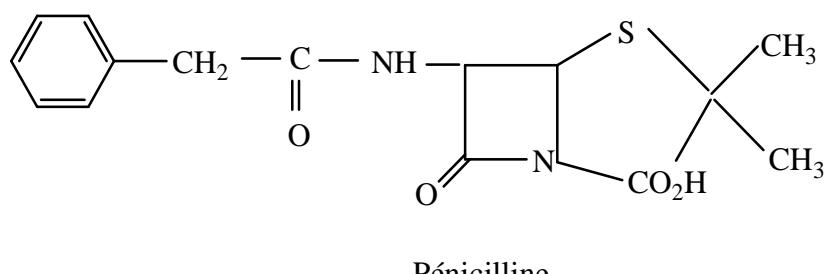
Spermidine

## Bicyclique



**FIGURE N°4 : STRUCTURES DE QUELQUES ALCALOIDES**

La pénicilline (produit pharmaceutique) fait partie des alcaloïdes dont sa structure se représente comme suit



**FIGURE N°5 : STRUCTURE DE PENICILLINE**

## d-Criblage des alcaloïdes

### d<sub>1</sub>) Criblage sur la poudre des feuilles

Macération chlorhydrique : Environ 5g de plante sèche sont macérés dans 30ml d'HCl à 5% pendant 15mn.

On mélange 2,5g de poudre des feuilles dans 20mL d'HCl à 5%. On laisse pendant 15mn. Le mélange est filtré sur coton et on partage le filtrat obtenu dans 4 tubes à essai :

- Le 1<sup>er</sup> tube sert de témoin
- Le 2<sup>ème</sup> tube + quelques gouttes de réactifs de Mayer
- Le 2<sup>ème</sup> tube + quelques gouttes de réactifs de Wagner
- Le 4<sup>ème</sup> tube + quelques gouttes de réactifs de Dragendorff

Les résultats attendus sont les suivants :

L'emploi du réactif de Dragendorff (tetraiodobismutate de potassium) provoque l'apparition de précipité qui va de orangé à rouge.

L'emploi du réactif de Wagner (iodo-iodure) entraîne l'apparition de précipité brun.

Au moyen du test de Mayer (mélange de chlorure mercurique II et de potassium dans l'eau distillée), la présence des alcaloïdes est mise en évidence par l'apparition de précipité brun jaunâtre.

### d<sub>2</sub>) Test préliminaire

5mL d'HCl à 2N est versé dans 0,5g de l'extrait sec. Le tout est chauffé au bain-marie pendant 5mn. On y ajoute 2,5mL de chlorure de sodium (NaCl). On filtre le mélange dont le filtrat est ajouté de 2,5mL d'HCl.

Le mélange filtrat-HCl est alors mis dans 4 tubes à essais répartis comme suit :

- Tube n°1 : témoin
- Tube n°2 + quelques gouttes de réactifs de Mayer
- Tube n°3 + quelques gouttes de réactifs de Wagner
- Tube n°4 + quelques gouttes de réactifs de Dragendorff

Une apparition de précipité indique que le test est positif.

## II-2-5-2-LES FLAVONOÏDES ET LEUCANTHOCYANES

### II-2-5-2-1-LES FLAVONOÏDES [12]

#### a-Définition

Les flavonoïdes ressemblent à une large gamme de composés naturels appelés polyphénols. Leur fonction principale est de colorer la plante (chlorophylle, caroténoïde, bétalaïne). Ils n'a pas d'action directe sur la croissance de la plante et sa reproduction. En effet, il ne participe pas dans le métabolisme général (synthèse des acides aminés, des glucides et des protéines). D'autre part, il protège les animaux contre les insectes, les champignons et les rayonnements nocifs.

#### b-Localisation

Ces flavonoïdes sont distribués dans le règne végétal sous forme d'hétérosides hydrolysables. On peut observer aussi sa présence chez les gymnospermes et les fougères avec des variétés structurales faibles ; pourtant chez les angiospermes leurs variétés structurales sont maximales.

Ils s'accumulent dans le suc vacuolaire et sont synthétisés au niveau des plastides cytoplasmiques.

Ils existent d'autres organes pouvant renfermer des flavonoïdes comme : l'épiderme des feuilles, la cuticule épidermique des fruits épines, tiges, écorces. Ils sont très abondants dans les organes jeunes.

#### c-Structure

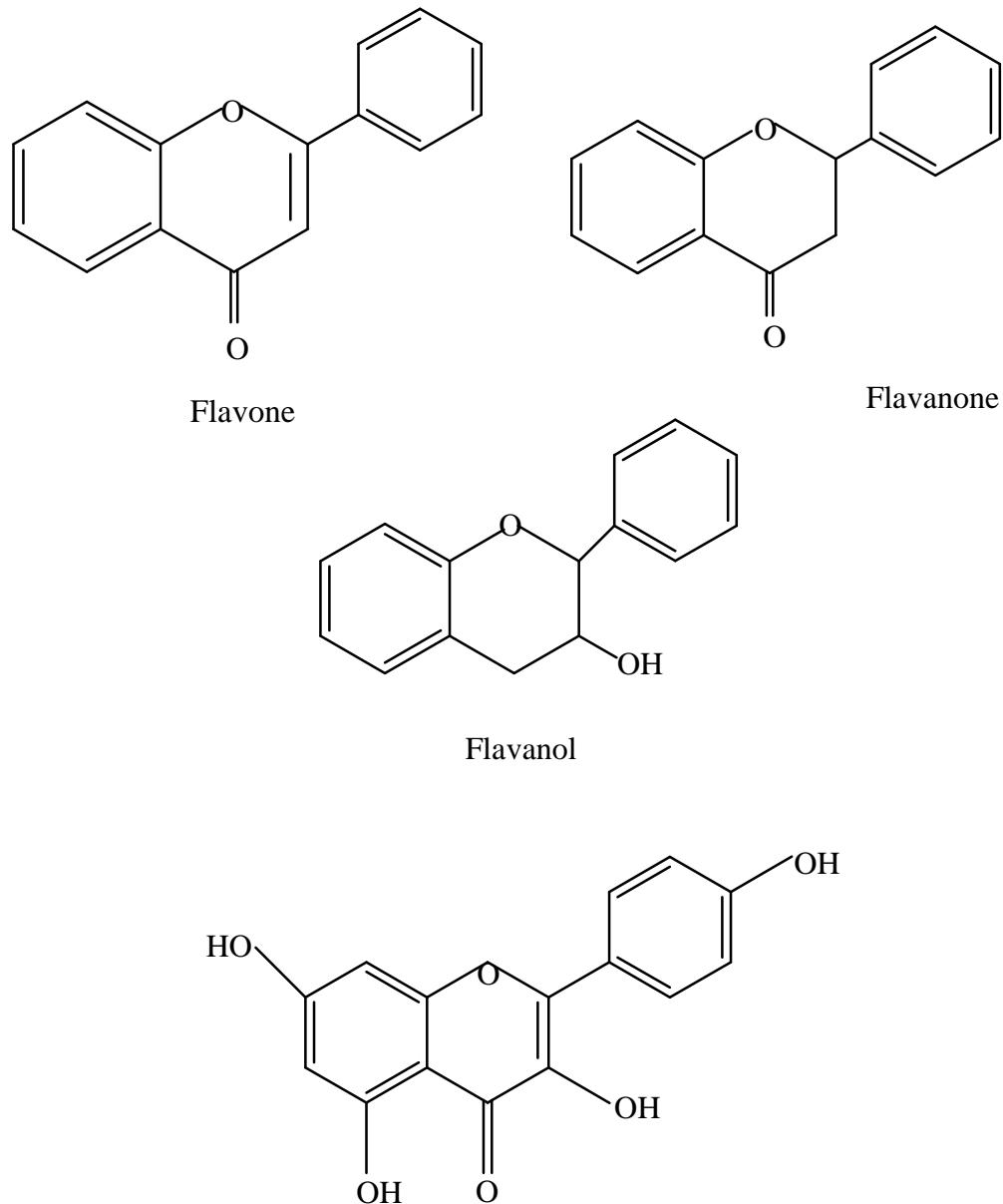
Les flavonoïdes sont des composés formés par des enchainements du cycle C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>.

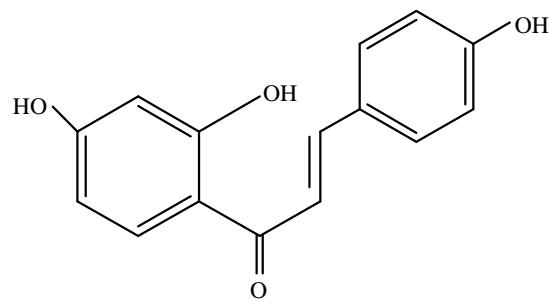
Ils présentent un squelette de 15 atomes de carbones fait de deux cycles en C<sub>6</sub> reliés par une chaîne en C<sub>3</sub>. Le pont à trois carbones entre les deux phénols forme généralement un troisième cycle.

On peut classer ces flavonoïdes en trois catégories :

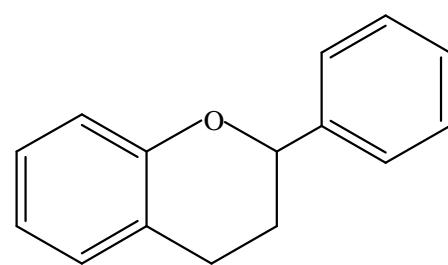
- Flavonoïdes majeurs : Les groupes des flavones et flavanols
- Flavonoïdes mineurs : Les groupes des favonones, aurone
- Flavonoïdes anthochlores : Les groupes des chalcones

La figure ci-dessous montre les structures de quelques flavonoïdes (figure 6)

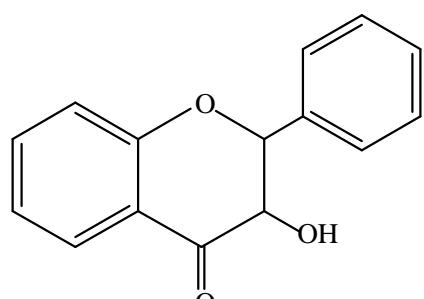




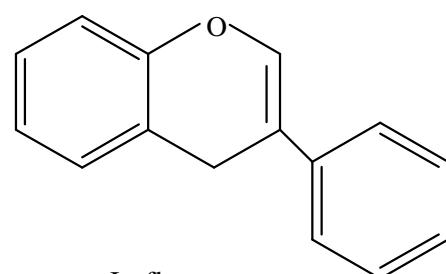
Chalcone



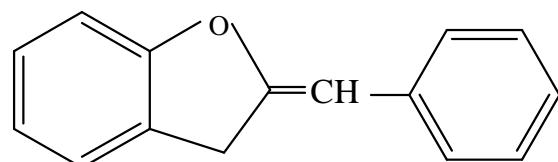
Flavane



Flavanonol



Isoflavone

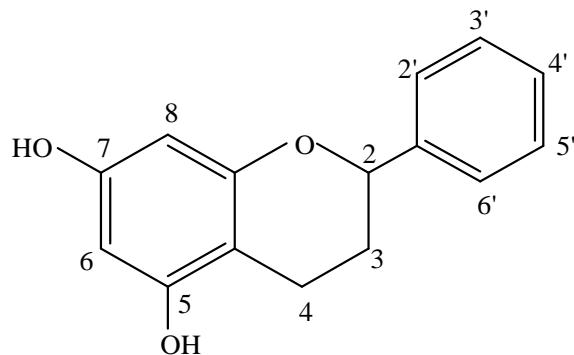


Aurone

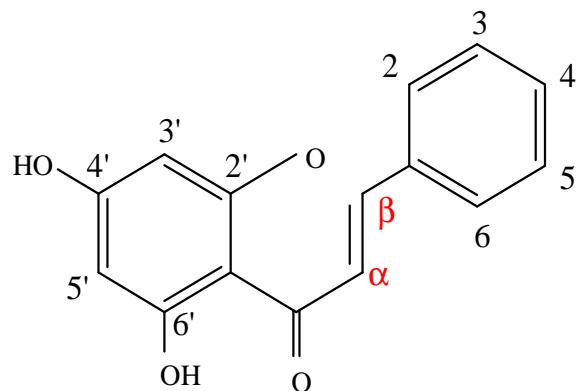
**FIGURE N°6 : STRUCTURES DE QUELQUES FLAVONOÏDES**

**REMARQUE** : La numérotation des atomes de carbones dans une structure flavonoïdique suit la convention comme indique le schéma ci-contre (figure 7).

Pour un flavonoïde



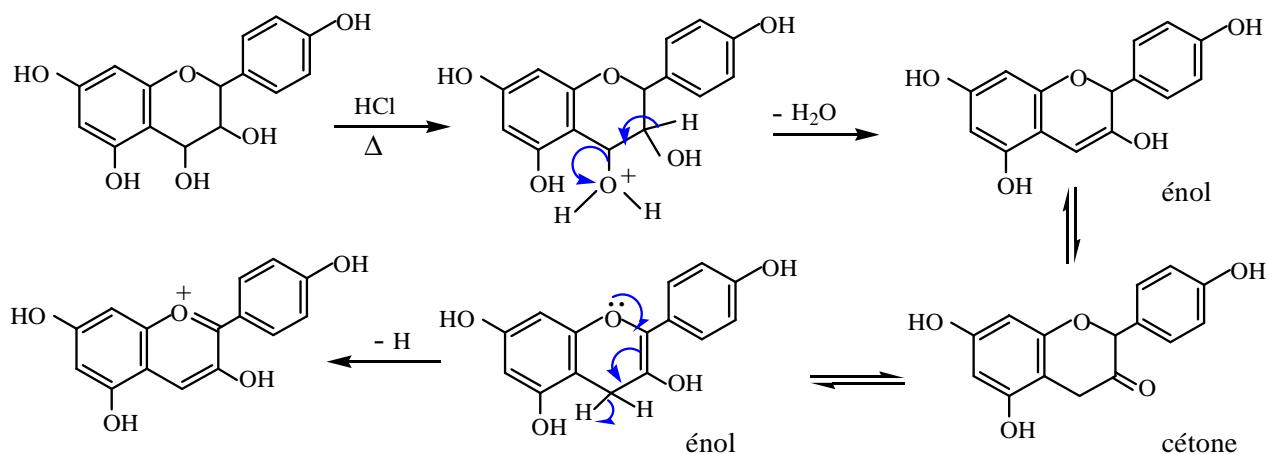
Pour un chalcone



**FIGURE N°7 : CONVENTION DE NUMÉROTATION DES CARBONES  
DANS UNE SQUELETTE FLAVONOIDIQUE**

## II-2-5-2-2-LES LEUCOANTHOCYANES

Sous l'action de l'acide chlorhydrique concentré à chaud, les leucoanthocyanes virent au rouge. La réaction de Bate-Smith sur le pélargonidol illustre le mécanisme correspondant (schéma 2)



**SCHEMA N°2 : MECANISME DE LA REACTION DE BATE-SMITH**

## II-2-5-2-3-ELEMENTS COMMUN ENTRE FLAVONOÏDES ET LEUCOANTHOCYANES

L'élément commun entre les flavonoïdes et leucoanthocyanes est d'être rattaché à un noyau de base qui est le 2-phénylchromone. Ce dernier s'applique à des structures diverses.

- ❖ 2-phénylchromone : Flavones ; flavanones et formes dimères (biflavonoïdes)
- ❖ 2-phénylchromane ou flavanes : Flavan-3-ol (catéchol et flavan-3,4-diol)
- ❖ flavylium : Anthocyanes
- ❖ chalcones : formes isomères « ouvertes des flavanones »
- ❖ aurones, homologues des flavones à hétérocycliques pentagonal (2-benzylidène coumaranones).

## II-2-5-2-4-CRIBLAGE DES FLAVONOÏDES ET DES LEUCOANTHOCYANES

9,5mL équivalent à 3g d'extrait sec d'extrait sec est traité dans l'éther de pétrole jusqu'à l'élimination des pigments, puis on y ajoute 10mL d'EtOH à 80%. Un entonnoir en verre est utilisé pour filtrer le mélange. Le filtrat est ensuite partagé dans 4 tubes à essais différents.

➤ Tube n°1 : témoin

- Tube n°2 + 0,5mL de HCl concentré + 2 tournures de magnésium L'observation se fait après 10mn.

### **Test de Wilstater**

- La coloration rouge marque la présence des flavones
- La coloration rouge pourpre marque la présence des flavonols
- La coloration rouge violacée marque la présence des flavonols et flavones

### **Test de Wilstater modifié**

- Tube n°3 : même opération que dans le tube n°2 mais après dissolution du magnésium, on ajoute 1mL d'alcool isoamilique. Il se forme deux phases.

Si après 10mn, la phase supérieure est pourpre, les flavonols seraient présents. Par contre, si cette phase supérieure est colorée en rouge, alors, les flavones seraient présents.

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

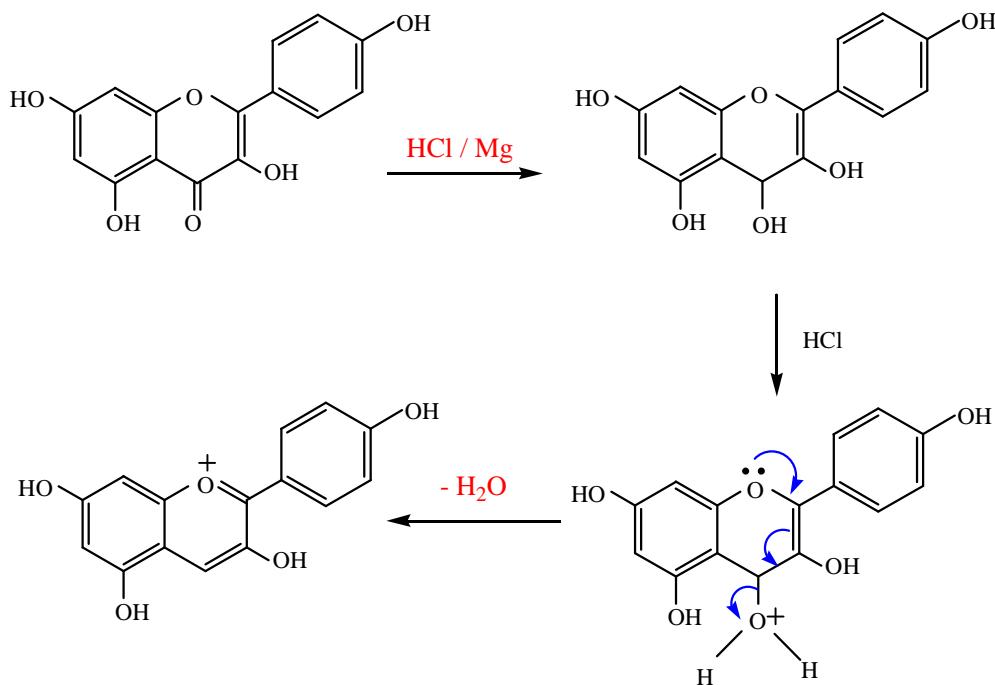
- Tube n°4 + 0,5mL de HCl concentré est chauffé au bain-marie pendant 30mn puis le tout va être refroidit.

Si la coloration vire au rouge ou violet, il y a présence des leucoanthocyanes.

- Tube n°5 + 0,5mL de HCl à froid. Dans ce cas l'apparition d'une coloration rouge dénote la présence des anthocyanes.

Les composés flavoniques sont réduits en présence d'un acide concentré et magnésium avec une élimination d'une molécule d'eau. Le produit de la réduction conduit à des anthocyanidines de couleur rouge.

Le mécanisme de la réaction, à l'exemple de kaempférol est donné par le schéma suivant (schéma 3)



**SCHEMA N°3 : MECANISME DE LA REACTION DE WILSTARTER**

Certains flavonoïdes sont solubles dans l'eau et dans l'alcool, alors que d'autres ont des propriétés hydrosolubles extrêmement faibles.

### II-2-5-3-LES TANINS ET LES POLYPHENOLS [13]

#### a-Définition

Les tanins sont des substances polyphénoliques d'origine végétale. On peut les classer en deux catégories :

- ❖ Tanins hydrolysables
- ❖ Tanins condensés (non hydrolysables)

Ils se diffèrent par leur structure et par origine biogénétique.

Ce sont des esters d'acides, de phénols et d'oses

**Tanins pyrogalliques** car ils fournissent du pyrogallol par distillation

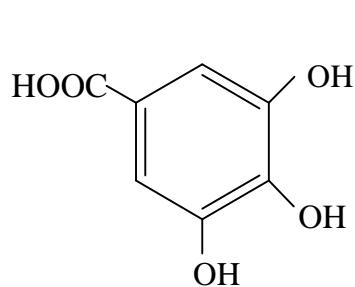
**Tanins galliques** : Esters de l'acide gallique avec des oses, généralement le glucose et même parfois l'hamamélose (dérivé du ribose)

## Tanins éllagiques de structure complexe

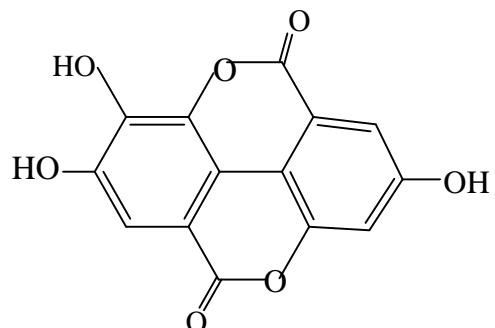
### b-Structure des tanins

#### b<sub>1</sub>-Tanins hydrolysables

Ces tanins sont des esters de glucose (sucre ou des composés apparentés) et d'acides phénoliques comme l'acide gallique et l'acide éllagique. Les hydrolyses des tanins sont effectuées en milieu acide ou par voie enzymatique. Les structures sont schématisées ci-dessous (figure 8)



Acide gallique



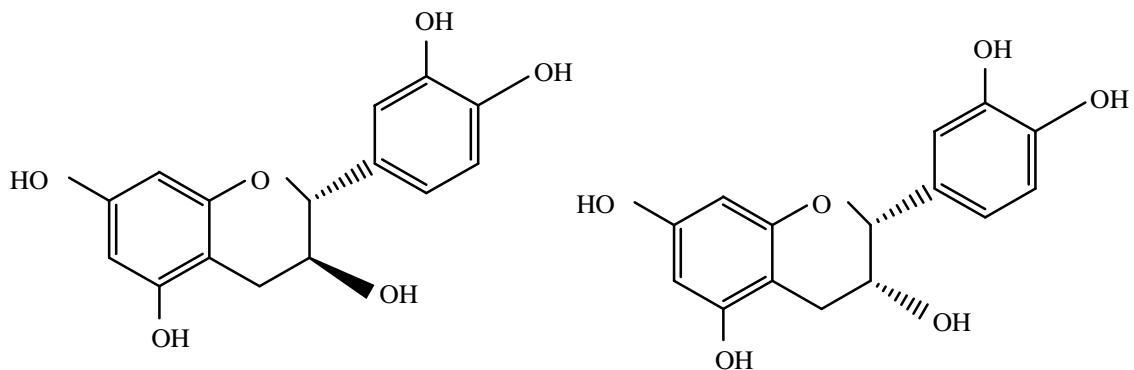
Acide éllagique

**FIGURE N°8 : STRUCTURES DES TANINS**

#### b<sub>2</sub>-Tanins non hydrolysables (condensés)

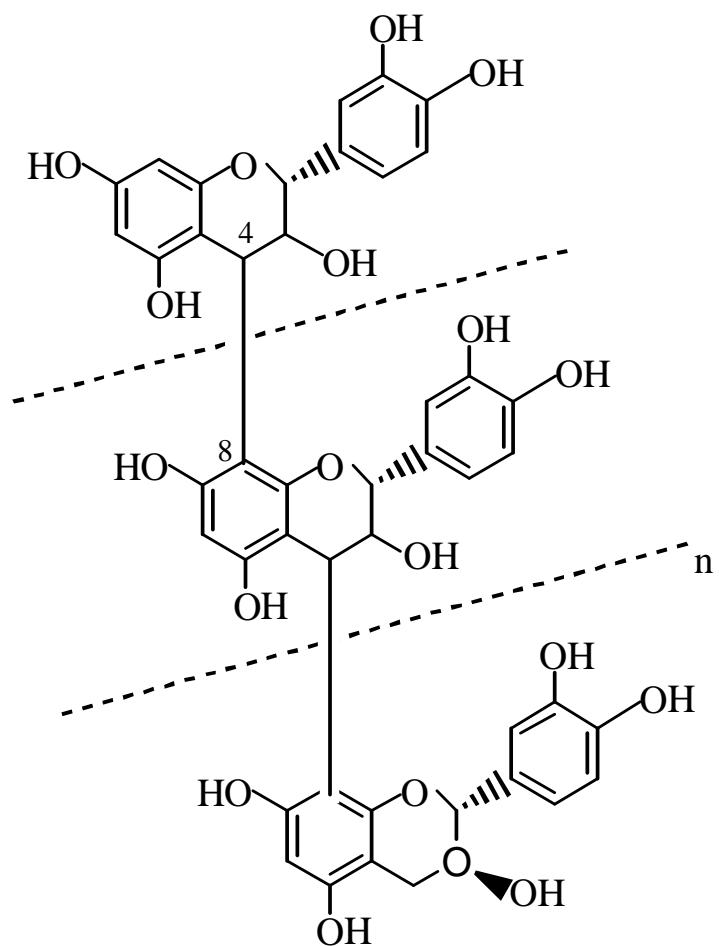
Ce sont des polymères de flavan-3-ol et flavan-3,4-diols liés entre elle par des liaisons carbones C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>. Ils sont résistants à l'hydrolyse. Ces tanins réagissent avec le perchlorure de fer et peuvent être précipité par la gélatine ou par le molybdate d'ammonium.

Les tanins catéchiques appelés aussi tanins vrais ou proanthocyanidols condensés sont des polymères de flavan-3-ol. Ils se dissolvent dans l'eau, dans les alcools et dans l'acétone mais leur solubilité varie selon le degré de polymérisation. Le schéma ci-dessous représente quelques structures des tanins condensés (figure 9)



Catéchol

Epicatechol



Tanins condensés (n=0 à 18)

FIGURE N°9 : STRUCTURES DES TANINS CONDENSES

### c-Propriétés physiques et chimiques des tanins

- Soluble dans l'eau, l'alcool et l'acétone
- Peuvent être soluble dans l'éther
- Saveur astringente
- Précipitent en solution aqueuse avec des sels des métaux lourds
- Avec les sels ferriques, les tanins galliques et éllagiques donnent des précipités bleues, précipités brunes verdâtres.
- Le formol, HCl, Br ne précipitent que les tanins catéchiques.
- Poids moléculaire allant de 500 à 3000g

### d-Criblage des tanins et polyphénols

2,5mL d'eau distillée chaude sont versées dans 1g d'extrait sec, on ajoute 2mL d'eau distillée après agitation et chauffage au bain-marie suivi d'une addition de 4 gouttes de chlorure de sodium à 10%. Répartir le mélange dans 4 tubes à essais :

- Tube n°1 : témoin
- Tube n°2 + 4 gouttes de gélatines à 1%
- Tube n°3 + 4 gouttes de gélatine salée

Pour les deux tubes, la formation d'un précipité est due à la présence des tanins. S'il y a changement de coloration en vert, le polyphénol est présent.

- Tube n°4 + 4 gouttes de  $\text{FeCl}_3$  en solution méthanolique (MeOH)

Si la coloration est bleu-vert ou vert, alors les tanins sont présents. Si la coloration est noir-bleuâtre les tanins pyrogalliques sont présents. Et si la coloration bleu-noir persiste, des composés phénoliques sont présents.

L'utilisation du réactif chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) met en évidence la présence des tanins et polyphénols par l'apparition d'une précipitation de gélatine en donnant des complexes colorés. Les tanins vrais donnent une coloration bleu-vert ou brune tandis que les tanins hydrolysables virent en bleu-noir dans la même condition.

## II-2-5-4-LES COUMARINES [14]

### a-Définition

Ce sont des dérivés de la benzo- $\alpha$ -pyrone. Elles sont de l'actone de l'acide O-hydroxycinnamique.

Elles sont présentes dans les dicotylédones en particulier, ainsi dans d'autres familles : Rutacées, Ombellifères, Légumineuses, Oléacées.

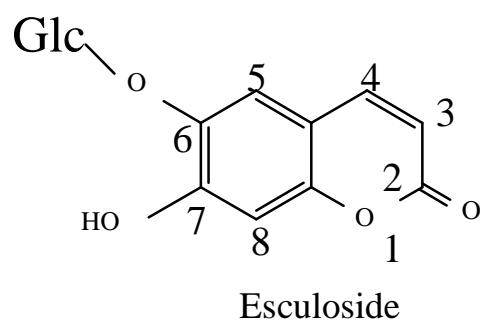
Les coumarines sont des substances aromatiques à odeur de foin fraîchement coupés. Leur nom vient du « coumaron », nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipterix Odorata Wild*, Fabiacées), et fut isolé en 1820.

### b-Structure chimique

On distingue 2 types de coumarine :

- Coumarines simples : Esculoside
- Coumarines complexes : Vinadine (Khella)

Toutes les coumarines sont substituées par un ou des hydroxydes. Cette substitution de cycle benzénique par des hydronymiques peut être double (6 ou 7) ou même triple (6, 7 et 8). Ces coumarines sont des benzo-2-ones où sans préjuger des mécanismes de biosynthèses des lactones, des acides orthodoxy-cinnamiques. La figure ci-contre représente l'une de ces structures (figure 10)



**FIGURE N°10 : STRUCTURE D'UN COUMARINE**

### c-Criblage des coumarines

9,5mL≈1g de résidus est dilué dans l'eau distillée chaude en y additionnant 1,25mL d'ammoniaque à 10% ;

L'observation d'une coloration verte du mélange à la lampe UV montre la présence des coumarines.

Les coumarines hydroxylés possèdent des fluorescences bleues ou bleu-vert sous une lumière ultraviolette. Ces fluorescences suivent à leur caractérisation en chromatographie sur papier. En présence des sels de plomb, on aura des combinaisons insolubles.

### d-Propriétés physico-chimiques [31]

Ce sont des solides cristallisés blancs ou jaunâtres de saveur généralement amère, peuvent être entraînables à la vapeur d'eau.

Les hétérosides coumariniques sont solubles dans l'eau et légèrement solubles dans l'alcool.

Voici quelques indications sur ces propriétés physico-chimiques :

- Composition élémentaire : 73,96 % C + 21,90 % O + 4,14 % H;
- **Masse molaire** : 146,15 g ;
- **Point de fusion** (1013 hPa) : 342 K (69 °C) ;
- **Point d'ébullition** (1013 hPa) : 574 K (301 °C) ;
- **Hydrosolubilité** : faible (2,5 g par dm<sup>3</sup> d'eau froide et 20 g/dm<sup>3</sup> d'eau portée à ébullition) ;
- Soluble dans les alcools et dans les solvants organiques comme le dioxyde d'éthyle ou les solvants chlorés
- **Cristallographie** : solide formé de cristaux orthorhombiques;
- **Classe de toxicité** : nocif.

La coumarine simple dégage une agréable odeur, rappelant la vanilline et contribue à l'odeur de foin coupé.

## II-2-5-5-LES CAROTENOÏDES [15]

Ce sont des pigments jaune ou rouge ou rouge-orangé. Présents dans les légumes et les fruits. Ces caroténoïdes sont des substances en C<sub>40</sub> (appartenant à la famille des terpénoïdes) que leur structure permet de rattacher au tetraterpènes.

Chez les caroténoïdes se trouvent des carbures, des alcools, cétones, acides, phénols, époxydes. Ce sont des corps non saturés présentant des doubles liaisons conjuguées. Ils sont plus oxydables et détruits à la lumière.

Son criblage se procède comme suit : 5mL de chloroforme est versé dans 9,5mL ≈ 1g d'extrait sec. Si l'addition de 2,5mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2N dans ce mélange provoque le changement de couleur du bleu au rouge, les caroténoïdes sont présents. C'est le test de Carr-Price.

## II-2-5-6-LES ANTRAQUINONES [16]

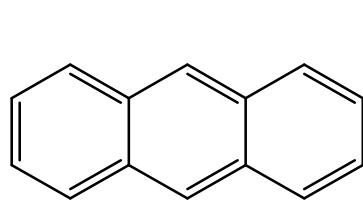
### a-Définition

Ce sont des composés phénoliques plus ou moins oxydés. Elles sont généralement localisées dans les champignons, les lichens et très abondants chez les Rubiacées, polygonacées, solanacées. Industriellement elles sont utilisées dans la fabrication de teinture notamment l'alizarine.

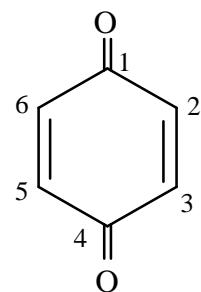
### b-Structures

Les anthraquinones sont caractérisées par la présence des composés phénoliques plus ou moins oxydés, rattachés à l'anthracène. Elles peuvent être sous forme libre ou hétérosidiques.

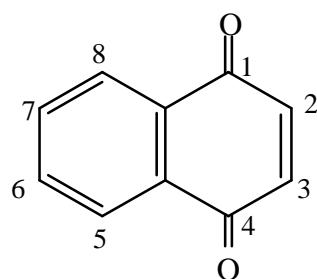
Les figures ci-contre illustrent quelques exemples de structures d'anthraquinones (figure 11)



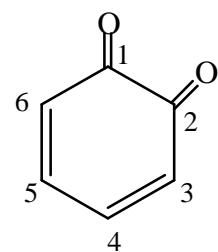
Anthracène



p-benzoquinone



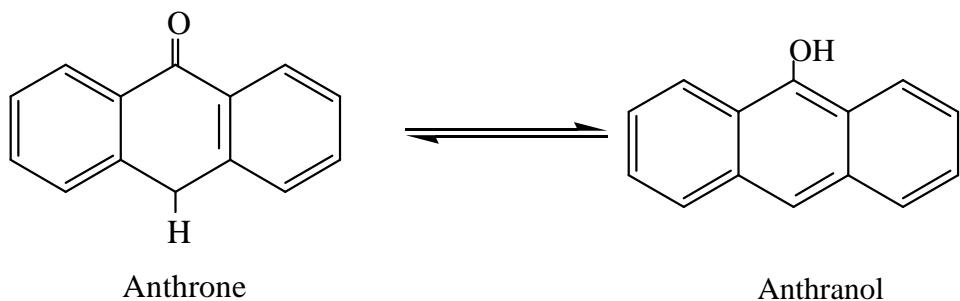
p(1,4)-naptquinone



o-benzoquinone

**FIGURE N°11 : STRUCTURES D'ANTHRAQUINONE**

L’antharanol dérive de l’anthrone par une réaction d’équilibre céto-énolique. Voici le schéma correspondant (schéma 4).



**SCHEMA N°4 : EQUILIBRE ANTHRONE-ANTHRANOL**

### **c-Criblage des anthraquinones**

3,5mL  $\approx$  1g d'extrait sec est dissous dans 30mL d'eau distillée. Après filtration, 10mL de benzène (ou éther-chloroforme) y est ajouté. Le tout est agité énergiquement dans une ampoule à décanter.

Dans la phase benzénique, 5mL d'ammoniaque à 50% y sont versés. Après agitation, l'observation d'une coloration rouge indique la présence des anthraquinones.

Les anthraquinones sont mises en évidence par le test de Börnstrager. Ce dernier se réalise en milieu alcalin comme l'ammoniaque. L'apparition de la coloration rouge confirme la positivité du résultat.

### **d-Propriétés physico-chimiques**

Ces anthraquinones sont partiellement solubles dans l'eau et miscible dans l'alcool.

- Hydrolyse à pH=7
- Solubilité égale à 0,084mg/L
- Coefficient de partage de carbure-eau égal à  $3215\text{cm}^3\cdot\text{g}^{-1}$

Ceci présente le potentiel de rétention de cette substance sur la matière organique du sol avec une durée de demi-vie égale à 8 jours.

Il représente le potentiel de dégradation de l'anthraquinone et sa vitesse de dégradation dans le sol.

Son coefficient de partage dans l'éthanol-eau est égal à 3,25. Ceci mesure l'hydrophile ou la lipophile de la substance active.

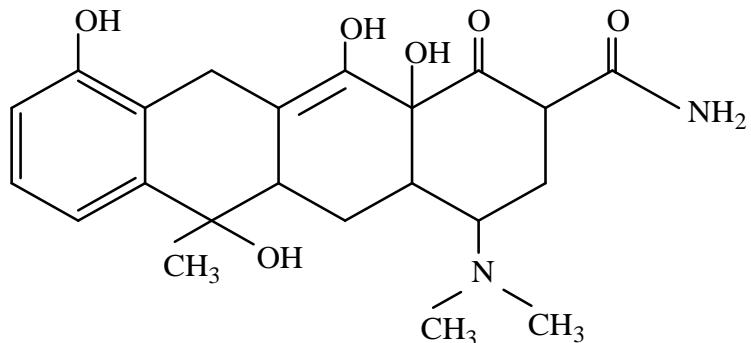
## **II-2-5-7-LES SAPONOSIDES (Saponines) [17]**

### **a-Structure**

Les saponines sont des combinaisons chimiques d'un sucre et d'un stéroïde ou d'un triterpène.

Ils sont caractérisés par leurs propriétés tension active. Ils se dissolvent dans l'eau en formant une solution moussante sous agitation. Ceci est dû à la présence d'une partie

hydrophile (ose) et d'une partie hydrophobe (génine) des saponines. La figure suivante illustre les structures de quelques saponines (figure 12).



**Tétracycline**

**FIGURE N°12 : STRUCTURE DES SAPONOSIDES**

**b-Propriétés physico-chimiques**

Les saponines ont des pouvoirs moussants en solution aqueuse dûs à la fois à la partie osidique hydrosoluble et à la partie génine hydrophobe. Ils ont une action hémolytique et toxique pour les animaux à sang froid. Les plantes possédant des saponosides ont des propriétés détergentes.

**c-Criblage des saponines**

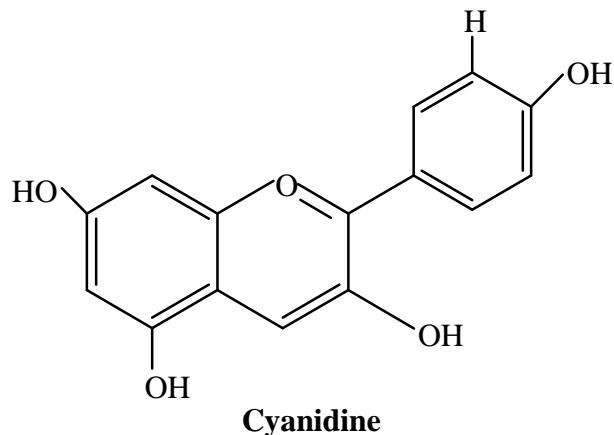
Test de mousse : Le test des saponines est très simple, il suffit d'agiter la substance énergiquement avec de l'eau. Si la mousse qui apparaît atteint une hauteur de 3cm après une heure d'agitation, le test serait positif.

**II-2-5-8-LES ANTHOCYANES [18]**

Ce sont des pigments naturels solubles dans l'eau qui vire du rouge au bleu dans le spectre visible. Ils appartiennent à la classe des composés nommés flavonoïdes.

Ils sont présents dans certains nombres de végétaux tels les myrtilles, raisins noirs, aubergines, prune bleu.

Les anthocyanes permettent aux plantes de se protéger à l'ultraviolet. Ils servent aussi d'indicateur de pH (rouge pour les acides et bleu pour les bases). Ses structures sont illustrées par l'exemple de la figure ci-après (figure 13).



**FIGURE N°13 : STRUCTURE DES ANTHOCYANES**

Quant à sa détermination, on met une goutte d'extrait sur le papier pH. L'apparition d'une coloration rouge est due à la présence des anthocyanes.

## II-2-5-9-LES HETEROSIDES CYANOGENETIQUES [19], [20]

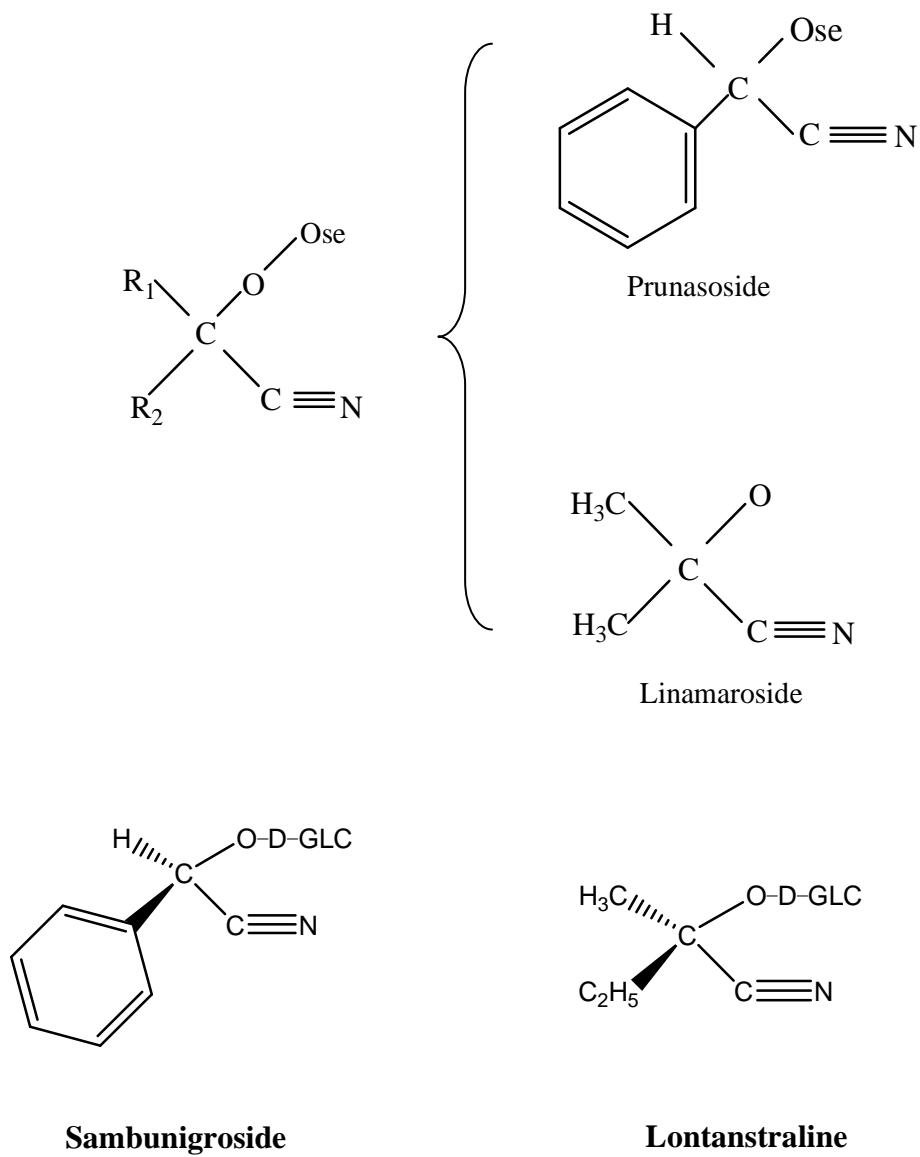
### a-Définition

Ce sont des substances végétales, qui par hydrolyse, libèrent de l'acide cyanhydrique. Ils sont des hétérosides portant un groupement nitrile.

### b-Structure

Comme le montre la structure générale ci-dessous, trois éléments peuvent être sujets à des variations :

- Le sucre
- Les radicaux  $R_1$  et  $R_2$
- La chiralité du carbone



**FIGURE N°14 : EXEMPLES D'HETEROSIDES CYANOGENETIQUES**

La cyanogénèse est la faculté que possèdent certains végétaux de produire de l'acide cyanhydrique.

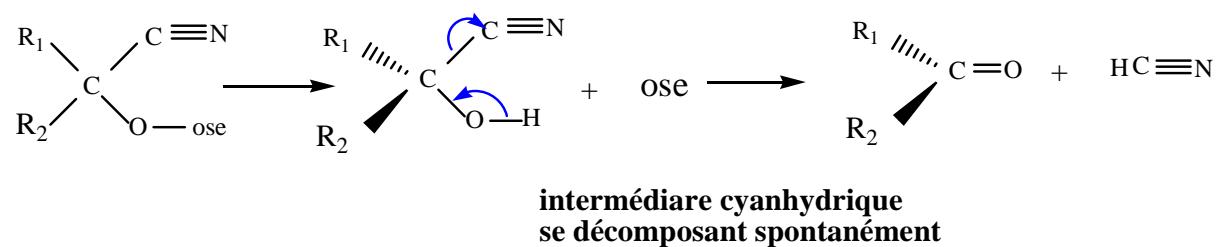
Si on excepte les cyanolipides des Sapindacées, les substances cyanogènes végétales sont toujours des hétérosides de 2-hydroxynitrile.

### c-Criblage des hétérosides cyanogénétiques

Le test d'hydrolyse de Grignard permet d'identifier des hétérosides cyanogénétiques dans un extrait.

En effet, 2g de poudre sont humectés et mélangés avec 1mL de dichlorométhane dans un ballon. Un papier Whatman trempé dans une solution de picrate de sodium est introduit dans le ballon sans toucher le produit. Le tout est porté au bain-marie à 60°C pendant 3 heures de temps.

Par ce processus, les hétérosides libèrent du sucre. Et par l'intermédiaire de l'acide cyanhydrique (HCN), le picrate de sodium de couleur jaune déposé sur le papier filtre vire au rouge. Le mécanisme d'hydrolyse est illustré par le schéma ci-dessous (schéma 5).



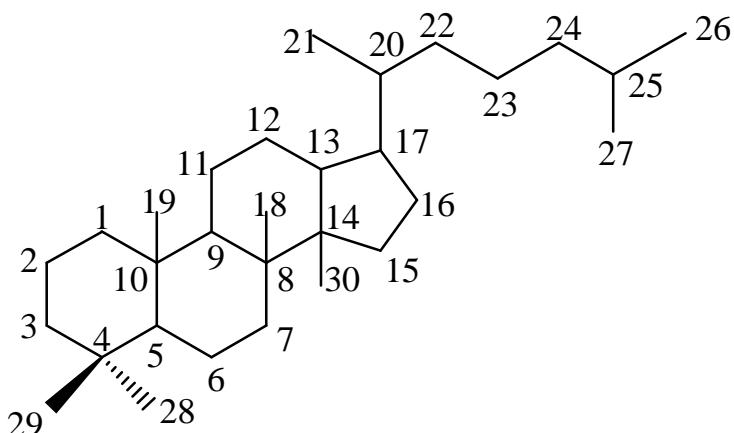
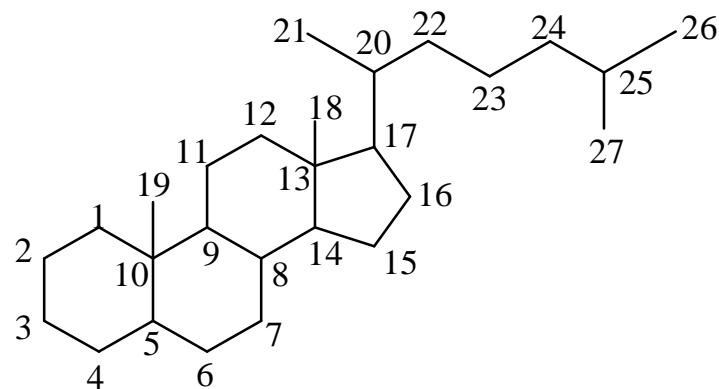
SCHEMA N°5 : HYDROLYSE DE GRIGNARD

## II-2-5-10-STEROIDES ET TRITERPENES [21]

### a-Structure

Les triterpènes sont des substances d'origine organique en C<sub>30</sub> de la famille des terpènes ayant une structure polycyclique habituellement tetra ou pentacyclique. Ils sont très

répandus dans la nature. On les trouve notamment dans les résines sous formes estérifiées ou hétérosidiques. Les stérols (cholestérols, squalènes) sont des dérivés des triterpènes. Les composés terpéniques présentent structurellement comme des polymères de l'isoprène. Entre autre, l'unité structurale de ces composés est forte car ils diffèrent par les propriétés des stérols, des saponosides, des ecdistéroïdes, des glucosides cardiotoniques, ou des alcaloïdes stéroïdiques mais ils ont tous le même squelette de base. La figure ci-dessous montre ce squelette de base (figure 15).



**Triterpène tetracyclique**

**FIGURE N°15 : STRUCTURES DE BASE DES STEROIDES ET DES TRITERPENES TETRACYCLIQUES**

## b-Criblage des stéroïdes et triterpènes

9,5mL  $\approx$  1g de résidus sont traités à l'éther de pétrole pour dégraisser les pigments.

5mL de chloroforme, 0,5g de sulfate de sodium y sont ajoutés. Après agitation, le mélange est divisé dans trois tube à essais.

- Tube n°1 : témoin

### Test de Lieberman-Burschard

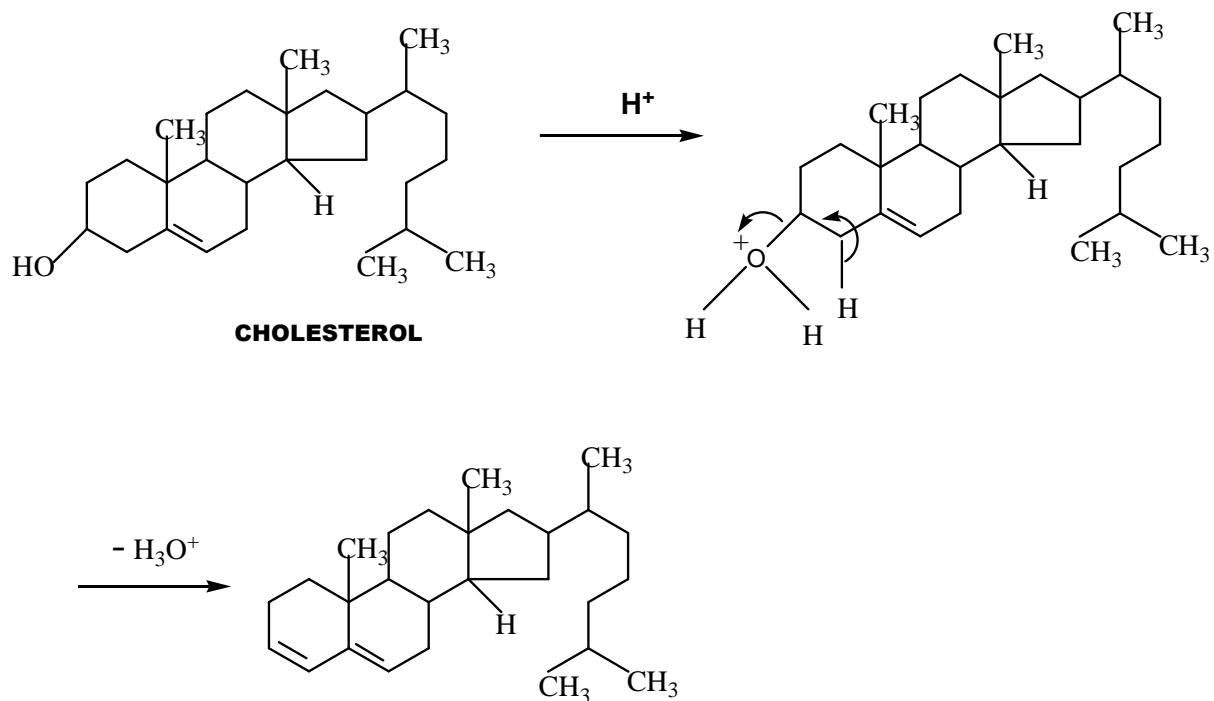
- Tube n°2 + quelques gouttes d'anhydrides acétiques + 1 goutte d'HCl concentré.

Si on obtient une coloration pourpre, les triterpènes sont présents. Par contre, si la coloration obtenue est violette ou bleu-vert ; les stéroïdes sont présents.

### Test de Salkowsky

- Tube n°3 tenant incliné d'un angle de 45°, y versant lentement de l'acide sulfurique concentré.

Ce dernier consiste à mettre en évidence la présence des stérols insaturés indiquée par l'apparition de couleur rouge à l'anneau de séparation. L'addition de l'acide sulfurique entraîne l'élimination d'eau et la formation d'insaturation supplémentaire. Ce mécanisme est illustré par le schéma ci-contre (schéma 6).



**SCHEMA N°6 : MECANISME DU TEST DE LIEBERMANN BURSCHARD**

## II-2-5-11-POLYSACCHARIDES [22]

Les polysaccharides sont arbitrairement définis comme des polymères naturels de poids moléculaire élevé résultant de la condensation d'unités osidiques élémentaires.

Chaque ose est lié à son voisin par l'intermédiaire d'une liaison O-glycosidique formée par l'élimination d'une molécule d'eau entre l'hydroxyle hémiacétalique en C<sub>1</sub> d'un ose et d'un hydroxyle d'une autre molécule osidique.

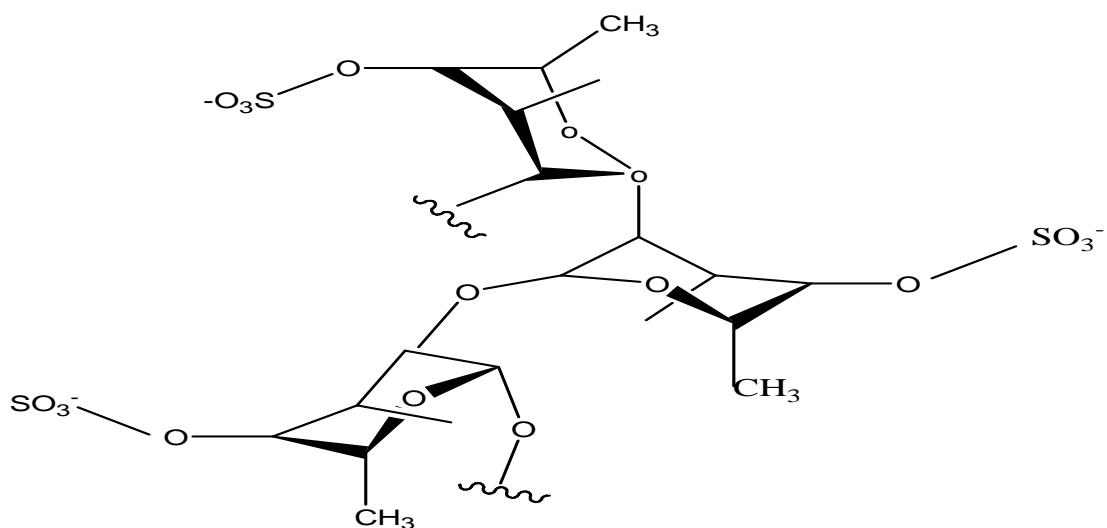
Elles jouent le rôle de protection de tissu contre la dessiccation du fait de leur pouvoir hydrophile et le maintenir la rigidité des parois cellulaires.

- Les polysaccharides peuvent se répartir en plusieurs classes :
- Les polysaccharides formés exclusivement par des oses
- Les polysaccharides ramifiés avec des lipides ou des glycolipidiques
- Les glycoprotéines et protéoglycans dans lesquels certains oses portant des groupes aminés sont liés à des protéines.
- Les polysaccharides liés entre-elles par des phosphorodiesters :

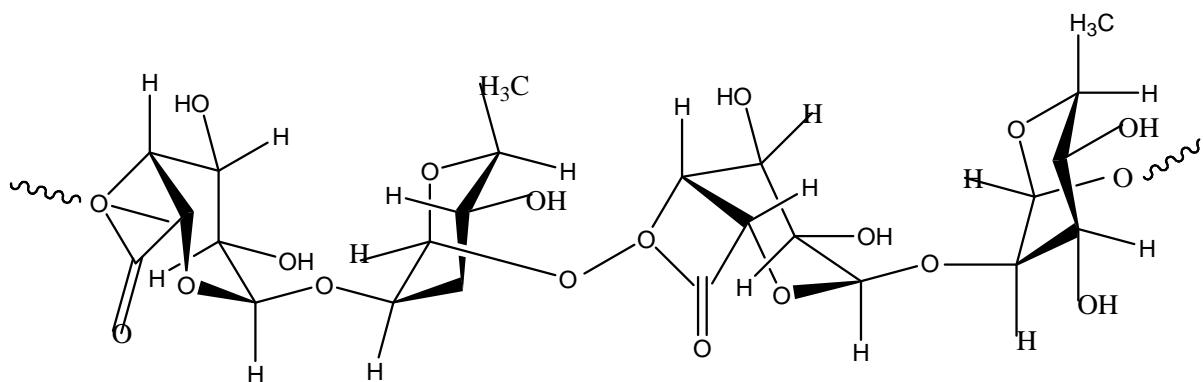
- Les acides téichiques
- Les acides nucléiques ADN et ARN

Elles sont mises en évidence par l'apparition des précipités. Pour ce fait, nous avons procédé comme suit : la méthode utilisée est la « décoction ». On fait mélanger 1g de poudre et de l'eau distillée ; les porter au chauffage. Puis après avoir filtré le mélange, on y additionne de l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à obtenir un pH inférieur à 7.

Un exemple de structure est représenté par la figure ci-après (figure 16).



$(1\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-fructose-4-sulfate}$



structure du rhamnogalacturonane

**FIGURE N°16 : QUELQUES STRUCTURES DE POLYSACCCHARIDES**

## **II-2-5-12-LES CARDENOLIDES ET BUFADIENOLIDES [23], [24]**

Ces composés sont formés par des molécules comportant un cycle lactonique  $\alpha$ - $\beta$  insaturés fixés sur le C<sub>17</sub> et une génine stéroïdique.

Les tests de Bradget-Kedde et Keller-Killiani mettent en évidence sa présence.

### **Test de Bradjet-Kedde**

C'est une chromatographie circulaire dont 0,2mL de l'extrait testé est placé au centre du papier chromatographique. Dès que le papier est imbibé de l'éluant, on le fait sécher à l'air chaud. Si la pulvérisation de ce papier dans le réactif de Kedde permet un changement de coloration en rouge pourpre, alors les lactones insaturées sont présentes.

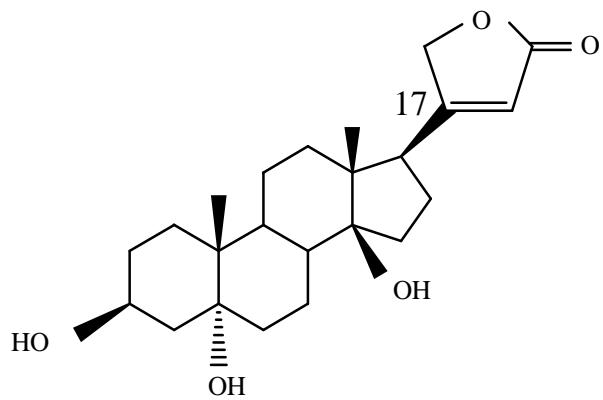
Une autre méthode consiste à ajouter quelques cristaux d'acide picrique dans le tube contenant l'extrait à testé. Puis le tout doit être sécher de nouveau à l'air libre. L'apparition d'une coloration rouge sur le test indique que le résultat est positif.

### **Test de Keller-Killiani**

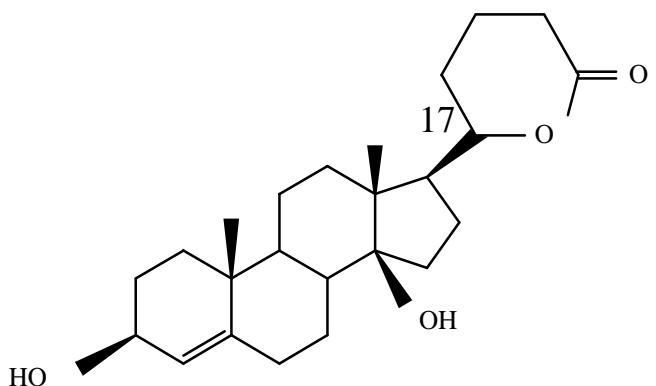
1g d'extrait sec est traité à l'éther de pétrole pour dégraisser les pigments. Le résidu après cette opération est mélangé avec une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub>. Puis y verser lentement de l'acide sulfurique concentré et de quelques gouttes de CH<sub>3</sub>COOH glacial en inclinant le tube d'un angle de 45°. La formation d'un anneau de séparation de couleur pourpre marque la présence des désoxy-2-sucres.

La présence des lactones insaturés et des désoxy-2-sucres est due au cardénolides et bufadiénolides.

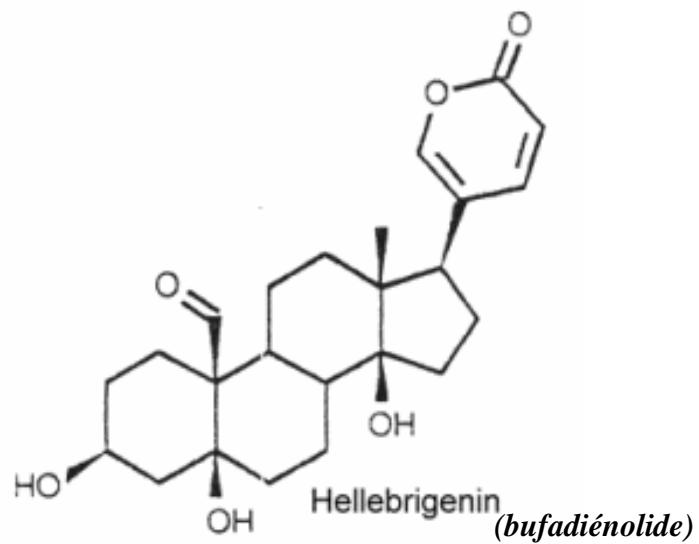
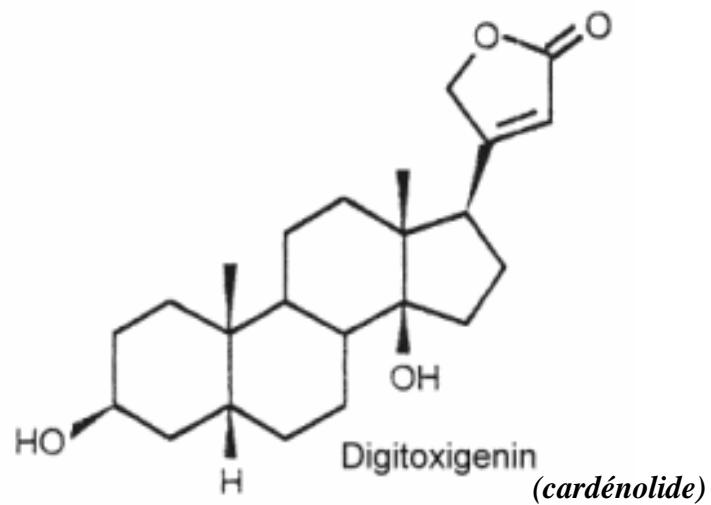
Le cycle lactonique sur C<sub>17</sub> est montré par la figure ci-contre (figure 17)



Ulzarigénine



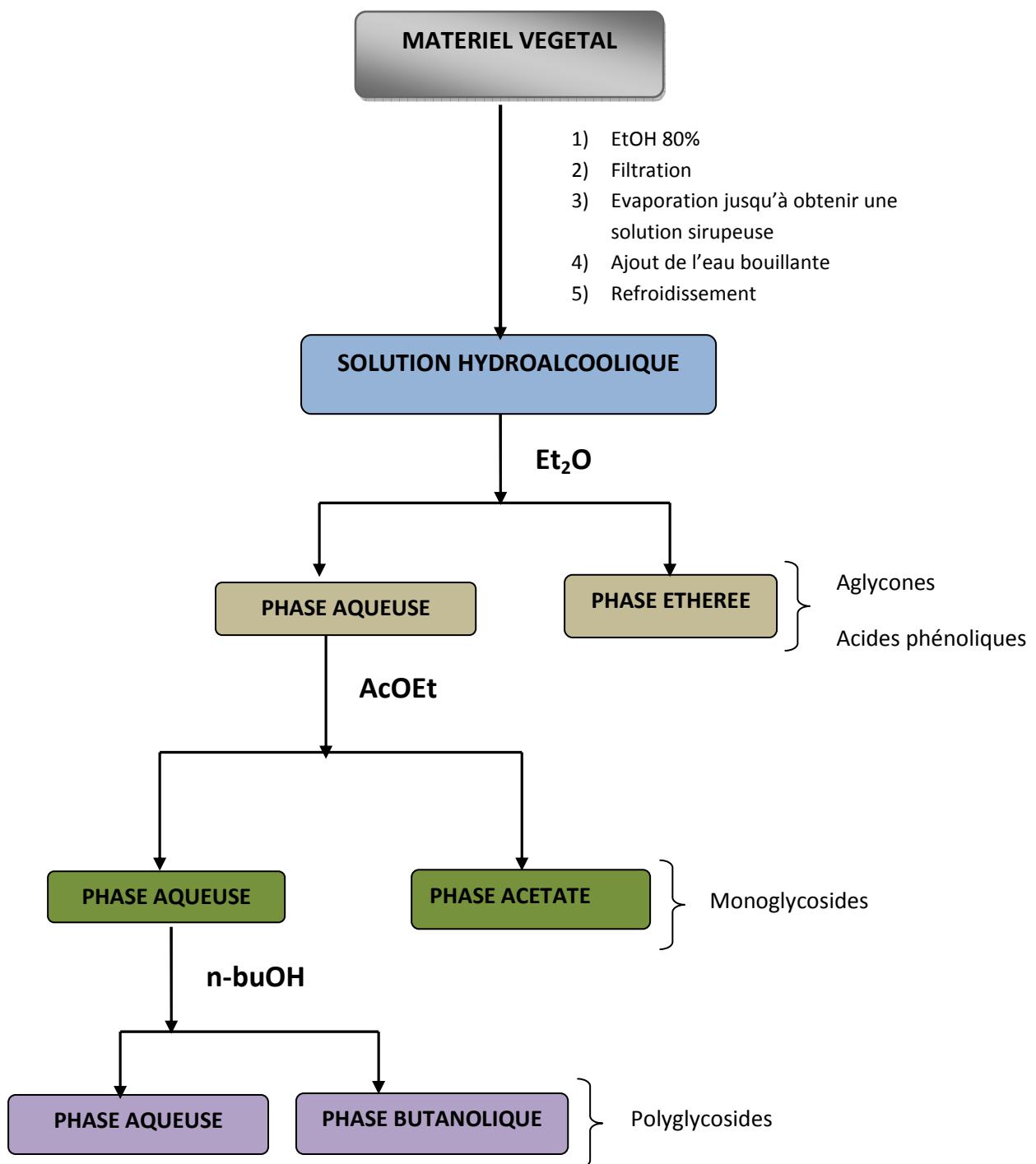
Scillarénine



**FIGURE N°17 : STRUCTURES DES CARDENOLIDES ET BUFADIENOLIDES**

### II-3-EXTRACTION DES FLAVONOÏDES [25]

Ce procédé consiste à extraire les composés flavonoïdiques contenus dans un extrait (hydroalcoolique dans notre cas). La manipulation de l'extraction s'effectue comme indique le schéma du protocole expérimental (schéma 7)



SCHEMA N°7 : PROTOCOLE D'EXTRACTION DES FLAVONOÏDES

## II-4-CHROMATOGRAPHIE [26]

### II-4-1-GENERALITES

La chromatographie est une technique d'analyse chimique utilisée pour séparer les constituants d'un mélange. Cette technique est fondée sur le principe de l'adsorption sélective des différents constituants (phase mobile) sur une phase fixe, ou sur leur partage en présence de phase liquide ou gazeuse. La chromatographie fût découverte en 1906 par le botaniste Russe, Mikhaïl Tsevt, mais il fût attendre les années 1930 pour qu'elle soit largement utilisée. Mikhaïl Tsevt avait constaté la présence des constituants colorés de chlorophylle brute lorsque sa solution montait le long d'un papier filtre. Les différents constituants formaient en effet des bandes de couleurs différents.

On peut classer les méthodes chromatographiques d'après la nature des phases utilisées ou celle des phénomènes mises en œuvre dans la séparation.

On distingue quatre sortes de chromatographie couramment utilisées :

- ✓ Chromatographie sur Couche Mince (CCM)
- ✓ Chromatographie sur Papier (CP)
- ✓ Chromatographie sur Colonne (CC)
- ✓ Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

### II-4-2-CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM) [26], [27]

#### II-4-2-1-Définition et appareillage

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium.

Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant.

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont :

- ◆ La cuve chromatographique : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.

- ◆ La phase stationnaire : une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris) l'amidon ou un polymère organique.
- ◆ L'échantillon : environ un microlitre ( $\mu\text{L}$ ) de solution diluée (2 à 5 %) du mélange à analyser, déposé en point de repère situé au-dessus de la surface de l'éluant.
- ◆ L'éluant : un solvant pur ou un mélange : il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon.

#### **II-4-2-2-Principe de la technique**

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée sur la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de la rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption. Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires.

#### **II-4-2-3-Application de la CCM**

Lorsque les conditions opératoires sont connues, elle permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé organique. Si l'analyse, réalisée avec divers solvants et différents adsorbants, révèle la présence d'une seule substance, on peut alors considérer que cet échantillon est probablement pur.

De plus, étant donné que la chromatographie sur couche mince indique le nombre de composants d'un mélange, on peut employer pour suivre la progression d'une réaction.

#### II-4-2-4-Adsorbants et plaques chromatographiques

Par ordre d'importance décroissante, les adsorbants employés en CCM sont : le gel de silice, l'alumine, le kieselguhr et la cellulose.

Les plaques vous seront fournies prêtes à l'emploi.

#### II-4-2-5-Choix de l'éluant

L'éluant est formé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvants. Un éluant qui entraîne tous les composants de l'échantillon est trop polaire ; celui qui empêche leur migration ne l'est pas suffisamment.

Choix de l'éluant dans le cas d'analyse :

- D'hydrocarbures : hexane, éther de pétrole ou benzène.
- De groupements fonctionnels courants : hexane ou éther de pétrole mélangés en proportions variables avec du benzène ou de l'éther diéthylique forment un éluant de polarité moyenne.
- De composés polaires : éthanoate d'éthyle, propanone ou méthanol.

#### II-4-2-6-Dépôt de l'échantillon

L'échantillon est mis en solution (2 à 5 %) dans un solvant volatil, qui n'est pas forcément le même que l'éluant : on emploie fréquemment le trichlorométhane (chloroforme), la propanone ou le dichlorométhane. L'échantillon est déposé en un point de la plaque située à environ 1cm de la partie inférieure.

Il est important que le diamètre de la tache produite au moment du dépôt soit faible ; idéalement, il ne devrait pas dépasser 3mm. Ce sont généralement les dépôts les moins étalés qui permettent les meilleures séparations. Pour augmenter la quantité déposée, il est toujours préférable d'effectuer plusieurs dépôts au même point, en sachant rapidement entre chaque application plutôt que de déposer en une seule fois un grand volume d'échantillon qui produirait une tache plus large.

L'échantillon est déposé à l'aide d'une micropipette ou d'un tube capillaire en appuyant légèrement et brièvement l'extrémité de la pipette sur la couche d'adsorbant en prenant soin de ne pas le détériorer.

On vérifie l'identité des composants présumés d'un échantillon, en procédant à un dépôt séparé d'une solution de chacun d'eux puis à celui de leur mélange. Ces solutions témoins permettent de comparer la migration de chaque composé avec celle de l'échantillon à analyser.

#### **II-4-2-7-Développement de la plaque**

Le développement consiste à faire migrer le solvant sur la plaque. Dans les analyses usuelles de laboratoire, le principal type de développement de la chromatographie ascendante : la plaque est placée en position verticale dans une cuve et le solvant qui en recouvre le fond monte par capillarité.

Le niveau de liquide est ajusté à environ 0,5cm du fond de la cuve puis on introduit la plaque. Pendant le développement du chromatogramme, la cuve doit demeurer fermée et ne pas être déplacée.

Lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1cm de l'extrémité supérieure, la plaque est retirée de la cuve, le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée à l'air libre ou à l'aide d'un séchoir.

#### **II-4-2-8-Révélation**

Lorsque les composants de l'échantillon analysé sont colorés, leur séparation est facilement observable sur la plaque ; dans le cas contraire, on doit rendre les taches visibles par un procédé de révélation. Les taches sont ensuite cerclées au crayon. Les méthodes usuelles de révélation sont les suivantes : radiation UV, fluorescence, iodation, atomisation.

Sauf indication contraire, nous utiliserons les radiations UV. En exposant la plaque à une source de radiation UV, certains composés apparaissent sous forme de taches brillantes

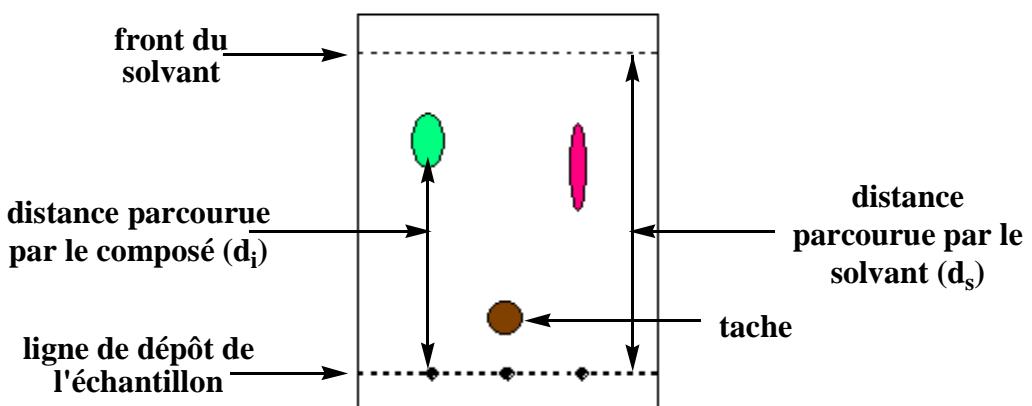
Si un indicateur fluorescent est incorporé à l'adsorbant, la plaque entière devient fluorescente lorsqu'elle est soumise à une radiation UV ; les composés y sont révélés sous forme de taches sombre.

#### II-4-2-9-Calcul de R<sub>f</sub> (référence frontale)

Pour pouvoir interpréter les résultats d'une chromatographie, il est nécessaire de connaître R<sub>f</sub> et pour cela deux distances sont indispensables.

Soit **d<sub>i</sub>** : distance parcourue par le composé (mesurée au centre de la tache)

Soit **d<sub>s</sub>** : distance parcourue par le front du solvant



**SCHEMA N°8 : DESCRIPTION D'UN PAPIER CHROMATOGRAPHIQUE**

Le calcul de la référence frontale est donné par la formule suivante

$$R_f = \frac{d_i}{d_s} \text{ (sans unité)}$$

Les hauteurs  $d_i$  et  $d_s$  sont exprimés dans la même unité.

Le rapport frontal rend compte de la manière dont a migré l'espèce considérée.

Pour une espèce donnée le rapport frontal dépend de la nature de l'éluant et de la nature de la phase fixe.

#### **II-4-2-10-Description d'une analyse par CCM selon l'ordre chronologique**

##### **❖ Préparation de la cuve chromatographique**

- Introduire l'éluant ou le mélange de solvant
- Ajuster le niveau à environ 0,5cm du fond de la cuve
- Garnir l'intérieur de la cuve d'un papier filtre imprégné d'éluant et plaqué contre les parois ; une ouverture est ménagée dans le filtre pour observer le développement du chromatogramme.
- Fermer le récipient (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant)

##### **❖ Dépôt de l'échantillon sur la plaque**

- Procéder au nettoyage de la plaque si nécessaire
- Dissoudre l'échantillon dans un solvant approprié en solution de 2 à 5 %.
- Déposer environ 0,5ml de la solution en point situé à 1cm de l'extrémité inférieure de la plaque ; le diamètre de la tache doit être environ 2mm pour la disposition de plusieurs produits.
- Sécher à l'aide d'un séchoir ; éventuellement faire des nouvelles applications.

##### **❖ Développement du chromatogramme**

- Placer la plaque dans la cuve en position verticale
- Refermer le récipient qui ne doit plus être déplacé.

Lorsque le front du solvant se trouve à 1cm de l'extrémité supérieure de la plaque, la retirer et marquer cette position. (Le trait peut être tracé à l'avance et servir de repère pour arrêter l'élution).

#### **II-4-3-CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER [28]**

Le mélange à analyser est préalablement mise en solution. On dépose une petite tache de ce mélange liquide sur une feuille de papier Whatman N°3. Le solvant migre par

capillarité, entraînant avec lui les différents constituants, qui s'arrête plus ou moins proche de la tache initiale selon leur interaction avec la cellulose du papier.

La technique générale de développement et de révélation est la même que celle de la mise en œuvre en chromatographie sur couche mince, cependant, on ne doit pas effectuer la révélation avec des agents corrosifs attaquant le papier. Souvent on utilise la radiation UV.

## **II-4-4-CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE [29]**

Alors que les autres méthodes chromatographiques sont habituellement employées pour l'analyse et la séparation de très faibles quantités de produits, la chromatographie sur colonne peut être une méthode préparative ; elle permet en effet la séparation des constituants d'un mélange et leur isolement, à partir d'échantillons dont la masse peut atteindre plusieurs grammes. Elle présente cependant plusieurs inconvénients.

- De grandes quantités de solvant sont nécessaires à l'élution
- La durée de l'élution est généralement très grande
- La détection des composés exige une attention constante.

Elle est adaptée à la purification de faibles quantités de produit, lorsque les conditions opératoires sont au point. Cependant, la méthode étant très empirique, sa mise au point nécessite souvent de nombreux essais.

### **II-4-4-1-Remplissage de colonne par voie humide**

On prépare dans un bécher un mélange homogénéisé de l'adsorbant et du moins polaire de solvants utilisé pour le développement en ajoutant par petites quantités l'adsorbant dans le solvant pour obtenir une bouillie suffisamment fluide pour couler facilement. A l'aide d'un entonnoir, on verse suffisamment de bouillie pour que l'adsorbant qui se dépose progressivement forme une couche d'environ 2cm. On tapote les parois de la colonne pour favoriser le tassement de l'adsorbant. On ouvre alors le robinet pour que le solvant s'écoule lentement et on poursuit l'addition de la bouillie homogénéisé par portions successives. Quand tout l'adsorbant est introduit, on laisse décanter jusqu'à ce que le liquide qui surnage soit limpide.

Pendant l'opération, on doit veiller à ce que le niveau de solvant soit toujours supérieur à celui de l'adsorbant.

#### II-4-4-2-Remplissage par voie sèche

La colonne est remplie au deux tiers par le moins polaire des deux solvants et l'adsorbant en poudre est ajouté en portions successives dans la colonne à l'aide d'un entonnoir ; pendant l'addition, on frappe continuellement sur les parois pour obtenir un tassement maximal. Quand la première portion forme une couche d'environ 2cm on ouvre le robinet pour faire couler lentement le solvant. On termine comme précédemment.

#### II-4-5-CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE (CPG) [1], [30]

Elle est assez récente et permet de séparer des mélanges de gaz ou de composé vaporisable à haute température. Le mélange à analyser est injecté dans une colonne métallique de quelques millimètres de diamètre, enroulée sur elle-même et contenant la phase fixe. Les composés sont véhiculés sous pression d'un gaz inerte, le gaz vecteur. Il s'agit de l'hélium ou de l'argon. Le temps qui met un constituant en jeu pour parcourir la colonne est son temps de rétention, qui est caractéristique du composé. Les constituants sont ainsi séparés par la différence entre leur temps de rétention respectif. Le choix de phase stationnaire est déterminé pour la réussite de la séparation. Cette phase est choisie selon sa porosité et ses interactions avec la phase mobile, qui dépend en particulier de la différence de polarité entre les deux phases. La CPG est un moyen de séparation très efficace. Elle est utilisée dans les raffineries et dans l'industrie chimique.

## Partie-III

# RESULTS ET DISCUSSIONS

### III-RESULTATS ET DISCUSSIONS

#### III-1-BAREMES UTILISES

Les résultats des expériences effectuées sont donnés dans les tableaux ci-après dont les barèmes utilisés sont indiqués comme suit :

**Tableau n°1** : Barèmes utilisés pour les appréciations

NOTATIONS	PRECIPITATION	COLORATION	INDICE DE MOUSSE
-	Négatif	Néant	0 à 2 cm
+	Faible	Faible	2 à 4 cm
++	Abondante	Franche	4 à 5 cm
+++	Forte	Intense	Supérieur à 5cm

#### III-2-RESULTATS DES SCREENING PHYTOCHIMIQUES DES FEUILLES

Les résultats des screening phytochimiques ci-dessous ont été obtenus à partir de la poudre et de l'extrait hydroalcoolique des feuilles de la plante.

##### III-2-1-Crible des alcaloïdes

**Tableau n°2** : Résultats des criblages des alcaloïdes sur les feuilles

Quantité de l'extrait	Tests	Réactifs	Résultats attendus	Observations	Résultats de l'expérience
Poudre sèche de 2,5g	Macération chlorhydrique	HCl à 5%			
	Mayer	HgCl <sub>2</sub> /KI	Précipité blanc	Pas de précipité	-
	Wagner	Hg/KI	Précipité brun	Pas de précipité	-
	Dragendorff	Bi(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> /KI	Précipité orangé/rouge	Pas de précipité	-

Quantité de l'extrait	Tests	Réactifs	Résultats attendus	Observations	Résultats de l'expérience
Un volume équivalent à 0,5g≈ 9,5gml	Préliminaire	HCl à 2N + NaCl			
	Mayer	HgCl <sub>2</sub> /KI	Précipité blanc	Pas de précipité	-
	Wagner	Hg/KI	Précipité brun	Pas de précipité	-
	Dragendorff	Bi(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> /KI	Précipité orange/rouge	Pas de précipité	-

Discussion : Les résultats négatifs montrent l'absence des alcaloïdes dans les feuilles de notre plante.

### III-2-2-Criblage des saponines

Tableau n°3 : Résultats du criblage des saponines sur les feuilles

Quantité de l'extrait	Test	Réactif	Résultat attendu	Observation	Résultat de l'expérience
0,5g de poudre sèche	mousse	Eau distillée	Hauteur de mousse supérieure ou égale à 3cm	Pas de mousse	-

Discussion : l'absence des mousses à la fin de l'agitation de l'extrait nous révèle que notre plante ne contient pas des saponines.

### III-2-3-Criblage des hétérosides cyanogénétiques

Tableau n°4 : Résultats de test des hétérosides cyanogénétiques sur les feuilles

Quantité de l'extrait	Test	Réactif	Résultat attendu	Observation	Résultat de l'expérience
2g de poudre sèche humectée de l'eau distillée	Grignard ou acide picrique	Eau distillée + CH <sub>3</sub> Cl + papier Whatman trempé de picrate de sodium	Changement de coloration du papier de jaune au rouge	Pas de changement de coloration	-

Discussion : Le résultat négatif nous amène à déduire que cette plante ne renferme pas des hétérosides cyanogénétiques.

### III-2-4-Criblage des flavonoïdes

**Tableau n°5** : Résultats des tests des flavonoïdes sur les feuilles

Quantité de l'extrait	Tests	Réactifs	Résultats attendus	Observations	Résultats de l'expérience
Extrait sec de 0,5ml de filtrat	Wilstater	EtOH à 80% + HCl concentré + 1 ou 2 grains de tournure de magnésium	Rouge (flavone) Rouge pourpre (flavonol) Rouge violacé (flavones et flavonols)	Rouge pourpre persistante	+++
	Wilstater modifié	HCl concentré + 1 ou 2 grains de tournure de magnésium + alcool isoamilique	Phase supérieure : pourpre (flavonol) Rouge (flavone)	Coloration pourpre de la phase supérieure	+

Discussion : Le résultat vérifie la présence des flavonoïdes, plus précisément le flavonol, dans notre plante.

### III-2-5-Criblage des leucoanthocyanes

**Tableau n°6** : Résultats du test des leucoanthocyanes sur les feuilles

Quantité de l'extrait	Test	Réactif	Résultat attendu	Observation	Résultat de l'expérience
Extrait sec 0,5g≈ 9,5gml de filtrat	Bate-smith	HCl concentré	Coloration rouge ou violet	Coloration vert-foncé	-

Discussion : L'expérience montre que notre plante ne renferme pas des leucoanthocyanes.

### III-2-6-Criblage des tanins et polyphénols

**Tableau n°7** : Résultats des tests des tanins et polyphénols sur les feuilles

Quantité de l'extrait	Tests	Réactifs	Résultats attendus	Observation	Résultats de l'expérience
0,5g de l'extrait sec ≈ 9,5ml	polyphénols	Eau distillée chaude + 4 gouttes de NaCl 10% + gélatine salée	Précipité noir bleuâtre	Pas de précipité	-
	Tanins	Eau distillée chaude + 4 gouttes de NaCl à 10% + gélatine salée	Précipité vert-noir	Précipité vert-noir	++
	Tanins condensés	FeCl <sub>3</sub> + MeOH	Coloration verte ou bleuâtre ou bleu-noire	Coloration bleu-verte	-

**Discussion** : Notre plante ne renferme que des tanins ; ceci se vérifie par l'apparition de la coloration vert-noir sur la solution. Par contre, cette plante ne contient pas de tanins condensés et de polyphénols.

### III-2-7-Criblage des stéroïdes et triterpènes

**Tableau n°8** : Résultats des criblages des stéroïdes et triterpènes sur les feuilles

Quantité de l'extrait	Tests	Réactifs	Résultats attendus	Observation	Résultats de l'expérience
0,5g de l'extrait sec ≈ 9,5ml	Liebermann Burschard	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> + Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + anhydride acétique + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentré	Coloration pourpre ou violet ou bleu-vert	Coloration bleuâtre	-
	Salkowsky	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentré	Anneau de séparation coloré en rouge	Anneau de séparation blanc	-

**Discussion** : Le résultat nous montre que cette plante ne contient pas stéroïdes et des terpènoïdes.

### III-2-8-Criblage des coumarines

**Tableau n°9** : Résultat des tests des coumarines sur les feuilles

Quantité de l'extrait	Test	Réactif	Résultat attendu	Observation	Résultat de l'expérience
0,5g extrait sec		Eau distillée chaude + NH <sub>4</sub> OH à 10%	Coloration verte à la lampe UV	Coloration vert persistante	+++

Discussion : La persistance de la coloration verte sous rayon ultraviolette montre la présence intensive des coumarines dans notre plante.

### III-2-9-Criblage des anthocyanes

**Tableau n°10** : Résultat du test des anthocyanes sur les feuilles

Quantité de l'extrait	Test	Réactif	Résultat attendu	Observation	Résultat de l'expérience
Goutte d'extrait éthanolique		Une goutte d'extrait éthanolique sur le papier pH	Le papier pH vire en rouge	Virage du papier pH en jaune-vert	-

Discussion : Le résultat révèle que notre plante ne contient pas des anthocyanes.

### III-2-10-Criblage des quinones

**Tableau n°11** : Résultat du test des quinones

Quantité de l'extrait	Test	Réactif	Résultat attendu	Observation	Résultat de l'expérience
0,5g de l'extrait sec		Ether-CH <sub>3</sub> Cl ou ether-benzène + NH <sub>4</sub> OH	Phase supérieure vire au rouge	Coloration brune foncée de la phase supérieure	-

Discussion : La coloration brune foncée de la phase supérieure est le signe d'un résultat négatif. En effet, notre plante ne contient pas des quinones.

### III-2-11-Criblage des polysaccharides

**Tableau n°12** : Résultat du test des polysaccharides sur les feuilles

Quantité de l'extrait	Test	Réactif	Résultat attendu	Observation	Résultat de l'expérience
0,5g de l'extrait sec		EtOH à 80%	Précipité	Pas de précipité	-

Discussion : l'absence des précipités montre l'inexistence des polysaccharides dans notre plante.

### III-2-12-Criblages des cardénolides et bufadiénolides

**Tableau n°13** : Résultats des tests des cardénolides et bufadiénolides sur les feuilles

Quantité de l'extrait	Tests	Réactifs	Résultats attendus	Observations	Résultats de l'expérience
	Bradjet-Kedde	Quelques grains d'acide picrique	Couleur rouge	Couleur marron claire	-
0,5g de l'extrait sec	Keller-Killiani	FeCl <sub>3</sub> dans H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + CH <sub>3</sub> COOH glacial	Existence de l'anneau de séparation rouge ou pourpre	Anneau de séparation brun foncé	-

Discussion : La négativité des tests de Bradjet-Kedde et Keller-Killiani met en évidence l'absence des cardénolides et bufadiénolides dans notre plante.

### III-2-13-Criblage des caroténoïdes

**Tableau n°14** : Résultat du test des caroténoïdes sur les feuilles

Quantité de l'extrait	Test	Réactif	Résultat attendu	Observation	Résultat de l'expérience
0,5g de l'extrait sec	Carr-Price	CH <sub>3</sub> Cl + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Apparition de couleur bleu ou rouge	Coloration verte	-

Discussion : Ce résultat négatif montre que notre plante ne contient pas des caroténoïdes.

### III-3-DETERMINATION DES ALCALOIDES PAR COLORIMETRIE

**Tableau n°15** : Résultats des tests des alcaloïdes par colorimétrie

Quantité de l'extrait	Numéro du tube	Réactifs	Résultats attendus	Résultat de L'expérience	Noms des Alcaloïdes
Quelques volumes d'extrait liquide	1	Acide nitrique concentré	Rouge (brucine) ; Violet (colchicine)	+	Brucine
	2	Sulfonitrique	Jaune ou bleu-violet (conessine)	+	Conessine
	3	Sulfoformulé	Pourpre ou violet (morphine)	-	-
	4	Acide sulfurique	Bleu violacé ou rouge (alcaloïdes indoliques)	-	-

#### Interprétation :

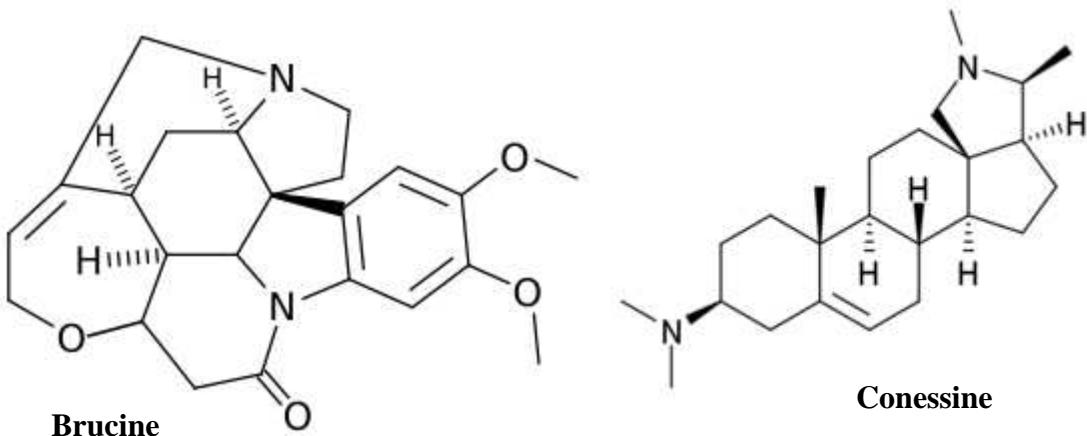
D'après les études préétablies, la positivité des tests d'alcaloïde dans le tube n°1 est due par la présence de brucine dans l'extrait. Ce dernier prend une coloration rouge en présence de l'acide nitrique concentré.

De même pour le cas du tube n°2, la présence de conessine fait virer la couleur de l'extrait en jaune. D'où la positivité du résultat.

Par contre, pour les tubes n°3,4, le virage de couleur n'amène pas à l'admission de la présence respective de la morphine et des alcaloïdes indoliques.

En bref, notre plante renferme de la brucine et de conessine mais elle ne contient pas des morphines et des alcaloïdes indoliques.

Le figure ci-après montre les structures de conessine et de brucine (figure n°18)



**FIGURE N°18 : STRUCTURES DE CONESSINE ET DE BRUCINE [33], [34]**

**III-4-TABLEAU RECAPITULATIF DES RESULTATS DES CRIBLAGES PHYTOCHIMIQUES**

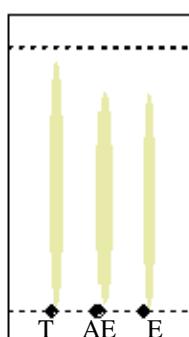
**Tableau n°16** : Récapitulation des tests de screening effectués sur les feuilles

Familles chimiques	Tests	Résultats de l'expérience
<b>Alcaloïdes (macération chlorhydrique)</b>	Mayer	-
	Wagner	-
	Dragendorff	-
<b>Alcaloïdes (préliminaire)</b>	Mayer	-
	Wagner	-
	Dragendorff	-
<b>Saponines</b>	Mousses	-
<b>Hétérosides cyanogénétiques</b>	Grignard ou acide picrique	-
<b>Flavonoïdes</b>	Wilstater	+++
	Wilstater modifié	++
<b>Leucoanthocyanes</b>	Bate-Smith	-
	Polyphénols	-

<b>Tanins et Polyphénols</b>	Tanins	++
	Tanins condensés	-
<b>Stéroïdes et triterpènes</b>	Liebermann Burscahrd	-
	Salkowsky	-
<b>Coumarines</b>		+++
<b>Anthocyanes</b>		-
<b>Quinones</b>		-
<b>Polysaccharides</b>		-
<b>Cardénolides et bufadiénolides</b>	Bradjet-Kedde	-
	Keller-killiani	-
<b>Caroténoïdes</b>	Carr-price	-

### III-5-RESULTATS DES CHROMATOGRAPHIES SUR PAPIER ET INTERPRETATION

#### III-5-1-Résultats des chromatographies sur papier avant la révélation à l'ammoniac

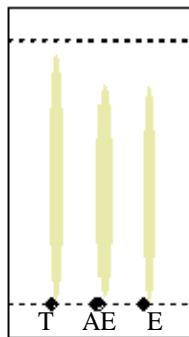


Eluant : acide acétique 15%

Sous UV,  $\lambda=254\text{nm}$

Système : Papier Whatman N°3

Légendes : T = Témoin    AE= Acétate d'Ethyle  
E = Eau (aqueuse)

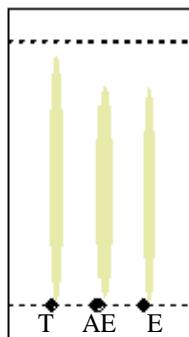


Eluant : acide acétique 60%

Sous UV,  $\lambda=254\text{nm}$

Système : Papier Whatman N°3

Légendes : T = Témoin    AE= Acétate d'Ethyle  
E = Eau (aqueuse)

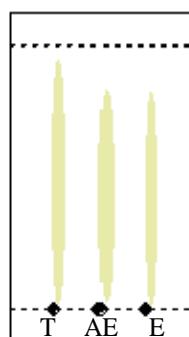


Eluant : acide acétique 60%

Sous UV,  $\lambda=365\text{nm}$

Système : Papier Whatman N°3

Légendes : T = Témoin    AE= Acétate d'Ethyle  
E = Eau (aqueuse)



Eluant : acide acétique 60%

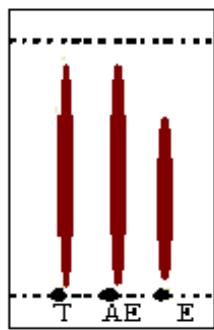
Sous UV,  $\lambda=365\text{nm}$

Système : Papier Whatman N°3

Légendes : T = Témoin    AE= Acétate d'Ethyle  
E = Eau (aqueuse)

**SCHEMAS N°9 : CHROMATOGRAMMES DES FLAVONOÏDES ISSUES  
DES FEUILLES AVANT RÉVÉLATION À L'AMMONIAC**

### III-5-2- Résultats des chromatographies sur papier après la révélation à l'ammoniac



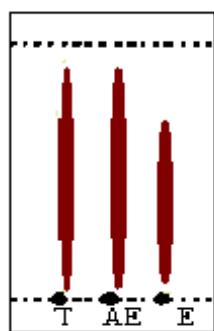
Eluant : acide acétique 15%

Révélateur : ammoniac ( $\text{NH}_3$ )

Sous UV,  $\lambda=254\text{nm}$

Système : Papier Whatman N°3

Légendes : T = Témoin AE= Acétate d'Ethyle  
E = Eau (aqueuse)



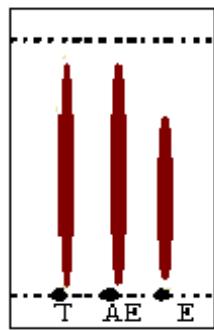
Eluant : acide acétique 60%

Révélateur : ammoniac ( $\text{NH}_3$ )

Sous UV,  $\lambda=254\text{nm}$

Système : Papier Whatman N°3

Légendes : T = Témoin AE= Acétate d'Ethyle  
E = Eau (aqueuse)



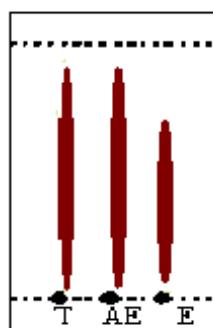
Eluant : acide acétique 15%

Révélateur : ammoniac ( $\text{NH}_3$ )

Sous UV,  $\lambda=365\text{nm}$

Système : Papier Whatman N°3

Légendes : T = Témoin AE= Acétate d'Ethyle  
E = Eau (aqueuse)



Eluant : acide acétique 60%  
 Révélateur : ammoniac ( $\text{NH}_3$ )  
 Sous UV,  $\lambda=365\text{nm}$   
 Système : Papier Whatman N°3  
 Légendes : T = Témoin AE= Acéate d'Ethyle  
 E = Eau (aqueuse)

**SCHEMA N°10 : CHROMATOGRAMME DES FLAVONOÏDES ISSUES DES FEUILLES APRES REVELATION A L'AMMONIAC**

**Tableau n°17** : Evaluation des tests des chromatographies sur papier

Support	Eluants	$\lambda$ en (nm)	Couleur avant révélation à $\text{NH}_3$	Couleur après révélation à $\text{NH}_3$	Référence frontal ( $R_f$ )		
					T	AE	E
Papier Whatman	Acide acétique 15%	254	Jaune-vert	Brun	0,35	0,38	0,23
		365	Jaune-vert	Brun	0,35	0,38	0,23
	Acide acétique 60%	254	Jaune-vert	Brun	0,72	0,57	0,53
		365	Jaune-vert	Brun	0,72	0,57	0,53

Notation : T = Témoin AE= Acéate d'Ethyle E = Eau (aqueuse)

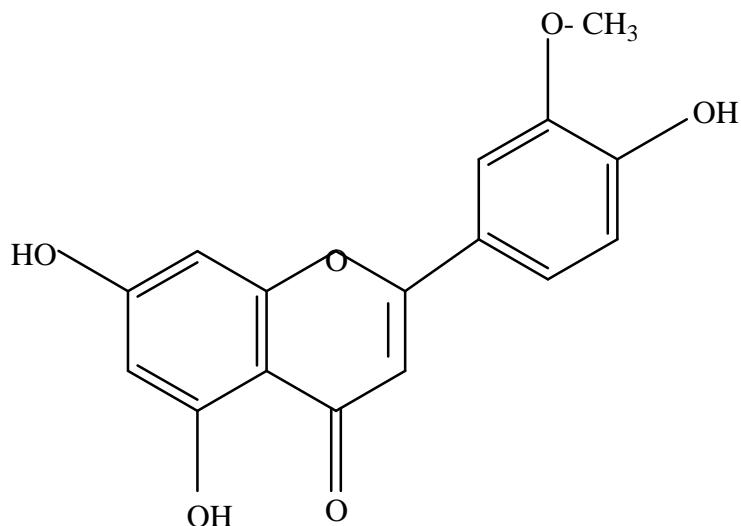
**III-5-3-INTERPRETATION DES RESULTATS DES CHROMATOGRAPHIES**

La méthode chromatographique nous permet d'évaluer le type des composés susceptibles d'être présents dans un extrait. Dans notre cas, on a affaire à un procédé d'extraction des flavonoïdes.

Les résultats des analyses chromatographiques sur papier (Whatman n°3) dans le système d'éluant acide acétique 15% et 60%, donnant les couleurs avant et après révélation ainsi que les références frontaux (Rf) de chaque produit sont consignés dans le tableau n°17.

En effet, la couleur jaune-vert, qui après révélation à l'ammoniac devient brune dans l'acide acétique 15% montre l'existence des glycosides ou des flavones ou des chalcones ou des flavonols avec OH en 6 est fort probable. Ces résultats sont en accord avec la littérature.

En outre, l'analyse chromatographique dans le système d'éluant acide acétique 60% ; présente des taches allant du jaune-verts au brunes donne après calcul une valeur de  $R_f=0,57$  qui en comparant avec les résultats préétablis de la littérature nous permet de proposer qu'un type de flavone appelé **Chrysoériol** peut être rencontré dans cette extrait dont la structure est donnée par la figure n° 19



**5,7-dihydroxy-2-(4'-hydroxy-3-méthoxyphényl)chromène- 4-one**

**FIGURE N°19 : STRUCTURE DU CHRYSOERIOL [32]**

# Partie-IV

**I-PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DE CHAQUE FAMILLE CHIMIQUE**

**II-EDUCATION A L'ENVIRONNEMENT**

**III-CONCLUSION**

# PROPRIÉTÉS PHARMACOLOGIQUES DE CHAQUE FAMILLE CHIMIQUE

## I-PROPRIETES BIOLOGIQUES ET PHARMACOLOGIQUES DE CHAQUE FAMILLE CHIMIQUE

### I-1-ALCALOÏDES [11]

Les alcaloïdes sont des substances azotées très complexe à la réaction alcaline et qui même à petites doses, produisent de grande effets sur tout l'organisme à cause de son action physiologique notable. Beaucoup sont responsables de la toxicité des drogues qui la renferment. Leurs activités : anesthésies, tumeurs, maladies parasitaires et cardiovasculaires.

La colchicine du colchique ou safran sauvage est utilisé contre les symptômes d'une attaque de goutte.

L'atropine, la nicotine ont des propriétés paralysant et parasympathique.

Parmi tant d'autres ont des propriétés biologiques actifs comme : antispasmodique, antifibrillants, antipaludiques, antitumorales.

Le tableau suivant montre quelques propriétés pharmacologiques des alcaloïdes

**Tableau n°18** : Quelques propriétés pharmacologiques des alcaloïdes

Propriétés pharmacologiques	Usages thérapeutiques
Antibiotiques	Eruption de la peau
Supprime la douleur, antidiarrhéiques	Douleurs intestinales (coliques)
Antipaludiques, analgésiques antiparasitaires, antispasmodiques	La crise de fièvre Maux de tête Fièvre jaune
Antitumoraux	Tumeurs

### I-2-FLAVONOÏDES [12]

Les flavonoïdes sont réputés comme des antioxydants très puissants, ils ont la capacité de piéger les radicaux, générés par notre organisme en réponse aux agressions de

notre environnement (cigarette, polluants, infections, etc.) et qui favorisent le vieillissement cellulaire.

Ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires. Les études du Dr Blumberg suggèrent que les flavonoïdes interrompent le panage du stress oxydatif et interceptent le « message » de l’apoptase (mort cellulaire programmée).

Des recherches récentes nous montrent que les flavonoïdes, notamment les flavonols du cacao peuvent ainsi prévenir la douleur musculaire, en accélérant la respiration des tissus au niveau moléculaire. Spécifiquement, ils éliminent la synthèse de l’oxyde nitrique, déclencheur chimique de l’inflammation. D’autres flavonoïdes inhibaient la sécrétion des mastocytes impliqués dans les phénomènes inflammatoires. C’est également de même processus de synthèse de l’oxyde nitrique qui renverserait la disfonction endothéiale responsable des pathologies diabétiques.

Outre leurs propriétés anti-inflammatoires et anti-obstructives, les flavonoïdes accélèrent le processus de destruction des agents pathologies en améliorant la capacité des macrophages à les neutraliser.

Les flavonoïdes ont pour effet d’inhiber l’activité d’une enzyme, la topoisomé- rase II, qui joue un rôle essentiel dans l’apparition du cancer, les flavonoïdes ont largement montré leurs effets protecteurs contre plusieurs cancers, dont la prostate, le côlon et le poumon.

Les formes libres (rares) et des flavonoïdes peuvent être directement absorbés au niveau de l’intestin grêle, alors que les formes glycosylées elles, doivent d’abord être hydrolysées au niveau du côlon, par la flore intestinale, avant de pouvoir être absorbés. Dans le sang, les flavonoïdes ne sont pas présents sous leur forme native. Ils sont transformés par des enzymes de conjugaison.

En fait, la biodisponibilité des flavonoïdes est très variable, selon les composés considérés. Pour assurer un effet biologique, il est donc nécessaire d’avoir une alimentation sèche et variée en produits végétaux afin d’optimiser l’apport en flavonoïdes aussi bien sur le plan qualitatif et quantitatif.

Le résultat a été concluant : la symbiose entre les bactéries et les racines s’est faite plus rapidement, la fixation de l’azote a commencé plus tôt en saison, la croissance de la plante s’est accélérée et en bout de piste, la récolte a augmenté d’au moins 10%.

Les **flavonols** sont de bons antioxydants et anti-inflammatoires.

Les diverses méthodes de mesure du pouvoir antioxydant des composés phénoliques donnent des résultats très différents. La moyenne pondérée des résultats obtenus par quatre méthodes différentes donne le classement suivant des flavonols :

Myriticol-3-rhamnoside > Myricétol > Quercétol, Rutoside > Kaempférol-3-glucoside > Kaempférol

Une étude de 8 ans portant sur un échantillon de plus de 180 000 personnes a montré qu'une prise alimentaire de flavonols (quercétol, kaempférol et myricétol) était associée à un risque réduit du cancer du pancréas.

### I-3-TANINS ET POLYPHENOLS [13]

Ces composés font coaguler la gélatine et d'autres protéines. Ils sont aussi hémostatiques, antiseptiques et tonifiants. Ils sèchent et tannent la peau et les muqueuses, rendent les couches superficielles moins perméables et protègent les couches sous-jacentes. C'est pourquoi ils favorisent la résolution des processus inflammatoires et la cicatrisation.

Le tableau suivant montre quelques propriétés pharmacologiques des tanins et polyphénols

**Tableau n°19** : quelques propriétés pharmacologiques des tanins et polyphénols

Propriétés pharmacologiques	Usages thérapeutiques
Vulnéraire, Hémostatiques	Blessure
Contre les hémorragies, antimicrobiens	Microbes
Astringents	Diminution des sécrétions
Antikératite	Cataracte

## I-4-COUMARINES [14]

En médecine, la coumarine est utilisée dans le traitement adjuvant du lymphœdème post-mastectomie, en complément des méthodes de contention. Son action anticedématoire résulte de l'augmentation du drainage lymphatique et de la stimulation de l'activité protéolytique des macrophages. Mais la multiplication des cas d'hépatite chez les patientes traitées à fortes doses avec cette molécule a conduit au retrait du marché de la spécialité correspondante.

La coumarine reste utilisée en phytothérapie, mais à des doses beaucoup plus faible, comme dans les spécialités contenant du mélilot.

A la différence de ses dérivés (comme la coumadine), la coumarine elle-même n'a pas d'activité anticoagulante.

Mais la fermentation humide de foin qui renferme de la coumarine (en raison de la présence de mélilot) génère des dérivés anticoagulants, qui entraînent des hémorragies chez les herbivores qui en consomment. Le 4-hydroxy-3-[1-(4-nitrophényl)-3-oxobutyl] coumarine, appelé usuellement acénocoumarol, est antagoniste de la vitamine K et inhibiteur de la synthèse des facteurs de la coagulation vitamino-K-dépendants. Ses propriétés anticoagulantes sont utilisées dans la thérapie des maladies thromboemboliques.

### Usage alimentaire

Le codex alimentarius a recommandé en 1985 (réaffirmé en 2006) de ne pas ajouter la coumarine telle quelle aux aliments et aux boissons. Elle peut être présente dans les aliments et les boissons seulement sous la forme de préparations aromatisantes naturelles (par exemple l'extrait de fève tonka) et pas à plus de  $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  dans les denrées alimentaires et les boissons et de  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  dans les caramels spéciaux. En 2004 puis en juillet 2008, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (efsa) a recommandé une dose journalière acceptable (DJA) de 0,1 mg de coumarine/kg de poids corporel. Un calcul simple permet de s'apercevoir que la DJA est très largement dépassée par une cuillérée à café de cannelle de Chine. D'où l'importance de bien distinguer cette cannelle de la cannelle de Ceylan, indemne de coumarine.

Enfin la coumarine est fortement contenue dans l'herbe de bison, une plante utilisée notamment pour la fabrication de la vodka polonaise Żubrówka. Cette vodka a d'ailleurs été interdite à la vente aux États-Unis pour cette raison en 1978.

### Autres usages

L'odeur de foin fraîchement coupé de la coumarine est très utilisée en parfumerie. Actuellement, elle entre dans la composition de 90% des parfums (dans 60% avec une teneur supérieure à 1%). Elle s'associe bien à la vanilline dont elle atténue le côté alimentaire. Elle est aussi utilisée dans les produits cosmétiques (déodorants, eaux de toilette, crèmes, shampoings, savons de toilette, dentifrice, etc.).

On trouve aussi de la coumarine dans les cigarettes indiennes, les bidis, et les cigarettes aux clous de girofle indonésiennes, les kreteks.

Pour neutraliser ou masquer les mauvaises odeurs, la coumarine est aussi ajoutée aux peintures, insecticides, encres, aux aérosols, au caoutchouc ou aux matières plastiques.

## I-5-ANTHRAQUINONES (quinones) [16]

Ces composés ont des propriétés antibactériennes et parmi les benzo- et naphtoquinones, beaucoup sont antimicrobiens. Ce sont aussi des fongicides, parfois vermifuges. À l'état naturel, les quinones sont inactives. Par action de certaines enzymes produites par les bactéries intestinales, la génine se libère et il devient des substances biologiquement très actives.

Les anthraquinones sont en général contre-indiquées dans les cas suivants : grossesse, période de menstruation, hémorroïdes...

## I-6-LES SAPONOSIDES (saponines) [17]

Ils sont toxiques pour les animaux à sang froid surtout les poissons, ils produisent des hémolyses (destruction des globules rouges). Leurs actions les plus importantes sont :

- ♣ Antimicrobiennes antifongiques hémolytiques

- ♣ Diurétiques (qui augmentent la sécrétion urinaire)
- ♣ Cicatrisantes et analgésiques
- ♣ Antibactériennes
- ♣ Anticancéreux (ses drogues sont utilisées par les tradipracticiens pour soigner les cancers)

## I-7-LES ANTHOCYANES [18]

Ces anthocyanes sont caractérisés par leurs propriétés antioxydantes favorables à la santé (contre le vieillissement cellulaire) en améliorant l'élasticité et la densité de la peau. Ils renforcent la résistance des petits vaisseaux sanguins de l'épiderme.

## I-8-LES HETEROSIDES CYANOGENETIQUES [19], [20]

Les cyanogénétiques peuvent provoquer des intoxications très graves. Sa toxicité se manifeste par l'association d'un hétéroside, d'acide cyanhydrique et d'une substance agricone sous forme d'hydroxynitrile (R-CN). D'autre part, s'il y a peut ou pas d'enzyme la toxicité s'exprime hydrolyse intestinale. Ils ont aussi une action antispasmodique (calmant).

## I-9-LES STEROIDES ET TERPENOÏDES [21]

Les génines des groupes de cardénolides et de bufadiénolides ont une activité physiologique. Cependant, l'activité cardiotonique des génines des cardénolides est beaucoup moins forte que celles des hétérosides correspondants.

Les drogues qui contiennent des composés terpéniques ont des propriétés pharmacologiques très variées. Certains sont irritants de la peau et des muqueuses alors que d'autres ont au contraire des propriétés anti-inflammatoires.

EDUCATION

A

L'ENVIRONNEMENT

## II-ÉDUCATION A L'ENVIRONNEMENT

Par ses faunes et ses flores que Madagascar est reconnue dans le monde. Surtout dans le domaine floral, elle est réputée d'avoir plusieurs variétés en plantes médicinales. De même, sa flore est également importante comme source de magnifique espèce ornementale qui a contribué au développement de l'horticulture<sup>1</sup> à travers le monde. Il y a encore beaucoup de magnifique et extraordinaire plante malgache qui pourrait devenir tout aussi importante et forme peut être la base d'une nouvelle industrie horticole. Malgré la dépendance de l'homme à la nature, il faut que chacun doit prendre en considération l'importance et la nécessité de la protection de l'environnement.

Nous voyons et même nous constatons qu'actuellement notre environnement est en voie de dégradation. Sans discuter aux diverses causes ; les conséquences de cette dégradation sont fortement éprouvées par tout être vivant, surtout l'homme.

Par contre, le moindre geste de prendre soin à l'environnement peut être l'origine d'une vie stable, harmonieuse et équilibrée.

Tenant compte aux intérêts que nous pourrions tirer de la relativité homme-environnement, voici quelques propositions qu'on souhaite d'être requises pour rendre plus favorable notre environnement :

- ✓ Eviter les feux de brousses et les tavy.
- ✓ Bien sauvegarder les parcs nationaux et les aires protégées parce qu'elles conservent les flores et les faunes propres aux pays.
- ✓ Cultiver en grand nombre de quantité des plantes médicinales si c'est possible.
- ✓ Cultiver des arbres à chaque fois que l'on coupe (un arbre coupé oblige à reboiser 5 autres)
- ✓ Eviter de laisser éparpiller tous les déchets inutiles parce que certains d'entre eux engendrent des pollutions qui seront nocifs aux êtres.
- ✓ Instruire dès son enfance les gens sur la nécessité d'un environnement sain afin qu'ils puissent prendre soin.

---

<sup>1</sup> Art de cultiver les jardins

En bref, pour plus d'assurance à notre santé, la protection de l'environnement devrait être une chose primordiale. De plus, pour nous en tend que chimistes, spécialiste en substances naturelles, nous conseillons les gens de protéger par tous les moyens possibles notre flore parce que la plupart de notre plante sont des plante médicinales. Elles ont une grande importance dans le domaine de pharmacologie qui est à son tour la source de ses propriétés en thérapeutique.

D'ailleurs, nous pouvons conquérir et dévouer qu'on est riche et nous avons plus des moyens pour vaincre la pauvreté.

# CONCLUSION

### III-CONCLUSION

Notre travail intitulé « contribution à l'étude phytochimique d'*Helichrysum chermezonii Asteraceae* », nous a permis de déduire et de conclure que :

Notre plante « Ahipotsy » appartient aux familles de composés, genre *Helichrysum* et d'espèce *chermezonii*. Les recherches que nous avons effectuées sur cette plante, nous font connaitre sa particularité et son nécessité. Dans ce cas, d'après les études centrées sur sa répartition, on a pu vérifier qu'on peut rencontrer Ahipotsy dans divers endroits de Madagascar tels dans les régions du Betsileo, d'Imerina, du Vakinakaratra, etc....

L'étude portée sur le criblage phytochimique des diverses familles chimiques qui peuvent être présentes dans ses feuilles donnent des résultats positifs pour les coumarines, les flavonoïdes (Flavonols) et les tanins. Les autres familles comme les stéroïdes et terpènoïdes, les hétérosides cyanogénétiques, les caroténoïdes, les polysaccharides, les anthocyanes, les cardénolides et bufadiénolides, les quinones et les saponines qui ne sont pas présentes dans sa feuille donnent des résultats négatifs. En particulier, le criblage des alcaloïdes nous montre que les feuilles *d'Helichrysum chermezonii* contiennent de brucines et des conessines.

La chromatographie sur papier (Whatman n°3) concernant l'identification des flavonoïdes qui sont susceptibles d'être présents dans cette plante nous révèle qu'il s'agit du Chrysoériol et éventuellement les flavonols, les flavones ou les chalcones avec OH porté par le carbone n°6.

Finalement, malgré les différents problèmes rencontrés au cours de la réalisation de cette recherche, on pourrait évoquer ici que toutes les activités réalisées nous a permis de performer nos connaissances sur les recherches en matière de chimie ; particulièrement en matière de substances naturelles afin de mettre en évidence les raisons pour lesquelles une telle plante est réputée par ses propriétés médicinales.

# PRÉPARATION DES RÉACTIFS

## Préparation des réactifs du criblage phytochimique

### **1. Préparation du réactif de Dragendorff (modifié selon Munier)**

#### Solution A

On dissout 1,7g de sous nitrate de bismuth et 20g d'acide tartrique dans 30ml d'eau distillée.

#### Solution B

On dissout 8g d'iodure de potassium KI dans 20ml d'eau distillée.

### **2. Préparation du réactif de Wagner**

2g de iodure de potassium KI et 1,27g d'iode  $I_2$  sont mélangés dans un erlenmeyer tout en ajoutant 100ml d'eau distillée. On ajoute jusqu'à dissolution complète.

### **3. Préparation du réactif du Mayer**

Dans 94ml d'eau distillée, on dissout 1,35g de chlorure mercurique  $HgCl_2$ , puis on y ajoute 5g d'iodure de potassium. On agite bien jusqu'à dissolution complète puis on met de l'eau distillée pour compléter à 100ml le volume total.

### **4. Préparation de la gélatine dans 100ml d'eau distillée**

On met en suspension 1g de gélatine dans 100ml d'eau distillée

### **5. Préparation de chlorure de sodium NaCl 10%**

On dissout dans 10ml d'eau distillée 1g de NaCl

## **6. Préparation de l'acide chlorhydrique 5%**

On dissout 5ml d'acide chlorhydrique concentré dans 95ml d'eau distillée

## **7. Préparation de la gélatine salée**

On mélange un volume de la solution de gélatine 1% à un volume égal de la solution de chlorure de sodium 10%

## **8. Préparation du réactif de Kedde**

On dissout 2g d'acide 3,4-dinitrobenzoïque dans 100ml de méthanol. Puis on prépare une solution de potasse en dissolvant 5,6g de potasse dans 100ml d'eau distillée.

Pulvérisation : Au moment de l'emploi, on mélange à volume égal de solution d'acide et de la potasse

## **9. Préparation de chlorure ferrique 10%**

On dissout 10g de chlorure de fer III,  $\text{FeCl}_3$  dans 100ml d'eau distillée

## **10. Préparation du réactif de Keller-Killiani**

On dissout 10g de chlorure ferrique  $\text{FeCl}_3$  dans 100ml d'eau distillée. Au moment de l'emploi, on mélange 0,3ml de la solution de chlorure ferrique ainsi préparée précédemment dans 50ml d'acide acétique  $\text{CH}_3\text{COOH}$  glacial. On prélève 3ml de mélange pour le test de Keller-Killiani.

## **11. Préparation du chlorure ferrique 10% dans le méthanol**

On dissout 1g de  $\text{FeCl}_3$  dans 10ml de  $\text{MeOH}$  en agitant et en chauffant sur bain-marie jusqu'à dissolution complète.

# PRÉPARATION DES EXTRAITS

## 1-Extrait hydroalcoolique

50g de poudre végétal ont été macéré dans 300mL d'EtOH à 80% pendant 72h. Puis on les sépare à l'aide d'une filtration sous vide. Après avoir évaporé le filtrat obtenu, on passe aux divers tests et à la préparation des autres extraits.

## 2-Extrait aqueux et chloroformique

1g d'extrait éthanolique a été mélange avec du chloroforme et de l'eau distillée chaude en quantité égale. Ce mélange est ensuite filtré. On observe la formation de deux phases :

La phase supérieure correspond à la phase aqueuse

La phase inférieure correspond à la phase chloroformique

La technique d'évaporation est la même que la précédente.

## 3-Extrait éthéré

1g d'extrait éthanolique a été dissous dans l'oxyde de diéthyle. La solution obtenue a été versée dans une ampoule à décanter. Il y a apparition de deux phases

Phase supérieure : la phase aqueuse

Phase inférieure : la phase éthérée

Avant de passer aux autres tests, on évapore le filtrat de chacune des deux phases.

Auteur : RAKOTOARIVELO Joël Flavien

Contacts : 032 55 144 01 – 034 37 753 32

E-mail : [rjolflavien@yahoo.com](mailto:rjolflavien@yahoo.com)

Mémoire pour l'obtention du C.A.P.E.N.

Thème de mémoire : Contribution à l'étude phytochimique de *Helichrysum Chermezonii* (Astéracée)

Nombre de page : 111

Nombre de figures : 19

Nombre de schémas : 10

Nombre de tableaux : 19

## RESUME

Notre travail a porté sur l'étude de *Helichrysum Chermezonii* (Astéracées) ; une plante endémique de Madagascar. Cette plante est connue sous le nom vernaculaire d'Ahipotsy et utilisée pour guérir les maladies des ventres tels les colopathies, les coliques.

Ahipotsy a été récolté à Ivoamba, commune rurale de Fianarantsoa.

Les criblages phytochimiques montrent qu'elle renferme des flavonoïdes, des tanins et des coumarines.

Du processus d'extraction des flavonoïdes, l'analyse chromatographique révèle que le chrysoériol est susceptible d'être présent dans cette plante. A noter, la possibilité de présence des flavones et flavonols.

La détermination des alcaloïdes par colorimétrie confirme que cette plante renferme de brucines et de conessines.

En bref, la protection de l'environnement est indispensable pour protéger la nature.

**Mots clefs** : *Helichrysum Chermezonii*, criblage phytochimique, conessine, brucine, chrysoériol, flavonol, coumarine.

## ABSTRACT

Our work focuses on the study of *Helichrysum Chermezonii* (Asteraceae); an endemic plant of Madagascar. This plant is known to have the vernacular noun of Ahipotsy and is used to cure belly-aches such as the colopathy, the colics.

Ahipotsy has been picked at Ivoamba, a rural region of Fianarantsoa.

The phytochemical investigations show that this plant contains “flavonoïdes”, “tanins” and “coumarines”.

From the extraction process of the “flavonoïdes”, the chromatographic analysis reveals that the “Chrysoériol” can exist in this plant. The possibility of the presence of the “flavonols” and the “flavones” should be noted.

The determination of the “alcaloïdes” stated by the colorimeter confirms that this plant contains “brucine” and “conessine”.

In short, the environment protection is vital for the nature.

**Main words:** *Helichrysum Chermezonii*, criblage phytochimique, conessine, brucine, chrysoériol, flavonol, coumarine.

Number of page : 112

Number of the figure : 19

Number of drawing : 10

Number of the chart : 19

\*\*\*\*\*

## REFERENCES WEBOGRAPHIQUES

- [1]-<http://fr.wikipedia.org/wiki/Asteraceae#Caractéristiques>
- [2]-<http://fr.wikipedia.org/wiki/Asteraceae#Particularités>
- [3]- [http://fr.wikipedia.org/wiki/Asteraceae#Types\\_de\\_fleurs\\_des\\_astéacées](http://fr.wikipedia.org/wiki/Asteraceae#Types_de_fleurs_des_astéacées)
- [4]- <http://fr.wikipedia.org/wiki/Asteraceae#Utilisations>
- [5]- [http://fr.wikipedia.org/wiki/Asteraceae#Principaux\\_genres](http://fr.wikipedia.org/wiki/Asteraceae#Principaux_genres)
- [6]-<http://fr.wikipedia.org/wiki/Heichrysum>
- [11]- <http://fr.wikipedia.org/wiki/Alcaloïde#mw-head>
- [12]-<http://fr.wikipedia.org/wiki/Flavonoïde#mw-head>
- 13- <http://fr.wikipedia.org/wiki/tannin>
- [14]- <http://fr.wikipedia.org/wiki/Coumarine#mw-head>
- [15]-<http://fr.wikipedia.org/wiki/Caroténoïde#mw-head>
- [16]-<http://fr.wikipedia.org/wiki/Anthraquinone#mw-head>
- [17]- <http://fr.wikipedia.org/wiki/saponine>
- [18]- <http://fr.wikipedia.org/wiki/anthocyanes>
- [21]- <http://fr.wikipedia.org/wiki/stéroïde#mw-head>
- [23]- <http://pubs.rsc.org/ej/NP/19998/Y9815397.pdf>
- [26]- A: [/Chromato.htm](#)
- [31]- [http://fr.wikipedia.org/wiki/Coumarine#Propriétés\\_physico-chimiques](http://fr.wikipedia.org/wiki/Coumarine#Propriétés_physico-chimiques)
- [32]- [http://fr.wikipedia.org/wiki/Flavone\\_\(groupe\)#Flavones\\_naturelles](http://fr.wikipedia.org/wiki/Flavone_(groupe)#Flavones_naturelles)
- [33]- <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Brucine.svg#mw-head>
- [34]- <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Conessine.svg#mw-head>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[7]- RAZAFIMANJAKA Helintsoa Tahiry Comparaison des familles chimiques dans les feuilles, écorces, fruits et intérêt thérapeutique de *Ficus reflexa* (MORACEAE) et leurs effets biologiques. Mémoire de CAPEN 2005.

[8]- RATOBISON Andriamisa Patrick Andry, étude des constituants chimiques dans *Ficus reflexa* et leurs effets biologiques. Mémoire de CAPEN 2007.

[9]-Pierre Boiteau, Marthe Boiteau, Lucille Allorge Boiteau

Collection « Nature » : Flore de Madagascar, index des noms scientifiques avec leurs équivalents malgaches.

[10]-*Helichrysum Chermezonii* H.Humb. In mem Soc Linn Norm, XXV (1929), 97, 291.

[19]- HNA TYSZYN (0), COUSSIN (J.O), 1987. A biflavonoide from phyllantres sellewianu  
J. Nat Prod 50, PP 156 – 157

[20]- RAJOSOVELORIVO Pierrot, Première exploration phytochimique de *Secamone Pulchra* (ASCLEPIADACEAE), Mémoire de CAPEN, 2004

[22]- FONG H.H.S., TIN-WA M., FARNSWOTH N.R. 1977

Phytochemical screening. Review University of Illinois, Chicago

[24]- BRUNETON J., 1993

Pharmacognosie - Phytochimie. Plantes médicinales.

2è édition. Technique et documentation Lavoisier, Paris – Londres - New York

[25]- ROUESSJACF F., ROUESSTAG A. 1994

Analyse chimique : Méthodes et Technique Instrumentales Modernes

2<sup>e</sup> édition. Masson. Paris ; Milan. Barcelone pp. 3-70

[27]- G.MAHUZIER. M. HAMON, Abrégé de chimie Analytique Tome II, Méthodes des séparations, 2<sup>ème</sup> ED Maison, Paris – New York – Barcelone, 1986

[28]- MAHUZIER G., HAMON H., FARINOTTI, 1990

Abrégé de Chimie Analytique. Tome 2. Méthodes de séparation.

Masson et Cie, Paris, Milan, Barcelone, Mexico.

[29]- JC Mallik, Theory of gel filtration chromatography, anal. chem, 38, 1966, P997 – 1000.

[30]- SANDRA P, BiCCHI C., 1987

Capillary Gas Chromatography in Essential Oils analysis

Huéthig, New York pp. 259-274, 329-357, 367-385