

Université Assane Seck de Ziguinchor



UFR : Sciences et technologies

Département : Chimie



Mémoire de Master

Spécialité : Synthèse Organique et Produits Naturels

**Sujet : « Isolation et identification de métabolites du
Piliostigma reticulatum »**

Présenté par : **M. Yaya BIAYE**

Soutenu publiquement le 01/07/2017 devant le jury composé de :

Président

Pr Magatte CAMARA

Enseignant-chercheur, UASZ

Rapporteur

Pr Abdoulaye GASSAMA

Enseignant-chercheur, UASZ

Examineurs

Dr Saidou Nourou DIOP

Enseignant-chercheur, UASZ

Dr Anastasie MANGA

Enseignante-chercheure, UASZ

Directeur de mémoire

Dr Mbaye Diagne MBAYE

Enseignant-chercheur, UASZ

REMERCIEMENTS

Ce mémoire de fin d'études de master 2 est la somme de plusieurs efforts. Je saisis l'opportunité pour manifester ma profonde reconnaissance et sympathie à tous ceux qui par leurs enseignements et leurs conseils. Leur confiance et leurs soutiens financier et moral ou encore leur dévouement ont rendu possible la réalisation de ce document.

Mes remerciements les sincères vont aux :

Président du jury le **Pr Magatte CAMARA** : C'est un honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury de Master 2. L'occasion ne peut mieux nous être offerte pour exprimer toute notre gratitude et nos sincères remerciements.

Rapporteur le **Pr Abdoulaye GASSAMA** : Vous nous avez fait l'honneur de nous confier ce travail et d'en juger les résultats vos qualités humaines et pédagogique font le respect et l'admiration de vos disciples.

Examineurs **Dr Saidou Nourou DIOP** et **Dr Anastasie MANGA**. Nous sommes très sensibles à l'amabilité avec laquelle vous avez bien voulu accepter de juger ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de notre très sincère remerciement

Directeur de stage **Dr Mbaye Diagne MBAYE** : A tout moment, vous avez fait preuve de la plus grande compréhension à notre égard malgré vos nombreuses occupations, vos conseils et votre compétence incontestée ont permis la réalisation de ce travail dont vous avez eu l'inspiration. Nous vous prions d'accepter, **Dr MBAYE** nos sentiments de profonde gratitude.

Madame Fatoumata MB. SOUMARE CAMARA technicienne du laboratoire chimie de l'UASZ.

Mes remerciements reviennent à tous les enseignants du département de chimie pour leur disponibilité.

Toute ma famille qui n'a ménagé aucun effort pour me soutenir pendant toutes ces années d'études.

Tous mes amis et camarades dont les noms n'ont pu être cités mais ayant apporté leur concours à l'élaboration de notre document.

Table de matières

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : Revue bibliographique.....	2
I -) Description de <i>Piliostigma reticulatum</i>	2
I – 1) Etudes systématiques	2
I – 2) Noms vernaculaires.....	2
I – 3) Caractéristiques botaniques.....	3
I – 4) Répartitions géographiques.....	4
I – 5) Composition chimique de <i>Piliostigma reticulatum</i>	5
I – 6) Importance socio-économique.....	5
I – 6 – a) Importance sur le plan alimentaire.....	5
I – 6 – b) Importance sur le plan agronomique.....	6
I – 6 – c) Sur le plan médicinal.....	6
I – 6 – d) Sur le plan social, culturel et économique.....	7
II - Acides gras.....	7
III - Métabolismes.....	9
IV - Alcaloïdes.....	10
DEUXIEME PARTIE : Matériels et Méthodes utilisés pour l'extraction.....	12
I -) Méthodes et Matériels d'extractions.....	12
I-1) Méthodes utilisés.....	12
I – 1-a) Préparation de la substance.....	12
I-1-b) Processus d'extraction.....	13
I - 2) Matériels d'extraction.....	14
I – 2-a) Techniques d'extractions et de séparations	14
I – 2-b) Macération.....	14
I – 2-c) Filtration.....	15

I – 2-d) Evaporation.....	16
I – 2-e) Chromatographie en phase inverse.....	17
I – 2-f) Chromatographie sur couche mince : CCM.....	18
TROISIEME PARTIE : Analyse et interprétation de résultats obtenus.....	19
I - Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire : RMN ¹³ C.....	19
II - Caractérisation et identification de la molécule.....	19
II - 1) Analyse du spectre de masse.....	19
II - 2) Analyse du spectre de carbone.....	21
II - 3) Analyse du spectre de DEPT 135.....	22
II - 4) Analyse du spectre de HSQC.....	23
II – 5) Analyse du Spectre de proton.....	24
II - 6) Analyse du spectre de COSY.....	26
II - 7) Analyse du spectre de HMBC.....	28
CONCLUSION.....	30
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	31
REMERCIEMENT	
ANNEXE.....	

Liste des figures

Figure 1 : Feuilles de la plante de <i>Piliostigma reticulatum</i>	3
Figure 2 : Macération avec l'éther pétrole.....	15
Figure 3 : Marcs de <i>Piliostigma reticulatum</i>	15
Figure 4 : Filtration.....	16
Figure 5 : Entonnoir + coton.....	16
Figure 6 : Appareillage d'évaporation.....	16
Figure 7 : Colonne en pleine élution.....	18
Figure 8 : Colonne en début d'élution.....	18
Figure 9 : Plaque CCM.....	18
Figure 10 : Spectre 1 de masse.....	20
Figure 11 : Spectre 2 de masse.....	20
Figure 12 : Spectre RMN ¹³ C.....	21
Figure 13 : Spectre RMN ¹³ C zoomé de 0 à 35ppm.....	21
Figure 14 : Spectre DEPT 135 normal.....	22
Figure 15 : Spectre DEPT 135 zoomé de 0 à 35ppm.....	22
Figure 16 : Spectre HSQC normal avec du CDCl ₃	23
Figure 17 : Spectre HSQC zoomé.....	24
Figure 18 : Spectre de RMN ¹ H.....	24
Figure 19 : Spectre de COXY.....	26
Figure 20 : Spectre de COXY zoomé.....	26
Figure 21 : Spectre HMBC normal.....	28
Figure 22 : Spectre HMBC zoomé de 0 à 3 ppm.....	28

Liste des schémas

Schéma 1 : Acide palmitique.....	8
Schéma 2 : Acide oléique (C ₁₈ 1w9).....	8
Schéma 3 : Acide linoléique (C ₁₈ : 2w9).....	9
Schéma 4 : Mescaline.....	11
Schéma 5 : Caféine.....	11
Schéma 6 : processus expérimental d'extraction des produits.....	13
Schéma 7 structure de la molécule.....	29

Liste des tableaux

Tableau 1 : Densité des peuplements de <i>P reticulatum</i> en Afrique de l'ouest.....	4
Tableau 2 : Compositions chimiques de la plante.....	5
Tableau 3 : Les déplacements chimiques et la nature des carbones et leurs multiplicités.....	25
Tableau 4 : Les corrélations H-H du spectre de COXY.....	27
Tableau 5 : Les corrélations HMBC.....	29

INTRODUCTION

La diarrhée est l'une des principales causes de mortalités dans les pays en développements, ce qui représente plus de 5 à 8 millions de décès chaque année chez les nourrissons et les petits enfants de moins de 5 ans [1- 2]. La plupart de ce décès survient en Afrique [3].

En Afrique subsaharienne, jusqu'à 90% de la population dépend des plantes médicinales pour les soins primaires [4] et leur utilisation a été recommandée par OMS pour le contrôle de la diarrhée et la prise en charge des patients [5].

Certaines plantes médicinales africaines en particulier le *Piliostigma reticulatum* a été signalé pour le traitement de la diarrhée [3- 6- 7].

C'est ce qui nous pousse à s'intéresser à l'étude d'extraction de la feuille de *Piliostigma reticulatum* suivie de la séparation et de la caractérisation de la molécule active en abordant les différentes parties suivantes :

La première partie est consacrée à une étude bibliographique.

Quant à la seconde elle porte sur la présentation des méthodes et des matériels utilisées.

Enfin la troisième partie parle de l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus.

PREMIERE PARTIE :
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Première Partie : Revue Bibliographique

I. Description de *Piliostigma Reticulatum*

I – 1) Etudes systématiques

Selon la systématique *Piliostigma reticulatum* peut être classé comme suit :

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Rosales
Famille	Caesalpiniaceae
Sous famille	Caesalpinioideae
Genre	Piliostigma
Espèce	reticulatum (D.C.) Hochst

Cet arbuste doit son nom spécifique au réseau très détaillé de nervures réticulées qui sont visibles sous le limbe entre les nervures [3]. *Piliostigma reticulatum* est encore connu sous le nom de *Bauhinia reticulata* D.C ; *Bauhinia benzoin* Kotschy, *Bauhinia glabra* A. Chev ; *Bauhinia glauca* A. Chev ; *Elayuna biloba* Raf. [8].

I – 2) Noms vernaculaires [9]

Elle a plusieurs appellations dans les langues locales :

Nom commun : Piliostigma, Bauhinia, Semelier

Wolof : nguiguiguis guiguiguis

Fulfuldé : barkéji, barki, barkéhi, mbarkehi

Serer: ngayo, nga, ngayor

Diola: burkatod, kfatat, bufalat

Bambara : nyama, nyama téné

Mandingue : Fara, fara mesin

Djerma : kasorey, kosey

Haoussa : kalgo

Moré : bangandé, bangandé bagnanga, baghndagha

Source Yavé 2002

I – 3) Caractéristiques botaniques

Les feuilles de cette essence sont simples, alternes, distiques et persistantes, glabres et coriaces. Longues de 6 à 12 cm sur 4 à 8 cm de large, elles comprennent 2 lobes obtus tronqués à la base avec 9 nervures principales palmées (Figure 1) [10]. Chaque côté de la nervure médiane présente quatre nervures latérales prenant naissance au sommet du pétiole. Sous le limbe, entre les nervures, se dresse un réseau très détaillé de nervis [11]. L'angle de l'échancrure des lobes est supérieur à 90°. Le pétiole est dilaté aux deux extrémités avec une longueur de 1 à 3,5 cm [12]. L'inflorescence est en panicule axillaire ou terminale de 5 à 15 cm de long, courtement pubescente ou pelliculée [12]. Les fleurs sont dioïques en racèmes tomenteux, axillaires de 4 à 5 cm avec une corolle de 2,53 cm à 5 pétales abovales blancs, striés de rose. Le calice long de 1,5 à 2 cm, en cône renversé a 5 dents triangulaires au sommet [10]. Les fleurs mâles contiennent seulement 10 étamines, les fleurs femelles contiennent un pistil épais coiffé d'un stigmate en forme de calotte [11]. Les pièces florales sont parfumées et de couleur blanche. Les fruits sont de longues gousses dures, droites, souvent en spirale, glabres ou très légèrement tomenteuses, coriaces, persistantes. Ils contiennent beaucoup de graines, 11000 à 14500 graines par kg de gousses (V. Les fruits de couleur verte au départ virent au marron à la maturité. Les gousses sont ligneuses, indéhiscentes longues de 15 à 25 cm et larges de 2,5 à 5 cm [12].



Figure 1 : feuilles de la plante de *Piliostigma reticulatum*

I – 4) Répartition géographique

Piliostigma reticulatum se rencontre sur de nombreux types de sols, sableux, argileux ou latéritiques. Cette espèce est présente aux latitudes où la pluviométrie varie entre 400 et 1 000 mm par an [13] ; elle est toutefois plus abondante dans les bas-fonds, les plaines et le long de certaines routes ou pistes. Au Burkina Faso, elle est présente dans les jachères et dans les parcs agroforestiers principalement dans les milieux humides [12]. Au Sénégal, l'espèce est caractéristique de la zone du bassin arachidier (climat soudano-sahélien ; Tableau 1), mais sa densité ne dépasse que rarement les 250 arbustes à l'hectare [15]. La distribution spatiale et la densité varient en fonction de l'environnement [16] mais aussi selon les multiples usages qui sont faits de cette plante par les populations locales.

Tableau 1 : Densité des peuplements de *Piliostigma reticulatum* en Afrique de l'ouest

Climat	Sites d'études (pays)	Pluviométrie Moyenne (mm an ⁻¹)	Densité d'arbustes pieds ha ⁻¹	Références
Soudano-Sahélien	Sénégal	500-700	250	[15] [17]
	Burkina-Faso	600-700	607	
Nord Soudanien	Burkina-Faso	600-900	269	[17]
Sud Soudanien	Burkina-Faso	>900	129	[17]

Par ailleurs, la floraison de *Piliostigma reticulatum* répulsif sur les insectes floricoles [18]. Si les feuilles de *reticulatum* présentent une faible qualité de fourrage également des tanins qui limitent la digestibilité, réduisent la qui affecte la productivité animale. Ainsi *reticulatum* subit une faible pression des animaux en zone de pâturages. Pendant la sa sèche, l'espèce produit des rejets qui atteignent une hauteur de 50 à 75 cm et dont le diamètre de houppier varie de 100 à 150 cm [10]. Au Sénégal, cet arbuste est traditionnellement éliminé au moment de la période superficies agricoles [19] et les résidus sont alors brûlés par les paysans. Cette pratique peut expliquer le nombre de pieds largement inférieur dans le bassin arachidier Sénégalais par rapport au Burkina Faso où l'arbuste est maintenu dans les exploitations agricoles (Tableau 1).

Une étude sur la perception de central du Burkina Faso et révèle que 98% des personnes interrogées notent que la croissance végétative des céréales est meilleure et plus rapide

lorsqu'un paillage de la culture est réalisé avec des feuilles de *Piliostigma reticulatum* biomasse constitue une source de matière organique exploitations agricoles [14]. Intégrant la gestion des arbustes locaux dans les systèmes de cultures annuelles (céréales) sont traditionnellement utilisées dans certaines régions du Burkina Faso et du Niger [20].

I – 5) Composition chimique de *Piliostigma reticulatum*

Selon NACOULMA (1996), [21] la composition chimique de *Piliostigma reticulatum* se présente sous forme de tableau

Tableau 2 : Composition chimique de la plante

Différentes parties de la plante	Compositions chimiques
Bourgeons non contient	Flavonoïdes, anthocyanosides, acide tartrique, stérols, minéraux
Feuilles	Eau : 78,3% ; protéine : 4,8% ; lipides : 0,1% ; glucide : 14,4% ; cellulose : 6,8% ; Cendre : 2,4% ; Ca : 435mg/100g ; p : 80mg/100g ; vitamine C : 68mg/100g. Flavonoïde, acide L tartrique 5,9% ; quercitroside 0,5% ; tartrates de Ca et de K ; Saponoside ; BEA benzoïque ; tanins ; rutosides.
Ecorce, tige	Tanins 18% dans l'écorce ; flavonoïdes ; rutosides ; tartrates.
fruits	Pulpe : acide L tartrique (1,4% d'acide libre, 3,9% de tartrates acide k).

I – 6) Importance socio-économique

Piliostigma reticulatum est une Légumineuse à usages multiples pour les populations rurales sahéliennes. Chaque partie de la plante connaît une utilisation donnée.

I – 6-a) Importance sur le plan alimentaire

Les jeunes feuilles de *Piliostigma reticulatum* sont utilisées pour aciduler les mets, en particulier le têt qui est le plat de base de la région. Les gousses sont utilisées, en plus du bois,

pour la combustion ou pour fabriquer la potasse [22-23-24]. Les animaux prélèvent directement les feuilles et gousses au champ. Les éleveurs procèdent au prélèvement des gousses qui sont écrasées et mélangées à du sel, du son de sorgho pour les animaux [25-26].

I-6 - b) Importance sur le plan agronomique

Le *Piliostigma reticulatum* qui était autrefois coupé lors de l'installation des champs connaît un intérêt particulier récent du fait de l'introduction de l'agroforesterie et de la diminution des espèces autrefois sélectionnées dans les champs pour l'intérêt alimentaire comme *Vitellaria paradoxa* et *Parkia biglobosa*. Dans la région du Centre Nord du Burkina Faso, il tend à occuper une place importante dans le système agraire. La biomasse issue de l'élagage de *Piliostigma reticulatum* est répandue dans les champs au niveau des zones dénudées et encroustées appelées zipellé [17-27] et contribue à la fertilisation des sols. Des études menées par **DIACK** [28], les ont conduits à tirer la conclusion que *Piliostigma reticulatum* a un rôle agricole sans équivoque comme couverture morte du sol.

I-6 - c) Sur le plan médicinal

Le *Piliostigma reticulatum* se trouve très intéressante par la place qu'elle occupe dans le traitement de beaucoup de maux. C'est un « grand » médicament de la pharmacopée traditionnelle. Les feuilles sont utilisées contre les rhumes et ophtalmie, la toux, les bronchites, les céphalées, les névralgies dentaires et les oreillons [29].

Les feuilles sont aussi consommées mais en petites quantités [30]. Au Sénégal, à travers une étude menée dans le bassin arachidier [28] a montré que *Piliostigma reticulatum* a une bonne appétibilité et est pâturé pour ses fruits même en saison pluvieuse (juin septembre).

Les jeunes feuilles sont utilisées pour soigner la toux dans la zone de **Bondoukuy**. Elles sont de même utilisées comme décoction à appliquer sur les plaies à **Bobo Dioulasso** [31].

L'écorce est utilisée contre la diarrhée et la dysenterie, les maux de dents et les rhumatismes, les ulcères, coupures et lépromes [32]. L'écorce de l'espèce est aussi utilisée en cure-dent pour sa tonicité par la population des villages de **Tanghin** et **Bazoulé**. L'écorce et le rameau de l'arbuste sont utilisés pour soigner les maux de gorges, maux de ventre et comme antiseptique [12].

Aussi, les fruits frais sont séchés, réduits en poudre et utilisés avec de la soupe pour soigner certaines complications pouvant empêcher les grossesses. Pour le traitement de la toux, il est conseillé d'utiliser l'écorce [29].

I - 6- d) Sur les plans social, culturel et économique

Le *Piliostigma. Reticulatum* remplit plusieurs fonctions sociales. L'écorce est utilisée par exemple dans les rites d'intégration de la jeune épouse au sein de la famille de son mari, aussi pour s'assurer de la fidélité de celle-ci lors de la première grossesse [17].

L'arbuste est aussi utilisé dans la fabrication des manches d'outils et des poteaux pour les hangars ; son écorce sert à confectionner des cordes, et ses gousses brûlées sous les ruches dégagent une odeur benzoïque incitant les abeilles à venir coloniser la ruche [33]. Les fibres sont utilisées pour les parures des masques et dans la confection d'instrument de pêche et l'agriculture telle les paniers et les ruches [23].

Nota Bene : Malgré nous n'avons pas pu faire des tests sur les acide gras, les métabolismes et les alcaloïdes, néanmoins nous pourrions décrire leurs principes.

II - Acides gras

Les acides gras sont, très souvent une unité de base de la classe des lipides. Le type d'acide gras constitutif de chaque lipide détermine directement ses propriétés et ses fonctions. Acide gras Selon l'IUPAC, un acide gras est un acide mono carboxylique à longue chaîne aliphatique, dérivé ou contenu sous forme estérifiée dans les graisses, huiles ou cires animales ou végétales. Les acides gras naturels possèdent généralement une chaîne carbonée de 4 à 28 carbones, non ramifiée et à nombre pair d'atomes de carbone. On parle d'acide gras à longue chaîne pour une longueur de 14 à 24 carbones et à très longue chaîne s'il y a plus de 24 carbones.

On rencontre dans la nature deux grandes familles d'acide gras : les acides gras saturés et les insaturés.

- Les acides gras saturés sont des acides carboxyliques aliphatiques comportant de 12 à 24 atomes de carbone et aucune double liaison carbone-carbone. Tous les atomes de carbone sont saturés en hydrogène et la formule semi-développée d'un tel acide gras à n atomes de carbone est la suivante : $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$.

Les molécules de ces composés organiques sont linéaires de longueur variable (voir schéma1)

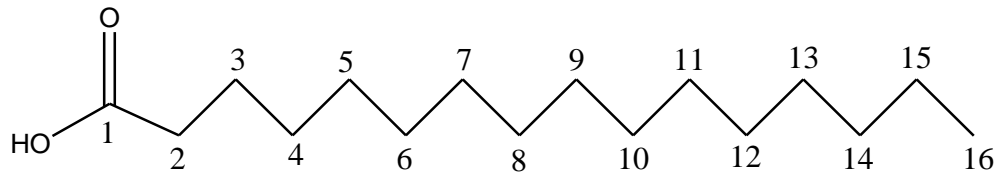
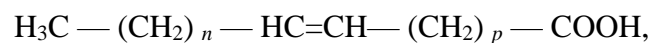


Schéma 1: Acide palmitique

- Un acide gras insaturé est un acide gras qui comporte une ou plusieurs doubles liaisons carbone-carbone. On parle d'acide gras mono-insaturé lorsqu'il n'y a qu'une seule double liaison et d'acide gras poly-insaturé lorsqu'il y en a plusieurs.

Ils sont de formule générale :



Où n et p sont des nombres entiers positifs.

- Un acide mono-insaturé est un acide gras dont la structure contient une double liaison carbone-carbone.

La position de la double liaison est déterminée en comptant à partir du carbone de la fonction carboxylique, on parle alors une notation delta.

La position de la double liaison est déterminée en comptant à partir du carbone terminal, on parle alors la notation oméga (w).

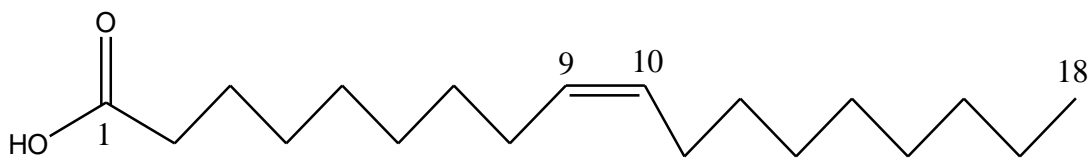


Schéma 2:Acide oléique C18: 1w₉

C'est un acide gras très abondant dans les graisses végétales et animales

- Un acide gras polyinsaturé est un acide gras dont la structure contient plusieurs doubles liaisons carbone-carbone ou insaturations.

L'acide linoléique est un acide gras indispensable (besoins quotidiens : 3-4 g).

C'est un acide gras à C18 avec deux doubles liaisons ($w_{6,9}$). Il conduit par voie enzymatique à l'acide arachidonique dans l'organisme.

Nom systématique : acide cis-cis-9,12-octadécadiénoïque.

Notation : C18 : 2 delta 9,12 ou C18 : 2w-6

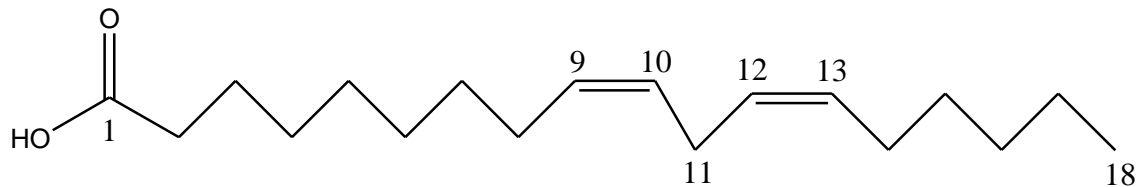


Schéma 3: Acide linoléique C18 2 w_6

Selon l'endroit où se situe la première insaturation on parlera soit d'oméga 6 (w_6) soit d'oméga 9 (w_9). Si la première insaturation se trouve entre le 6^e et le 7^e atome de carbone nous serons en présence d'un oméga 6 et si la première insaturation se trouve entre le 9^e et le 10^e atome de carbone nous serons en présence d'un oméga 9. Les métabolismes et les alcaloïdes n'ont pas été testés mais ils ont été développés dans la suite pour mieux expliquer comment sont leurs rôles vis-à-vis des espèces.

III - Métabolismes

Le métabolisme est l'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent au sein de l'organisme d'un être vivant pour lui permettre notamment de se maintenir en vie, de se reproduire, de se développer et de répondre au stimulus de son environnement. Certaines de ces réactions se déroulent en dehors de l'organisme. Il existe des métabolites primaires et des métabolites secondaires qui sont issus des réactions de métabolisme [34] :

- Les métabolites primaires : ils sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme. On distingue :
 - Les glucides qui représentent une source d'énergie au niveau des parois cellulaires
 - Les lipides qui constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires
 - Les aminoacides qui représentent une source primaire pour la fabrication de protéines

- Les métabolites secondaires : ils ne sont pas, par définition, nécessaires et vitaux pour la Cellule ou l'organisme. Ces molécules sont présentes en très grand nombre et d'une variété structurale extraordinaire. Elles ont de nombreuses applications pharmaceutiques. De façon générale, les métabolites secondaires sont caractéristiques des plantes supérieures. Ils sont répartis en trois grandes familles chimiques : les composés aromatiques, les terpénoïdes et stéroïdes, les alcaloïdes.

Dans cette étude nous nous intéressons aux alcaloïdes

IV - Alcaloïdes

Bien qu'il soit difficile de donner une bonne définition des alcaloïdes, en raison de nombreux cas particuliers, on peut écrire que les alcaloïdes (littéralement «composés qui ressemblent à un alcali») sont des composés d'origine naturelle azotés basiques à fortes activités biologiques, toxiques pour la plupart, qui sont extraits en majorité des plantes à fleurs (8,7 % des phanérogames, dicotylédones).

L'azote organique se rencontre dans la matière vivante animale et végétale (sous forme d'acides aminés entre autres). L'azote inorganique ou minéral se présente majoritairement sous deux formes stables: les nitrites et les nitrates et de l'ammonium. La forme la plus stable étant les nitrates. Les nitrates sont des éléments chimiques indispensables à la synthèse autotrophe de matière organique: ils sont utilisés par les végétaux verts qui réalisent la synthèse des molécules organiques. Ainsi, l'azote est un élément fondamental de la matière vivante: il est présent dans les molécules organiques et donc des protéines animales et végétales.

Ces composés peuvent être classés comme alcaloïdes vrais, proto alcaloïdes ou pseudo alcaloïdes selon la classification d'Hegnauer.

- ✓ Les alcaloïdes vrais, qui représentent le plus grand nombre, sont toxiques et ont un large spectre d'activités biologiques. Ils sont tous basiques. Leur basicité est due à un atome d'azote contenu dans un hétérocycle (sauf la colchicine isolée du colchique, qui n'est pas basique et ne possède pas d'azote hétérocyclique). Leur biosynthèse s'effectue à partir d'acides aminés. Ils sont sous forme de sels de divers acides dans les plantes.
- ✓ Les proto alcaloïdes sont des amines simples, l'atome d'azote ne faisant pas partie d'un hétérocycle. Ils dérivent d'acides aminés et sont souvent appelés «amines biologiques». Ils sont solubles dans l'eau.

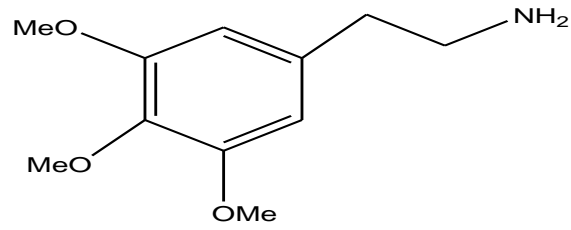


Schéma 4 : Mescaline

- ✓ Les pseudos alcaloïdes ne dérivent pas d'acides aminés. Ils sont pour la plupart basiques. Les alcaloïdes stéroïdaux et les purines sont les représentants principaux de cette classe d'alcaloïdes.

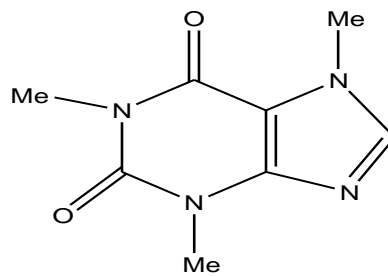


Schéma 5: Caféine

DEUXIEME PARTIE :
METHODES ET MATERIELS UTILISES POUR
L'EXTRACTION

Deuxième Partie : Méthodes et Matériels utilisés pour l'extraction

I) Méthodes et Matériels d'extraction

I-1) Méthodes

I – 1 a) Préparation de la substance

Les feuilles de *Piliostigma reticulatum* ont été cueillies fraîchement *dans le quartier de Kénia en face UASZ*. Elles ont été rincées à l'eau du robinet, ensuite séchées au laboratoire de chimie pour éviter la dégradation des molécules via les rayons solaires pendant 10 jours. A la cueillette, elles pesaient 2 kg et après séchage ils ne restent que 0,7359 kg ; d'où l'indice d'humidité est de 63,205 %. Les feuilles ont été réduites en poudre grossière à l'aide d'un pilon et d'un mortier. La poudre a été stockée dans des sachets en plastique pour la macération.

$$IH = \frac{M_{FF} - M_{FS}}{M_{FF}} \times 100$$

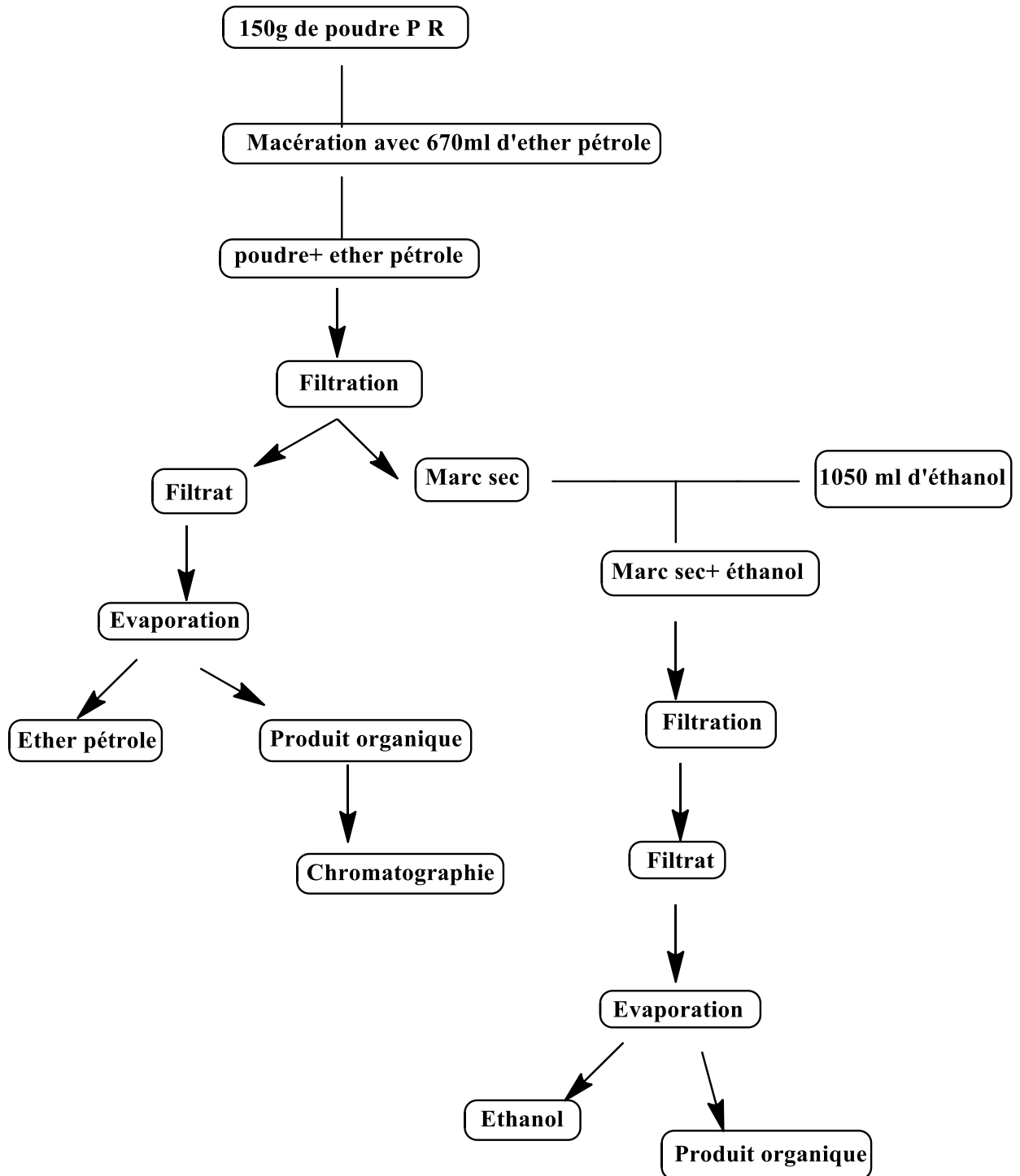
M_{FF} = Masse de Feuilles Fraiches

M_{FS} = Masse de Feuilles Sèches

IH= Indice d'Humidité

I-1-b) Processus d'extraction

Schémas ci-dessous représente le processus d'extraction de *Piliostigma reticulatum*.



Schémas 6 : Processus expérimentale d'extraction des produits

I - 2) Matériels d'extraction

Les matériels utilisés :

- **Un ballon de 5000ml** a été utilisé pour conserver la solution.
- **Un entonnoir + coton** sont utilisés pour séparer le filtrat et le marc.
- **Un bidon de 5 litre en plastique** pour conserver le filtrat.
- **Un carton en plastique** pour sécher les marcs.
- **Un appareillage d'évaporation** sert à séparer le produit organique et le solvant utilisé.
- **La colonne** est faite pour séparer les molécules.

I – 2 a) Techniques d'extraction

L'extraction est un procédé qui consiste à séparer ou à retirer une molécule situant dans un corps ou un substituant. Ils existent plusieurs techniques d'extractions telles que celles solide-solide, solide-liquide, liquide-liquide et l'entraînement à la vapeur. Dans notre recherche nous avons procédé l'extraction solide-liquide qui est la technique de la macération. Cette dernière consiste à une opération qui laisse séjourner un solide dans un liquide ou un milieu humide. La préparation de la substance à macérer est indispensable.

I – 2- b) Macération

Pour la macération, nous avons utilisé 150 g de poudre de *Piliostigma reticulatum* qui sont homogénéisées avec 670 ml de l'éther pétrole et 1050ml d'éthanol (70%) comme solvants dans un ballon de 5000 ml. Des pierres en bétons ont été utilisées comme pierres ponces pour stabiliser la poudre de *Piliostigma reticulatum*. Les pierres ont été lavées avec le dichlorométhane puis avec de l'eau distillée et ensuite séchées avant son utilisation. Le mélange a été laissé au repos pendant 72 heures. Après trois jours de macération, l'étape de la filtration intervient. Tous ces solvants sont utilisés pour ce procédé et selon la chronologie suivante : éther pétrole, éthanol (70 %). L'éther pétrole a été utilisé en premier et ensuite l'éthanol pour le marc séché.



Figure 2 : Macération avec l'éther pétrole

I – 2-c) filtration

C'est la phase à laquelle le solvant et le résidu de la poudre (marc) sont séparés. Une fois cette séparation, le marc est isolé et séché et le solvant sera stocké puis évaporé. La filtration est faite via du coton utilisé comme filtre avec un entonnoir en plastique. Le marc conservé dans des cartons en plastique est séché. Le filtrat est conservé dans des bidons de 5 litres en plastiques.

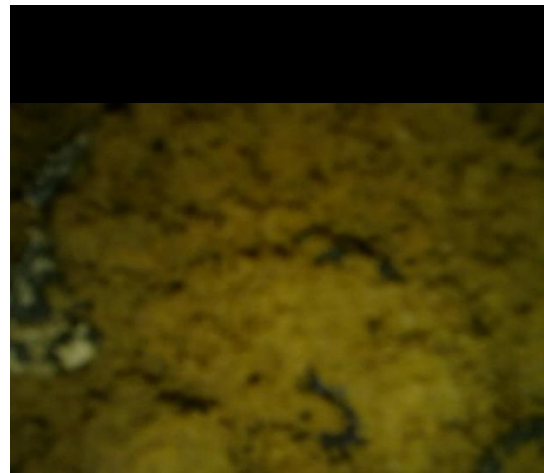


Figure 3 : Marcs de *Piliostigma reticulatum*



Figure 4 : Filtration



Figure 5 : Entonnoir + coton

I – 2-d) Evaporation

L'évaporation consiste à séparer le solvant et le produit organique à l'aide d'un appareillage évaporateur. L'évaporateur contient un rotateur réglé à la vitesse 5/10 ou 6/10. La pompe est utilisée pour les solvants cyclohexane et l'éthanol et non avec le dichlorométhane qui est très volatil. Le solvant récupéré dans le ballon (appartenant au dispositif de l'appareil) est stocké dans des bouteilles en verre de 5 litres pour un usage ultérieur. Le filtrat, avant de déclencher le processus, a été recueilli dans des ballons de 200 ml et ensuite placé dans le bain marin à température de 60° C environ. A chaque fois, le ballon est à moitié rempli de filtrat pour éviter la fuite du produit dans le ballon de récupération de solvant. Après évaporation, le produit est stocké dans des piluliers ou dans des béchers et ensuite séché sous les *Capteurs Erlabs*. Après cette phase, le produit organique est bien isolé et d'autres méthodes interviennent pour la caractérisation.



Figure 6 : Appareillage d'évaporation

I-2-e) Chromatographie en phase inverse

C'est une chromatographie d'absorption liquide-solide dans laquelle la phase stationnaire se distingue par son apolarité. Elle est constituée en général par des silices apolaires greffées. Il existe des greffons apolaires de tailles différentes, de 2 à 18 atomes de carbone, donc de polarités différentes. Elle est constituée comme d'habitude de deux phases :

La phase mobile est polaire et hydrophile. Les séparations sont fondées sur des interactions hydrophobes entre les molécules à séparer et la phase stationnaire (apolaire).

Ainsi, plus un soluté est apolaire, plus il sera retenu au niveau de la phase solide stationnaire. A l'inverse, plus un soluté est polaire, plus il sera entraîné par la phase mobile liquide.

Dans la pratique, cette chromatographie ne s'applique qu'en HPLC, elle porte le nom RP-HPLC (Reverse Phase HPLC ou HPLC en phase inverse). La RP-HPLC s'applique bien à la séparation de petites molécules apolaires : lipides, acides aminés, peptides.

La chromatographie est un principe de séparation des constituants d'un mélange homogène. La colonne de chromatographie comporte deux phases :

- Une phase mobile constituée de l'éluant qui provoque la séparation des molécules du produit homogène selon la polarité.
- Une phase stationnaire constituée de silice qui sert de tamis selon la taille des molécules. Les plus grosses passent en premier ainsi se suivent les autres selon leur diamètre par rapport à la surface des pores.

➤ Préparation de la colonne et séparation

Elle est répartie en 3 phases : la phase stationnaire, la phase organique, la phase mobile.

On prélève 3 g du produit organique du *Piliostigma reticulatum* qui est extrait avec l'éther pétrole. Le produit est mélangé avec de la silice puis évaporé à sec. Le mélange est ensuite déposé dans la colonne contenant le gel de silice. Un éluant de Pentane/Acétate d'éthyle dans des proportions 9,5 /0,5 est utilisé lors de cette séparation. Des tubes à essai servent à recueillir les portions de solutions après passage à travers la silice qui est la phase stationnaire. Ainsi l'aide de la chromatographie sur couche mince CCM permet de regrouper les tubes qui présentent le rapport frontal et le même aspect.



Figure 7 : Colonne en pleine élution



Figure 8 : Colonne en début élution

I-2-f) Chromatographie sur couche mince : CCM

Cette chromatographie a le même principe que celle de la colonne. La seule différence est que la phase stationnaire qui est la silice est fixée sur un support en aluminium. Les produits sont déposés sous forme de tache pour les faire migrer par la phase mobile qui est l'éluant. La migration des produits déposés sous forme de tache sur la ligne de dépôt de la plaque par exemple ; à 0,5 cm du béccher contenant la phase mobile, dépend de l'affinité du produit avec le solvant utilisé. La migration s'arrêtera avant 0,5 cm de la paroi supérieure de la plaque.

Après chaque plaque CCM, on regroupe les produits qui ont le même rapport afin de pouvoir faire la plaque générale (cette partie n'a pas été faite ici pour des manques de solvants). Certaines tâches sont visualisées par une lampe UV. Les tâches non visibles seront ensuite révélées par le *para-anisole* faisant apparaître des tâches colorées après chauffage.



Figure 9 : Plaque CCM

**TROISIEME PARTIE : ANALYSE ET
INTERPRETATION DES RESULTATS OBTENUS**

Troisième Partie : Analyse et interprétation des résultats obtenus

I) Spectroscopies par Résonance Magnétique Nucléaire : RMN ^1H et RMN ^{13}C

La Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire RMN ^{13}C est une méthode applicable dans différentes solutions que ça soit solide-liquide, liquide-liquide, solide-solide. Elle est souvent utilisée pour avoir un aperçu sur la structure de la molécule extraite. Les résultats obtenus permettront de savoir la masse molaire de la molécule particulièrement la totalité des carbones qui s'y trouve. Chaque carbone est caractérisé par son déplacement chimique. Cette méthode de caractérisation fait intervenir d'autres techniques pour une meilleure fiabilité de la molécule proposée.

La Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire RMN ^1H est une méthode qui permet de savoir les couplages entre les protons portés par les carbones. Il existe des spectroscopies à 2D et 3D.

- Le *HSQC* (*heteronuclear single quantum correlations*) est une corrélation $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$. Cette méthode de RMN hétéronucléaire permet de connaître le nombre de protons portés par chaque carbone.

- La méthode COSY (corrélation spectroscopie mononucléaire) est une corrélation entre protons. Cette méthode traduit les corrélations entre les protons portés par les carbones proches.

- La corrélation à longue distance qui est HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlations) intervient avec les corrélations entre protons et carbone à longue distance ^2J et ^3J . Ces corrélations vont permettre d'avoir une nette vision de la structure de la molécule proposée.

Les corrélations HSQC, COSY et HMBC sont dans le plan.

II) Caractérisation et identification de la molécule YB1

L'exploitation des spectres de masse et de résonance magnétique nous guideront à la détermination de la structure du composé.

II – 1) Analyse du spectre de masse

La spectrométrie de masse permet de connaître la masse moléculaire d'une substance inconnue à partir du pic moléculaire. Dans ces spectres (figure 10 et 11) la majeure partie des

pics sont négatifs cela correspond à un bombardement d'électron sur l'échantillon YB1. Les pics perdent à chaque fois un électron, d'où les m/z sont ajoutés + 1. Nous observons les pics :

- m/z = 278, (figure 10) correspondant à l'acide alpha-linolénique (C₁₈) qui est un fragment de l'échantillon YB1 de la molécule.

-m/z = 352, (figure 11) correspond à l'échantillon YB1 a 21 carbones.

Nous avons identifié d'autres pics qui pourraient correspondre à d'autres molécules.

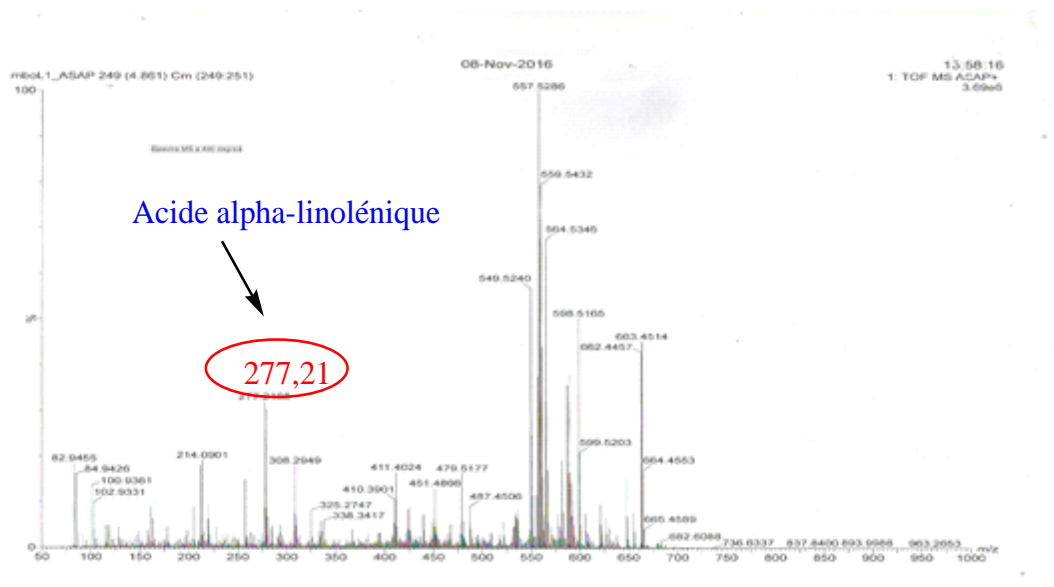


Figure 10 : Spectre 1 de masse de la molécule

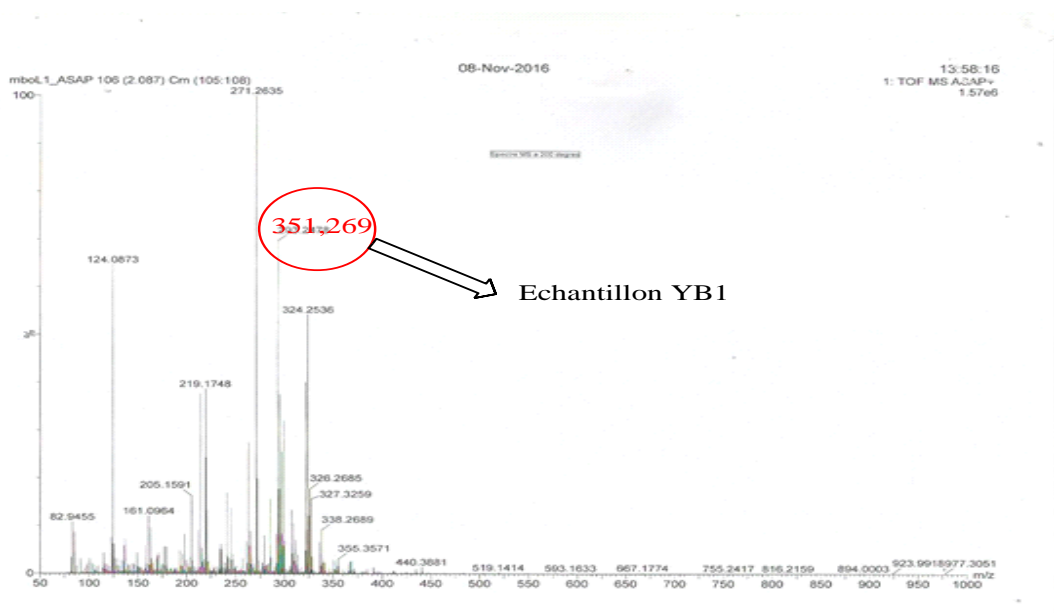


Figure 11 : spectre 2 de masse

II - 2) Analyse du spectre de ^{13}C du composé

Le spectre de carbone (figure 12, 13) nous permet de déterminer le nombre de carbones présent dans la molécule. Ici nous avons 21 pics numérotés de 1 à 21 par ordre décroissant des déplacements chimiques correspondant à 21 carbones. Pour cela nous allons exploiter le spectre de DEPT 135 qui joue un rôle dans la détermination de la nature des carbones. Mais avant cela, nous pouvons déterminer certains par rapport à leur déplacement chimique :

Le carbone portant le numéro 1 à 178,70 ppm confirme la présence d'un d'acide gras.

Les autres pics qui ne sont pas numérotés seront considérés comme des impuretés.

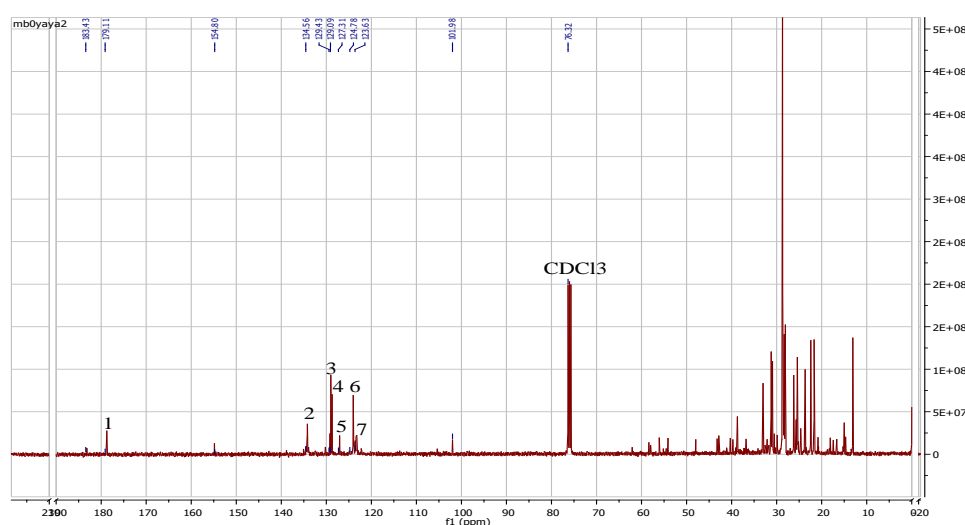


Figure 12 : Spectre de Carbone non zoomé

Un agrandissement du spectre de carbone de 0 à 35 ppm permet de pouvoir mieux voir les autres carbones (Figure 13).

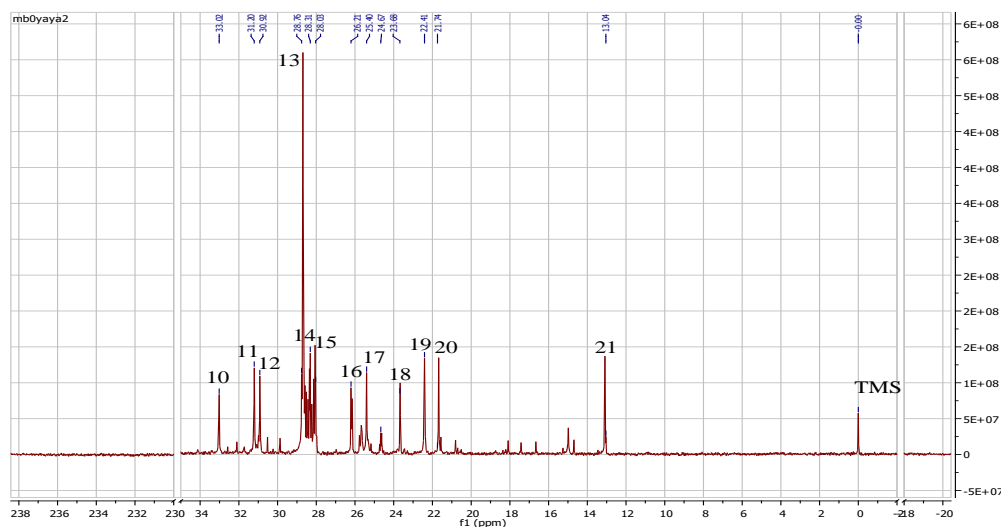


Figure 13 : Spectre de Carbone zoomé de 35 à 21

II - 3) Analyse du spectre DEPT 135

Le spectre obtenu à l'aide de la séquence DEPT permet d'identifier un (1) carbone quaternaire dans la molécule. Il permet de déterminer la nature des carbones protonés et surtout d'identifier les CH₂ pairs qui apparaissent ici en haut (négativement) et les CH/ CH₃ impairs qui apparaissent en bas (positivement). Ce spectre DEPT 135 nous permet d'identifier les carbones C₈, C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃, C₁₄, C₁₅, C₁₆, C₁₇, C₁₈, C₁₉ et C₂₀ comme des CH₂. Les CH₃/CH seront identifiés à l'aide du spectre HSQC par rapport aux signaux et aux déplacements chimiques des hydrogènes. La méthode du DEPT 135 nous a permis d'identifier en gros un carbone quaternaire, 12 CH₂ et 8 CH₃/CH.

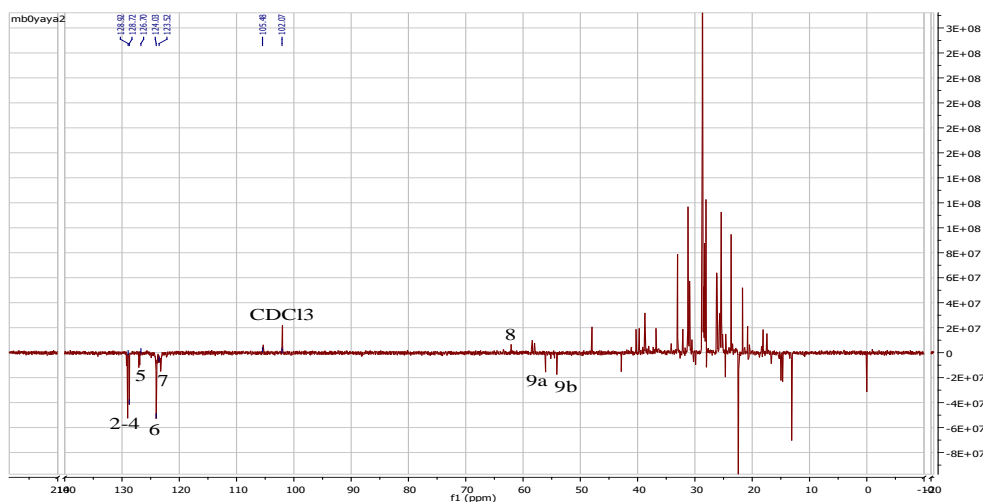


Figure 14 : Spectre de DEPT 135 normal

L'agrandissement de la zone de 0 à 35 ppm dans Le DEPT 135 permet de voir clairement les autres carbones et leurs caractéristiques.

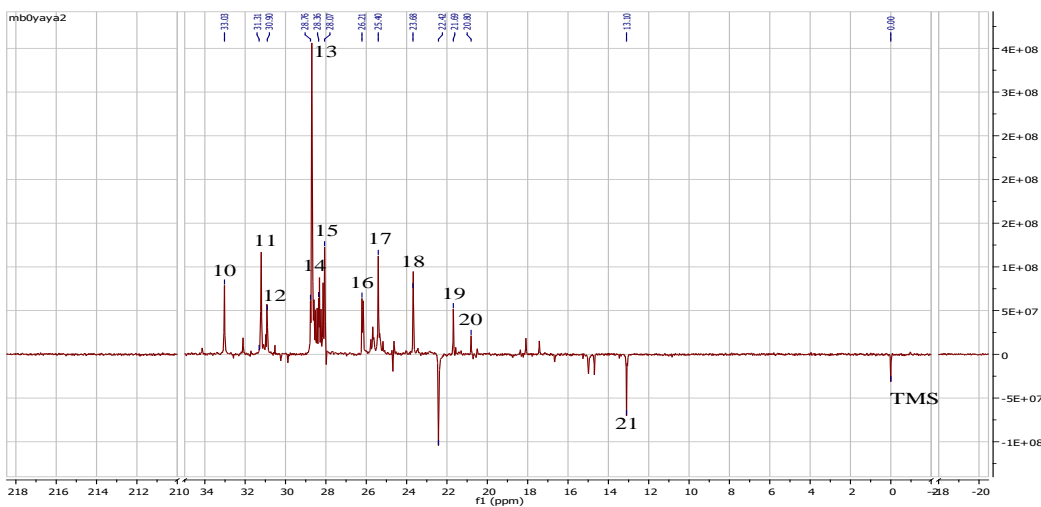


Figure 15 : spectre de DEPT 135 zoomé de 35 à 0

Pour un meilleur aperçu, nous allons poursuivre notre réflexion sur les hydrogènes que chaque carbone porte avec le spectre HSQC.

II - 4) Analyse du spectre de HSQC

Le spectre de HSQC nous montre les corrélations entre carbones et protons liés (C-H) par des couplages directs 1J . Nous observons les corrélations suivantes :

- Les carbones 2, 3 et 4 corréleront avec les protons 2, 3 et 4.
- Les carbones 5, 6 et 7 corréleront avec les protons 5, 6 et 7.
- Le carbone 8 corrélerait avec le proton 8
- Le carbone 9 corrélerait avec les protons 9_a et 9_b.
- Le carbone 10 corrélerait avec le proton 10.
- Le carbone 11 corrélerait avec le proton 11.
- Le carbone 12 corrélerait avec le proton 12
- Les carbones 13, 14 et 16 corréleront avec les protons 13, 14 et 16 respectivement.
- Les carbones 17, 20 et 21 corréleront avec les protons 17, 20 et 21.

Cette méthode nous a permis de bien identifier entre les CH et les CH₃ grâce aux déplacements chimiques des carbones. Le carbone qui porte le numéro 21 à 0,87 ppm est un CH₃.

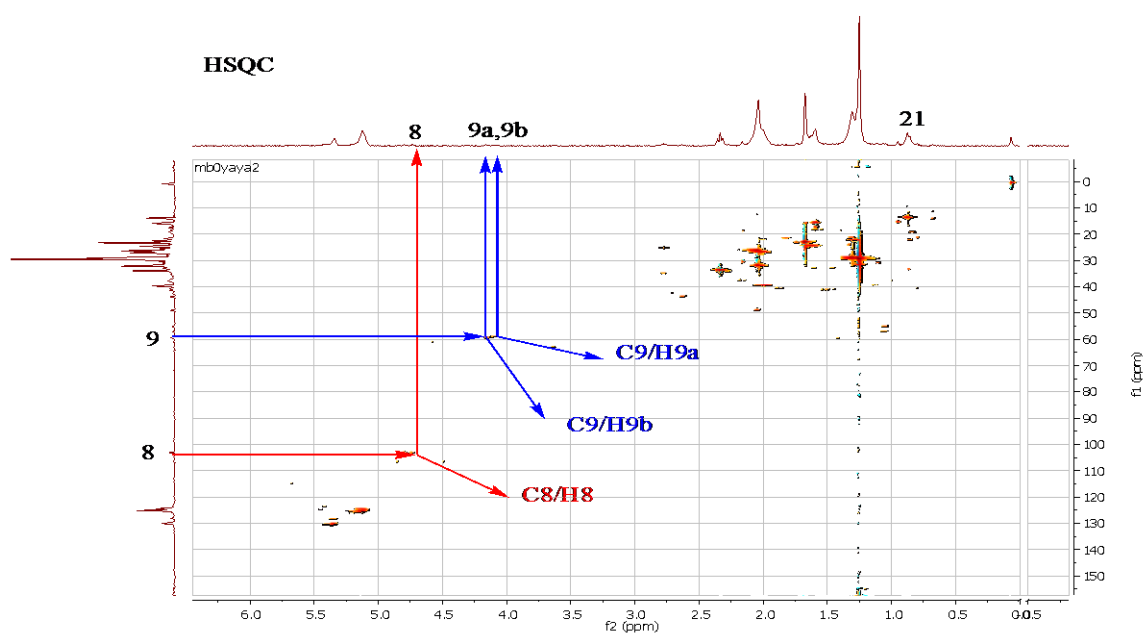


Figure 16 : Spectre de HSQC normale

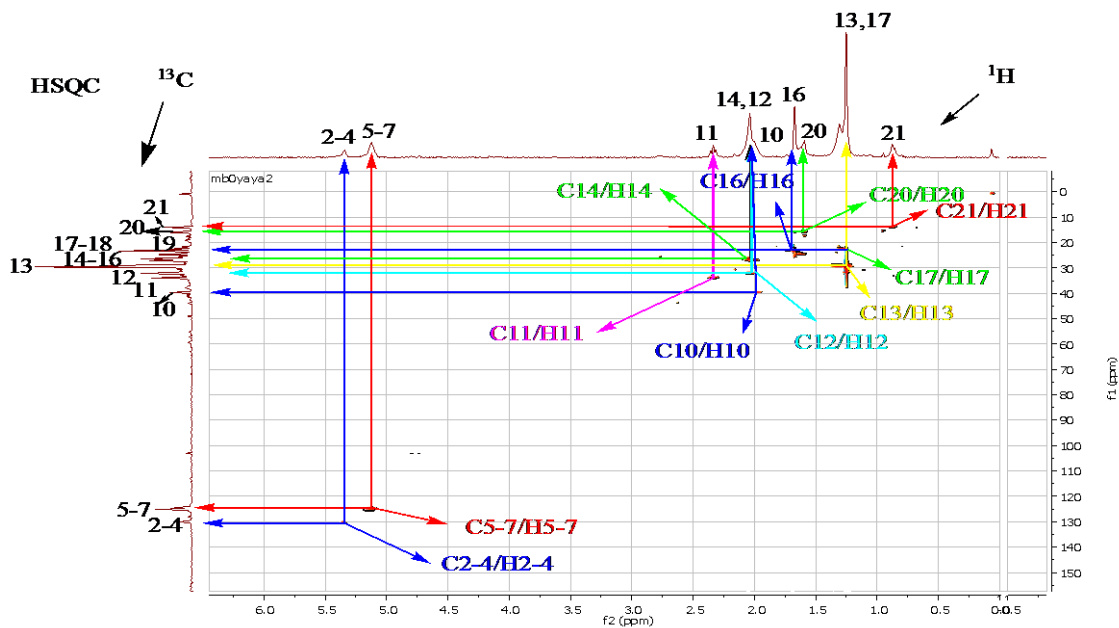


Figure 17 : Spectre de HSQC zoomé

II - 5) Analyse du spectre RMN ^1H

Ce spectre nous permet d'analyser et de déterminer la structure de la molécule organique.

- Les deux signaux correspondants aux protons H_{9a} à 4,79 ppm et H_{9b} à 4,73 ppm indiquent la présence d'un glycérol.
- Le signal correspondant au proton H_0 à 7,26 ppm confirme la présence d'un CDCl_3 .
- Le signal correspond au proton H_8 à 5,30 ppm confirme la présence d'un acide gras.
- Le massif à 2,35 ppm correspond aux 12 CH_2 présents dans la molécule.
- Le signal à 0,87 ppm intégrant 3H correspond à l'unique CH_3 présent dans la molécule.

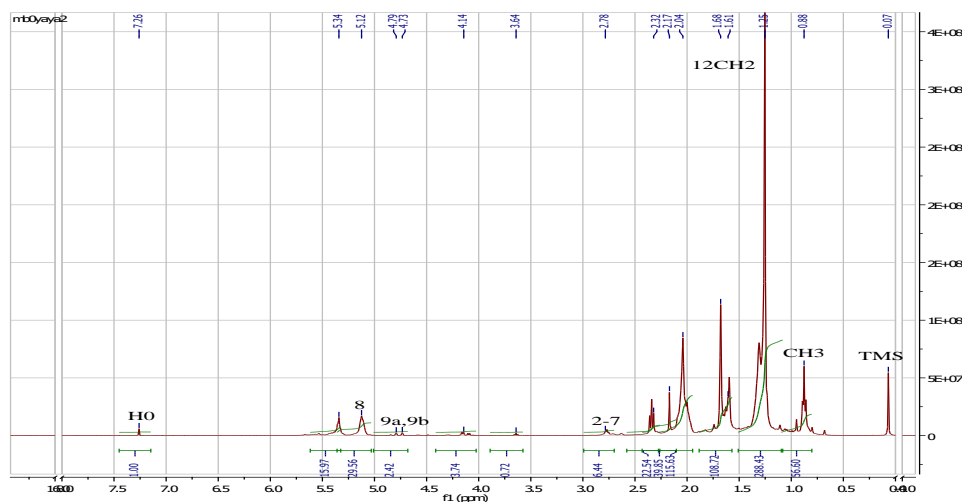


Figure 18 : Spectre RMN ^1H

L'exploitation des spectres de carbones, de HSQC, de DEPT 135 et des protons nous a permis de réaliser ce tableau avec tous les déplacements chimiques et la nature des atomes.

La numérotation des carbones et des hydrogènes et leurs déplacements chimiques sont représentés sur le tableau 1.

Tableau 3: les déplacements chimiques et la nature des carbones et leurs multiplicités.

Numéro de carbone	Δ chimique du carbone en ppm	Nature du carbone	Δ chimique d'hydrogène en ppm	Multiplicité
1	179,10	C		
2	134,17	CH=	2,76	Multiplet
3	130,16	CH=	2,60	Multiplet
4	129,09	CH=	2,65	Multiplet
5	126,90	CH=	2,42	Multiplet
6	124,07	CH=	2,23	Multiplet
7	123,30	CH=	1,08	Multiplet
8	58,45	CH ₂	5,12	Multiplet
9	54,11	CH=	4,09	Multiplet
10	33,01	CH ₂	1,30	Multiplet
11	32,25	CH ₂	0,62	Multiplet
12	31,32	CH ₂	1,25	Multiplet
13	30,91	CH ₂	1,23	Multiplet
14	28,75	CH ₂	1,22	Multiplet
15	28,13	CH ₂	1,13	Multiplet
16	26,17	CH ₂	1,10	Multiplet
17	25,45	CH ₂	1,07	Multiplet
18	25,30	CH ₂	1,05	Multiplet
19	23,59	CH ₂	0,90	Multiplet
20	22,60	CH ₂	0,85	Multiplet
21	21,91	CH ₃	0,87	Multiplet

L'exploitation du spectre COSY nous a permis enfin de pouvoir donner une structure du composé étudié. Ainsi, le spectre COSY nous aide à réaliser ces corrélations.

II - 6) Analyse du spectre de COSY

Pour pouvoir connaître les liaisons entre les carbones, nous faisons recours au niveau des corrélations H-H qui est montré par le spectre COSY

- Les taches diagonales correspondent aux corrélations réciproques autrement dit quand le proton H₁ est en corrélation avec le proton H₂ ou H₂ corréle avec le proton H₁ ainsi de suite.
- Les taches qui forment les carrés montrent les couplages entre les protons voisins qui seront matérialisés ici par des fractions.

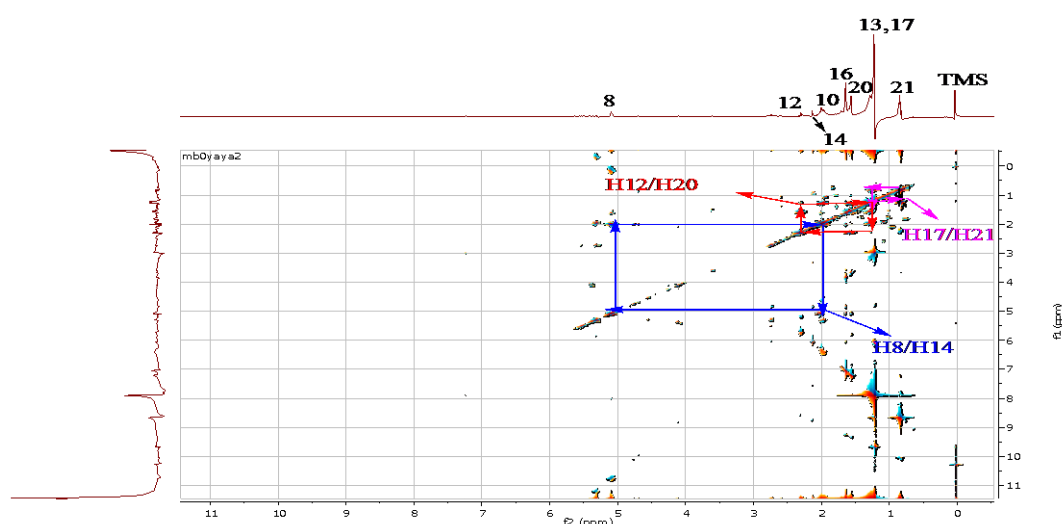


Figure 19 : Spectre de COSY

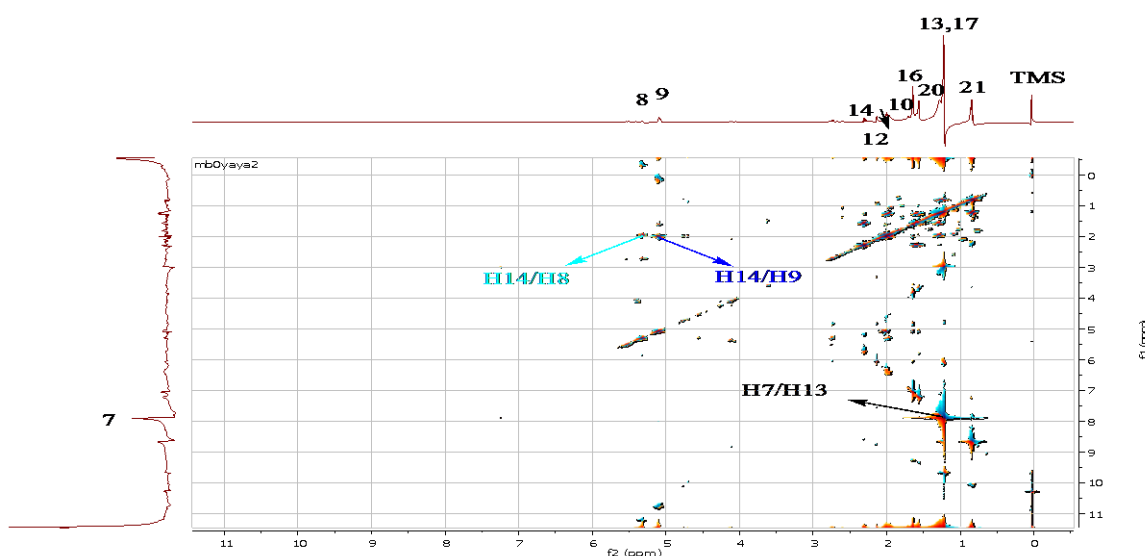


Figure 20 : Spectre de COSY zoomé

L'exploitation du spectre COSY nous conduit à dresser ce tableau qui montre toutes les corrélations possibles.

Le spectre COSY montre que :

Le H₁₄ corrèle avec les protons H₈, H₉

Le H₂₁ corrèle avec le proton H₁₇.

Le H₁₂ corrèle avec le H₂₀.

Tableau 4 : Les corrélations H-H du spectre de COSY

H/H	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
4																		
5																		
6																		
7																		
8											*							
9																		
10																		
11																		
12																	*	
13																		
14					*	*												
15																		
16																		
17																		*
18																		
19																		
20																		
21																		

Avec le spectre COSY, le squelette du composé reste un mystère. Pour ce faire, nous essayons d'exploiter le spectre HMBC qui montre les corrélations C-H à longue distance.

II—7) Analyse de spectre de HMBC

Le spectre de HMBC permet de déterminer les corrélations des déplacements chimiques des protons ^1H et ^{13}C par des couplages à longue distance 2J et 3J . Ces corrélations seront matérialisées ici par des fractions.

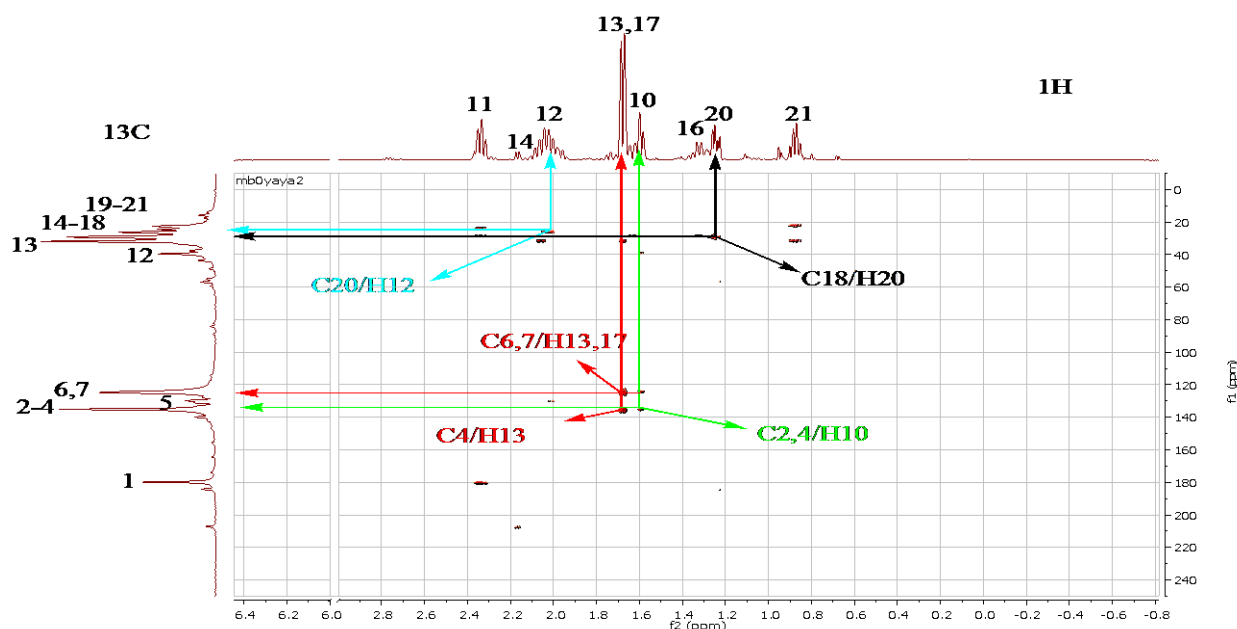


Figure 21: Spectre HMBC normal

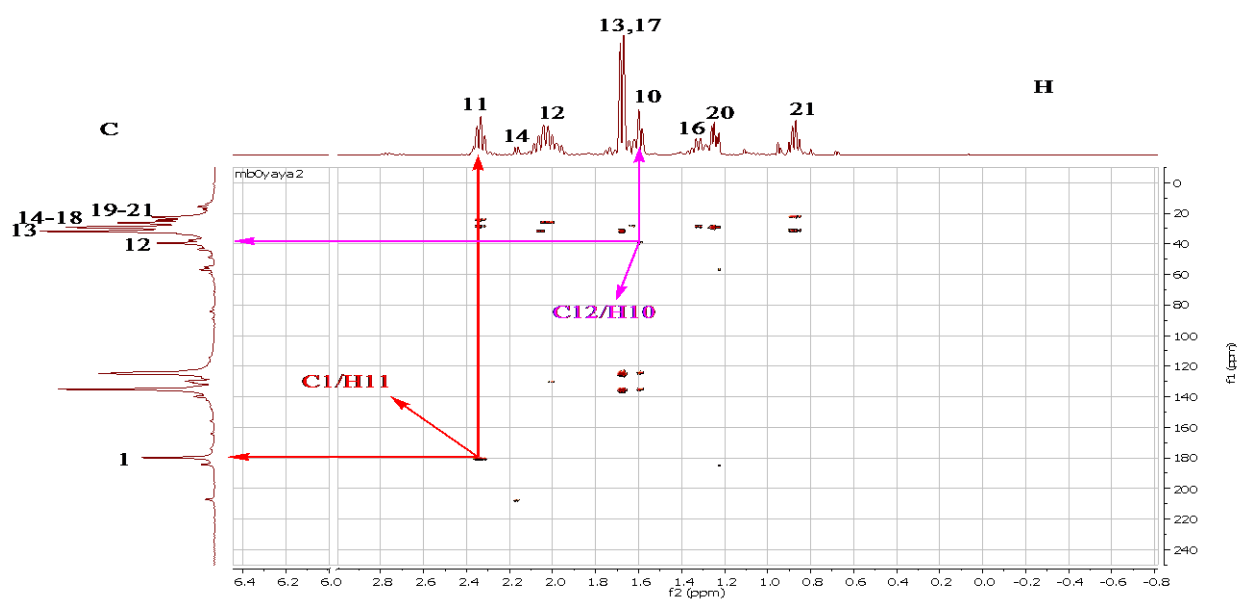


Figure 22 : Spectre HMBC zoomé de 3 à 0

Les corrélations seront matérialisées dans ce tableau ci-dessous.

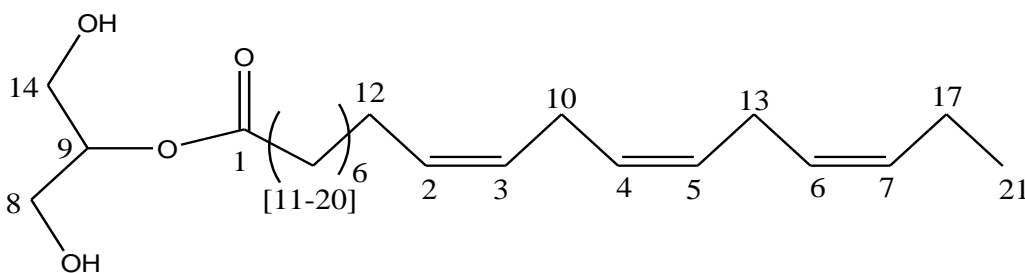
Tableau 5 : les corrélations HMBC

C/H	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1								*										
2							*											
3							*											
4							*			*								
5																		
6										*				*				
7										*				*				
8																		
9																		
10																		
11																		
12							*											
13																		
14																		
15																		
16																		
17																		
18																	*	
19																		
20										*								
21																		

En résumé l'analyse des spectres COSY, HSQC, HMBC, ^1H , nous avons eu un aperçu clair sur la structure de la molécule. Nous proposons une molécule de formule brute $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{O}_4$.

La structure de la molécule possède quatre (4) centres d'insaturation, qui contient une fonction carbonyle, trois (3) méthyléniques et deux fonctions alcools.

La molécule qui dériverait de cette analyse et discussion des résultats a pour formule semi-développée :



(9Z, 12Z, 15Z) - 1,3 dihydroxypropan-2- yl octadeca 9, 12,15- trienoate

Schéma 7 : structure de la molécule

CONCLUSION

Ce mémoire nous a permis de mettre en évidence les connaissances théoriques que nous avons acquises durant notre parcours. Il nous a permis aussi d'avoir une idée sur la recherche bibliographique, de connaître quelques réactions qu'on n'a pas eu l'occasion de voir au cours de nos études.

La littérature et les enquêtes que nous avons menées révèlent que les feuilles de *Piliostigma reticulatum* rentrent dans beaucoup de recettes en médecines traditionnelles pour traiter des maladies bien définies.

L'étude phytochimique des feuilles de *Piliostigma reticulatum* nous a permis d'isoler l'échantillon YB1 à l'aide des méthodes chromatographiques sur colonne et CCM ainsi sur HPLC et HPLC-R. Ce dernier permet de caractériser l'acide gras qui est un fragment de la molécule à caractériser.

L'identification structurale a été réalisée à partir des études spectrales. Nous avons exploité différents spectres à savoir respectivement : spectre de masse, RMN¹³ C de proton, HSQC, COSY et le spectre de HMBC.

La purification de cette molécule *du Piliostigma reticulatum* nous a permis d'isoler la molécule d'acide gras alpha-linolénique combinée avec un glycérol (C₂₁H₃₆O₄).

Le travail est loin d'être terminé, il reste à isoler les produits purs dans les extraits ; éther de pétrole et éthanol/eau et faire des tests cliniques pour déterminer leurs principes actifs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Mohd, AK, Naeem, AK, Qbal, AQ, Ghufuran, A., Shadab, Z (2004). Protective effect of Argue-Ajeeb on acute experimental diarrhea in rats. Bio Med Central, vol. 1472-68882: 4-8.
- 2- Mujumdar, A., Misar, A., Upadhye, a (2005). Antidiarrhoeal activity of ethanol extract of the bark of Dalbergia lanceolaria. J Ethnopharmacol. 102: 213-216.
- 3- Abdullahi, AL., Agho, MO., Amo, SS., Gamaniel, KS, Wambebe, C (2001). Antidiarrhoeal activity of the aqueous extract of Terminalia avicennoides roots. Phytother Res., 15: 431-434.
- 4- Hostettmann K, Marston A, Ndjoko K, Wolfender J (2000). The potential of African plants as a Source of Drug. Curr. Org. Chem., 4: 973-1010. 27.
- 5- Snyder, JD, Merson, MH (1982). The magnitude of the global problem of acute ddiarrhoeal disease: A review of acute surveillance data. Bull World Heath Organ. 60: 604-613.
- 6- Aniagu, SO., Blinda, LG., Nwinyi, F.C (2005). Antidiarrhoeal and ulcer-protective effects of the aqueous root extract au Guiera senegalensis in rodents. J Ethnopharmacol, 97: 549-554.
- 7- Suleiman, MM, Dzenda, T., Sani, CA (2008). Antidiarrheal activity of the methanol stem-bark extract of Annona senegalensis pers. J Ethnopharmacol., 116: 125-130.
- 8- Baumer, M, 1995. Arbres et arbrisseaux nourriciers en Afrique occidentale. CTA, ENDA, Dakar, 260.
- 9- Yayé H, 2002. Essai de monographie sur Borassus aethiopium Mart; (Arecaceae) et Piliostigma reticulatum (DC.) Hochst. (Caesalpiniaceae). U.O. IUFR-SVT, Département de biologie et physiologie végétales. 35.
- 10- Von Maydell, H. J. 1992. Arbres et arbustes du Sahel. Leurs caractéristiques et leurs utilisations. Verlag Joseph Margraf, Weikersheim, Allemagne, 536.
- 11- Berhaut, J. 1975. Flore illustrée du Sénégal. Dicotylédones. Tome III. Connaracées à Euphorbiacées. Dakar, Sénégal : Gouvernement du Sénégal, Ministère du Développement rural et de l'Hydraulique, Direction des Eaux et Forêts, 634.
- 12- Arbonnier, M., 2009. Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest,

3ème édition revue et augmentée. MNHN-QUAE, FRANCE, 576.

13- Vodouhe, F.G., N'danikou, S. & Achigan-Dako, E.G., 2010. *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hochst. In: Brink, M. & Achigan-Dako, E.G. (Editors). Prota 16: Fibres/Plantes à fibres. [CD-Rom]. PROTA, Wageningen, Netherlands.

14- Lufafa, A., Bolte, J., Wright, D., Khouma, M., Diedhiou, I., Dick, R.P., Kizito, F., Dossa, E., Noller, J.S., 2008. Regional carbon stocks and dynamics in native woody shrub communities of Senegals's Peanut Basin. *Agric. Ecosyst. Environ.* 128:1–11.

15- Lufafa, A., Diedhiou, I., Ndiaye, N.A.S., Sene, M., Kizito, F., Dick, R.P., Noller, J.S., 2009. Allometric Relationship and peak season community biomass stocks of native shrub in Senegals's Peanut Basin. *J. Arid Environ.* 73, 260–266.

16- Yélé mou, B., Yameogo, G., Bationo, B., Millogo, R. J., Hien, V., 2012. Les formations à *Piliostigma* en zone sahélo-soudanienne du Burkina Faso: Etat des peuplements, dynamique de la régénération sexuée et pression anthropique. *Int. J. Biol. Chem. SCI.* 6:2083-2096.

17- Yélé mou, B., Bationo, B.A., Yameogo, G., Millogo-Rasolodimby, J., 2007. Gestion traditionnelle et usages de *Piliostigma reticulatum* sur le Plateau central du Burkina Faso. *Bois et Forêts des Tropiques* 291 :55–66.

18- Abasse, T., Yayé, A., Zakari, A.H., Assoumane, I.A., Toudou, A. 2013. Influence des Parcs agro-forestiers à *Piliostigma reticulatum* sur l'infestation des plants de mil par les insectes floricoles et *Coniesta ignefusalis* (Hmps) (Lépidoptère : Pyralidae) dans la zone d'Aguié au Niger. *J. appl. Biosci.* 66:5140-5146. **Arbonnier, M. 2009.** Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. MNHN-QUAE, France, 576.

19- Diack, M., Sene, M., Badiane, A.N., Diatta, M., Dick, R.P. 2000. Decomposition of a native shrub, *Piliostigma reticulatum*, litter in soils of semi-arid Senegal. *Arid Soil Res. Rehabil.* 14: 205–218.

20- Lahmar, R., Bationo, B.A., Lamso, N.D., Guero, Y., Tittonell, P. 2012. Tailoring conservation agriculture technologies to West Africa semi-aride zones: Building on traditional local practices for soil restoration. *Field Crops Res.* 132:158–167.

21- Nacoulma, O.G., 1996. Plantes médicinales et pratiques traditionnelles au BF : cas du Plateau central. Tome 1 et Tome II. Thèse d'Etat, Université d'Ouagadougou! Burkina Faso, 261.

22- Dao, M. C. E., 2012. Biologie et écologie de la reproduction sexuée d'une *Caesalpinioideae*.

23- Sanou, S., 2005. *Piliostigma reticulatum* (D. C.) Hochst., potentialités fourragères et essai D'amélioration de la valeur nutritive des gousses. Mémoire de fin de cycle, Institut du Développement Rural Université Polytechnique Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, 57.

24- Zerbo D., 2011. Gestion paysanne, densités et production de biomasse aérienne de *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hoscht dans les agrosystèmes du Centre Nord: cas des villages De Yilou et de Barsa dans la province du Barn. Mémoire de fin de cycle, Institut du Développement Rural/Université Polytechnique de Bobo- Dioulasso, Burkina Faso, 62.

25- Traore M., 2000. Etude de la phénologie, de la régénération naturelle et des usages de *Piliostigma reticulatum* (DC) Hochst en zone Nord soudanienne du Burkina Faso. Mémoire de fin de cycle, Institut du Développement Rural Université Polytechnique de Bobo Dioulasso, Burkina Faso, 68.

26 - Giffard, P. L., 1974. L'arbre dans le paysage sénégalais. CTFT Dakar, 431.

27- Lahmar, R., Hamma, Y., 2012. Zaï et potentiel de l'association cultures annuelles. Arbustes natifs In : La Grande Muraille Verte : capitalisation des recherches et valorisation. Des savoirs locaux [en ligne]. Montpellier: IRD Editions, **2012** (généré le 28 décembre **2013**).

[En ligne] URL: <http://books.openedition.org/irdeditions/3298>.

28- Diack, 1998. *Piliostigma reticulatum* dans un parc à *Cordyla pinnata* : effet sur la Régénération des sols dégradés au Sénégal. Mémoire de titularisation, Institut Sénégalais Rechercher Agricoles, Sénégal, 53.

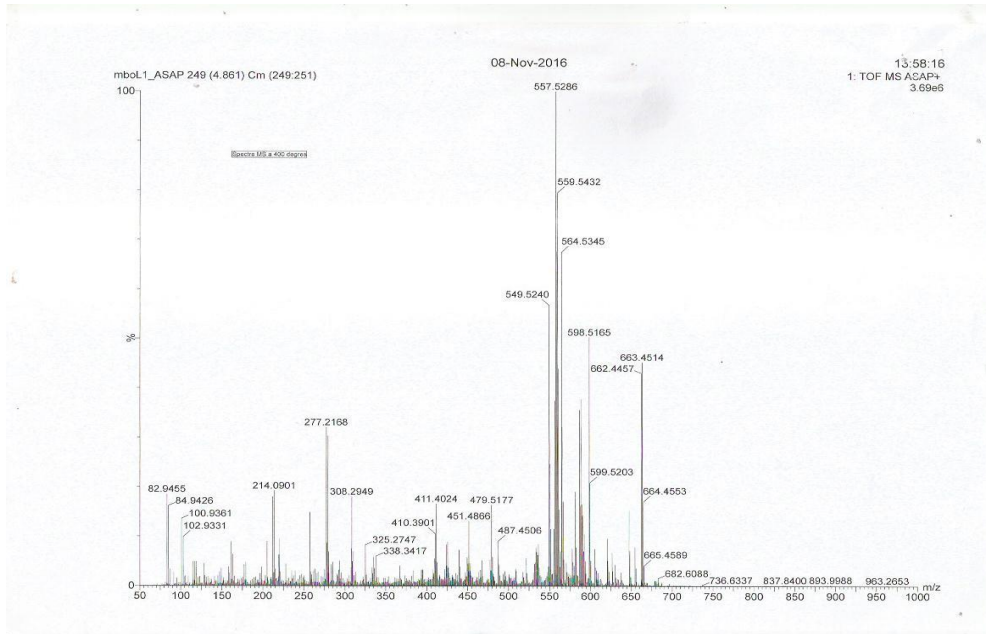
29- Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S., Nacro, M., 2008.

Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso. Phannacopée et Médecine Traditionnelle Africaines, 2008 ; 15 : 41 - 49.

- 30- Toutain B., 1980.** Le rôle des ligneux pour l'élevage dans les régions soudaniennes De l'Afrique de l'Ouest. In LE HOUEROU H. N. éd. Les fourrages ligneux en Afrique, état actuel des connaissances. Addis Abeba. Ethiopie. 8-12 avril. CIPEA pp.
- 31- Olivier M., 1998.** Valorisation des plantes médicinales des jachères au Burkina Faso. Programme "Jachères" (Coopération C.E.E. Afrique), 96.
- 32 - Maydell, H., Von, J., 1983.** Arbres et arbustes du sahel, leurs caractéristiques et leurs Utilisations, GTI, 532.
- 33- Traore M., 2000.** Etude de la phénologie, de la régénération naturelle et des usages de
- 34- Richter, G.** *Métabolisme des végétaux – Physiologie et biochimie*, Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, **1993** (Traduction française de Stoffwechselphysiologie der Pflanzen, **1988**, Georg Thieme Verlag, Stuttgart).

Liste de l'annexe

Annexe 1 : Spectre de masse de l'échantillon YB2



Annexe 2 : Spectre de proton de l'échantillon YB2

