**Article Original**

**Identification des Composés Bioactifs Pouvant Justifier l’Usage des Feuilles de *Psychotria Calceata* en Médecine Traditionnelle au Cameroun**

***Identification of bioactive compounds that may justify the use of the leaves of Psychotria calceata in traditional medicine in Cameroons***

Nnanga Nga1, 2,3\*, Ngolsou F 2, Soppo Lobe V1, Maniépie NPJS2, Nyangono Ndongo M1, 2, Eya’ane Meva’a F1, Mpondo Mpondo E1, 2, Ze Minkande2.

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| 1. Faculty of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Douala, P.O. Box 2701, Douala Cameroon
2. Faculty of Medicine and Biomedical Sciences, Université of Yaoundé I
3. Centre for Research on Medicinal Plants and Traditional Medicine, IMPM, P.O. Box 13033, Cameroon

**Auteur correspondan**t : Nnanga NgaMail : ngnnanga@yahoo.fr Tél : (+237) 691 599 985**Mots-clés** : composés bioactifs, Psychotria calceata, médecine traditionnelle, composés phénoliques, alcaloïdes.**Keywords**: bioactive compounds, *Psychotria calceata*, traditional medicine, phenolic compounds, alkaloids. | **RÉSUMÉ** |
| **Objectif.** Ce travail avait pour but de valoriser l’usage traditionnel de *Psychotria calceata*, espèce aux propriétés pharmacologiques diverses et menacée de disparition pour cause de déforestation dans la partie Sud-Cameroun avec comme objectif de dresser son criblage phytochimique. **Matériel et Méthodes.** Le criblage phytochimique a été réalisé selon le protocole standard de Harborne de 1998. **Résultats.** Le criblage phytochimique a révélé la présence des alcaloïdes, des composés phénoliques, des tanins, des glycosides, des saponines, des flavonoïdes, des anthocyanes et des coumarines. **Discussion.** La présence de ces familles de composés chimiques (notamment les alcaloïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes) justifie les propriétés antimalarique, sympathomimétique, antioxydant, antifongique, anticancéreux et hépatoprotecteur de cette espèce. **Conclusion.** La présence des métabolites secondaires identifiés permet de soutenir l’utilisation de *Psychotria calceata* en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs pathologies. |
|  | **ABSTRACT** |
| **Objective.** The aim of this work was to enhance the traditional use of Psychotria calceata, a species with diverse pharmacological properties and threatened with extinction due to deforestation in the southern part of Cameroon, with the aim of establishing its phytochemical screening. **Material and Methods.** The phytochemical screening was carried out according to the 1998 Harborne standard protocol. **Results.** The phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, phenolic compounds, tannins, glycosides, saponins, flavonoids, anthocyanins and coumarins. **Discussion.** The presence of these families of chemical compounds (notably alkaloids, phenolic compounds, flavonoids) strongly justifies the antimalarial, sympathomimetic, antioxidant, antifungal, anticancer and hepatoprotective properties of this species. **Conclusion.** The presence of the identified secondary metabolites supports the use of Psychotria calceata in traditional medicine for the treatment of several ailments. |

**INTRODUCTION**

La médecine traditionnelle se définit comme étant la somme de toutes les connaissances, compétences et pratiques reposant sur les théories, les croyances et les expériences propres à différentes cultures, qu’elles soient explicables ou non, et qui sont utilisées dans la préservation de la santé, ainsi que dans la prévention, le diagnostic, l’amélioration ou le traitement des maladies physiques ou mentales [1]. Au Cameroun, elle est encouragée à travers le décret No 2013/093 du 03 Avril 2013 portant organisation du Ministère de la Santé Publique en son article 42 alinéas 1, qui définit le rôle du service de développement de la médecine traditionnelle chargé du suivi et de l’encadrement des activités liées aux prestations socio-sanitaires traditionnelles, également du développement de la collaboration entre ces derniers et les services de santé [2]. Ainsi au Cameroun, la thérapie à base des extraits des plantes naturelles demeure l’une des voies utilisées par les populations pour soigner plusieurs maux [3]. Parmi ces extraits, bon nombre sont dotés d’une efficacité réelle inconnue d’où l’intérêt de mener des études sur leur composition chimique [4]. C’est dans cette même lancée que nous, au sein du laboratoire multidisciplinaire du département de pharmacie galénique et de législation pharmaceutique de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l’Université de Yaoundé 1, menons des travaux de recherche sur les plantes d’origine camerounaise déjà connues ou non pour leurs propriétés pharmacologiques afin d’intégrer avec sécurité leurs utilisations dans le secteur médical. Pour ce faire, nous avons fait le choix d’orienter notre étude sur une plante locale menacée de disparition [5] et dont le genre possède plusieurs propriétés pharmacologiques [6] utilisée en médecine traditionnelle à savoir *Psychotria calceata* Petit (Rubiaceae). Ainsi, nous nous sommes proposé d’effectuer un criblage phytochimique pour justifier l’utilisation de cette plante par la population locale.

**MATÉRIEL ET MÉTHODES**

**Matériel : matériel végétal**

Cette étude de type expérimental a été réalisée à l’Institut de Recherche Médicale et d’Étude des Plantes Médicinales (IMPM) du Cameroun. Les feuilles de *Psychotria calceat*a ont été récoltées à Afane Essokié, une petite bourgade située à environ 25km de Campo dans le Sud-Cameroun et son identification a été faite à l’Herbier National du Cameroun par comparaison à la collection botanique de MIKIO échantillon référencé C5 et enregistré sous le numéro 54000/hnc.

**Méthodes**

**Obtention de l’extrait aqueux des feuilles de *Psychotria calceata***

L’extrait aqueux des feuilles de *Psychotria calceata* a été obtenu par une infusion aqueuse. Elle consistait à porter en ébullition pendant 02 heures, 03 litres d’eau contenant 60g de poudre de feuilles séchées à l’abri de la lumière puis broyées traditionnellement. La solution finale obtenue par double infusion, a été filtrée et placée dans une étude pour séchage à une température de 50 °C.

Son rendement a été calculé suivant la formule ci-après :

$$ƞ=\frac{Masse de l^{'}extrait aqueux}{Masse des feuilles fraiches}×100$$

**Analyse phytochimique de l’extrait aqueux des feuilles de *Psychotria calceata***

L’extrait aqueux des feuilles de *Psychotria calceata* a été soumis à une analyse qualitative selon le protocole standard de Harbone (1998) [7] pour détecter la présence des familles des métabolites secondaires présentes au sein de la plante.

|  |
| --- |
| Tableau I: Tests d’identification des grandes familles des métabolites secondaires. |
| Tests | **Mode opératoire** |
| Alcaloïdes | Nous avons dissout 0,5g d’extrait dans 1 ml d’eau distillée ou dans le méthanol. Nous y avons ajouté quelques gouttes d’acide sulfurique 2% et ensuite quelques gouttes de réactif de Mayer. L’obtention d’un précipité blanc ou d’une turbidité indiquait la présence des alcaloïdes. |
| Composés phénoliques | À 5 ml d’extrait ou de composé solubilisé dans le Méthanol, nous avons ajouté quelques gouttes de FeCl3. La formation d’un complexe de couleur bleue ou violette indiquait la présence des phénols.  |
| Flavonoïdes | Dans un tube, Nous avons ajouté à quelques ml de la solution méthanolique d’extrait, quelques gouttes d’une solution de soude au 1/10. La coloration jaune-orangée caractérisait la présence des flavonoïdes. |
| Terpénoïdes, Stérols | Dans un tube à hémolyse, nous avons dissout une petite quantité de produit à l’aide d’un solvant approprié. A la solution obtenue, nous avons ajouté quelques gouttes de réactifs de Libermann-Buchard (1 ml de H2SO4 concentré, 20 ml d’anhydride acétique, 50 ml de CHCl3). les triterpènes donnent avec le réactif, une coloration violacée et les stérols une coloration vert-bleuâtre. |
| Tanins | 50 mg d’extrait ont été ajoutés à 5 ml d’eau distillée. Le mélange a été chauffé au bain-marie pendant 5 min, puis filtré après refroidissement. Ensuite, 4 gouttes de chlorure de fer 0,5% ont été ajoutés à 2 ml de filtrat. La présence des tannins s’est traduite par l’apparition de la coloration noire bleue (bleu sombre). |
| Glucosides | 50 mg de l’extrait ont été dissous dans 1,5 ml de HCL 5%, et ce mélange a été neutralisé par 2,5 ml de NaOH 5%, puis filtré après homogénéisation. Ensuite, le test à la liqueur de Fehling (A et B) à chaud a été réalisé. L’apparition d’un précipité rouge-brique indiquait la présence des glucosides. |
| Anthraquinones | À 5 ml de la solution aqueuse d’extrait sec, nous avons ajouté 5 ml d’ammoniaque à 10%. L’apparition d’une coloration jaune ou orange indiquait la présence de quinones liées et une coloration rouge violacée, la présence de quinones libres. |
| Coumarines | Nous avons ajouté à 5 ml d’une solution méthanolique d’extrait, quelques gouttes de potasse à 10%. L’apparition d’une coloration variant du bleu au jaune pourpre traduisait la présence des coumarines. |
| Anthraquinones | À 5 ml de la solution aqueuse d’extrait sec, nous avons ajouté 5 ml d’ammoniaque à 10%. L’apparition d’une coloration jaune ou orange indiquait la présence de quinones liées et une coloration rouge violacée, la présence de quinones libres. |
| Coumarines | Nous avons ajouté à 5 ml d’une solution méthanolique d’extrait, quelques gouttes de potasse à 10%. L’apparition d’une coloration variant du bleu au jaune pourpre traduisait la présence des coumarines. |
| Anthocyanes | À 5 ml de solution aqueuse ou alcoolique contenant l’extrait, ajouter successivement quelques gouttes d’acide chlorhydrique dilué et quelques gouttes d’ammoniaque. Si la solution vire au rouge après ajout de l’acide chlorhydrique et par la suite au bleu-violacé-verdâtre par ajout d’ammoniaque, elle contient des Anthocyanes. |
| Saponines | 50 mg d’extrait ont été ajoutés à 5 ml d’eau distillée. Le mélange a été chauffé au bain- marie pendant 5min. Après agitation, l’indice de mousse devrait être au moins de 2 cm. |

**RÉSULTATS**

**Rendement d’extraction par infusion**

Partant de 300.75g de feuilles, nous avons obtenu 100.05g de feuilles séchées. Après pulvérisation, 95.01g ont été obtenu et 60.08g ont été infusés. A l’issu de cette opération, 20.05g d’extrait aqueux sec ont été obtenus après étuvage. D’où le rendement d’extraction (ƞ) ci-dessous :

$$ƞ=\frac{Masse de l^{'}extrait aqueux}{Masse des feuilles fraiches}×100$$

A l’issu de cette opération, le rendement d’extraction était de : 6.67%.

**Criblage phytochimique de l’extrait aqueux des feuilles de *Psychotria calceata***

Les analyses phytochimiques ont mis en évidence la présence des grandes familles des composés phytochimiques au sein de l’extrait aqueux des feuilles de *Psychotria calceata* tels que le présente le tableau II.

|  |
| --- |
| Tableau II: Criblage phytochimique de l’extrait aqueux de *Psychotria calceata*. |
| Métabolites Secondaires | Extrait Aqueux de *Psychotria calceata* |
| Alcaloïdes | + |
| Composés phénoliques | + |
| Flavonoïdes | + |
| Tanins | + |
| Glucosides | + |
| Coumarines | + |
| Anthocyanes | + |
| Saponines | + |
| Terpenoïdes, Stérols | –  |
| Anthraquinones | – |
| Légende : (+)=présent, (-)=absent. |

**DISCUSSION**

Les plantes représentent l’essentiel de la pharmacopée et l’avènement de la chimie moderne. Les analyses phytochimiques sur les extraits des végétaux sont une étape préliminaire d’une grande importance puisqu’elles révèlent la présence des constituants connus par leurs activités physiologiques et possédants des vertus médicinales [8].

Le rendement obtenu à l’issu de l’extraction aqueuse sur les feuilles sèches de *Psychotria calceata* était de 6,67%. Il nous renseigne sur la quantité d’extrait contenant les métabolites secondaires présents au sein de notre drogue. Il varie d’une plante à une autre et cette différence s’expliquerait par la capacité du solvant d’extraction à rompre la membrane pectocellulosique des cellules végétales car la rigidité de ces dernières diffère d’une partie de la plante à l’autre, et d’une plante à l’autre.

Le screening phytochimique réalisé sur l’extrait aqueux des feuilles sèches de *Psychotria calceata* nous a permis de mettre en évidence la présence des grandes classes des familles des métabolites secondaires suivants : les alcaloïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les glucosides, les coumarines, les anthocyanes et les saponines. Ces résultats corroborent d’une part avec ceux de Hongmei et *al* qui, en 2016, ont démontré que les alcaloïdes, les terpenoïdes, et les composés phénoliques sont les composés chimiques majoritaires des plantes du genre *Psychotria* [9]. D’autre part, l’étude menée par Formagio et *al* en 2014, rapporte également la présence des alcaloïdes, flavonoïdes et tanins au sein des espèces *Psychotria carthagenis, P. leiocarpa, P. capillacea et P. deflexa* [10]. Les composés phénoliques, les flavonoïdes et les tanins sont connus pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes. Une étude menée sur *Psychotria bridsoniae* a rapporté les mêmes résultats [11]. Les flavonoïdes, les anthocyanes, les saponosides, les tanins sont des métabolites secondaires dotés d’une activité antiinflammatoire connue [12]. Une étude menée sur plante (*Heinsia crinita*) de la même famille que *Psychotria calceata* a démontrée cela [13, 14,15]. La présence de toutes ces familles des composés bioactifs justifie fortement les propriétés antimalarique, antiinflammatoire, antalgique, antimicrobienne, antioxydant, antifongique, anticancéreux et hépatoprotecteur de cette espèce. Cet arsenal de propriétés pharmacologiques revendiqué par son usage en médecine traditionnelle soutient l’idée d’une plurithérapie à partir d’un seul extrait de plante.

**CONCLUSION**

A L’issue de ce travail, nous avons pu réaliser le criblage phytochimique de l’extrait aqueux des feuilles de *Psychotria calceata*. Ce qui nous a permis de constater l’abondante présence des métabolites (alcaloïdes, composés phénoliques, flavonoïdes, tanins, glycosides, anthocyanes, coumarines, saponines) secondaires responsable de ses activités biologiques et de comprendre l’utilisation de Psychotria calceata en médecine traditionnelle.

**Conflit d’intérêt**

Aucun

**Remerciements**

* Au Laboratoire de Pharmacie Galénique et de Législation Pharmaceutique de la Faculté de Médecine et de Sciences Biomédicales de l’Université de Yaoundé I ;
* Institut de Recherche Médicale et d’Étude des Plantes Médicinales.

**Sources de financement**

Laboratoire de Pharmacie Galénique et de Législation Pharmaceutique de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l’Université de Yaoundé I.

**RÉFÉRENCES**

1. Chan M. [www.who.int](http://www.who.int) [en ligne]. Genève: OMS; 2014. Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023;[lu le 02/11/2017]; disponible : who.int/medicinedocs/documents/s21201fr/s21201fr.pdf
2. Ndiaye M, Sy G, Dièye A, Touré M, Faye B. Evaluation de l’activité anti-inflammatoire de feuilles d’*annona reticulata* (annonaceae) sur l’œdème aigu de la patte de rat induit par la carragénine. Pharm. Méd. Trad. Afr. 2006 ;(15) :179-186.
3. Dibong S, Mpondo M, Ngoye A. et Kwin M. Plantes médicinales utilisées par les populations Bassa de la région de Douala au Cameroun. *Int. J. Biol. Chem. Sci. June*. 2011 ; 5 :1105 – 1117.
4. Zeggwagh A, Younes L et Yassir B. Enquete sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un herboriste à Fes au Maroc. *Pan Afr Med J*. 2013 ; 14 :125 – 1746.
5. Olivier S. et Martin C. *Psychotria monensis* sp nov (Rubiaceae), a tree species from Cameroon. *Nordic Journal of Botany*. 2010 ; 28 : 130-133.
6. Hongmei Y, Hongmei Z, Caiqiong Y et Yegao C. Chemical Constituents of Plants from the Genus *Psychotria*. *Chem. Biodiversity.*2016 ; 13 : 807 – 820.
7. Harbone J.B. Phytochimical method: a guide to modern technique of plants. Third edition. (1998). ISBN: 0412-57260-5.
8. Sofowra A. Medicinal Plants And traditional Medicine in Africa. 2e Edition. Spectrum Books Ltd, Ibadan, Nigeria, 1993.
9. Hongmei Y., Hongmei Z., Caiqiong Y. et Yegao C. Chemical Constituents of Plants from the Genus Psychotria. Chem. Biodiversity.2016; 13: 807-820.
10. Formagio ASN, Volobuff CRF, Santiago M, Cardoso CAL, Vieira MDC, Valdevina Pereira Z. Evaluation of Antioxidant Activity, Total Flavonoids, Tannins and Phenolic Compounds in Psychotria Leaf Extracts. Antioxidants. Dec 2014; 3(4):745‑57.
11. Ranarivelo LR, Ralambonirina TSR, Jaconnet O, Harizafy H, Randriamialinoro F, Rakotondrafara A, et al. Activités biologiques des extraits de Psychotriabridsoniae A. Davis & Govaerts (Rubiaceae) de Madagascar. 2016;5:11.
12. Boumba LS, Nsonde Ntandou GF, Loufoua AB, Makambila MC, Abena AA. Toxicité aiguë, effets anti-inflammatoire et analgésique de l’extrait aqueux de Heinsia crinita (Afzel.) G. Taylor (Rubiaceae). Phytothérapie [Internet]. 2018 [cité 2 août 2020]; Disponible sur: <https://phyto.revuesonline.com/10.3166/s10298-017-1174-4>
13. Ratnasooriya WD, Deraniyagala SA, Galhena G, et al (2005)Anti-inflammatory activity of the aqueous leaf extract of Ixora coccinea. Pharmaceutical Bio 43:147–52
14. Bruneton J (2009) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4e édition, Tec & Doc, Paris, 9:34-9
15. Thongsaard W, Chainakul S, Bennett GW, et al (2001) Determination of barakol extracted fromCassia siameaby HPLC withelectrochemical detection. J Pharm Biomed Anal 25:853–9