



TOGETHER
for a sustainable future

OCCASION

This publication has been made available to the public on the occasion of the 50th anniversary of the United Nations Industrial Development Organisation.



TOGETHER
for a sustainable future

DISCLAIMER

This document has been produced without formal United Nations editing. The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the Secretariat of the United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries, or its economic system or degree of development. Designations such as “developed”, “industrialized” and “developing” are intended for statistical convenience and do not necessarily express a judgment about the stage reached by a particular country or area in the development process. Mention of firm names or commercial products does not constitute an endorsement by UNIDO.

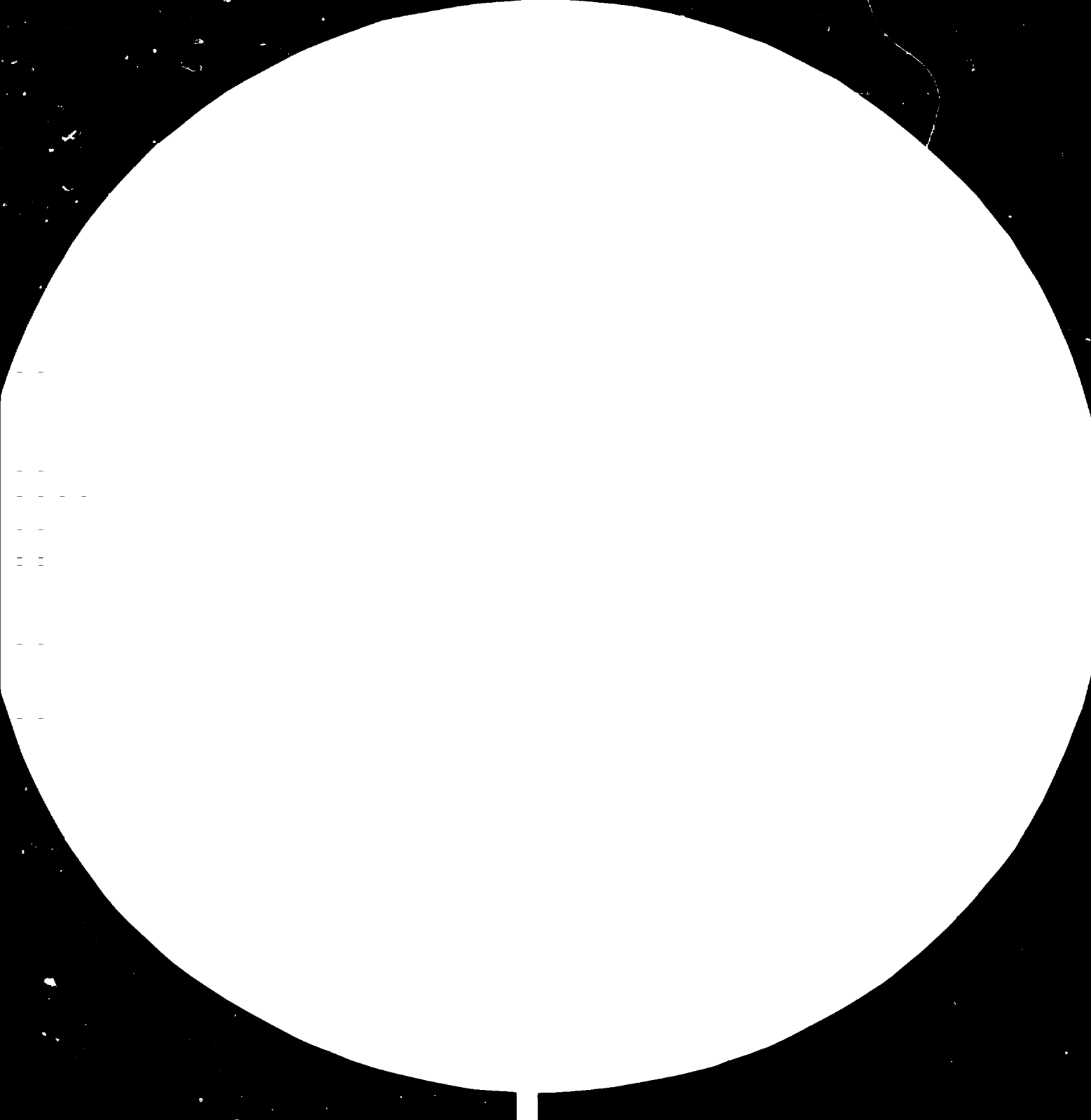
FAIR USE POLICY

Any part of this publication may be quoted and referenced for educational and research purposes without additional permission from UNIDO. However, those who make use of quoting and referencing this publication are requested to follow the Fair Use Policy of giving due credit to UNIDO.

CONTACT

Please contact publications@unido.org for further information concerning UNIDO publications.

For more information about UNIDO, please visit us at www.unido.org



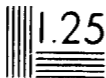


1.0

1.1



1.2



1.8



11712

Cameroon.

ASSISTANCE A L'EXPLOITATION DES PLANTES MEDICINALES.

DP/CMR/79/010

REPUBLIQUE-UNIE DU CAMEROUN

Rapport final*

Etabli pour le Gouvernement de la République-Unie du Cameroun
par l'Organisation des Nations Unies pour le développement industriel,
organisation chargée de l'exécution pour
le compte du Programme des Nations Unies pour le développement

D'après les travaux de Constanta Rizescu,
expert en contrôle de la qualité

Organisation des Nations Unies pour le développement industriel
Vienne

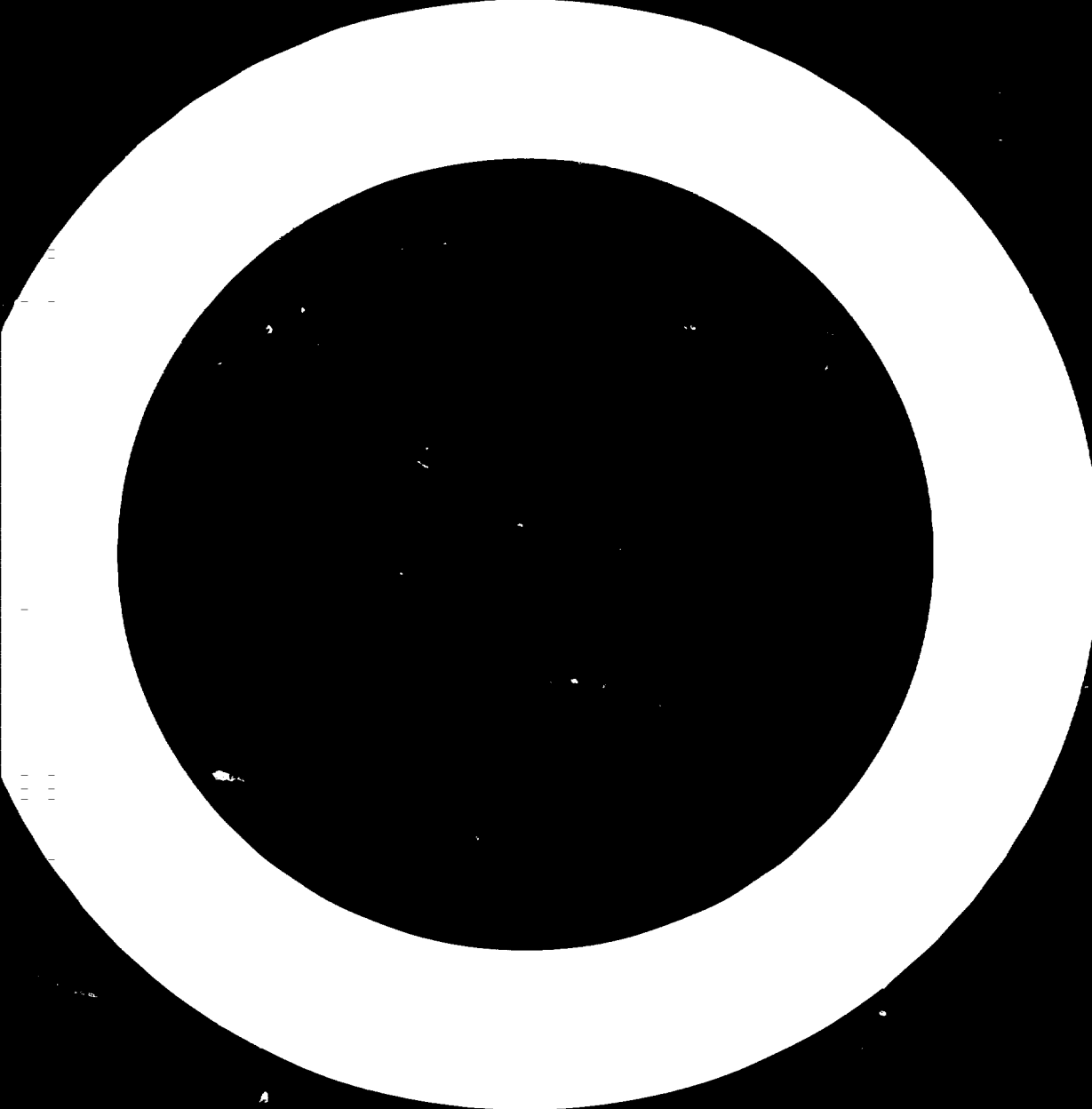
* Ce document n'a pas fait l'objet d'une mise au point rédactionnelle.

S O M M A I R E

	Page
Resumé	5
Introduction	6
1. Evaluation des moyens existants	8
Possibilités de culture et de traitement des plantes médicinales	
2. Les nécessités	10
3. Le programme d'étude phytochimique des plantes au Cameroun	14
4. Mise au point de certaines méthodes d'analyse pour l'étude phytochimique	18
5. Recommandations pour la formation du personnel	21
Annexe 1 - Liste des principaux collaborateurs du Centre d'études des plantes médicinales	25
Annexe 2 - Documentation mise à la disposition de l'expert au Cameroun	26
Annexe 3 - Organigramme de la Délégation générale à la recherche scientifique et technique	27
Annexe 4 - Plan de laboratoire phytochimique	28
Annexe 5 - Liste de solvants, réactifs et indicateurs nécessaires pour le Centre des plantes médicinales	30
Annexe 6 - Les adresses des instituts qui sont autorisés par l'OMS pour envoyer des échantillons des étalons internationaux au point de vue biologique et des substances chimiques de référence	32
Annexe 7 - Equipements proposés pour le Centre d'études des plantes médicinales concernant le ramassage, la conserva- tion et la recherche agricole pour la valorisation de la flore came- rounaise	33
Annexe 8 - Equipements proposés pour compléter les laboratoires du Centre d'études des plantes médicinales et pour des recherches applicatives au niveau pilote au Cameroun	34

Annexe 9	- Liste des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle proposées pour une étude	37
Annexe 10	- Quelques adresses pour envoyer des solutions extractives pour des études au point de vue pharmacologique	38
Annexe 11	- Contrôle microscopique et microchimique des produits végétaux	39
	- Identification microchimique au microscope de certains composants des cellules	
	- Détermination des impuretés et des corps étrangers dans les produits végétaux	
	- Détermination des substances extractives	
	- Détermination du coefficient de gonflement de produits végétaux	
Annexe 12	- Méthodes des analyses chimiques qualitatives des produits végétaux	41
Annexe 13	- Méthode générale pour l'extraction des alcaloïdes d'une plante inconnue	42
Annexe 14	- Méthode générale pour isoler plusieurs composants d'une plante inconnue	43
Annexe 15	- Méthodes d'obtenir les extraits	50
Annexe 16	- Méthodes d'obtenir les teintures	52
Annexe 17	- Détermination de l'amertume	54
Annexe 18	- Méthode de contrôle pour les produits végétaux. Dosage des tanins	55
Annexe 19	- Modèle. Fiche technique de qualité pour Cortex Chinae	56
Annexe 20	- Modèle. Fiche de contrôle des huiles essentielles. Solubilité des huiles essentielles	58
Annexe 21	- Méthodes de contrôle de qualité pour Datura stramonium et Datura innoxia. Méthodes d'extraction pour les alcaloïdes à partir de Datura innoxia	61
Annexe 22	- Méthodes de contrôle de qualité pour Bromhydrate de Scopolamine	63
Annexe 23	- Méthodes de contrôle de qualité pour Strophanthus Gratus	64
Annexe 24	- Méthode d'obtenir teinture de Strophanthus	67
Annexe 25	- Méthodes d'obtenir les hétérosides cardiotoniques à partir de Strophanthus Gratus	69

	Page
Annexe 26 - Méthodes de contrôle de qualité pour Cola Nitida	71
Annexe 27 - Méthodes d'obtenir les extraits de Cola Nitida et teinture de Cola	73
Annexe 28 - Méthodes d'obtenir les Vins de Cola nitida	76
Annexe 29 - Méthodes de contrôle de qualité pour Rauwolfia vomitoria	78
Annexe 30 - Méthodes de contrôle de qualité pour Pyrethrum cinerariaefolium	81
Annexe 31 - Méthodes de contrôle de qualité pour Glaucium flavum	83
Annexe 32 - Modèle. Fiche technique pour méthode d'analyse. Digitalis lanata	86
Annexe 33 - Méthodes pour obtenir les alcaloïdes du Quinquine Teinture de quinquine	89
Annexe 34 - Méthodes de contrôle de qualité pour Physostigma venenosum	93
Annexe 35 - Méthodes de contrôle de qualité pour Pausinystalia yohimbe	96
Annexe 36 - Méthode de contrôle de qualité pour Yohimbinum Hydrochloricum	97
Annexe 37 - Méthode de contrôle de qualité pour Hexaphosphatum	99
Annexe 38 - Teinture de Pilipili	102
Annexe 39 - Teinture d'ecorce de Manguier Extrait de Plantain	103
Annexe 40 - Médicaments traditionnels procurés au Cameroun qui sont proposés pour l'étude phytochimique	104
Annexe 41 - Programme pour l'étude phytochimique des plantes médicinales	105
Annexe 42 - Fiche d'accompagnement des échantillons	107
Annexe 43 - Personnel internationale proposé pour le Cameroun concernant la recherche scientifique, chimique et pharmaceutique applicative et pour la valorisation des plantes médicinales	108
Annexe 44 - Evaluation estimatif de l'assistance intégrée pour la valorisation des plantes médicinales au Cameroun	109



RESUME

Le poste DP/CNR/79/010/11-04/02.10 consiste à mettre au point des méthodes d'analyse phytochimique de plantes médicinales, de la flore du Cameroun, en vue de l'exportation ou pour l'industrie pharmaceutique locale.

La durée de la mission a été prévue pour trois mois. La mission s'est déroulée au premier trimestre de l'année 1982 (Janvier, Février et Mars). En tenant compte du fait que la recherche phytochimique et la mise en valeur des plantes médicinales impose une conception unitaire pour les secteurs intéressés - Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique, Ministère de la Santé Publique, Enseignement, Ministère de l'Agriculture, l'Industrie et même le Commerce - il faut donner des recommandations et des directives d'activité à tous ces secteurs impliqués.

Par manque de temps, l'experte n'a pas réussi à approfondir certains aspects concernant la recherche, la possibilité de travail sur place et elle n'a pas réussi à prendre contact avec la Faculté de Chimie, à connaître le potentiel des Facultés de spécialité (Botanique et surtout de Chimie) et l'outillage dont elles disposent.

Ont été faites, néanmoins, certaines recommandations concernant l'enseignement et même pour la Pharmacie Centrale d'Approvisionnement et en même temps a présenté au Centre Universitaire des Sciences et de la Santé quatre conférences, concernant les plantes médicinales et aromatiques (des aspects techniques pour ramassage, conservation, extraction).

Pour la programmation de la recherche applicative, chimique et pharmaceutique, concernant la flore spontanée et la culture des plantes médicinales, pour standardisation et le contrôle de qualité de matières végétales, ainsi que pour toutes les phases de recherches, identification de principes actifs, détermination quantitative, isolation de produits chimiques purs, préparation de teintures, extraits totaux purifiés, rendement d'extraction au niveau de laboratoire, l'assistance pilote, considérations au point de vue économique, c'est nécessaire l'assistance et l'intervention d'un expert consultant de l'ONUDI, de haut niveau, pendant trois ans, deux mois par an.

INTRODUCTION

La République Unie du Cameroun est située sur la côte d'Ouest de l'Afrique équatoriale; elle jouit d'un climat subéquatorial au dés et tropical dans la plus grande partie du pays.

Son relief est représenté par un plateau creusé de vallées profondes et de chaînes de montagnes; vers l'Océan Atlantique et le sud s'étend au long du littoral, une plaine étroite. La végétation, particulièrement riche, est formée par la forêt équatoriale humide, et, au nord, par une savanne parsemée d'arbres. Une profusion de plantes complètent l'aspect luxuriant de la flore camerounaise.

Les plantes médicinales, représentent une richesse importante du pays et 9 sociétés : PlanteCam, Souacam, Continaf, Papodopulus, Tsanga, Omana etc, exportent 10 espèces environ.

Il y a néanmoins au Cameroun des plantes moins connues ou qui n'ont pas été étudiées scientifiquement mais utilisées dans la médecine traditionnelle par les guérisseurs, les tradipraticiens ou certains membres de la famille initiés aux effets bienfaisants de ces plantes.

Le Gouvernement du Cameroun a demandé à l'ONUFI assistance pour élaborer un programme d'exploitation rationnelle des ressources naturelles du pays afin de créer une industrie pharmaceutique nationale.

La demande fait l'objet du post DP/CLR/7 9/010/11-04/32 I.D. Le but de cette assistance est de mettre au point des méthodes d'analyse phytochimique, pour exploiter la flore médicinale en vue de l'exportation ou pour l'industrie pharmaceutique locale.

Il a été prévu que cette action se déroule au cours de trois mois.

Les objectifs fixés pour cette mission ont été les suivants :

1. - Evaluer les moyens existants, notamment en ce qui concerne les locaux, l'équipement et le personnel de laboratoire nécessaires à l'étude phytochimique et à la sélection de plantes médicinales;
2. - Etablir une liste des besoins en fonction des résultats de cette évaluation.
3. - Etablir un Programme pour l'étude phytochimique des plantes médicinales de la région;
4. - Mettre au point des méthodes d'analyse pour l'examen phytochimique et la sélection des plantes;
5. - Recommander des programmes de formation pour le personnel local de contrepartie.

Pour que cette activité se déroule d'une manière satisfaisante, on a discuté initialement un plan de travail avec M. Benbondi, conseiller industriel de l'ONUDI et les représentants scientifiques impliqués dans les recherches dans le domaine des plantes médicinales. Les réunions de travail ont eu lieu périodiquement avec la participation du représentant de l'ONUDI.

Les principaux collaborateurs de cette activité figurent dans l'annexe 1. La documentation mise à la disposition pour connaître certains aspects concernant les plantes médicinales au Cameroun est exposée dans l'annexe 2.

CONSTATATIONS SUR LE TERRAIN ET L'ACTIVITE AU COURS

DE LA MISSION

L'activité a eu lieu au Centre d'études des plantes médicinales, appartenant à l'Institut de Recherches Médicales. Les institutions de recherche relèvent du Délégué du Premier Ministre chargé de la recherche scientifique et technique. L'annexe 3 représente l'organigramme de la Recherche au Cameroun.

Le Centre de Plantes médicinales se trouve à Yaoundé, aux environs du Centre de nutrition, auquel on emprunte parfois

l'appareillage et la vaisselle de laboratoire, et près du Centre de sérums et de vaccins.

L. EVALUATION DES MOYENS EXISTANTS.

Le Laboratoire de phytochimie du Centre d'études des plantes médicinales occupe , à présent, une salle de travail avec deux chambres contiguës: l'une abrite des balances analytiques et l'autre est destinée à la chromatographie.

Ce laboratoire étant trop petit pour l'activité qui s'y déroulait, tant au point de vue des chercheurs et surtout des opérations multiples et la manipulation de quantités importantes de solvants, destinés aux analyses, en Janvier 1982 on a affecté temporairement une autre chambre appartenant au Centre de sérums et de vaccins.

A l'intérieur de la même cour on érige à présent une construction plus grande destinée au laboratoire de phytochimie qui sera donnée en exploitation dans quelques mois; cette nouvelles construction disposera de plusieurs pièces de travail au nombre de 6, et d'une salle destinée à la documentation et à la bibliothèque (annexe 4).

Ayant en vue le grand nombre d'opérations, la nécessité d'effectuer de multiples extractions et d'augmenter le nombre de chercheurs, il est bon que l'ancien laboratoire et la salle affectée temporairement à la nouvelle construction soient gardées pour le laboratoire de phytochimie. Il y a encore, appartenant à Centre d'études des plantes médicinales un laboratoire botanique qui a deux pièces de travail et un dépôt pour les plantes, satisfaisant pour le moment, mais qui deviendra probablement trop petit au bout d'un an. Quant au laboratoire de pharmacologie, il devait être construit cette année même et devait avoir en plus une animalerie (pour les animaux destinés aux expérience).

Le personnel du Centre d'Etudes des plantes médicinales est tout à fait insuffisant si l'on a en vue le grand nombre de plantes utilisées dans la médecine traditionnelle et scientifiquement encore ignorées.

Pour sélectionner ces plantes, pour leur classification botanique et taxonomique, les deux botanistes qui y travaillent sont insuffisants. Bien qu'on ait commencé rédiger des fiches

mentionnant le nom scientifique et populaire des plantes le nombre de plantes triées jusqu'à présent est petit, par comparaison au nécessaire.

En plus, il n'y a pas d'inventaire, de cartographie économique de la flore camerounaise qui permettent de connaître les bassins naturels et les quantités de plantes médicinales de la flore spontanée dont dispose ce pays.

Le personnel du LABORATOIRE PHYTOCHIMIQUE comprend 6 chercheurs avec des études supérieures, qui ont pour tâche immédiate de contrôler les plantes destinées à l'exportation (Pygeum, Cola, Rauwolfia Strophantus, Phytostigma venenosum, Voacanga, Pausynistolia, Yohimbe, Rauwolfia, etc) et d'effectuer des analyses chimiques afin d'identifier les groupes de principes actifs renfermés par les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle.

L'APPAREILLAGE, LES RÉACTIFS ET LES SOLVANTS sont insuffisants pour une activité satisfaisante, bien qu'il y existe la préoccupation quotidienne de les procurer. Au cours de son activité qui s'est déroulée au moins de février, la direction du Centre d'Etude des Plantes médicinales s'est préoccupée d'acquérir une série d'appareils indispensables à un laboratoire : appareil pour la distillation de l'eau, vaisselle de laboratoire, soxhlet, étuve, réfrigérateurs, etc.

POSSIBILITES DE CULTURE ET DE TRAITEMENT DES PLANTES MÉDICINALES

Outre les caféiers, les cacaoyers, les bananiers, et les palmiers à huile, il y a aussi au Cameroun quelques cultures de plantes médicinales dont environ 1000-1500 tonnes sont exportées tous les ans. Parmi celles-ci rappelons Pygeum et Voacanga.

L'Institut de recherche agronomiques occupe la première place dans l'organigramme montré dans l'annexe avec les Centres et les stations de culture et de recherches emplantés dans diverses régions. Dans certaines de ces stations, avec le concours de l'ONU, on a étudié et essayé à acclimatiser certaines plantes médicinales de valeur, recommandées par l'OMS dont les principes actifs sont à la base de l'industrie pharmaceutique et figurent dans la plupart des pharmacopées

de circulation internationale.

Une visite à ces stations avec les collaborateurs camerounais a permis de connaître le stade d'acclimatation de ces plantes et une vue d'ensemble sur la flore camerounaise. La visite a également donné la possibilité de cueillir des échantillons de plantes nécessaires aux analyses et à l'étude phytochimique.

On a constaté sur le terrain que l'introduction en culture de *Digitalis lanata*, *Glaucium flavium*, *Pyrethrum cinerariifolium* et *Datura innoxia* a donné de bons résultats. Par, contre, *Atropa balladonna* et *Hyoscyamus niger*, n'ont pas donné de résultats satisfaisants. Le personnel de recherche de l'Institut de recherches agronomiques s'intéresse beaucoup à étudier et à introduire en culture d'autres espèces importantes et à continuer les études pour les plantes acclimatées, à élargir leur culture et à collaborer plus étroitement avec des chercheurs du Centre d'Etude des plantes médicinales.

A la même occasion, on a visité L'Usine DCHANG, dont l'activité est interrompue depuis 25 ans. La construction, les installations et les annexes sont en bon état. Il y a également un laboratoire, dépourvu de vaisselle de laboratoire ou d'appareillage, mais qui, grâce à de petite investissements pourrait être outiller à nouveau et mis en fonction pour certaines analyses et recherches des plantes introduites en culture et pour l'analyse des plantes destinées à l'exportation *Pygeum*, *Voacanga*, etc.

Il faut mentionner qu'au Cameroun il n'y a aucun laboratoire pour le contrôle de qualité des substances médicamenteuses importées, des plantes exportées ou des produits alimentaires.

2. LES NECESSITES

Une liste, susceptible d'être enrichie, de réactifs et de solvants nécessaires pour 1982 se trouve dans l'annexe no.5.

Nous rappelons que pour une activité satisfaisante de début concernant l'Assistance de contrôle de qualité dans le domaine des plantes médicinales, le Gouvernement roumain par l'intermédiaire du Centre Commun ONUDI de Roumanie, a mis à

la disposition du projet certaines substances pures de référence et quelques réactifs spécifiques aussi bien que la documentation nécessaire.

Il s'agit , par exemple, d'une série d'alcaloïdes au noyau tropanique comme l'hyoscyamine, la scopolamine, l'atropine, le buscopan et les glycosides primaires et secondaires cardio-toniques (lanatotal A, B, C, Lanatoside C, Digitaline, Digoxine, Digitoxine, acétyldigitoxine, et d'autres substances pures extraites de différentes plantes médicinales: l'ester dipalmi-tique de la lutéine (hélénienne), glaucine, le sulfate de spartéine, rutoside, Parmi les réactifs spécifiques, mentionnons le réactif de Mayer, de Liebermann, Bertrand, Dragendorff etc, ainsi que certains conservateurs pour les produits d'extraction le benzoate de sodium, le Mipagin, le Nipasol, etc

Pour obtenir des substances étalon, on a indiqué dans l'annexe 6 l'adresse des institutions autorisées par l'OMS à fournir de telles substances.

a) Afin que l'étude phytochimique ait une base réelle, les plantes médicinales de la flore spontanée ont besoin d'être cartographiées et inventariées. Ceci implique des personnes instruites, dans ce sens, dans presque toutes les régions du pays, personnes dirigées par les professeurs de la Faculté de Botanique et en collaborations avec les guérisseurs et les tradipraticiens.

Le laboratoire de botanique du Centre d'Etude des plantes médicinales a besoin de 2 botanistes qui rejoignent les 2 autres déjà en fonction d'un terrain agricole d'études et d'essais

b) Pour débiter, un terrain de 3 ha au minimum sera nécessaire, particulièrement dans une station agronomique de recherches, comme par exemple, à Nkollison près de Yaounde. Le terrain de la cour du Centre d'Etude des plantes médicinales est insuffisant et doit être, en plus, aménagé à ces fins.

Le Centre d'Etude de plantes médicinales devrait avoir une ingénieur agronome dont la tâche sera d'étudier l'introduction en culture de plantes médicinales importantes, qui existant déjà dans la flore spontanée du Cameroun, avec un double but : 1) pour standardiser la matière première végétale et 2) pour enrichir, éventuellement, l'espèce en principes actifs.

L'ingénieur agronome qui sera en permanente liaison avec l'Institut de Recherches Agronomiques doit avoir pour tâche, aux côtés d'Institut de Recherches Agronomiques, d'acclimater et d'introduire en culture des espèces classiques de plantes recommandées par l'OMS et la FAO, plantes dont les principes actifs représentent la base d'une industrie pharmaceutique moderne, les substances obtenues étant reconnues dans toutes les pharmacopées internationales, à savoir *Atropa Acuminata*, *Atropa Belladonna*, *Hyoscyamus species*, etc.

En même temps, l'ingénieur agronome avec les chercheurs de l'Institut de Recherches Agronomiques et les phytochimistes du Centre d'Etude des plantes médicinales devront mettre au point la technique de culture de certaines espèces connues, dont la teneur en principes actifs peut être enrichie : *Cinchona*, *Datura innoxia*, *Pygeum*, *Voacanga*, etc.

La dotation du Centre d'Etude des plantes médicinales d'un terrain agricole pour des recherches, en étroite collaboration avec l'Institut de Recherches Agronomiques impose au Centre D'études des plantes médicinales de disposer d'un équipement agricole pour la culture des plantes médicinales, de disposer de moyens de récolte des plantes cultivées aussi bien que des plantes de la flore spontanée, de possibilités de conservation toutes ces plantes et de les transporter dans de bonnes conditions jusqu'à l'endroit où les plantes sont traitées et analysées.

L'annexe no. 7 renferme une liste avec l'équipement nécessaire pour l'étude des plantes médicinales concernant la récolte, la conservation, les études et les recherches agro-techniques dans le but de valoriser la flore du Cameroun.

c) L'étude systématique des plantes médicinales implique des analyses chimiques qualitatives pour identifier des groupes de substances, la séparation des principes actifs, leur extraction, à l'état brut ou purifié, l'isolement des substances pures, la détermination structurale de nouvelles molécules, des recherches de semisynthèse, etc. ce qui suppose un personnel de recherche adéquat au point de vue professionnelle et de leur nombre. Le schéma du laboratoire phytochimique doit donc être complété, en ajoutant aux 5 chercheurs encore 3 analystes,

2 chimistes technologues, qui devront mettre au point les technologies d'extraction, et un minimum de 3 techniciens pour aider aux travaux d'extraction.

d) En dehors de la dotation en réactifs et l'embauchement du personnel, il est nécessaire de procurer l'appareillage adéquat qui puisse promouvoir la recherche de laboratoire au niveau de station pilote et contribuer à l'obtention des extraits. Ceux-ci peuvent être étudiés pour être utilisés dans une forme stable, peu coûteuse, inspirée de la médecine traditionnelle, mais ayant une base scientifique et répondant à la posologie camerounaise.

Ces extraits pourront être destinés aux études précliniques dans les hôpitaux ou aux études galéniques. L'équipement nécessaire pour compléter les laboratoires du Centre D'étude des plantes médicinales, destiné surtout aux recherches appliquées au niveau pilote figure dans l'annexe 8.

e) La toxicité de certains plantes ou extraits, les effets secondaires ou désirables, la confirmation ou l'infirmité des effets thérapeutiques attribués à des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle doivent être étudiés sérieusement dans un laboratoire pharmacologique. Pour commencer, avant de mettre au point l'animalier nécessaire, et même, à l'avenir pour effectuer des expériences croisées (vérifiées à nouveau dans plusieurs laboratoires) il est indiqué que chaque extrait ou fraction extractive soit analysés au point de vue physico-chimique et pharmacologique.

Dans l'annexe sont présentées les adresses de plusieurs laboratoires de l'Afrique où l'on peut expédier des échantillons d'extraits pour des examens pharmacologiques. Outre l'animalerie et l'appareillage nécessaire prévus dis 1930 à entrer dans la dotation du Centre d'Etude des plantes médicinales (Rapport Sandberg Fin) et outre les 2 pharmacologues embauchés en Mars 1962, 2 médecins et 2 pharmaciens seront encore nécessaires.

f) après avoir établi l'activité efficace d'une plante, sont éventuelle toxicité et après en avoir obtenu un extrait ou une substance pure, on peut passer au Centre d'Etudes des plantes médicinales à certaines études galéniques pour chercher la formule pharmaceutique la plus adéquate pour sont administration. En dehors des 2 pharmaciens galénistes affectés à ce

problème par la Pharmacie Centrale d'approvisionnement, il faut encore 2 pharmaciens galénistes au moins. Il créeront le noyau d'un futur laboratoire de galénique au Cameroun, de même que les 3-4 analystes du Laboratoire de phytochimie, formeront le noyau du premier " Laboratoire de Contrôle " appartenant à la et desservant La Recherche Scientifique et technique et la Pharmacie Centrale, le Ministère de la Santé du Cameroun, respectivement.

g) tous les laboratoires auront besoin non seulement de cadres, avec des études supérieures, mais aussi des techniciens et des opérateurs qualifiés dans une école de laborantins pour acquérir les notions élémentaires de chimie.

3. LE PROGRAMME D'ETUDE PHYTOCHIMIQUE DES PLANTES AU CAMEROUN

ayant en vue les plantes qui y existent et peuvent être analysées et étudiées comprendra :

a) Les plantes médicinales de la flore spontanée utilisées dans la médecine traditionnelle, classifiées déjà au point de vue botanique et dont on connaît les indications dans la médecine traditionnelle (voir la liste dans l'annexe)

b) Les plantes destinées à l'exportation : *Prunus africana*, *Voacanga africana* et *thaurossii* *Rauwolfia vomitoria*, *Cola nitida*, *Pausinystalia yohimbe*, *Strophantus gratus*, *Physostigma venenosum*.

c) Les plantes en voie d'être acclimatées sur la recommandation de l'OMS et pour lesquelles on a obtenu des résultats satisfaisants (*Digitalis lanata*, *Glaucium flavum*, *Datura innoxia* *Datura*, *Pyrethrum cinerariaefolium*).

d) Les plantes connues utilisées couramment dans l'acclimatation mais ayant également des actions thérapeutiques et sont utilisées dans la médecine traditionnelle (*Pilipili*, *Manguier*, *Plantain*, etc.

e) Les médicaments traditionnels dont on ignore la composition mais dont on connaît seulement les indications.

f) l'utilisation des déchets végétaux qui peuvent être extraits pour obtenir des principes actifs.

3.A. Pour étudier phytochimiquement les plantes figurant dans l'annexe 9, on a initié l'identification des groupes de substances à l'aide des réactifs plus ou moins spécifiques, après

une préalable extraction, en utilisant la méthodologie classique, présentée succinctement dans l'annexe 12

Parmi les plantes citées dans l'annexe 9 des études préliminaires semblent montrer comme intéressantes les plantes *Alchornia cordifolia*, les réactions qualitatives y ayant décelé la présence des alcaloïdes.

Pour *Psidium guajava* et *Euphorbia hirtia*, les réactions qualitatives ont mis en évidence la présence des tanins, ce qui représente une des raisons pour lesquelles ces plantes sont utilisées comme antidiarrhéiques grâce à leur action astringente et les espèces *Cinchona ledgeriana* et *succimba* qui contiennent le quinine, la cinchonidine, etc, alcaloïdes connus pour leur activité antimalaria. Pour commencer il est souhaitable que ces plantes soient utilisées sous forme de teintures et d'extraits jusqu'à l'approfondissement des études et des déterminations visant à séparer et isoler les principes actifs. L'identification qualitative continuera aussi bien sûr pour d'autres plantes de la médecine traditionnelle, la liste de l'annexe 9 n'étant pas limitative.

3.B. Pour les plantes destinées à l'exportation, à côté des analyses qualitatives, on a essayé de passer à des analyses complexes de déterminations quantitatives et à l'obtention de teintures et d'extraits, en cherchant à démontrer comment ces produits pourraient être valorisés immédiatement avec un minimum d'effort. On a effectué ensuite le contrôle de qualité des extraits obtenus, en faisant des déterminations d'alcool, de résidus, de densité, etc, dans le but de caractériser et, éventuellement de standardiser les produits obtenus dans le cadre d'une microproduction.

On a démontré qu'il est possible d'obtenir des substances médicamenteuses pures, qui peuvent être isolées sans avoir à recourir à un appareillage sophistiqué. On a utilisé les écorces de *Pausinystalia Yohimbe* dont on a isolé l'alcaloïde yohimbine.

Comme dans l'industrie pharmaceutique de conditionnement pour effectuer diverses formes galéniques on utilise le sel de l'alcaloïde, on l'a transformé dans le chlorhydrate d'yohimbine. Après une préalable purification et recristallisation du chlorhydrate d'yohimbine brut obtenue, on a fait le contrôle analytique de la substance suivant les méthodes indiquées par la littérature de spécialité (y compris la Pharmacopée Roumaine)

Lors du dosage initial la teneur a été de 97 pour cent ce qui a impliqué une repurification. Le pouvoir rotatoire a été de $+ 103^{\circ}$ et $+ 106^{\circ}$ et le point de fusion 302-303. La substance obtenue dans le laboratoire de Centre d'Etude des plantes medicinales donc répond aux paramètres de qualité prévus la pharmacopées de circulation internationale.

3.C. Quant aux plantes acclimatées soumises à l'étude agrotechnique et qui sont en voie d'être exploitées en cultures comme on l'a déjà montré, on en a prélevé des échantillons dans les stations de recherches appartenant à l'Institut de Recherches Agronomiques. On a ensuite fait le controle analytique des espèces et les déterminations quantitatives . On a constaté que la *Datura innoxia* cultivée à Foumbot, Ikolbison et Dchang avait une teneur de 0,10 - 0,12 pour cent en scopolamine Lors des déplacements dans l'intérieur du pays en observant *Datura stamonium* pousse dans la flore spontanée one en a prélevé des échantillons et l'on a analysé les organes de la plante. La teneur en scopolamine de cette espèce a été de 0,3-0,6 p.cent Au cas où L'Institut de Recherches Agronomiques se préoccupera avec les botanistes de la sélection des graines, il est possible et même recommandable, d'introduire en culture cette espèce de la flore spontanée.

Il est néanmoins certain que la *Datura innoxia* acclimatée n'est pas encore arrivée au stade de fructification au moment de la recolte. Il est possible que la teneur en alcaloïdes augmente si l'on change la technique de sa culture, la période d'ensemencement et de la récolte; il est également recommandable d'utiliser pour ces plantes des engrais chimiques pour fertiliser le sol.

3.D. La culture de *Datura innoxia* offrant une quantité appréciable, on en a effectué une extraction totale des alcaloïdes et la séparation de la scopolamine à l'état brut, par extraction liquide-liquide, à l'aide des récipients ordinaires utilisés comme extracteurs et, finalement, d'une ampoule de séparation. Puisque la scopolamine sous forme liquide, d'une consistance sirupeuse, est très labile, on l'a transformée en sel stable de bromhidrate de scopolamine, utilisé dans l'industrie pharmaceutique. Après une

préalable purification, la substance pure a été soumise au contrôle analytique, conformément au Codex français, la British Pharmacopoeia, la Pharmacopée Roumaine IXe édition. La substance analysée se conforme aux paramètres de qualité (pouvoir rotatoire, point de fusion, etc.) prévus dans ces pharmacopées de circulation internationale.

Les autres plantes ont servi à obtenir des teintures et des extraits.

3.E. Pour les plantes utilisées dans l'alimentation, on a indiqué d'appliquer les méthodes générales utilisées pour les teintures et extraits.

Au cours des visites chez des guérisseurs et de la collaboration avec eux, il est évident qu'ils gardent le secret de leurs préparations et que, très souvent, en dehors d'une ou deux plantes à activité thérapeutique, ils utilisent un nombre important d'autres produits destinés à masquer les premières. D'habitude les plantes sont utilisées telles quelles, sous forme de poudre de la plante entière ou des organes de plante (feuilles, écorce, racines, fruits) ou sont préparées sous forme de décoction, infusion, macération, parfois dans l'alcool ou dans des produits alcooliques (vin de palmier, etc) qui ont le rôle de conserver et de rendre leur administration plus agréable.

Une liste avec quelques-uns des médicaments traditionnels (sans avoir, bien sûr effectué une enquête proprement-dite dans ce sens) se trouve dans l'annexe 40. L'identification qualitative des principes actifs peut s'effectuer suivant le même schéma que pour les plantes de l'annexe 9. La séparation des principes actifs est certainement très difficile; c'est pourquoi une collaboration étroite avec les guérisseurs s'impose, car ils connaissent beaucoup de plantes et plusieurs formes d'administration efficaces.

3F. Les déchets obtenus lors du décorticage du riz, sur les échantillons prélevés dans la station de l'IRA au nord-ouest du pays, ont servi à extraire l'hexaphosphate (phytine brute) qui peut être utilisée comme médicament ou dans les aliments destinés aux enfants.

Nous devons mentionner que nous n'avons pu effectuer toutes les analyses et tous les travaux que nous nous étions proposé d'effectuer, à cause du manque du temps, ou parce qu'il n'y avait pas les conditions techniques requises, l'appareillage, les réactifs, les solvants et parfois à cause de certaines défections qui survenaient comme, par exemple, des pannes de lumière, etc.

On a réussi à effectuer, tout de même, les points principaux du programme, les analyses qualitatives, les déterminations quantitatives, la préparation des teintures et extraits, leur analyse chimique l'isolement de certaines substances pures destinées à diverses préparations et leur analyse conformément aux Pharmacopées de circulation internationale. Le programme est présenté schématiquement en l'annexe 41.

4. MISE AU POINT DE CERTAINES METHODES D'ANALYSE POUR L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE

Pour accomplir le programme on a essayé d'utiliser les techniques de travail les plus adéquates dans les conditions du pays, tenant compte du degré d'instruction des cadres et des besoins de ce genre d'activité à l'avenir.

4.1. Comme les produits végétaux requièrent un contrôle préalable avant d'être soumis au traitement, même pour des études analytiques, on a présenté "La méthode de détermination des impuretés dans les produits végétaux", suivie du "Contrôle microscopique" qui a pour but d'aider à classifier les espèces et à contrôler microchimiquement les produits végétaux; les techniques de travail sont exposées dans l'annex 11.

4.2. Pour l'identification par groupes de substances, on a présenté la méthodologie classique d'extraction suivie de l'identification chromatographique sur couche mince ou sur papier (voir l'annexe 12).

4.3. Pour l'isolement des alcaloïdes, on a présenté un schéma général dans l'annexe 13.

Comme d'habitude, il s'agit d'isoler plusieurs constituants d'une plante, et puisque l'on ignore quel est le constituant qui a une activité thérapeutique, on a présenté une méthode fractionnée d'isolement de plusieurs constituants, chaque fraction étant ultérieurement étudiée avec des méthodes physico-chimiques modernes (UR, UV, spectres RMN, etc.) et pharmaco-dynamiques, pour établir la structure moléculaire et le rapport avec un éventuel effet thérapeutique. Ce schéma figure dans l'annexe 14.

4.4. Etant donné qu'il n'est pas toujours possible d'isoler certains constituants, tout en connaissant une certaine vertu curative de la plante, on a indiqué et démontré comment on prépare les extraits sous le titre de "Méthodes générales de préparation" dans l'annexe 15, et les teintures sous le titre "Méthodes générales de préparation", dans l'annexe 16.

Une autre caractéristique des produits végétaux qui peut aider le chercheur à choisir une certaine technologie d'extraction est représentée par "Le coefficient de gonflement des produits végétaux". La méthode est décrite dans l'annexe 11.

Pour caractériser certains extraits et teintures dans lesquels, excepté la détermination de l'alcool, nous n'avons pas d'autre paramètre quantitatif de contrôle, on indique une méthode de "Détermination des substances extractives" dans l'annexe 11.

Certaines plantes de la médecine traditionnelle étant utilisées comme "anti-anémiques" ou pour augmenter l'appétit, on a supposé que la teinture préparée d'une certaine plante peut également être caractérisée par la détermination de l'indice d'amertume, exposée dans l'annexe 17.

Dans une série de plantes connues comme anti-diarrhéiques, l'analyse qualitative a décelé la présence des tanins. La méthode pour la détermination des tanins se trouve dans l'annexe 18.

4.5. Puisque un contrôle de qualité des plantes est indiqué à être effectué dans les laboratoires du CEPN, mais avec l'avis de l'institution tutélaire de recherche et du Ministère de la Santé, de la Pharmacie centrale, respectivement, on a rédigé un modèle de fiche technique de contrôle de qualité pour Cortex China, dans l'annexe 19. Certaines plantes médicinales ou aromatiques contiennent des huiles volatiles et peuvent être utilisées dans ce but. On a donc rédigé également un modèle pour le fiche technique de qualité qui contient les paramètres qui doivent être analysés pour vérifier les huiles essentielles (annexe 20). La manière de doser l'huile volatile dans une plante fraîche se trouve dans l'annexe 20. Pour la caractérisation des huiles volatiles on a également indiqué une méthode pour déterminer leur solubilité dans l'annexe 20.

4.6. Pour déterminer quantitativement les alcaloïdes tropaniques de *Datura innoxia* et *Datura stramonium*, on a présenté les méthodes volumétriques et chromatographiques dans l'annexe 21. A côté des méthodes de contrôle de qualité des plantes, on a indiqué aussi les méthodes de séparation et d'isolement de la scopolamine et son passage à l'état de sel dans l'annexe 21.

Pour suivre les étapes d'une éventuelle microproduction, avec le contrôle de qualité à partir de la matière première jusqu'au produit fini, on a indiqué la méthode de contrôle du bromhydrate de scopolamine dans l'annexe 22. Ayant en vue la même méthodologie pour *Strophantus gratus*, on a exposé dans l'annexe 23 les méthodes de contrôle de qualité de la plante, on a donné la méthode utilisée pour obtenir la teinture (l'annexe 24) et la méthode d'isolement des hétérosides dans les plantes (l'annexe 25).

Comme la *Cola nitida* occupe une place importante dans l'exportation, on a indiqué dans l'annexe 26 la méthode de détermination des alcaloïdes et dans l'annexe 27 la méthode pour obtenir et contrôler l'extrait fluide de *Cola nitida* et l'extrait sec. On a également présenté la méthode pour obtenir la teinture de *Cola* et le dosage des alcaloïdes dans la teinture (annexe 27) et la méthode de préparation d'une forme pharmaceutique de *Cola nitida*, du vin de *Cola* et le contrôle analytique de ce dernier dans l'annexe 28.

Pour déterminer les alcaloïdes de *Rauwolfia* on a indiqué les méthodes analytiques dans l'annexe 29.

4.7. Tenant compte du fait que le *Pyrethrum* a été acclimaté dans de bonnes conditions et qu'on a même réussi à préparer un extrait de la plante récoltée à Eschang, dans l'annexe 30 on a indiqué un modèle de fiche de contrôle de qualité pour *Pyrethrum cinerariofolium*. La situation étant similaire pour *Glaucium flavum*, les échantillons de cette plante récoltés à la Station de Foubot ont servi à préparer des teintures. On a présenté plusieurs méthodes pour déterminer la glaucine dans *Glaucium flavum*, dans l'annexe 31.

Une autre plante acclimatée dans de bonnes conditions a été *Digitalis lanata* pour laquelle a été rédigé un modèle de fiche de contrôle de qualité où l'on a exposé les méthodes servant à déterminer les glycosides de *Digitalis lanata* (annexe 32). *Cinchona lageriana* et *Cinchona succirubra* occupant une place à part dans la thérapeutique populaire, mais aussi dans la tradition de leur culture, on a présenté des méthodes d'extraction et d'isolement des alcaloïdes dans l'annexe 33 et des méthodes pour obtenir la teinture de quinine dans l'annexe 33.

Une plante destinée à l'exportation est aussi *Physostigma venenosum*; on en a indiqué les méthodes de contrôle de qualité dans l'annexe 34 et, en même temps, les méthodes d'isolement de ses alcaloïdes et le contrôle de qualité de ces alcaloïdes (annexe 34).

4.8. Pour *Pausinystalia yohimbe* on a présentée la méthode de dosage de l'alcaloïde (annexe 35) et la méthode d'isolement de l'yohimbine de la plante et sa transformation en sel - le chlorhydrate d'yohimbine (annexe 35) et la méthode de contrôle de qualité du produit fini - le sel d'yohimbine dans l'annexe 36.

Pour le contrôle de l'hexaphosphate obtenu des déchets du riz on a indiqué les méthodes de contrôle de qualité exposées dans l'annexe 37.

4.9. On a indiqué de même les méthodes pour obtenir des teintures et extraits des plantes alimentaires. La méthode pour obtenir la teinture et l'extrait de manguiers se trouve dans l'annexe 39 et pour la teinture et l'extrait de Pilipili, dans l'annexe 38.

La méthode pour obtenir l'extrait de Plantain se trouve dans l'annexe 39.

Pour conclure, les méthodes mises au point peuvent couvrir les tâches de recherches phytochimiques, le contrôle de la matière première végétale, l'identification par groupes de substances (alcaloïdes, flavonoïdes, caroténoïdes, etc), leur isolement, les méthodes spécifiques de détermination quantitatives, les méthodes générales d'isolement des substances inconnues et les méthodes d'isolement de certains principes actifs dans le but de préparer des produits qui pourraient être reproduits au niveau pilote ou industriel.

Toutes les méthodes ont un caractère pratique au point de vue analytique et technologique.

5. RECOMMANDATIONS POUR LA FORMATION DU PERSONNEL

La formation du personnel affecté à la valorisation des plantes médicinales revêt plusieurs aspects si l'on a en vue que cette activité est pluridisciplinaire.

a) La méthode la plus efficace est la "Formation sur le tas", par l'intermédiaire des spécialistes internationaux envoyés par l'ONUDI. Pour former des cadres dans le domaine de la phytochimie en général, nous recommandons l'intervention d'un spécialiste phytochimiste de l'ONUDI pendant trois ans successivement, pour deux mois chaque année, qui analyse les résultats de la recherche et planifie l'activité qui doit avoir lieu d'une étape à l'autre, en collaboration avec les spécialistes camerounais; ils doivent indiquer les

mesures immédiates, selon le cas, élaborer des plans de courte ou longue durée, tenant compte des facteurs techniques, des aspects économiques, du caractère appliqué des recherches chimico-pharmaceutiques. On contribuera ainsi rapidement à la formation des spécialistes au Cameroun pour le contrôle de qualité des plantes médicinales cultivées ou appartenant à la flore spontanée pour la standardisation de cette matière première, les déterminations quantitatives et l'isolement des substances chimiquement pures, la préparation des teintures et des extraits, l'isolement des substances pures, ayant pour but d'obtenir de bons rendements d'extraction dans le laboratoire et dans la station pilote et de mettre en valeur les plantes sous une forme galénique quelconque.

b) Une assistance immédiate dans la formation des cadres a été prêtée par l'experte, tant par l'activité déployée au cours de son séjour, que par la présentation de quatre conférences, exposées en huit étapes aux étudiants de la 2ème et 3ème années du Centre Universitaire des Sciences et de la Santé, conférences traitant de la récolte des plantes médicinales, leur conservation, les aspects techniques liés à leur préparation, etc., tous ces détails figurant dans les annexes de ce rapport. (42,45,46,47,48).

Différents aspects de recherche concernant l'analyse chimique des plantes de la flore spontanée et des plantes acclimatées introduites en culture, impliquent la connaissance et l'adaptation des techniques adéquates de travail, l'exécution de déterminations quantitatives sur chaque organe de plante, à diverses périodes, la standardisation du matériel végétal, la rédaction des normes de contrôle de qualité pour chaque plante séparément qui devra être valorisée soit en l'exportant, soit en la soumettant au traitement sur place. La conservation et le stockage des plantes nécessitent des études et un contrôle analytique pour ne pas détériorer ou perdre les principes actifs. Les travaux de séparation, d'isolement et les techniques d'extraction impliquent la connaissance de multiples aspects technologiques. Le contrôle analytique de chaque phase, de chaque fraction isolée s'impose par chromatographie ou par détermination spectrale, etc. La reproduction des recherches de laboratoire au niveau pilote impose également des connaissances dans plusieurs domaines d'autant plus que le rapport de similitude dans la chimie extractive des substances médicamenteuses est très différencié par comparaison à la chimie de synthèse. Les études-pilote, si elles sont bien effectuées, peuvent conduire à la réalisation d'une microproduction de médicaments.

c) Pour former les cadres nécessaires à une microproduction basée sur l'extraction végétale, nous recommandons l'intervention d'un chimiste-technologue, d'un ingénieur-mécanicien et d'un ingénieur-électricien, envoyés par les soins de l'ONUDI pendant 4 mois, qui instruisent les premiers cadres qui travailleront dans une unité d'extraction. Cette unité pourrait être à la rigueur l'Usine de Dschang, si elle relève encore, pour une période, du Centre de plantes médicinales de l'Institut de recherches médicales, respectivement.

d) Pour la formation des spécialistes camerounais qui devront faire des études pharmacologiques et pour mettre au point le Laboratoire de pharmacologie dans le cadre du Centre d'études des plantes médicinales, nous recommandons l'intervention d'un pharmacologiste (pharmacien, médecin ou biologiste) dans le cadre de l'assistance de l'ONUDI, pour une période de 4 mois.

e) Pour former les cadres qui devront introduire en culture les espèces importantes de la flore spontanée utilisées dans la médecine traditionnelle et à activité thérapeutique confirmée, pour élargir certaines cultures de plantes médicinales ou acclimater de nouvelles espèces et pour effectuer des études agrotechniques visant à enrichir la teneur en principes actifs, il est recommandable de continuer l'intervention des spécialistes ingénieurs agronomes envoyés par la FAO ou l'ONUDI.

f) La participation des spécialistes du Cameroun comme boursiers de l'ONUDI à des cours brefs dans les pays qui ont une tradition dans la culture des plantes médicinales ou qui ont déjà obtenu de bons résultats dans la valorisation de ces plantes est souhaitable, car cece contribuera à perfectionner les cadres.

g) Pour une documentation et information à jour qui aident la formation et la spécialisation des cadres du Cameroun, on recommande la participation des cadres Camerounais aux différentes manifestations scientifiques de l'ONUDI, OMS, FAO et CEDOR (à cause de l'explosion démographique au Cameroun).

h) L'organisation sur place de manifestations scientifiques comme, par exemple, un Symposium intitulé "Les journées Camerounaises consacrés à l'étude des plantes médicinales", avec ou sans participation international ou seulement pour l'Afrique Centrale permettra de connaître les multiples aspects difficiles de l'étude des plantes médicinales, de relever certains aspects économiques particuliers pour l'autoformation des cadres, tenant compte des conditions spécifiques de chaque pays et surtout de la valorisation de la flore de l'Afrique Centrale.

L'intervention et le coût estimatif de l'assistance technique qui devra être prêtée par les spécialistes de l'ONUDI (pharmacologue, chimiste-technologue, ingénieur-mécanicien, ingénieur-électricien et phytochimiste) qui auront à diriger, programmer et suivre le déroulement de l'activité pendant 3 ans, pendant 2 mois chaque année, ont été calculés et exposés dans l'annexe 43. On a évalué aussi le devis estimatif de l'appareillage et de l'équipement nécessaire pour les recherches appliquées et l'assistance technique dans l'annexe 44.

RECOMMANDATIONS DIVERSES

1) Pour mettre en valeur sur place, à un niveau supérieur, la plante *Theobroma Cacao* et pour assurer un excipient important pour l'industrie pharmaceutique, nous recommandons la création d'une entreprise de beurre de cacao.

2) Tenant compte du nécessaire de solvants pour l'extraction et leur prix élevé il est souhaitable de mettre en fonction des unités de production de l'alcool méthylique et éthylique.

3) La Pharmacie Centrale d'approvisionnement du Cameroun devrait inventarier toutes les formes galéniques en vente sur le marché Camerounais et surtout contrôler ces médicaments par un laboratoire de spécialité.

Un laboratoire de contrôle de qualité peut fonctionner dès à présent, dans le cadre même du Centre de plantes médicinales de l'Institut de recherches médicales, respectivement. A l'avenir, il est possible de former des cadres de spécialité pour le contrôle des médicaments et de créer au Cameroun un "Laboratoire de Contrôle de qualité des Médicaments" pour toute l'Afrique Centrale, qui pourrait avoir à sa charge le contrôle sanitaire de plusieurs pays de la zone.

LISTE DES PRINCIPAUX COLLABORATEURS
DU CENTRE D'ETUDES DES PLANTES MEDICINALES

1. Dr. BOUNI Bernard (Chef de Centre d'Etudes des Plantes Médicinales)

A. Section de Phytochimie

2. Dr. NBI Christine (Adjointe au Centre d'Etudes des Plantes Médicinales et Chef de Labo-Phytochimie) collaboratrice du programme

3. Dr. MBAFOR Joseph Tanyi, Rechercheur au CEPH

4. Mme NYEMBA Anne-Marie, " " "

5. M. MBONGNE Martin, " " "

6. Mlle RAFIDISON Patricia, " " "

B. Section Botanique

1. M. MBENKUM Fonki Tobias (Chef de laboratoire de Botanique)
2. M. AMOUGOU TSOUNGUI Bernard (Docteur Traditionnel)

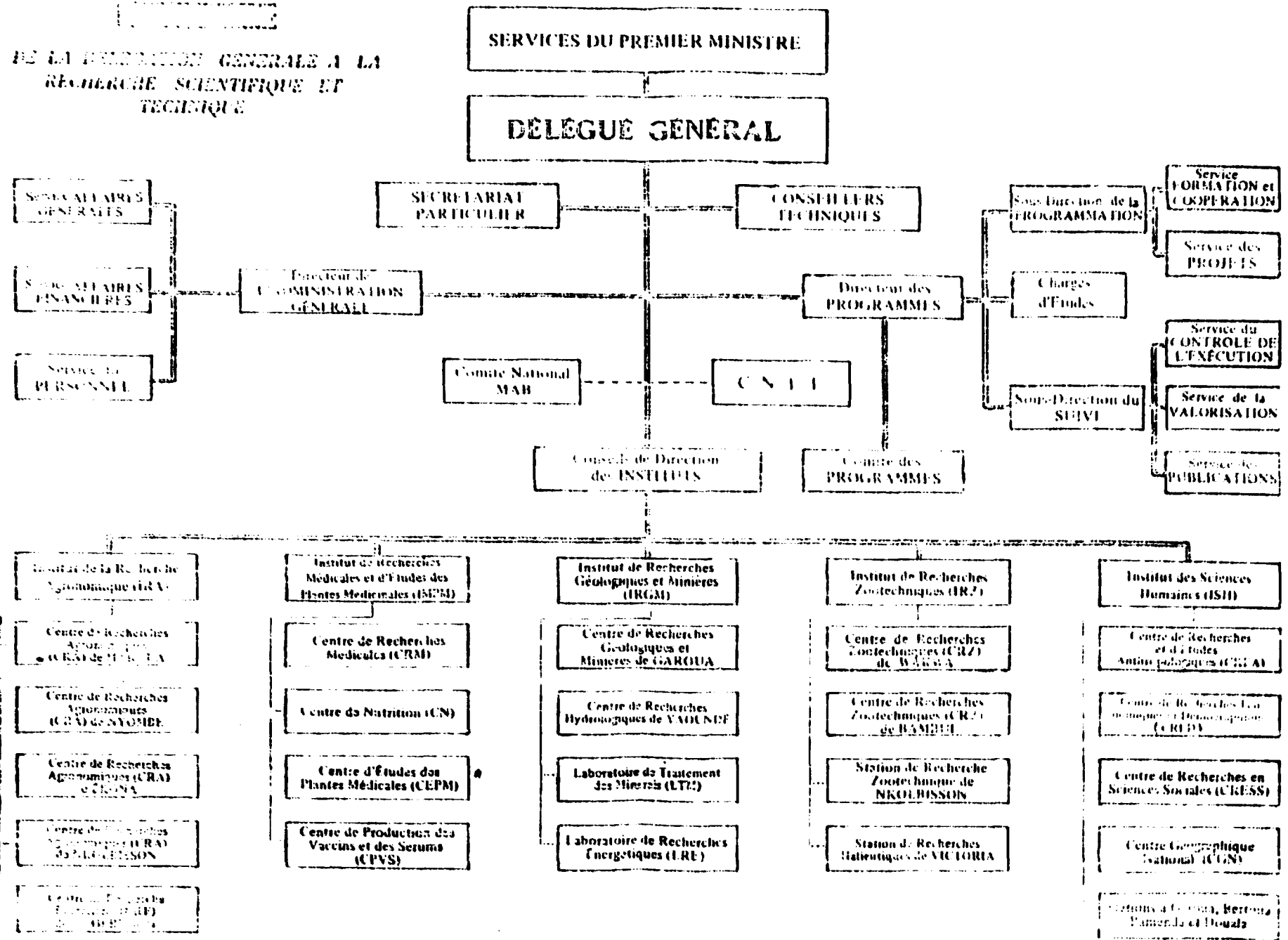
C. Techniciens

1. Mlle NYOGO Cécile
2. M. POGTCHANYOU Silé Prochore

DOCUMENTATION MISE A LA DISPOSITION
DE L'EXPERTE AU CAMEROUN

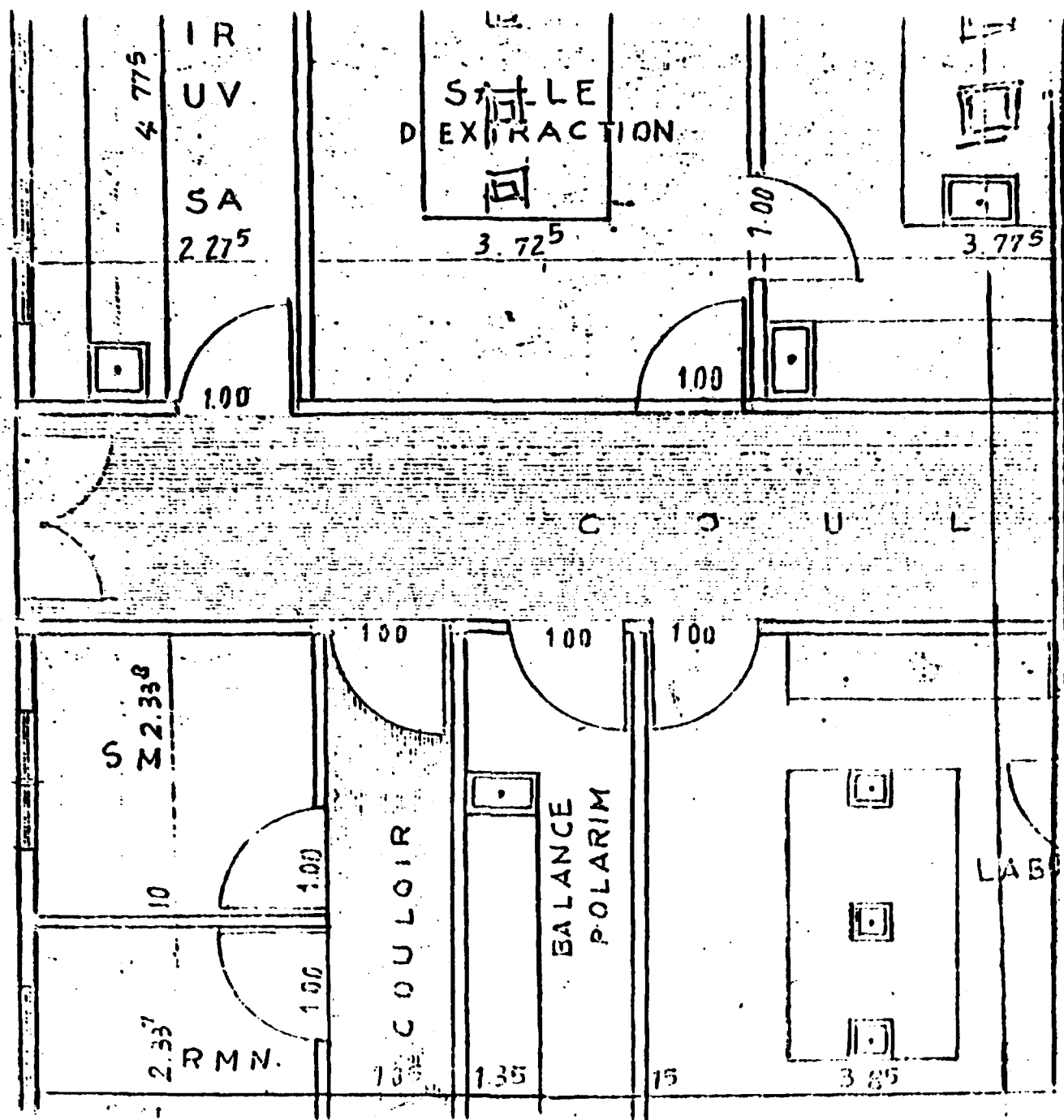
- 1) Report - Prof. F. SANDBERG journey to AFRICA 1980
- 2) Note au Délégué Général à la Recherche Scientifique et Technique.
Rédigée par BOUM Bernard, Docteur ès Sciences, Chef de Centre d'Etudes
des Plantes Médicinales
- 3) Terminal Report - Expert in medicinal plants - UF/CMR/78/01 Cameroon
Based on the work of Finn SANDBERG
- 4) Etude de l'approvisionnement pharmaceutique au CAMEROUN
Rapport - Version définitive
Propositions pour une nouvelle politique
Groupement SEDA-ERES-TAI-1980
- 5) Mise en oeuvre de la déclaration et du plan d'action de
Lima. Situation dans les pays et contribution des organisations
internationales. Rapport du Secrétariat de l'ONU, New-York 1979.

DE LA FÉDÉRATION GÉNÉRALE À LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET
TECHNIQUE



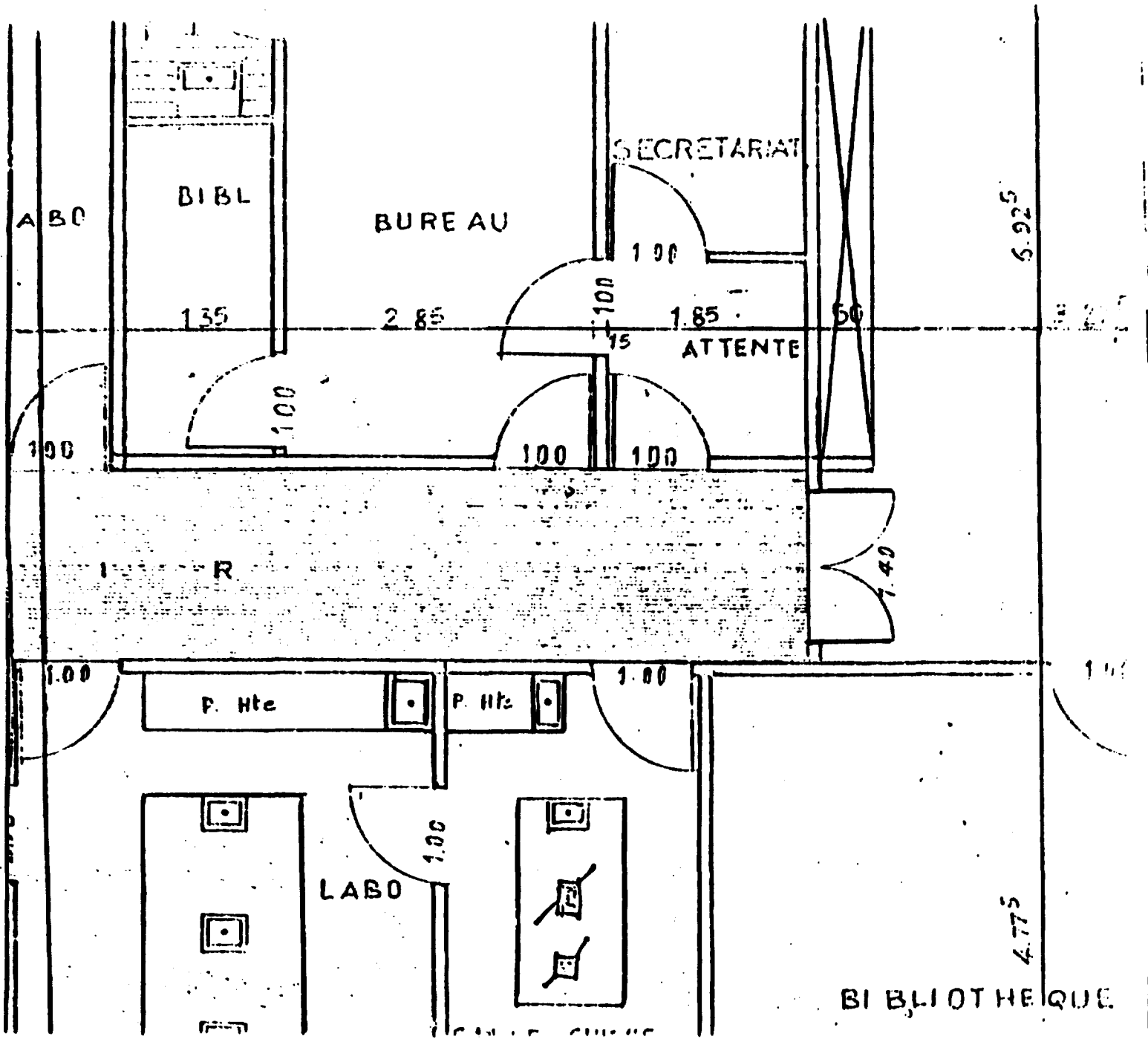
12.00

1.20 | 1.30 | 1.20 | 1.30 | 1.40 | 1.00 | 1.20



Plan de laboratoire biomoléculaire

ANNEXE 1



LISTE DE SOLVANTS, REACTIFS ET INDICATEURS NECESSAIRES
POUR LE CENTRE D'ETUDES DES PLANTES MEDICINALES

<u>Dénomination</u>	<u>Quantités</u>
Ammoniac	12 kg
Ammonium ceric sulfate	2 kg
Ammonium thiocynate	2 kg
Cuivre sulfate	0,400 kg
2,6 - Dichlorphenolindophenol	0,400 kg
Disodium édetate	0,400 kg
Fer-(II)-sulfate	0,400 kg
Hydrochloric acide	12 kg
Iode	0,400 kg
Magnesium chlorure	0,400 kg
Potassium dichromate	2 kg
Potassium hydroxide	2 kg
Potassium permanganate	0,400 kg
Sodium chlorure	8 kg
Sodium Laurosulphate	0,400 kg
Sodium thiosulphate	0,800 kg
Sulphuric acide	4 kg
Tetrabutylammonium hydroxide	8 kg
Carbon sulphide	8 kg
Carbon tetrachloride	8 kg
Acide acétique	2 kg
Acétone	5 kg
Alcool	50 kg
Aluminium chlorure	0,500 kg
Ammonium molybdate	0,100 kg
Ammonium reineckate	0,100 kg
Barium chlorure	
Boraxe	0,500 kg
Butylacétate	3 kg
Calcium carbonate	0,500 kg
Chloral hydrate	0,200 kg
Hydrogène peroxyde	2 kg
Kaolin	0,500 kg
Kieselguhr	5 kg
Métaphosphoric acide	0,500 kg
Nitric acide	1 kg
Perchloric acide	0,500 kg
Phosphotungstic acide	0,100 kg
Phosphomolybdic acide	0,100 kg
Potassium antimonate	0,200 kg
Potassium bromate	1 kg
Potassium ferrocyanure	0,500 kg
Potassium iodate	1 kg
Silicagel II/UV 254	5 kg
Sodium nitrite	0,500 kg
Sodium tungstate	0,200 kg
Trinitrophénol	0,100 kg
Zinc poudre	0,500 kg

./.

Zinc chlorure	0,200 kg
Bromorésol pourpre	0,010 kg
Bromthymol bleu	0,010 kg
Crésol rouge	0,010 kg
Anystate violet	0,010 kg
Diméthyl jaune	0,010 kg
Méthyl orange	0,010 kg
Méthyl rouge	0,010 kg
1-Naphtol-phtaleine	0,010 kg
Phénol rouge	0,010 kg
Phénol-phtaleine	0,010 kg
Thymol bleu	0,010 kg
Méthanol technique	50 kg
Alcool éthylique technique	20 kg
Chloroforme technique	100 kg
Dichlor-méthan technique	100 kg
Essence à extraction	200 kg
Acide acétique technique	10 kg
Hydroxide de sodium	10 kg
Ammoniaque solution	10 kg
Acide chlorhydrique pur	20 kg
Noir décolorant	5 kg
Papier filtre	20 kg
Acétone technique	30 kg
Alcool n-butylique technique	10 kg
Méthanol pro chroma	10 kg
Ethanol pro chroma	5 kg
Benzène pro chroma	5 kg
Acide acétique pro chroma	5 kg
Acétate d'éthyl pro chroma	3 kg
Acide formique pro chroma	1 kg
Formiate d'éthyl pro chroma	2 kg
Acétone pro chroma	5 kg
Ether éthylique pro chroma	10 kg
Ether de pétrole pro chroma	10 kg
Ether Di-isopropylique pro chroma	1 kg
Alcool isobutylique pro chroma	2 kg
Alcool n-butylique pro chroma	5 kg
Alcool n-propylique pro chroma	2 kg
Alcool isoamylique pro chroma	2 kg
Méthyl-éthyl-cétone pro chroma	2 kg
Diethyl-amine	0,500 kg
Kieselgel G Merck type 60	10 kg
Oxyde d'aluminium pro chroma en couche mince	1 kg

LES ADRESSES DES INSTITUTS QUI SONT AUTORISÉS
PAR L'OMS POUR ENVOYER DES ÉCHANTILLONS, DES
ÉTALONS INTERNATIONAUX AU POINT DE VUE BIOLOGIQUE
ET DES SUBSTANCES CHIMIQUES DE RÉFÉRENCES

Comité des experts pour standardisation biologique de
l'OMS - GENEVE

1. - National Institute for Medical Research Hill Hill
LONDON, N.W.7 - ENGLAND
2. Statens Serum Institute, Artager Boulevard 80,
COPENHAGEN - DANEMARK
3. - Apotekens Centrallaboratorium, Solna 3
SWEDEEN

**EQUIPEMENTS PROPOSES POUR LE CENTRE D'ETUDES DES PLANTES MEDICINALES
CONCERNANT LE RAMASSAGE, LA CONSERVATION ET LA RECHERCHE AGRICOLE
POUR LA VALORISATION DE LA FLORE CAMEROUNAISE**

N° ordre	Dénomination de l'équipement	Quantité	Prix estimatif en \$	
			Par pièce	Total
1	Séchoir par voie naturelle des plantes	1	1500	1500
2	Caisse superposable en fil de fer galvanisé	20	30	600
3	Camionnette tout terrain	1	5.000	5.000
4	" " "	1	6.000	6.000
5	Charrue portable universelle PPU3-30	1	600	600
6	Tracteur U 650	1	4.500	4.500
7	Combinateur C.P.G.S.-3	1	900	900
8	Niveleur N T 3,2	1	1.500	1.500
9	Pulvériseur à desoues G.D. 3,2	1	600	600
10	Seroir maraicher S U P 29	1	1.000	1.000
11	Machine plantoir pour plants de légumes MPR-5	1	1.500	1.500
12	Béchoir rotatif S R-4,5	1	300	300
13	Agrégat de herces à coins réglables G-G. C.E.I;7	1	400	400
14	Rouleau anneau T I 5,5	1	800	800
15	Arroseuse et poudreuse mécanique N P S P (3 x 300)	1	2.100	2.100
16	Vanneuse mécanique V.N. 4	1	2.500	2.500
17	Combine autopropulsés (Gloria C 12)	1	12.000	12.000
18	Sélecteur universel (S U-4)		2.500	2.500
19	Cultivateur (CPD-6-100)		500	500
20	Arracheuse de pommes de terre MDC-I		500	500

TOTAL = 45.300 U.S. \$

**EQUIPEMENTS PROPOSES POUR COMPLETER LES LABORATOIRES
DU CENTRE D'ETUDES DES PLANTES MEDICINALES
ET POUR DES RECHERCHES APPLICATIVES
AU NIVEAU PILOTE AU CAMEROUN**

N° ordre	Désignation de l'équipement	Quantité	Prix estimatif en	
			Par pièce	Total
1	Percolateur de 30 l, en acier inoxydable	3	600	1800
2	Percolateur de 50 l, en acier inoxydable	3	800	2400
3	Presse attachable au percolateur pour extraire les solvants remnants	1	50	50
4	Vase pour la sédimentation des solutions extraites. Volume 63 l en acier inoxydable, diamètre 40 mm, hauteur totale (avec le support) = 800 mm	2	1000	2000
5	Récepteur collecteur pour les solutions extraites vol=45 l; en acier inoxydable. Diamètre = 340 mm, hauteur totale (avec le support) = 800 mm	2	800	1600
6	Rotavapeur en concentrateur à vide (avec les mêmes performances, en constructions antidéflagrante, en acier inoxydable capable d'évaporer 10-20 l sol. hydro-alcoolique par h. Prévu d'une pompe à vide avec chauffage électrique 380/220 V. 50 Hz	1	6000	6000
7	Cuve en acier inoxydable à double paroi chauffage électrique 380/220 V 50 Hz, pour préparation des solutions avec agitateur capacité 500 l	1	15000	15000
8	Machine semi-automatique pour le remplissage des plantes broyées en sachets	1	3000	3000
9	Filtre-pressé avec des plaques en PVC (30 plaques, 30/30 CM)	1	1000	1000
10	Séchoir électrique avec plateaux capacité 1 m	1	500	500
11	Malengeur en inox, capacité 50 kg	1	800	800
12	Balance semi-automatique de 100 kg Jusqu'à 20 kg. sensibilité 1 gr	1	200	200
13	Extracteur liquide - liquide (L.V.P)	1	10000	10000
14	Centrifuge Jouan	1	30000	30000
15	Extracteur solid - liquid en continu (L.V.P)	1	5000	5000

16	Microscope pour identification botanique des poudres (à contraste de phase)	1	1000	1000
17	PH-mètre	1	800	800
18	Chromatographe sur couche mince (CANAG)	1	600	600
19	Machine semi-automatique pour le remplissage de liquide en flacons avec deux postes de remplissage. Production horaire 2000 flacons.	1	2000	2000
20	Remplisseur semi-automatique de gélules. Capacité 12000 gélules/heure	1	4000	4000
21	Diverses verreries spéciales : (Microburettes cap. 2 ml - 5 ml) Ampoules à décanter :	6		} 20000
	Capacité 2 l	1		
	" 5 l	2		
	" 10 l	2		
22	Appareil de dosage (huiles essentielles) en verre	4		

Coût estimatif = 85.650 U.S. \$

LISTE DES PLANTES UTILISEES DANS LA MEDECINE
TRADITIONNELLE PROPOSEES POUR UNE ETUDE

	Nom	Indication	Partie Utilisée	Quantité
1	<i>Alstonia congensis</i> (Apocynaceae)	Infusion contre le paludisme	Ecorce (1kg)	1 verre de temps en temps
2	<i>Cassia alata</i> (Caesalpinaceae)	Décoction contre la jaunisse. Application externe contre Eozéma et les maladies de la peau	Racines, feuilles	200 g à la fois
3	<i>Spathodea campanulata</i> (Bignoniaceae)	Décoction contre la dysenterie et les maladies vénériennes Poudre appliquée extérieurement sur des blessures et des ulcères	Ecorce 1 kg " pulvérisée	1 verre 3 x jour 1 gram
4	<i>Garcinia pedunculata</i> (Clusiaceae)	Pour indigestion Antispasmodique Carminatif	Fruits secs	
5	<i>Hibiscus Sabdarifera</i>	Décoction anti-anémique	Feuilles	
6	<i>Alchornea Cordifolia</i> (Euphorbiaceae)	Anti-Paludisme Anti-Douleur dentaire Anti- Gonorrhée	Feuilles	
7	<i>Pycnanthus angolensis</i> (Myristicaceae)	Décoction pour provoquer l'écoulement du sein	Ecorce	1 tasse 3 à 4 x jour
8	<i>Chlorophora excelsa</i> (Moraceae)	Décoction comme purgatif Lavage pour les maladies de la peau	Ecorce	1 tasse
9	<i>Bridelia ferruginea</i> (Euphorbiaceae)	Contre les écorchures, les blessures et les ulcères	Ecorce	Poudre
10	<i>Kigelia africana</i> (Bignoniaceae)	Décoction anti-rhumatisme. Blessures et ulcères	Fruits verts Ecorce	Poudre
11	<i>Tetrapleura tetraptera</i> (Mimosaceae)	Vermifuge Jaunisse	Graines Racines	
12	<i>Cinchona legeriana</i> et <i>C. succirubra</i> (Rubiaceae)	Douleurs d'estomac, tonique, anti-paludisme, maux de tête, grippe	Ecorce	

<i>Aframomum melegueta</i> (Zingiberaceae)	-Stimulant, aspirine tonique -Colique, dysenterie (décoction) -Gonorrhée (décoction)	Graines Racines Feuilles	
<i>Musanga cecropioides</i> (Moraceae)	Infusion pour calmer les palpitations	Boutons de fleurs	
<i>Piptadeniastrum africanum</i> (Mimosaceae)	Décoction comme un purgatif fort	Racines	
<i>Mirianthus arboreus</i> (Moraceae)	Décoction contre les fièvres	Ecorce	
"Liv"	Infusion pour perdre le poids	Ecorce	500 g
<i>Lippia aduencia</i>	Infusion		
<i>Erythron senegalensis</i>	"		
<i>Psidium guajav.</i> (Myrtacée)	- Infusion - Extraits (contre diarrhée)	Fruits Feuilles Fleurs	
<i>Lophira lanceolata</i>	Infusion		
<i>Euphorbia hirta</i> (Euphorbiacée)	Décoction Anti-dysentérique Anti-amibienne	Plante entière	
<i>Piliostigma reticulotum</i> (Caesalpiniacée)	Décoction Anti-diarrhée	Ecorce	
<i>Piliostigma thonningi</i> (Caesalpiniacée)	Décoction anti-diarrhée	Ecorce	

CONTROLE MICROSCOPIQUE ET MICROCHIMIQUE DES PRODUITS VEGETAUX

L'identification d'un produit végétal comporte, outre les caractères organoleptiques, une série de recherches microscopiques et microchimiques.

I. Contrôle microscopique des produits végétaux

La technique de contrôle varie suivant la nature du produit et son état de division.

Poudres. Examinez au microscope la poudre incorporée dans une goutte de glycérine ou de solution de chlorhydrate. Dans ce dernier cas, chauffez légèrement la préparation, en passant rapidement la lame par la flamme d'un bec Bunsen. Les produits qui contiennent trop de cellules devront bouillir, pendant quelques minutes, avec de l'hydroxyde de sodium à 5 p.cent et lavés ensuite à l'eau. Les produits riches en amidon devront bouillir 30-60 minutes avec une solution d'acide chlorhydrique à 2 pour cent et lavés ensuite à l'eau. Dégraissez les produits riches en huiles grasses et volatiles en lavant à plusieurs reprises avec de l'éther, de pétrole, de l'essence ou de l'éther.

Plantes ou organes de plantes coupées en mêmes morceaux

a) Si la préparation est représentée par des feuilles, herbes ou fleurs, faites bouillir les fragments pendant 1-2 minutes avec une solution d'hydroxyde de sodium à 5 p.cent lavez à l'eau et examinez dans une goutte de glycérine. Lorsque les fragments sont plus grands, ils devront être broyés, de sorte que les tissus plus profonds et les inclusions adhérentes puissent être plus facilement observés.

b) Si la préparation est représentée par des fruits, graines, écorces, racines ou rhizomes, les fragments seront soumis au même traitement indiqué au point a); les graines brunes et intensément pigmentées devront bouillir pendant 15-20 minutes dans une solution d'hydroxyde de sodium à 5 p.cent. De cette

manière , les fragments se détachent facilement et peuvent être examinés tour à tour dans la glycérine.

Préparation des sections de plantes entières ou d'organes de plantes. Rendez mou le matériel sec en le bouillant dans l'eau ou suivant le cas, dans l'hydroxyde de sodium solution à 5 p.cent, la glycérine ou d'autres substances utilisées pour clarification, indiquées dans chaque monographie. Si le produit à étudier renferme des substances mucilagineuses, laissez-le 24 heures dans une atmosphère humide. Le traitement du matériel trmpé (sectionnement, clarification et coloration) sera effectué suivant la technique microscopique ordinaire.

II. Identification microchimique au microscope de certains composants des cellules.

Amidon : Traitez 0,02 - 0,03 g de poudre avec une goutte d'eau ou de glycérine et une goutte de solution diluée d'iode ioduré; les grains d'amidon apparaissent bleu-violet au microscope.

Insuline: Faites macérer 0,1 g de poudre pendant 24 heures avec 2 ml d'alcool , filtrez et examinez la poudre au microscope dans une goutte de glycérine; on observe des sphérocristaux.

Huiles volatiles Traitez 0,1 g de poudre avec une goutte de Sudan II CR ou avec une goutte de teinture d'alkana, laissez reposer 30 minute et examinez ensuite au microscope une petite quantité de poudre dans une goutte de glycérine; éloignez l'excès de réactif avec du papier filtre; les gouttes d'huile volatile apparaissent en jaune-rouge(Sudan III) ou en rouge (teinture d'alkana).

Les huiles grasses auront les mêmes couleurs avec ces colorants.

Huiles grasses. Faites bouillir 0,1 g de poudre dans 3 ml de solution alcoolique d'hydroxyde de potassium. La poudre séparée, observée au microscope, présente des cristaux isolés ou associés des sels des acides gras. Les huiles volatiles ne donnent pas cette réaction.

Aleurone: Traitez 0,02 -0,03 g de poudre dégraissée à l'éther de pétrole avec une goutte d'iode ioduré; les grains d'aleurone sont jaunes au microscope.

Substances mucilagineuses : Traitez 0,02-0,03 g de poudre avec une goutte d'encre de Chine diluée; au microscope on observe des masses incolores sur fond noir.

Traitez 0,02-0,03 g de poudre avec quelques gouttes de thionine solution à 0,2 p.cent ou de bleu de toluidine solution à 0,2 p.cent; les mucilages deviennent rouge-violet, et les fibres ligneuses bleues.

Oxalate de calcium: Traitez 0,02-0,03 g de poudre avec une goutte d'un mélange préparé de parties égales d'acide sulfurique et d'eau, chauffez légèrement et observez au microscope, après quelques minutes, de nombreux cristaux de sulfate de calcium.

Lignine: Traitez 0,02-0,03 g de poudre avec une goutte de chlorhydrate et une goutte de fluoroglucine; la lignine apparaît colorée en rouge au microscope.

Tanin: Traitez 0,02-0,03 de poudre avec 2-3 gouttes s'alun ferri ammoniacal; la poudre examinée au microscope, dans une goutte de glycérine, présente une coloration noir-bleu ou noir-verdâtre.

Oxyméthylanthraquinones. Traitez 0,02-0,03 g de poudre avec 2-3 gouttes d'une solution d'hydroxyde de sodium à 10 p.cent; au microscope on observe une coloration rouge.

III. Microsublimation

La microsublimation est une opération utilisée à effectuer l'examen microchimique des produits végétaux, en utilisant une quantité variant de quelques milligrammes à quelques décigrammes de produit pulvérisé. La préparation sera répartie uniformément sur une lame de verre couvert d'une autre lame de verre s'appuyant à un de ses bords sur une baguette de verre qui forme un support haut de 3-4 mm. Les lames seront placées sur une plaque d'asbeste et chauffées à une flamme haute de 1 cm se trouvant sous la plaque d'asbeste à une distance d'approximativement 7 cm; la substance sublimée sur la lame supérieure sera identifiée suivant les indications spécifiées dans la monographie.

Détermination des impuretés et des corps étrangers dans
les produits végétaux.

Pour déterminer les impuretés et les corps étrangers dans les produits végétaux, on utilise, suivant le produit, les quantités suivantes des prises à analyser :

- pour graines et fruits très petits (moutarde) 2 - 5 g
- pour graines et fruits petits (anis, vert, fenouil doux) 20 g
- pour drogues coupées en fragments 50 g
- pour écorces, fleurs, feuilles, herbes 100 g

Les impuretés dans les plantes ou des parties appartenant à d'autres plantes, de même que les substances minérales (terre sable, poussière, cailloux), mentionnées dans chaque monographie, seront prélevées avec une puricette du produit à analyser, pesées séparément et les résultats seront exprimés pour cent de grammes de produit.

Détermination des substances extractives.

Par substances extractives on comprend les constituants des produits végétaux qui peuvent être extraits avec les solvants prévus dans les monographies, dans certaines conditions

Suivant le cas, l'extraction peut s'effectuer à froid ou à chaud.

Extraction à froid. Traitez 5,000 g de produit végétal pulvérisé (au tamis no.VI) ou la prise indiquée dans la monographie avec 50 g de solvant (eau, alcool, éther) dans un flacon au bouchon rodé, agitez 24 heures et filtrez. Evaporez à siccité au bain-marie 10,00 g de filtrat dans une ampoule à peser ayant 4 cm de diamètre et 2 cm de hauteur, pesée au préalable, séchez le filtrat pendant 3 heures à 100-105°, refroidissez en dessiccateur et pesez le résidu.

Extraction à chaud. Traitez 1,000 g de produit végétal pulvérisé (au tamis no.VI) ou la prise indiquée dans la monographie avec 50 g de solvant (eau, alcool, éther) dans un

ballon ou bouchon rodé, pesé au préalable, agitez et laissez reposer 60 minutes. Adaptez un réfrigérant à reflux et chauffez jusqu'à l'ébullition pendant 2 heures. Après refroidissement complétez avec le solvant jusqu'au poids initial et filtrez. Evaporez 10,00 g de filtrat à siccité au bain-marie dans une ampoule à peser, ayant 4 cm de diamètre et 2 cm de hauteur, pesée au préalable, séchez pendant 3 heures à 100-105°, refroidissez en dessiccateur et pesez le résidu.

La quantité de substances extractives sera rapportée à 100 g de produit végétal.

Détermination du coefficient de gonflement des
produits végétaux

Par coefficient de gonflement la Pharmacopée entend le volume en ml qu'occupe 1 g de produit végétal y compris le gel qui y adhère, après avoir été mis à gonfler dans de l'eau ou dans un autre solvant à la température du laboratoire.

Opérez dans un cylindre gradué de 25 ml à bouchon rodé, dont la graduation totale occupe une hauteur de 10-12,5 cm et dont la subdivision est de 0,1 ml.

Introduisez dans le cylindre la quantité prescrite dans la monographie, humectez avec 1 ml d'acétone ou d'alcool, ajoutez 25 ml d'eau ou d'un autre liquide prescrit dans la monographie, bouchez et agitez fréquemment pendant 60 minutes. Laissez reposer 4 heures à la température du laboratoire et lisez ensuite le volume occupé par le produit végétal et le gel qui y adhère.

Si la détermination s'opère avec une quantité plus grande de produit, rapportez le volume mesuré à 1 g.

Pour déterminer le coefficient de gonflement, deux mesures, au moins sont nécessaires.

METHODES DES ANALYSES CHIMIQUES QUALITATIVES
DES PRODUITS VEGETAUX.

Cette méthode représente un procédé d'identification des principes actifs contenus dans les produits végétaux. La méthode consiste dans l'extraction successive aux solvants sélectifs du matériel végétal qui séparent tout d'abord les substances lipophyles, ensuite celles aux caractères intermédiaires et enfin, les substances hydrophyles. Les trois solvants sont : l'éther, l'alcool méthylique et l'eau. Les trois groupes de substances sont ensuite fractionnés en groupe plus petits ou en classes de composés à l'aide des réactions chimiques ou de la chromatographie.

Schématiquement, le fractionnement se réalise ainsi :

I. EXTRACTION ETHERIQUE

1.1. Insaponifiable

- alcaloïdes (R.Mayer)
- huiles volatiles (chroma)
- phytostéroles (réaction Lieberman)
- caroténoïdes (chroma)

1.2. Saponifiable

- anthracénoles (chroma)
- flavonales (chroma)
- acides gras (chroma)
- acides résiniques (réactif Hirschondox)

II. EXTRACTION METHANOLIQUE

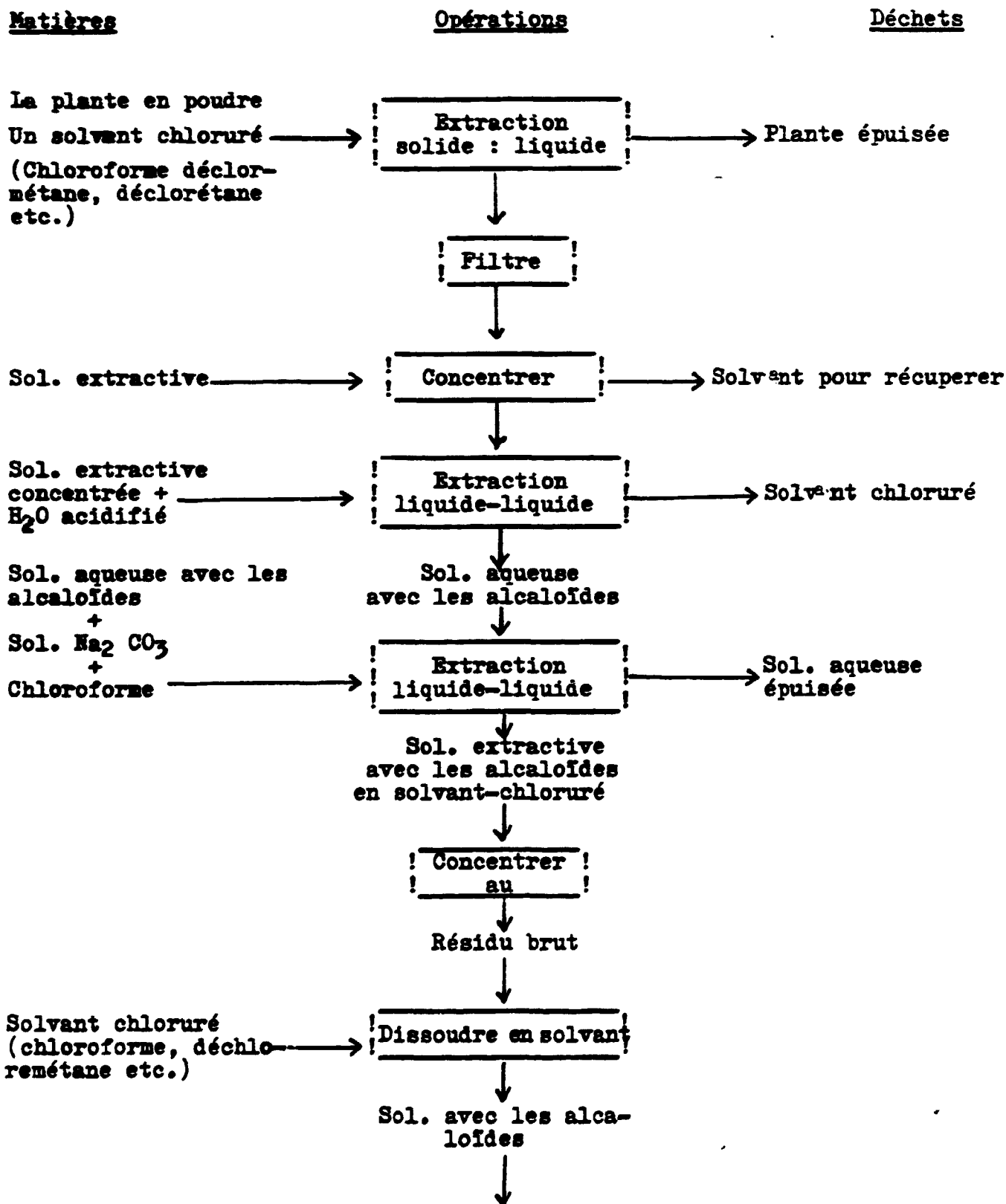
1. Anthrocénosides (R.Bornträger)
2. Flavonosides (réaction de Shibata)
3. Glucydes (chroma) - Réaction de Fehling)
4. Acides organiques (chroma)
5. Phytostéroïds , terpènes (chroma)
6. Tanins (Réaction de Styassny)
7. Alcaloïdes (chroma)
8. Anthocéyanosides (ph-acide-alcaline)

III. EXTRACTION AQUEUSE

1. Tanins (R.Styassny)
2. anthocyanosides (pH-acide-alcaline)
3. Glucydes (chroma-Réaction Fehling)
4. Protéines (hydrolyse et chroma)
5. Poliuronides (hydrolyse et réaction
de Tillens)
6. Sponosides (les propriétés de former
la mousse)

METHODE GENERALE POUR L'EXTRACTION DES ALCALOIDES
D'UNE PLANTE INCONNUE

I



Al₂ O₃ }
C₆ H₆ }
Ether }
Alcool }

! Faire une chromatographie !
! sur colonne !

Fraction alcaloïdique

! Concentrer !
! au !

! Résidu !

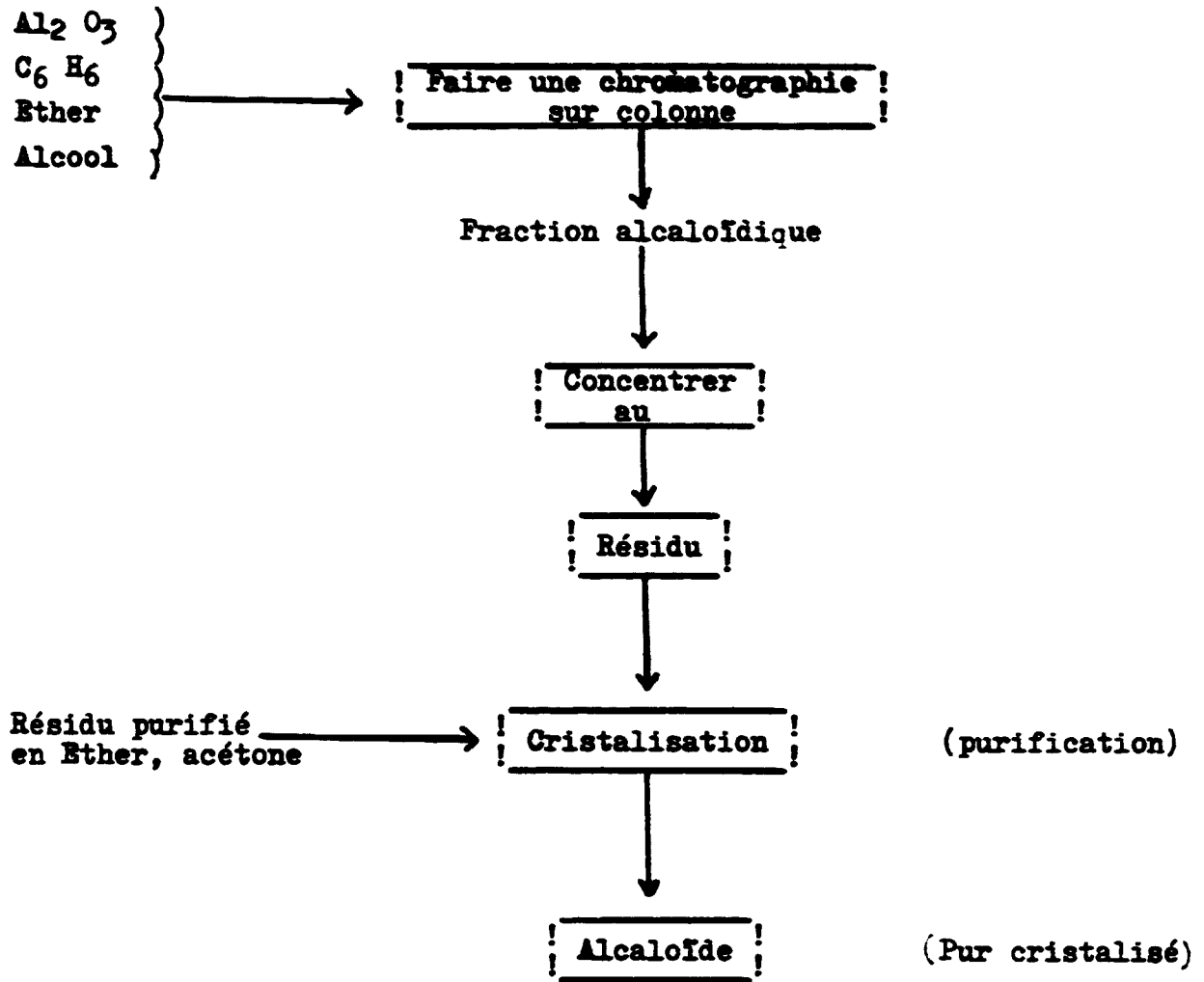
Résidu purifié
en Ether, acétone

! Cristallisation !

(purification)

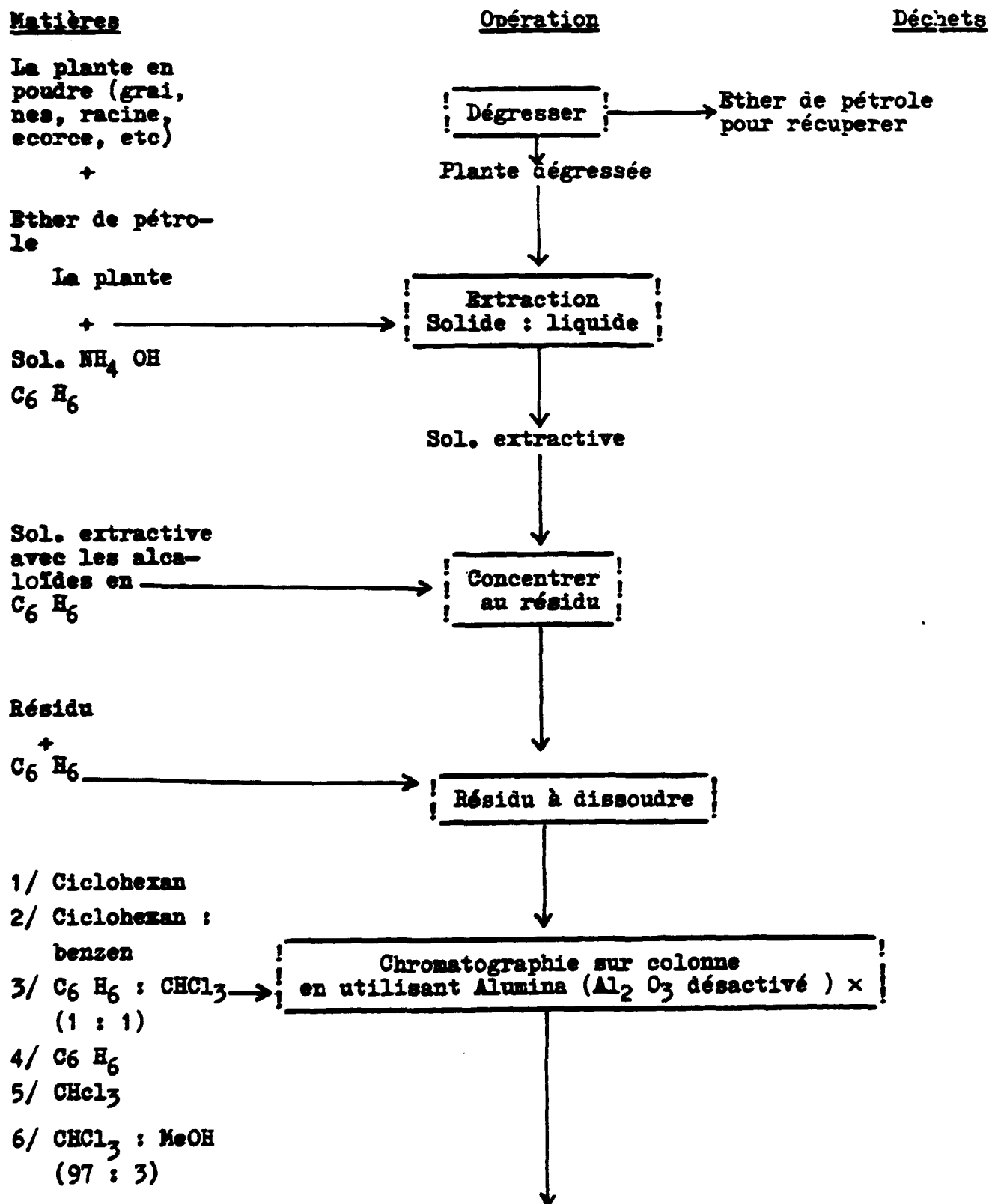
! Alcaloïde !

(Pur cristallisé)



METHODE GENERALE POUR ISOLER PLUSIEURS COMPOSES
D'UNE PLANTE INCONNUE

II

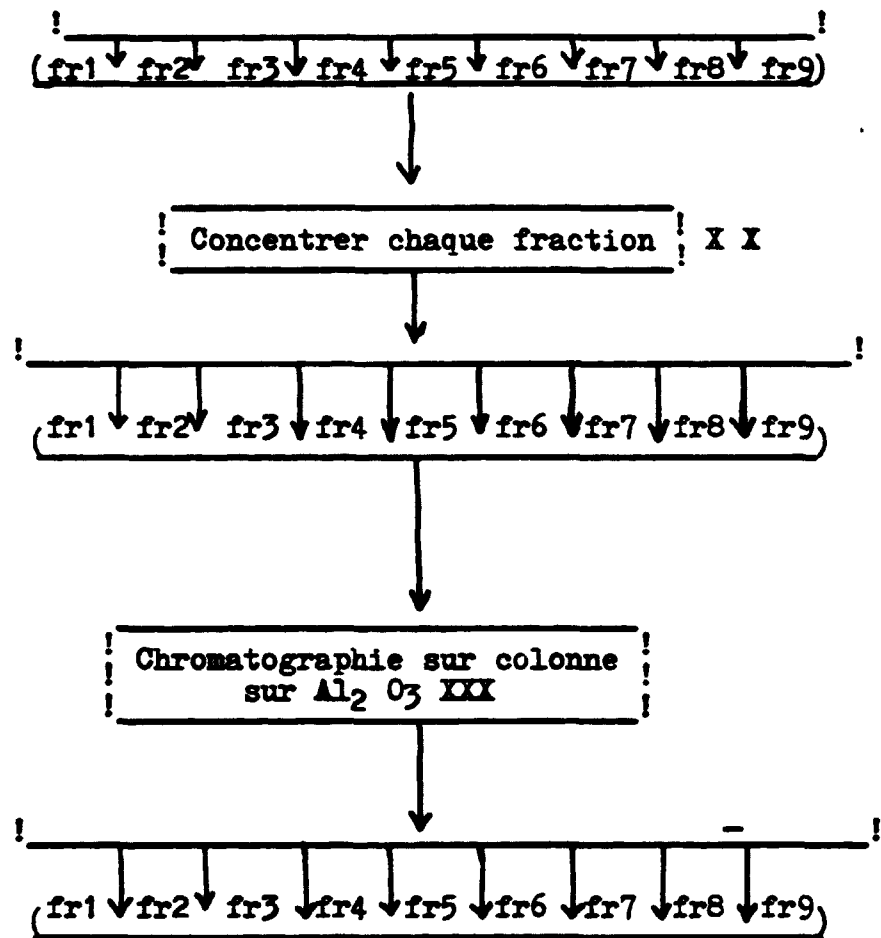


7/ CH₂Cl₂ : MeOH
(97 : 5)

8/ CH₂Cl₂ : MeOH
(90 : 10)

9/ CHCl₃ : MeOH
(1 : 1)

10/ MeOH



X Les fractions éluées sont recueillies séparées

XX " " sont concentrées séparées

XXX Les fractions alcaloïques sont mises séparées sur colonne Al₂ O₃

METHODES D'OBTENIR LES EXTRAITS.

Les extraits sont des préparations médicamenteuses obtenues en concentrant jusqu'à un degré déterminé les solutés résultant de l'épuisement d'une substance végétale ou animale par un solvant approprié, tel que l'eau, l'alcool ou l'éther.

Les substances destinées à la préparation des extraits sont préalablement séchées et amenées à un degré de division adapté à la nature de la drogue, au solvant et au mode d'extraction utilisés. Certaines substances végétales sont "Stabilisées" avant la dessiccation et la pulvérisation qui précèdent l'extraction, la stabilisation consistant à détruire les enzymes de la drogue fraîche par traitement de celle-ci, par exemple en utilisant les vapeurs d'eau ou l'alcool bouillants pendant un temps suffisant ou par tout autre procédé respectant les principes actifs.

La préparation d'un extrait comprend deux opérations successives: l'obtention du soluté extractif et la concentration de celui-ci. Pour l'extraction des principes actifs, l'un des procédés suivants peut être utilisé :

- la macération, qui consiste à maintenir en contact la drogue avec le solvant à froid;
- la digestion, qui consiste à maintenir en contact la drogue avec le solvant à une température inférieure à l'ébullition mais supérieure à la température ordinaire;
- la décoction, qui consiste à maintenir en contact la drogue avec le solvant à l'ébullition;
- l'infusion, qui consiste à verser sur la drogue le solvant généralement bouillant et à laisser ensuite refroidir;
- la lixiviation ou percolation, qui consiste à faire passer le solvant ordinairement à froid, lentement, régulièrement et de haut en bas, à travers la drogue convenablement divisée et disposée en couche suffisamment épaisse dans un percolateur. Ce procédé, qui réalise généralement l'épuisement le plus complet avec le minimum de solvant, est recommandé dans la plupart des cas. Cependant, pour éviter les altérations, on est quelquefois conduit à opérer plus rapidement, en utilisant une plus grande quantité de solvant.

Pour les trois premiers procédés (macération, digestion, décoction) la durée de l'opération varie suivant les cas.

quel que soit le mode d'extraction, la quantité de solvant à employer est telle que la dissolution des principes actifs est satisfaisante sans entraîner ultérieurement une durée de concentration trop longue.

La concentration du soluté extractif est conduite de façon à éviter au maximum les altérations que subissent les matières organiques sous l'action de la chaleur, surtout au contact de l'air. L'évaporation ne doit jamais être faite à feu nu. Les meilleurs procédés sont ceux qui permettent d'évaporer le liquide à la température la plus basse possible et dans le temps le plus court. On doit, en principe, opérer à une température inférieure à 50° et sous pression réduite mais lorsqu'on opère par nébulisation, c'est-à-dire en éliminant le solvant du soluté extractif, divisé en fines gouttelettes, par un courant gazeux chaud, l'évaporation est pratiquement instantanée et la température peut être plus élevée.

Au point de vue de la consistance, on distingue quatre sortes d'extraits :

1- Les extraits liquides, appelés extraits fluides, généralement préparés en épuisant les drogues par deux lixiviations, successives et en concentrant le deuxième soluté extractif ou colature, qu'on mélange au premier de manière à obtenir un extrait dont le poids corresponde exactement au poids de la drogue sèche employée.

2- Les extraits mous à consistance de miel épais.

3- Les extraits fermes à consistance de masse pilulaire

4- Les extraits secs, qui ne contiennent presque plus d'eau et qui peuvent être, en général, facilement pulvérisés.

Ils sont souvent hygroscopiques. Ils peuvent être obtenus par nébulisation.

Essai - 1. Solubilité - Dissolvez 1 g d'extrait dans 20 ml du solvant indiqué pour sa préparation et filtrez. Il ne devra rester sur le filtre qu'un faible résidu.

2. Résidu sec. Pesez environ 0,5 g d'extrait au milligramme près, dans une capsule, à fond plat, de nickel ou d'acier inoxydable de 60 mm de diamètre et 25 mm de hauteur, préalablement tarée avec un petit agitateur de verre. Délayez à chaud avec 4 à 5 ml d'eau ou d'alcool, au titre qui a servi à obtenir cet extrait. Portez au bain-marie bouillant jusqu'à consistance très épaisse, puis terminez la dessiccation à

l'étuve à $103^{\circ} \pm 2^{\circ}$ pendant 3 heures. Après refroidissement, en dessiccateur , sous vide inférieur à 20 mm de mercure et en présence de chlorure de calcium anhydre, pesez le résidu. Raportez à 100 g.

Conservation. Les extraits doivent être conservés dans des récipients bien bouchés à l'abri de la lumière et de l'humidité.

METHODES D'OBTENIR LES TEINTURES.

Les teintures alcooliques sont des préparations liquides qui résultent de l'action dissolvante exercée par l'alcool sur diverses drogues végétales ou animales. Elles sont dites simples ou composées suivant qu'elles sont obtenues à partir d'une ou plusieurs matières premières médicamenteuses.

Les teintures sont préparées à la température ordinaire par solution, par macération, ou par lixiviation. Les drogues végétales utilisées sont desséchées par des moyens appropriés pour permettre de respecter leurs principes actifs. Elles sont convenablement divisées pour faciliter l'action dissolvante de l'alcool, compte tenu du mode de préparation. De même, le degré de l'alcool éthylique utilisé est approprié à la nature de ces principes à dissoudre.

Les teintures simples de drogues très actives, dites héroïques, doivent être préparées par lixiviation avec de l'alcool à 70°. Le poids de la teinture obtenue doit être égal à dix fois le poids de la substance employée. Les autres teintures correspondent en général au 1/5 de leur poids en drogues.

Essai - Résidu sec. Pesez rapidement environ 5 g de teinture, au milligramme, près, dans une capsule en nickel ou en acier inoxydable, de 60 mm de diamètre et 25 mm de hauteur. Evapórez sur un bain+marie bouillant jusqu'à siccité et portez aussitôt à l'étuve à 103° ± 2° pendant exactement 3 h. Après refroidissement en dessiccateur et capsule couverte, sous vide inférieur à 20 mm de mercure, en présence de chlorure de calcium anhydre, pesez le résidu. Rapportez à 100 g.

Conservation. Les teintures alcooliques sont conservées à l'abri de la lumière dans des récipients bien bouchés. Elles doivent être renouvelé fréquemment.

Détermination de l'amertume.

L'indice d'amertume représente la dilution maximale d'une solution ou d'une solution extractive aqueuse, dont on ne perçoit plus nettement la saveur amère.

La détermination s'effectue parfois comparativement avec un étalon préparé à partir de la quinine ou la brucine.

Mode opératoire. Dissolvez ou diluez dans 1000 p d'eau potable une prise voisine de 0,01 g, 1 g de teinture ou 1 g d'extrait. De cette solution faites des dilutions successives jusqu'à une limite où l'amertume n'est plus perceptible.

Pour les produits végétaux, faites bouillir 1 g de poudre pendant 30 ou 60 minutes, dans 1000 ml d'eau potable, suivant les indications de la monographie; complétez jusqu'à 1000 ml après refroidissement, et filtrez. Diluez le filtrat: 1:1; 1:2; 1:3 ... 1:9, pour obtenir une échelle de concentration qui correspondent de 1:2000 à 1:10000 ou même davantage.

Après avoir rincé bien la bouche avec de l'eau, introduisez dans la bouche 10 ml de la dilution maximale, attendez 1 minute de manière que la solution se mette en contact avec tout la muqueuse buccale. Crachez ensuite le liquide et rincez la bouche avec de l'eau plusieurs fois. Après avoir attendu 15-30 minutes, répétez l'essai avec la dilution immédiatement inférieure, en continuant de la sorte jusqu'à la dilution qui présente encore la sensation d'amertume.

L'indice d'amertume est exprimé, dans ce cas, par la dilution qui provoque encore la sensation d'amertume

METHODE DE CONTROLE POUR LES PRODUITS VEGETAUX

Dosage des tanins

Le dosage s'effectue sur une quantité voisine de 0,05 g de tanins dans les préparations pharmaceutiques ou dans l'extrait alcoolique préparé avec 1 p de produit végétal finement pulvérisé et 5 p d'alcool à 60 p.cent, en chauffant pendant 4 heures dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux.

Diluez la prise d'essai avec 50 ml d'eau dans un verre de laboratoire, traitez avec 20 ml d'acétate de cuivre(R) chauffez pendant 15 minutes, au bain-marie et après refroidissement, filtrez à travers un filtre quantitatif pesé au préalable.

Lavez le précipité avec de l'eau jusqu'à ce que les eaux de lavage ne donnent plus la réaction pour l'ion de cuivre avec de la ferrocyanure de potassium(R) et lavez ensuite à 100-105° jusqu'au poids constant.

Brulez le filtre avec le précipité, humectez le cendre avec de l'acide azotique à 25 pour cent (R) chauffez jusqu'à l'évaporation et calcinez jusqu'au poids constant.

La quantité de tanins représentera la différence entre le poids du précipité de tanate de cuivre séché et le poids de l'oxyde de cuivre obtenu après calcination, rapporté pour cent.

MODELE

FICHE TECHNIQUE DE QUALITE
POUR
CORTEX CHINAE

LE MINISTRE DE LA SANTE PUBLIQUE
PHARMACIE CENTRALE D'APPROVI-
SIONNEMENT

INSTITUT DE RECHERCHES MEDICALES
ET D'ETUDES DES PLANTES
MEDICINALES
CENTRE D'ETUDES DES PLANTES
MEDICINALES
LABORATOIRE DE CONTROLE DE
QUALITE LABORATOIRE PHYTO-
CHIMIQUE

I. GENERALITES

1.1. La fiche technique se rapporte au produit Cortex
Chiniae formé des écorces des troncs et des rameaux de l'arbre
Cinchona ledgeriana.

1.2. Principes actifs : quinine, quinidine, cinchonine,
cinchonidine et autres alcaloïdes

II. Conditions de pureté

2.1. Parties des autres plantes tout au plus 1%

2.2. Partie par séchage tout au plus 10%

2.3. Cendre : tout au plus 6%

III. Conditions de qualité.

3.1. Caractères microscopiques : morceaux d'écorces, plats
ou tordus par séchage, de longueur variable, épais de 2-6 mm;
La surface externe est de couleur grisâtre-brune et présente
des fissures, parfois des taches blanchâtres dues aux lichens;
la surface interne est lisse, de couleur rougeâtre-brune. La
rupture est fibreuse. Odeur caractéristique.

3.2. Caractères microscopiques : la poudre de couleur
rougeâtre-brune présente au microscope des fragments de paren-
chyme, des fibres libériennes fusiformes, de couleur jaunâtre,
de fragments de suber, des granules d'amidon.

3.3. Réactions d'identification: 0,5 g poudre d'écorces
de quinquina réchauffée à la flamme dans une éprouvette sèche;
on produit des vapeurs bruns-violetes qui se condensent sur les

parois supérieurs de l'éprouvette sous formes petites gouttes de goudron; ce goudron se dissout dans 5 ml d'alcool 70°; ensuite, il est traité par trois gouttes d'acide su urique concentré. Il paraît une fluorescence.

3.4. Détermination quantitative : 2,000 g écorces de quinquina finement pulvérisée sont agités dans 3 ml d'eau dans un ballon de 100 ml au bouchon rodé. On traite par 15 g de chloroforme, 25 g d'éther éthylique, 3 ml d'hydroxyde de sodium 30%, on agite 30 minutes et on laisse au repos 10 minutes.

De cette solution éthero-chloroformique, on filtre par ouate 30,0 g (cela correspond à 1,5 g d'écorce). Le solvant est distillé et le résidu se dissout par un léger chauffage dans 10 ml d'alcool neutralisé ; on dilue avec 10 ml d'eau et on titre à l'acide chlornidrique 0,1 N jusqu'à la coloration violette-grisâtre (indicateur 5 gouttes rouge de méthyle - sol. alcoolique 0,1 % - et 2 gouttes de bleu de méthylène - sol. aqueuse 0,15 %).

1ml HCL correspond à 0,03094 g d'alcaloïdes totaux exprimés dans des quantités équimoléculaires de quinine et quinidine.

Remarque : à l'abri de l'humidité et des substances toxiques.

MODELE

FICHE DE CONTROLE DES HUILES ESSENTIELLES

MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE
PHARMACIE CENTRALE D'APPROVI-
SIONNEMENT

INSTITUT DE RECHERCHES MEDICALES
ET D'ETUDES DES PLANTES MEDICI-
NALES
CENTRE D'ETUDES DES PLANTES
MEDICINALES
LABORATOIRE DE CONTROLE DE
QUALITE LABORATOIRE PHYTOCHIMI-
QUE

Produit :
Origine :
Quantité:
Poids spécifique:
Pouvoir rotatoire :
Indice de refraction à 20°:
Solubilité 20°: alcool à %
 alcool à %
Indices d'acides
 d'esters
Indices d'esters après cecétylatine
 formylatine
Indices de carbonyle à froid
 à chaud
Teneur % en esters
 alcools libres
 alcools totaux
 phénols
 aldéhydes
 cétones
Résidu d'évaporation %
Examen alfactif :

DOSAGE DE L'HUILE VOLATILE DANS LES FEUILLES

40-50 g de feuilles doivent être coupées et introduites dans le ballon de l'appareil (un simple appareil de distillation en verre rodé d'un litre capacité) Celui-ci doit être rempli au 3/4 avec de l'eau distillée et soumis à la distillation ou par chauffage à l'aide d'un réchaud électrique. La température

de l'eau de refroidissement dans le réfrigérateur doit être de 18-20°C. La distillation peut durer 4 heures, en remplaçant de temps en temps l'eau du ballon.

Après distillation, le liquide du ballon de collectage, il peut être saturé par du NaCl cristal et apporté dans une ampoule à décantier. Ici il faut extraire à quatre reprises (minimum) par 15 ml d'éther éthylique. Les extraits éthériques réunis doivent être séchés par du Na_2CO_3 sicc et apportés dans un ballon de 100 ml préalablement taré. L'éther éthylique doit être complètement chassé par distillation et on repèse le ballon. La différence doit être rapporté à 100.

Quelque fois on peut utiliser à la place du ballon Cassi une improvisation fait d'un ballon jaugé prolongé d'une micro-pipette de 2 ml graduée au 1/10.

SOLUBILITE DES HUILES ESSENTIELLES

TERMINOLOGIE

1) On dira qu'une essence est soluble dans "A volumes et plus" lorsque sa solution limpide dans A volumes le demeure après dilution dans 20 volumes d'alcool.

2) On dira qu'une essence est soluble dans A volumes et se "trouble per dilution " lorsque sa solution limpide dans A volumes devient trouble et le demeure après dilution graduelle dans 20 volumes d'alcool.

3) On dira qu'une essence est soluble dans A volumes et se trouble de A à B volumes (B > 20) lorsque sa solution limpide dans A volumes devient trouble et le demeure après dilution dans B volumes d'alcool.

4) Une essence "avec opalescence " est soluble lorsque la solution alcoolique prend une teinte bleutée à la dilution; teinte que l'on peut comparer avec la teinte obtenue en ajoutant 2 gouttes de nitrate d'argent N/10 dans 100 ml d'une solution contenant 20 g de chlorure de sodium dans un litre d'eau.

5) On dit "légère opalescence " lorsque la teinte de la solution alcoolique est comparable à la teinte obtenue en ajoutant 2 gouttes de nitrate d'argent N/10 dans 100 ml d'une solution contenant 0,20 de chlorure de sodium dans un litre d'eau.

6) On dit "très légère opalescence " lorsque la teinte de la solution alcoolique est comparable à celle obtenue en ajoutant 2 gouttes de nitrate d'argent N/10 dans 100 ml d'une

solution contenant 0,020 de chlorure de sodium dans un litre d'eau.

Mode opératoire

Dans un tube à essai parfaitement propre et sec, mettre un volume d'essence exactement mesuré (par exemple 0 ml 5) Ajouter goutte à goutte au moyen d'une burette graduée de l'alcool très exactement titré (au 1/10 de degré) jusqu'à obtenir une solution limpide. Ajouter souvent pendant l'addition de l'alcool et opérer à la température de 20°. Pour remplir cette dernière condition tenir dans un récipient de l'eau à 20° dans laquelle on plongera le tube à essai contenant le mélange alcool +essence Lorsque ce mélange est devenu parfaitement limpide, on note sur la burette le volume d'alcool titré utilisé, puis on continue à ajouter de l'alcool car pour les essences distillées peu à peu ou les essences vieilles, il se forme parfois un trouble à la dilution. Si après avoir ajouté 20 volume d'alcool (c'est-à-dire 10 ml pour 05 ml d'essence) la solution est toujours limpide, il est inutile d'aller plus loin.

Il est nécessaire de posséder une gamme étendue d'alcool éthylique à différents titres (en général de 5 en 5 degrés à partir de 30° jusqu'à 95°). On détermine la solubilité dans l'alcool éthylique dilué ou huilé essentielle sera la moins soluble.

En général si une huile essentielle est soluble dans environ 20 volumes d'alcool éthylique de titre il faudra déterminer sa solubilité dans un alcool éthylique de titre

+5. Inversement si l'huile essentielle est très soluble (dans moins de 1 vol p.ex) dans un alcool éthylique de titre t' il faudra déterminer la solubilité dans un alcool de titre t'-5.

METHODES DE CONTROLE DE QUALITE POUR
DATURA STRAMONIUM ET DATURA INNOXIA

Dosage : Ajouter 150 ml de H₂O à 5 g de plantes sèches. Aciduler avec 45 gouttes de H₂SO₄ à 10% (approximativement 3 ml) secouer lentement pendant 1 heure.

Filtrer et laver le résidu avec une petite quantité d'eau acidulée. Mettre la solution filtrée dans un entonnoir séparateur.

Basifier avec NH₄OH à 10% au pH 9. Extraire le filtrat avec (3x60)ml CHCl₃. L'extrait est filtré sous Na₂SO₄ mettre sur papier filtre. La solution est évaporée à 5 ml. Ramener à 25 ml avec CHCl₃ Ceci est la solution A.

Titration directe : Prendre 5 ml de la solution A. Sécher dans un évaporateur rotatif. Mettre le résidu dans l'étuve à 100-150°C. Dissoudre dans 1 ml d'alcool. Ajouter 20 ml d'eau distillée qui a été bouillie et refroidie. Titrer avec 0,01 N NaCl dans une burette. Mettre le Methyl rouge jusqu'au rose.

1 ml HCl 0,01 0,00303 g de scopolamine.

Titration indirecte : 15 ml de la solution A est évaporée à fond. Mettre dans une étuve pendant 1 heure. Ajouter 2 ml CHCl₃ et 5 ml HCl 0,01 N. Supprimer CHCl₃ dans un bain d'eau. Dissoudre le résidu dans une eau bouillie et refroidie. En utilisant une micro burette (5 ml) mettre dans 0,01 N NaOH. Utiliser le Methyl Rouge comme indicateur jusqu'à une couleur rouge.
1 ml HCl 0,01 N ... 0,00303 g de scopolamine.

METHODES D'EXTRACTION LES ALCALOIDES A PARTIR
DE DATURA INNOXIA.

Pour extraire le total alcaloïdique des espèces de Datura, scopolia, hyoscyamus, etc. le produit végétal moulu est soumis à l'action de divers solvants, tels que méthanol, éthanol, isopropanol, benzène, éther éthylique ou l'eau acidulée. L'extrait obtenu est concentré, alcalinisé ou tamponné et on extrait ensuite les alcaloïdes par le chloroforme ou le

chloroforme saturé d'ammoniaque. Après un nouveau passage à l'eau acide et au solvant chloruré, la scopolamine obtenue est prête pour la transformation en bromhydrate.

D'autres méthodes utilisent des agents adsorbants comme le Kieselguhr ou des argiles adsorbantes ainsi que les résines échangeuses d'ions.

Méthodes d'extraction.

Généralités.

Les alcaloïdes dérivant du tropane se trouvent dans les plantes sous forme de sels des acides succinique, malique et d'autres, ou bien ils se trouvent à l'état libre, en de très petites quantités.

Par conséquent, on extrait les alcaloïdes les alcaloïdes par l'eau acide grâce à la solubilité de leurs sels dans l'eau ou sous forme de bases dans les solvants organiques. D'ici découlent les deux procédés classiques d'extraction des alcaloïdes dérivant du tropane, à savoir l'extraction à l'eau acide, suivie de l'isolement et de la purification des alcaloïdes dans la solution obtenue, ou bien l'extraction de la plante par un solvant organique en milieu alcalin. L'isolement et la purification des alcaloïdes à partir des solutions acides ou des solvants organiques s'effectuent par une variété de procédés dont les plus utilisés sont l'adsorption sur supports solides ou l'extraction liquide-liquide combinée avec des passages successifs base-sel. Suivant le degré de pureté désiré pour le produit fini, les technologies sont plus ou moins sophistiquées.

Pour la scopolamine, par exemple, les méthodes citées dans la littérature se réfèrent d'abord à l'extraction totale des alcaloïdes et, ensuite, à l'isolement de la scopolamine, en séparant les autres alcaloïdes et surtout l'hyoscyamine. Par conséquent, certaines méthodes isolent la scopolamine des eaux-mères obtenues lors de l'extraction de l'hyoscyamine.

METHODES DE CONTROLE DE QUALITE POUR
BROMHYDRATE DE SCOPOLAMINE

Dosage : Dissolvez en chauffant légèrement une prise d'essai p, exactement pesée, voisine de 0,4 g de bromhydrate de scopolamine, dans 50 ml d'acide acétique cristallisable. Ajoutez 5 ml de solution d'acétate mercurique et continuez le dosage, en utilisant le violet cristallisé comme indicateur. Titrez à l'aide de la solution d'acide perchlorique de normalité N dans l'acide acétique anhydre; soit n le nombre de millilitres de solution d'acide perchlorique versés et n' le nombre de millilitres utilisés dans l'essai témoin effectué dans les mêmes conditions.

La nombre de millilitres de solution 0,1 N d'acide perchlorique à retenir pour le calcul est égal à :

$$(n - n') \times N \times 10$$

1 ml de solution 0,1 N d'acide perchlorique correspond à 0,0384 g de bromhydrate de scopolamine anhydre.

Teneur pour cent du produit essayé en bromhydrate de scopolamine anhydre.

$$\frac{(n - n') \times 3,843}{p}$$

p

Le produit officinal doit contenir au minimum 98,5 p.100 de bromhydrate de scopolamine anhydre, rapporté au produit desséché.

METHODES DE CONTROLE DE QUALITÉ POUR STROPHANTUS GRATUS.

Essai - Montez des coupes transversales de graines de Strophantus dans une goutte d'acide sulfurique à 80 p.100. Dans le cas du Strophantus hispidus et du S.kombe, on a une teinte vert émeraude instantanée de l'albumen et de l'embryon, passant peu à peu au vert brunâtre. Avec les graines du Strophantus gratus, il apparaît plus lentement, une teinte rouge orangé devenant rouge violacé.

Dosage biologique.- Le titrage doit être fait par rapport à un soluté aqueux d'ouabaïne cristallisée.

Prenez 10 g de graines de Strophantus pulvérisées, séchées à l'étuve à 45° et dégraissées à l'éther de pétrole. Préparez par lixiviation, avec l'alcool à 70°, une teinture au 1/10. Utilisez l'étalon international d'ouabaïne : le résultat est exprimé en milligrammes de cet étalon. Chaque millilitre de teinture doit posséder une toxicité cardiaque équivalente à la toxicité de 3 mg d'ouabaïne étalon, déterminée de préférence sur le cobaye par la méthode de perfusion lente.

Opérez comme pour la Digitale en déterminant la quantité de teinture de Strophanthus convenablement diluée dans le soluté isotonique de chlorure de sodium qui produit l'arrêt cardiaque en un temps qui est d'environ 20 mn pour le cobaye.

Essai - Titrage biologique. Il consiste à déterminer l'activité cardio-toxique, comparativement à l'étalon international ou à tout autre étalon titré par rapport à ce dernier.

Opérez sur le Cobaye endormi, par injection intraveineuse lente, jusqu'à l'arrêt cardiaque, d'une soluté préparé de la façon suivante:

Préparation du soluté injectable. Introduisez dans une fiole conique de 250 ml. 1 g de poudre de Digitale à essayer et ajoutez peu à peu 100 ml d'eau en agitant de façon à imbiber uniformément la poudre. Plongez la fiole dans le récipient d'un bain-marie contenant un litre d'eau froide, chauffez progressivement jusqu'à ce que le contenu de la fiole atteigne la température de 90° et retirez la fiole du bain-marie.

Ajoutez, après 10 mn, 0,90 g de chlorure de sodium, laissez reposer pendant 5 mn, puis filtrez le liquide dans une

fiolle jaugée et complétez le volume de 100 ml avec l'eau.

Le soluté injectable ainsi obtenu devra être immédiatement utilisé.

Préparation des animaux. Dix cobayes-au moins, mâles de préférence, d'un poids de 300 g environ, doivent être utilisés pour un soluté. L'animal est endormi par injection intrapéritonéale de 2 ml par Kg de poids d'une solution tiédie d'éthyluréthane à 50 p.100 dans le soluté isotonique d'une de chlorure de sodium. Il est attaché en décubitus dorsal sur une table à contention convenable. La région précordiale est épilée et une veine jugulaire externe est mise à nu pour y introduire et fixer une fine canule en direction cardiaque. La mise en respiration artificielle n'est pas nécessaire.

Technique de l'injection. - L'injection peut se faire à l'aide d'un appareil mécanique à perfusion continue, ou plus simplement à l'aide d'une burette de 50 ml, graduée en 1/10. fonctionnant en vase de Mariotte. Pour cela, la burette est, après remplissage avec le soluté, bouchée à sa partie supérieure par un bouchon traversé par un tube de verre étiré. L'extrémité effilée du tube doit parvenir à 1 cm environ du robinet de la burette et se trouver ainsi placée à 30 cm au-dessus de la table de contention de l'animal. Avant de mettre l'appareil ou la burette en relation avec la canule par un tube souple transparent muni d'un embout et rempli de soluté, s'assurer que l'ensemble est dépourvu de bulles d'air. Placez une pince à vis sur le tube et reliez l'embout à la canule après avoir injecté dans cette dernière un peu de soluté isotonique de chlorure de sodium. Ouvrez le robinet dans le cas de la burette ou mettez l'appareil à perfusion en marche et réglez le débit de façon que le volume injecté, pour atteindre l'arrêt cardiaque en 15 mn environ, soit voisin de 15 ml de soluté)(à peu près 1 ml/mn).

Les mouvements du coeur sont suivis au début de l'injection par observation et palpation de la région précordiale. Dès qu'ils paraissent présenter quelques irrégularités, plantez une épingle entre deux côtes pour attendre le ventricule gauche. Suivez les mouvements de l'épingle et considérez comme arrêt cardiaque toute immobilisation de celle-ci de plus de 10 s. Notez le volume écoulé dès que c'est produit l'arrêt cardiaque ainsi défini et exprimez le résultat en milligrammes de poudre par kilogramme d'animal. Faites le moyenne arithmétique

des doses minimales mortelles individuelles pour la poudre de oubaine de référence (M_r) ou pour la poudre à essayer (M_i) et calculez l'erreur E à craindre sur chacune de ces moyennes en appliquant la formule :

$$E = 3 \frac{d^2}{n(n-1)}$$

d^2 étant la somme des carrés des écarts (d) entre le résultat de chaque essai et la moyenne arithmétique (M_r ou M_i).

n représentant le nombre d'animaux utilisés dans chaque série d'essais.

Soit E_r pour M_r et E_i pour M_i

Si les limites calculées qui ne doivent pas dépasser ± 15 p. 100, en ajoutant ou en soustrayant E_r de M_r , et E_i de M_i , présentent des valeurs communes pour la poudre de Digitale de référence et pour la poudre à essayer, considérez celle-ci comme d'activité égale.

Si les limites ne concordent pas, vous obtiendrez, en fonction de la poudre de référence, la valeur approchée de la Strophanthus essayée en calculant :

$$\frac{M_r}{M_i}$$

Selon les cas, mélanger la poudre de Strophanthus à essayer avec une poudre d'activité plus forte ou plus faible que la poudre de oubaine, afin d'amener son titre à 10 unités internationales par gramme.

METHODE D'OBTENIR TEINTURE DE STROPHANTUS

Préparation:

- Semen Strophanthi(III). 100 g
- Alcool aethylicus 70%. q.s.
- Benzinum q.s.

Dégraissez complètement la poudre de strophantus, séchée au préalable à 45°, avec de l'essence dans un percolateur jusqu'à ce que un échantillon d'essence placé sur un papier filtre ne laisse plus de tache graisseuse. Pressez la poudre dégraissée séchez-la dans des couches minces, d'abord à l'air, ensuite à 40° au maximum pour évaporer l'essence.

Amenez la poudre à nouveau dans le percolateur et percolez avec de l'alcool à 70 p,cent, suivant les normes prévues dans le chapitre "Tincturae" jusqu'à ce qu'on obtienne 900 ml.; après le dosage, amenez au titre indiqué ci -dessous.

Propriétés : Liquide limpide, jaunâtre, à saveur fortement amère.

Mélangé avec un volume égal d'eau, le liquide produit une légère opalescence.

Réactions d'identité :

- évaporez au bain-marie 1 ml de teinture. Humectez le résidu avec 5 gouttes d'acide sulfurique dilué (R) et ajoutez 10 gouttes d'acide sulfurique; immédiatement ou dans quelques minutes il se produira une coloration verte.

- 1 ml de teinture sera dilué avec de l'eau au volume de 100 ml, dans un cylindre gradué de 150 ml, ayant le diamètre de 3 cm et agitez énergiquement. Il se forme une mousse blanche qui devra disparaître dans 30 minutes au plus tard.

Conditions de pureté. Suivez la normes prévues au chapitre "Tincturae .

Détermination quantitative : Teneur en alcool : 65-68 p.cent en volumes.

Dosage des principes actifs : Suivez les normes prévues au chapitre " Détermination biologique de la teinture de strophantus". L'activité de 1 ml doit correspondre à 0,003 g de G strophantine.

Conservation: en récipient bien fermé, à l'abri de la lumière.

Separandum.

Observation: Renouveler tous les ans.

Doses maximales : Dose simple 0,5 ml
Dose journalière. 1,5 ml.

Méthode de contrôle de qualité.

Détermination biologique de la teinture de Strophantus.

Principe de la méthode :

Déterminer la dose minimale qui, par perfusion lente, arrête chez le cobaye le cœur en systole.

Étalon : Utiliser, comme étalon la strophantine G pure, ayant une activité biologique connue.

Unité internationale : Activité spécifique déterminée par 0,02 mg de substance étalon.

Appareillage : Le même que celui utilisé pour les préparations de digitale (détermination chez les cobaye).

Préparation des solutés.

Préparez à partir des graines de Strophantus une teinture suivant les normes prévues au chapitre "Tinctura Strophanthi" et diluez, au moment de l'emploi, 250 fois avec une solution de chlorure de sodium de 0,90 g %. Dissolvez la préparation étalon de Strophantine G dans l'alcool à 25 p.cent et diluez avec une solution de chlorure de sodium de 0,90 g % pour obtenir une teneur de 1,75 mg de Strophantine H au volume de 100 ml.

Technique de la méthode. La même que pour les préparations de digitale (détermination sur cobaye).

Interprétation des résultats :

Calculez le rapport entre l'étalon et la prise d'essai aussi bien que l'erreur, conformément au calcul indiqué au chapitre "Calcul du rapport étalon" prise d'essai et son erreur pour déterminer les cardiotoniques". L'erreur ne devra pas dépasser ± 20 pour cent et devra accompagner le résultat.

METHODES D'OBTENIR LES HÉTÉROSIDES CARDIOTONIQUES A PARTIR DE STROPHANTUS GRATUS

Strophanthine. Préparation.

Les graines pulvérisées sont traitées à l'éther de pétrole pour les priver des matières grasses, puis épuisées par l'alcool à 70° à l'ébullition, dans un appareil à reflux. L'alcool est distillé ; le liquide aqueux restant est déféqué au bain-marie par le sous-acétate de plomb en présence d'oxyde de plomb. On filtre après refroidissement, on élimine le plomb par l'acide sulfhydrique, et après séparation du précipité de sulfure de plomb, on concentre la liqueur vers 50° jusqu'à consistance sirupeuse. La strophanthine cristallise dans les vingt-quatre heures. Onessore les cristaux et on les purifie par plusieurs cristallisations dans l'eau bouillante.

Propriétés. Poudre blanche ou jaunâtre, mi-cristalline, mi-amorphe, renfermant entre 6 et 8 p.100 d'eau s'éliminant seulement à 110° dans le vide. Très amère. Dextrogyre.

Elle est soluble dans l'eau (1 partie dans 40 à 50 parties d'eau) et l'alcool dilué, peu soluble dans l'alcool absolu, presque insoluble dans l'éther, le benzène, l'éther de pétrole. Les solutions aqueuses moussent abondamment; elles sont légèrement louches.

L'addition de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré à une trace d'hétéroside détermine une coloration verte, passant au brun rougeâtre.

Dosage. On dose la strophanthine, soit par tritrimétrie des sucres réducteurs formés après hydrolyse, soit par colorimétrie en utilisant la réaction de Liebermann.

On peut encore faire un titrage physiologique en opérant sur le coeur isolé de la grenouille.

Usages. La strophanthine est un tonicardiaque dont l'emploi en thérapeutique, par voie intraveineuse.

G - Strophanthine - oubaine. Préparation.

Les graines pulvérisées et dégraissées sont épuisées vers 60° par l'alcool à 70°, en présence d'une petite quantité de carbonate de calcium pour assurer la neutralité du liquide.

L'alcool est distillé dans le vide à basse température, sans aller jusqu'à siccité. Le résidu sirupeux est repris par l'eau à 50°, filtré et évaporé à sec dans le vide. La masse cristalline obtenue est peu colorée; on la purifie par plusieurs cristallisations dans l'eau.

Propriétés. L'ouabaine cristallise en lamelles rectangulaires, minces, incolores, à peine amères. Par cristallisation au sein de l'eau, puis séchée à l'air elle retient 9 molécules d'eau, qu'elle perd vers 130°, la perte d'eau étant déjà de 20 p.100 à 100° séchée en présence d'acide sulfurique, elle ne renferme plus que 7 molécules d'eau. Elle se réhydrate à l'air humide.

Les cristaux à différents degrés d'hydratation présentent un dimorphisme lamelles ou prismes.

Anhydre, elle prend l'état pâteux vers 185°, en se décomposant déjà et devenant complètement liquide vers 200°. Le point de fusion est donc un assez mauvais critère de pureté, cependant celui-ci a lieu, en fusion instantanée à 206° environ.

Elle est lévogyre. $[\alpha]_D^{20} = - 30,6^{\circ}$ (en solution aqueuse à 1/100 , soit $- 24^{\circ}$ pour l'hydrate à $90H_2O$).

L'ouabaine est peu soluble dans l'eau froide.

0,93 dans 100 g d'eau à 14,5°
1,57 " " à 30°

elle est très soluble dans l'eau bouillante. Sa solution aqueuse est neutre aux réactifs colorés. Elle est stable à l'ébullition pour un pH compris entre 5 et 8 et conserve ainsi toute son activité.

L'alcool à 85° en dissout 3,75 g pour 100 g et dans l'alcool absolu 1 partie se dissout dans 30 parties. Elle est insoluble dans le chloroforme, l'éther, et l'alcool absolu.

Usages. L'ouabaine agit comme la strophanthine, mais présente sur cette dernière l'avantage d'être un produit parfaitement défini et d'activité plus constante. Elle est prescrite, en injection intraveineuse, comme médication permettant d'agir rapidement et de soutenir le coeur dans les cas graves d'asystolie, d'arythmie d'origine auriculaire, dans l'oedème du poumon, dans l'angine de poitrine.

METHODES DE CONTROLE DE QUALITE
POUR COLA NITIDA

Dosage - Caféine - Pulvériser, sans résidu, un échantillon moyen de 25 g de graines de Cola et passez la poudre au tamis. Déterminez la teneur en eau, en desséchant pendant 1 heure 1 g. de cette poudre à l'étuve à 100°. Triturez dans un mortier une quantité de poudre de Cola correspondant à 15 g de poudre séchée 1 heure à 100°, avec 10 g d'oxyde de magnésium et 15 ml. d'eau. Introduisez le mélange humide et homogène dans un ballon de 500 ml de capacité. Bouchez le ballon et laissez en contact pendant 2 heures. Ajoutez 150 ml de chloroforme. Pesez le ballon et son contenu. Reliez-le à un réfrigérant à reflux et chauffez au bain-marie en maintenant l'ébullition du chloroforme pendant 1 heure. Laissez refroidir. Rétablissez le poids primitif par une addition convenable de chloroforme. Mélangez le tout et jetez le produit sur un filtre plissé, contenu dans un entonnoir que vous recouvrirez d'une plaque de verre et qui sera disposé au-dessus d'une éprouvette graduée. Quand l'écoulement aura cessé, frappez légèrement sur l'entonnoir maintenu couvert, afin de tasser la poudre et d'amener l'écoulement d'une nouvelle quantité de liqueur chloroformique. Recueillez au total 100 ml de liquide, correspondant à 10 g de poudre de Cola. Distillez le chloroforme en deux fois en opérant dans un ballon de 125 ml. Séchez le résidu à 100°. Reprenez-le par 12 ml d'un mélange de 2 ml d'acide chlorhydrique officinal et de 10 ml d'eau. Filtrez la liqueur acide sur un petit filtre plissé, de huit centimètres de diamètre, et recueillez-en 10 ml dans une ampoule à décantation portant un trait de jauge à 10 ml au-dessus du robinet; ajoutez 20 ml de chloroforme et de l'ammoniaque officinale peu à peu jusqu'à ce qu'il y en ait un excès sensible à l'odorat. Agitez fortement, laissez déposer et égouttez la solution chloroformique dans une nouvelle ampoule. Épuisez la solution ammoniacale par deux autres traitements semblables pour chacun desquels vous emploierez 20 ml de chloroforme.

Les solutions chloroformiques ayant été réunies dans cette seconde ampoule et agitées avec 2 ml d'eau, laissez reposer et soutirez la solution chloroformique incolore dans une fiole conique, tarée, de 90 ml de capacité. Chassez le chloroforme par distillation et faites sécher le résidu blanc cristallin de caféine dans une étuve à 100°-105° pendant 1 heure, en ayant soin de tenir la fiole inclinée. Déterminez par différence le poids de ce résidu, soit a.

Teneur pour cent en caféine du produit essayé :

a x 12

Le produit officinal doit contenir au minimum 1,50 p 100 de caféine, rapporté au produit desséché à 100°.

METHODES D'OBTENIR LES EXTRAITS DE COLA NITIDA
ET TEINTURE DE COLA

EXTRAIT DE COLA(Fluide)

Graines de Cola poulvérisées mille grammes 1000
Alcool à 60° Q.S.

Préparez un extrait fluide comme il est indiqué dans les méthodes générales, en prenant soin d'utiliser de l'alcool à 60°. Dosez la caféine comme il est indiqué ci-dessous et ajustez au titre de 1,25 p.100 de caféine anhydre.

Caractères. - Liquide de couleur rouge foncé, à odeur de Cola, de saveur amère et astringente. Etendu de dix volumes d'eau, il donne un précipité brun jaunâtre; en filtrant le mélange obtenu, on obtient un liquide rougeâtre; en filtrant le mélange obtenu, on obtient un liquide rougeâtre qui précipite abondamment par addition de solution de tanin.

Essai.

Dosage - Caféine - Pesez dans une petite capsule tarée 15 g d'extrait fluide. Evaporez au bain-marie jusqu'à perte de 8 g environ. Versez dans un mortier l'extrait ainsi réduit. Lavez la capsule avec 2 ml d'eau utilisée en quatre fois et joignez les eaux de lavage à l'extrait. Ajoutez 15 g d'oxyde de magnésium et triturez la masse de façon à obtenir un mélange homogène et bien pulvérulent que vous abandonnerez à lui-même pendant une heure. Placez ensuite le mélange dans un ballon bien sec de 250 ml de capacité, ajoutez 150 g de chloroforme, tarez le ballon auquel vous adapterez un réfrigérant à reflux. Faites bouillir doucement au bain marie pendant 45 mn. Laissez refroidir, pesez de nouveau le ballon et rétablissez au besoin le poids primitif par addition de chloroforme. Agitez et filtrez 100 g de solution chloroformique dans une fiole conique préalablement tarée en prenant toutes précautions utiles pour éviter l'évaporation du chloroforme. Evaporez avec précaution au bain-marie, puis desséchez complètement le résidu par séjour dans une étuve à 100-105° pendant une heure. Pesez après refroidissement. Soit p. le poids obtenu.

Teneur pour cent en caféine anhydre du produit essayé:

10 x p

Délayez le résidu dans une petite quantité d'acide nitrique et évaporez; vous obtiendrez une masse de couleur brun-rouge qui se dissoudra dans l'ammoniaque concentrée en donnant une liqueur rouge violacée.

L'extrait fluide de Cola doit contenir $1,25 \pm 0,10$ p. 100 de caféine exprimée en caféine anhydre.

Extrait de Cola (Sec)

Graines de Cola pulvérisées mille grammes 1.000
Alcool à 60° Q.S.

Préparez cet extrait par lixiviation des graines convenablement pulvérisées avec l'alcool à 60° jusqu'à épuisement complet. Concentrez les liqueurs obtenues sous pression réduite et à basse température jusqu'à consistance appropriée. Effectuez le séchage à l'étuve sous pression réduite sans dépasser 50° ou par nébulisation de façon à obtenir un extrait sec.

Le cas échéant, pulvérisez avec du lactose et tamisez. Dosez la caféine comme il est indiqué ci-dessous et ajustez au titre de 10 p.100 de caféine anhydre.

Caractères. Poudre de couleur brun rougeâtre à odeur de Cola de saveur amère et astringente, donnant avec dix fois son poids d'eau un soluté très trouble.

Essai. Dosage - Caféine - Délayez 1,5 g d'extrait de Cola dans 10 ml d'eau. Continuez comme il est indiqué pour l'extrait fluide de Cola en commençant à : "Ajoutez 15 g.d'oxyde de magnésium..."

Teneur pour cent en caféine anhydre du produit essayé

100 x p

L'extrait sec de Cola doit contenir 10 ± 1 p.100 de caféine, exprimée en caféine anhydre.

Teinture de Cola

Tinctura colae

Graines de Cola pulvérisées deux cents grammes 200
Alcool à 60° Q.S.

Préparez 1000 g de teinture par lixiviation

Dosez la caféine comme il est indiqué ci-dessous et
ajustez au titre de 0,25 p. 100 de caféine anhydre.

Caractères. Liquide brun-rouge. ne précipitant pas par
addition de son volume d'eau.

Essai. - Dosage - Evaporez à basse température 50 g de tein-
ture, ajoutez 15 g d'oxyde de magnésium au résidu et continuez
le dosage de la caféine comme il est indiqué pour l'Extrait de
Cola.

La teinture de Cola officinale doit contenir de 0,23 à
0,27 p. 100 de caféine anhydre.

METHODES D'OBTENIR LES VINS DE COLA NITIDA

Les vins de liqueur , répondant à la définition légale et qui sont des produits issus exclusivement de la vigne, additionnés d'alcool, soit avant, soit après, soit pendant la fermentation alcoolique et contenant de 15^e à 25^e d'alcool.

Les vins médicinaux sont, en général, préparés par macération en vase clos. Après un contact plus ou moins prolongé suivant la nature des substances, on passe avec expression et l'on filtre le produit recueilli. Quelques vins médicinaux sont préparés par solution à froid ou par simple mélange , puis filtrés.

Les vins médicinaux doivent être conservés en lieu frais et dans des bouteilles entièrement remplies et bien bouchées.

Vin de Cola

METHODE DE PREPARATION ET DE CONTROLE DE QUALITÉ.

Noix de Cola séchées en poudre demi-fine
(tamis module 26) 60 g
Vin de liqueur mille grammes 1000

Faites macérer pendant dix jours en vase clos, en agitant de temps en temps. Passez avec expression, filtrez et conservez en lieu frais.

Essai. - Limpidité et saveur. - Le vin de Cola devra être limpide et franc de goût.

Degré alcoolique. Après distillation du vin et après avoir tamené le volume du mélange eau-alcool au volume initial, déterminez le degré alcoolique comme il est indiqué. Il ne devra pas être inférieur à 15^c.

Acidité volatile. Déterminée par la méthode officielle du Service de la Répression des Fraudes, l'acidité volatile du vin de Cola devra être inférieure =a 1,5 g en H₂SO₄ p.100

Dosage. Caféine - Pesez 50 ml de vin dans une capsule de 250 ml tarée. Soit p le poids de cette prise d'essai. Chassez l'alcool en plaçant la capsule sur une bain-marie

bouillant en dirigeant un jet d'air chaud à la surface du liquide. Lorsque le liquide est réduit à 40 ml environ, transvasez le dans une ampoule à décantation de 250 ml, rincez la capsule avec de l'ammoniaque en utilisant une quantité suffisante pour alcaliniser le vin. Extrayez à trois reprises avec 20 ml de chloroforme. Soumettez à la centrifugation le chloroforme décanté et séparez exactement l'eau dans une deuxième ampoule à décantation. Le chloroforme limpide est alors reçu dans une ampoule antigrippante tarée. Evaporez le chloroforme et séchez à l'étuve à 100°. Le poids du résidu correspond à celui de la caféine augmenté de 3 à 6 p.100 d'impuretés. Pour obtenir la caféine pure, redissolvez ce résidu dans 5 ml d'acide chlorhydrique dilué, filtrez sur papier, rincez la capsule et le filtre à deux reprises avec 10 ml d'eau. Recevez le filtrat et les eaux de lavage dans une petite ampoule à décantation, alcalinisez par l'ammoniaque et extrayez trois fois, avec 15 ml de chloroforme. Ce chloroforme soigneusement décanté et limpide est évaporé dans une capsule antigrippante tarée. Séchez à 100° le résidu et pesez, soit p le poids du résidu.

Teneur en caféine par kilogramme de vin :

1000 p'

p

Le vin de Cola doit renfermer au minimum 0,8 g de caféine par kilogramme. Le résidu de caféine doit présenter les caractères d'identité indiqués à la monographie Caféine.

METHODES DE CONTROLE DE QUALITE
POUR "Rauwolfia vomitoria"



DOSAGE.- Alcaloïdes totaux.- Prélever un échantillon moyen de 20 g de racines de Rauwolfia. Pulvériser et passer la poudre au tamis module 26. Pesez avec précision environ 5 g de la poudre obtenue, introduisez dans un flacon et triturez avec 5 ml d'ammoniaque diluée (R). Ajoutez 100 ml d'éther, 30 ml de chloroforme et 10 ml d'alcool à 95°C. Bouchez hermétiquement et agiter mécaniquement pendant 1 heure, puis transférez quantitativement dans une petite allonge munie d'un robinet à sa partie inférieure ; épuisez avec le mélange : éther trois volumes, chloroforme un volume jusqu'à extraction totale des alcaloïdes (vérifiée à l'aide de mercuri-iodure de potassium en solution neutre (R) sur le résidu d'évaporation de quelques millilitres du liquide extractif, repris par l'acide chlorhydrique dilué (R)).

Concentrez, par distillation au bain-marie, les liqueurs organiques à 50 ml environ. Transférez dans une ampoule à décantation, rincez le ballon avec de l'éther, et ajouter assez de ce solvant pour avoir une liqueur de densité nettement inférieure à celle de l'eau. Epuisez alors par des quantités successives de solution environ 0,5 N d'acide sulfurique, jusqu'à extraction totale des alcaloïdes. Filtrerez les solutions acides dans une seconde ampoule à décantation, neutralisez, puis alcalinisez nettement par l'ammoniaque (R) et épuisez par des quantités successives de chloroforme jusqu'à extraction totale des alcaloïdes. Lavez chaque liqueur chloroformique par 10 ml d'eau et épuisez l'eau par deux fois 5 ml de chloroforme qui sera ajouté à l'extrait chloroformique principal. Filtrerez celui-ci dans un petit ballon et concrétisez à quelques millilitres par distillation au bain-marie. Transvasez le résidu dans un cristalliseur taré, en rinçant le ballon avec quelques millilitres de chloroforme. Evaporez au bain-marie. Ajoutez au résidu 5 ml d'alcool à 95°C et évaporez à nouveau au bain-marie. Séchez le résidu à poids constant dans un dessiccateur et pesez.

2)- Bases faibles du groupe réserpine-rescinnamine - a) Préparation d'une solution étalon de réserpine. - Pesez avec précision 25 mg de réserpine base pure. Humecter avec 2 ml d'alcool à 95°C, puis ajoutez 2 ml de solution environ 0,5 N d'acide sulfurique et 10 ml d'alcool à 95°C. Chauffez au bain-marie pour parfaire la dissolution. Ajoutez à 100 ml après refroidissement. Cette solution peut se conserver quelques semaines en flacon bouché et à l'abri de la lumière. Dans trois fioles jaugées de 5 ml, introduisez respectivement 2, 4 et 6 ml de la solution étalon de réserpine, mesurés avec précision à l'aide d'une pipette. Compléter à 50 ml avec de l'alcool à 95°C. On obtient ainsi trois solutions titrant respectivement 1, 2 et 3 mg de réserpine pour 100 ml. Ces solutions serviront à l'établissement de la courbe de référence.

b) DOSAGE.- Pesez avec précision 2,50 g de poudre fine (tamis module 22) de racine de Rauwolfia, et triturez-la avec 10 ml d'une solution d'acide acétique cristallisable (R) à 5 p. 100 (v/v) dans l'alcool à 95°C. Laissez macérer 2 heures en remuant de temps en temps. Transférer alors quantitativement dans l'allonge d'un petit appareil à extraction continue à l'aide de nouvelles quantités d'alcool et épaisez pendant 4 heures (une ébullition satisfaisante sera facilitée par addition de quelques fragments de pierre ponce dans le ballon de l'appareil). Pendant toute la durée de l'opération, l'appareil devra être protégé d'une lumière trop vive. Ajustez le liquide extractif refroidi à 100 ml. Prélevez 20 ml de ce liquide (correspondant à 0,50 g de poudre de racine). Versez-les dans une ampoule à décantation contenant 200 ml de solution environ 0,5 N d'acide sulfurique. Epuisez à trois reprises par 25 ml de trichloréthane (R). Lavez chaque phase organique dans une deuxième ampoule à décantation renfermant 25 ml de solution environ 0,5 N d'acide sulfurique. Rejetez la phase organique. Extrayez les bases faibles de la solution acide en agitant celle-ci avec 20 ml, puis 15 ml de chloroforme pur. Lavez chaque extrait chloroformique avec l'acide de la seconde ampoule, puis deux fois par 10 ml de solution de carbonate monosodique (R) à 2 p. 100 (p/v) pré-

parée extemporanément et contenue dans deux autres ampoules. Filtrez les solutions chloroformiques sur coton de verre dans une fiole jaugée de 100 ml et ajustez à 100 ml avec du chloroforme. L'extraction avec du chloroforme et le traitement ultérieur des solutions chloroformiques devront être menés rapidement et en protégeant les solutions d'alcaloïdes de la lumière. Prélevez deux prises d'essai de 20 ml de la solution chloroformique (correspondant donc à 0,10 g de poudre de racine) et évaporez-les à sec au bain-marie dans des tubes à essais. Ajoutez à chaque résidu 10 ml d'alcool absolu et 2 ml de solution 0,5 N d'acide sulfurique. S'il y a lieu, chauffez légèrement pour dissoudre complètement. Dans un des tubes, ajoutez 2 ml de solution de nitrite de sodium (R) à 0,3 p. 100 (p/v) préparée extemporanément. Dans le tube témoin, ajoutez 2 ml d'eau. Chauffez les tubes 30 mn au bain-marie à 50°-60° et à l'abri de la lumière. Chauffez en même temps les tubes étalons de réserpine renfermant respectivement 10 ml des solutions alcooliques à 1,2 et 3 mg de réserpine pour 100 ml et chacun 2 ml de solution environ 0,5 N d'acide sulfurique et 2 ml de solution de nitrite de sodium (R) à 0,3 p. 100 (p/v). Chauffez en même temps un tube témoin renfermant, au lieu de la solution de réserpine, 10 ml d'alcool absolu. Après refroidissement, ajoutez dans chaque tube 1 ml de solution aqueuse de sulfamate d'ammonium (R) à 5 p. 100 préparée extemporanément. Transférez le contenu de chaque tube dans une fiole jaugée de 20 ml, rincez avec de l'alcool et ajustez à 20 ml. À l'aide d'un spectrophotomètre déterminez la densité optique, à 390 mμ et en cuve de 1 cm, des trois solutions étalons de réserpine, la solution sans réserpine servant de témoin.

Etablissez une courbe de référence en portant en abscisse les quantités de réserpine dans 20 ml des solutions étalons (soit 100, 200 et 300 μg) et en ordonnée les densités optiques correspondantes. Déterminez de même la densité optique de la solution des bases faibles de la racine de Rauwolfia, la solution correspondante sans nitrite servant de témoin. À l'aide de la courbe, déterminez la teneur en réserpine de la prise d'essai.

METHODE DE CONTROLE DE QUALITE POUR
PYRETHRUM CINERARIAEFOLIUM

Les capitules floraux de la plante *Pyrethrum Cinerariaefolium* Treviranus syn. *brysanthemum cinerariaefolium* Visiani (Compositae)
Principes actifs : pyréthrine I, pyréthrine II.

Propriétés et caractères macroscopiques. Les capitules ayant 6-12 mm de diamètre, à réceptacle plat ou légèrement concave, involucre formé de nombreuses folioles jaune-brunes longues de 5-6 mm, membraneuses, lancéolées, couvertes dans la partie moyenne de poils denses. Les fleurs femelles, au nombre de 20 à 30, sont marginales, blanches, ligulées, longues jusqu'à 20 mm. tridentées, et à 3 nervures. Les fleurs hermaphrodites sont nombreuses, centrales, jaune paille, tubuleuses longues jusqu'à 7 mm, avec une corolle gamopétale à 5 dents, 5 étamines, synanthères, à ovaire inférieur et stigmate bifurqué.

Odeur caractéristique, irritante, saveur amère.

Caractères microscopiques : Les folioles de l'involucre présente des laticifères dans la partie moyenne des sclérites dans la marginale et de poils tecteurs, longs, aigus ou spiralés, plus rarement en T. Les ligules présentent l'épiderme avec papilles et cellules, ayant les parois latérales sinueuses et des poils glandulaires caractéristiques de composées. Sur la surface de l'ovaire on trouve également de nombreux poils glandulaires du type des composées. Le parenchyme ovarien présente des poches sécrétrices dont le contenu est brun, avec des cellules prismatiques ou hexagonales d'oxalate de calcium et de petites cellules scléuses. Les stigmates sont papilleux. La cuticule de la cellule de l'épiderme externe des fleurs tubuleuses est ridée longitudinalement. Les grains de pollen, avec le diamètre de 30-40, a l'exine à verrues.

La poudre vert jaunâtre présente de nombreux grains de pollen à verrues, des fragments de ligule avec des cellules aux parois sinueuses, papilles et poils sécrétrices du type des composées, sclérites des folioles de l'involucre et de

l'ovaire et des cristaux d'oxalate de calcium. Elle est dépourvue d'amidon ou de cellules scléreuses.

Réaction d'identité.

Mélangez 1 ml de la solution titrée lors du dosage avec 1 ml de réactif de Demigès et ajoutez 0,3-0,5 ml d'acide sulfurique(R); il apparaîtra une coloration violette virant rapidement au violet bleu et ensuite au vert.

Conditions de pureté.

Perte à la dessiccation : ne devra pas être supérieure à 12 pour cent

Cendres totales : ne devront pas être supérieures à 3 p.cent.

Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique(R) : ne devront pas être supérieures à 1 p.cent.

Dosage : Pesez exactement 10 g de poudre fine (tamis nr.7) Extrayez dans un appareil à extraction continu, avec de l'éther de pétrole jusqu'à épuisement complet. Concentrez l'extrait jusqu'à 50 ml. ajoutez 4-5 ml d'hydroxyde de sodium dans l'alcool méthylique(R) et saponifiez pendant 2 heures au bain-marie, en utilisant un réfrigérant à reflux, en agitant fréquemment. Ajoutez 8 ml d'acide sulfurique 1 n, après saponification et entraînez aux vapeurs d'eau jusqu'à ce que l'éther de pétrole soit complètement épuisé. Prélevez environ 150 ml de distillat, ajoutez 10 g de chlorure de sodium et extrayez par 2 fractions successives de 50 ml d'éther de pétrole neutralisé chacune. Lavez les solutions extractives à l'éther de pétrole par 2 fractions successives de 10 ml d'eau chacune et ajoutez ensuite 20 ml d'eau à la solution alcaline. Eloignez partiellement l'éther de pétrole et tirez le liquide chaud en agitant avec de l'hydroxyde de sodium 0,02 n (indicateur phénolphtaléine).

1 ml d'hydroxyde de sodium 0,02 n correspond à 0,0066 g de pyréthrine.

Les fleurs de pyrèthre doivent contenir au minimum 0,50 pour cent de pyréthrine.

Conservation: A l'abri de la lumière et de l'humidité.

METHODES DE CONTROLE DE QUALITE POUR
GLAUCIUM FLAVUM

Méthodes d'analyse.

Essai : 1 g de plante bien écrasée devrait être mis dans un flacon de 10 ml bien fermé pour une titration à l'iode. Ajouter 4-5 gouttes d'une solution de NH_3 à 10%. Remuer avec 20 ml d'éther 10-15 minutes. L'éther est bien filtré et transférer 10 ml dans un erlenmeyer et évaporer dans un bain-marie. Le résidu bien séché, dissoudre dans 5-6 ml d'une solution d'acide sulfurique à 5% chauffée dans un bain-marie. Filtzer et mettre 0,5 ml dans 3 tubes différents et faire une analyse quantitative

1-er tube : Ajouter 2 ml d'une solution de HCl à 3,4% et 0,2 ml d'une solution alcoolique , 1,5 % de chloramine T. On peut obtenir une couleur orange.

2-ème tube : Ajouter 3 ml d'une solution à 1,5 % de P. diméthyl, Benzaldehyde et H_2SO_4 concentrée, réchauffer au bain-marie, obtenir la couleur bleue.

3-ème tube : Ajouter 3 ml de solution vanillin à 5% dans H_2SO_4 concentrée. Chauffer au bain-marie 10-15 minutes, obtenir la couleur rouge.

METHODES D'ANALYSE.

EXTRACTION DE TOUS LES ALCALOIDES.

Poids de 3 g de plante bien écrasée. L'espèce pour une titration à l'iode. Mettre 10 ml de NH_3 à 10 %. Secouer 10-15 secondes. Laisser reposer 15-20 minutes. Ajouter 75 ml d'éther. Secouer pendant une heure.

La solution étherique serait filtrée à travers un coton hydrophile dans un cylindre de 25 ml gradué, l'extrait d'éther qui correspond à 1 g de plante.

Ensuite ajouter dans un entonnoir séparateur et extraire la Glaucine avec une solution de HCl à 1%. Dans deux extraits de 20-15 ml de 5-20 minutes jusqu'à épuisement. Tester avec Mayers. Les solutions chlorohydrates totales doivent être basifiées avec l'ammoniaque. En utilisant 1 ml de NH_3 à 25%,

alors la Glaucine devrait être extraite 3 fois avec l'éther 20, 15, 10 ml. Les extraits éthériques peuvent être filtrés dans un flacon conique sur un papier filtre de Na_2SO_4 anhydre. La solution éthérique peut être enlevée par distillation. Déterminer la Glaucine par :

1. Dosage alcalimétrique de Glaucine

Le résidu bien séché est dissout dans 10 ml de 0,1 N HCl et l'excédent d'acide est titré 0,1 N NaOH) Méthyl rouge) 1 ml 0,1 N HCl = 0,03544 g de Glaucine base.

2. Titration dans un milieu non-aqueuse de Glaucine

Le résidu est dissout dans 20 ml gl.d'acide acétique. Ajouter 2 ml d'anhydride acétique. 3-4 gouttes, 0,1 % violet cristal dans gl.acide acétique. Titrer avec 0,1 N acide perchlorique. La couleur est violette-verte. 1 ml 0,1 N acide perchlorique est équivalent à 0,03544 g glaucine base.

3. Dosage de Glaucine par :

Mercurimétrie. La même méthode que nous avons décrite dans les mêmes conditions, qui concerne tous les alcaloïdes jusqu'à l'obtention de Glaucine hydrochloride. La Glaucine est extraite avec CHCl_3 sans basifier avec 25 ml tout en secuant 2-3 g dans un flacon conique avant et après filtration Recueillie le CHCl_3 pur. Le résidu est dissout dans 15 ml d'un mélange alcool/eau 1:1 ; ajouter 2 gouttes d'une solution qui a 16,8 % HNO_3 , ajouter 2-3 gouttes de diphenyl carbazone (0,1 % solution alcoolique). Titrer avec 0,05 N $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ jusqu'à la couleur violette.

1 ml de 0,05 N $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ = 0,017772 g Glaucine base.

Colorimétrie. La Glaucine alcaloïde est extraite comme dans la méthode de mercurimétrie, la différence est que l'une prend 2 fois plus de volume et de solvants. Poids 1,5 g Basifier 5 ml de NH_3 à 10%. Extraire avec 37,5 ml d'éther, les extraits éthérés sont pris de façon à avoir 1 g de plante. L'extrait de glaucine est existrait 2 fois avec HCl 0,1 %. Après 15 ml x 3 CHCl_3 extrait réuni est filtré après séchage de Na_2SO_4 . Concentrer au résidu. Le résidu bien séché, dissoudre exactement 20 ml H_2O chaude dans un bain-marie 5-6 minutes. Laisser à une température normale d'intérieur. Pipette 1 ml,

ajouter à 0,1 % + 0,3 ml de solution chloramine T dans une solution alcoolique, 30 minutes après avoir ajouté les réactifs orange-rouge puis avec un photomètre, avec un filtre S₄₇ dans un tube de 0,5 cm. la couleur composée serait établie après avoir mis 30-40 minutes réactives comme son usage d'eau normale.

L'extinction de la densité optique est obtenue avec la glaucine. La couche (normale) standard de glaucine dissoute contient 0,1 % de glaucine et dans quelques tubes mis dans une pipette, mettre des tubes de 0,2, 0,4, ... 1,4 ml correspondant à 200-400 glaucine base. On dissout jusqu'à 2 ml d'eau après la coloration et la réaction de couleur pour la détermination de glaucine dans le produit pharmaceutique.

MODELE

FICHE TECHNIQUE POUR METHODE D'ANALYSE

DIGITALIS LANATA

MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE
PHARMACIE CENTRALE D'APPROVI-
SIONNEMENT

INSTITUT DE RECHERCHE MEDICALES
ET D'ETUDES DES PLANTES MEDICI-
NALES

CENTRE D'ETUDES DES PLANTES
MEDICINALES

LABORATOIRE DE CONTROLE DE
QUALITE LABORATOIRE PHYTOCHIMIQUE

1. Généralités

Des feuilles séchées de Digitalis lanata cultivé, on peut utiliser une première méthode pour obtenir la Glycoside cardio-tonic. Utiliser la produit pharmaceutique, le produit pharmaceutique obtenu à la première récolte, mais la seconde récolte peut être utilisée durant la floraison.

1.1. Conditions techniques : on devrait avoir 7 cm de longueur des feuilles, la couleur devrait être verte, les feuilles brunes ou trous ne devraient pas être plus de 5% ou d'autres 0,5 % .

1.2. Conditions de purété

Substance minérale : 1%

Humidité : pas plus de 8%

Le pourcentage des cendres insolubles HCC ne devrait pas dépasser 5%.

Les volumes de glycoside lanatozide A x C 0,30 g minimum

Lanatozide C : 0,17 %

1.3. Le dosage : peut être fait sur papier chrom.

Alcool éthyl : 70°

Solution Pb acétat 15 g/ 100 H₂O

Mélange de CHCl₃ ETOH 3 : 1

" " " 1 : 1

CHCl₃

Sulfate de sodium

Whatman

Mélange acétone : formamide

Développement CHCl₃ Tétrahydrofuran Formamide

50

50

6,5

Mélange CHCl₃ plus tétrahydrofuran réfrigérer et ajouter

le formamide, laisser reposer.

Réactif pour identification

Solution trichloracétique 25 g/ 100 ml ETOH

chloramine solution 3 g/100 ml H₂O

Mélanger 15 parties de trichloracétique avec la solution B qui est la chloramine, Préparer fraîchement.

Solution de lanatozide A x C standards

0,5 g/100 du mélange de ETOH CHCl₃
1 : 1

et 0,01 ml de solution 50 g de substance. Une solution de xanthidrol 0,1 g/100 ml dans l'acide acétique cristallisé 1 ml de solution est mélangée avec 9 ml d'acide acétique cristallisée 0,1 ml conc HCl est fraîchement préparé.

Dosage. 4 g de plante bien écrasée est placé dans un flacon bien fermé d'une capacité de 200 ml et ajouter 40 ml de ETOH qui serai chaud juste au point d'ébullition. Bouillir au reflux 15 minutes dans un bain-marie. Mettre dans un réfrigérateur en mélangeant une fois auparavant, filtrer et mettre dans un flacon d'un volume de 100 ml, ajouter 30-40 ml de H₂O 10 ml de réactif est complète à 100 ml filtré. Garder 30 ml qui correspondent à 1,6 g de plante qui est mis dans un entonnoir séparateur qui a une capacité de 250 ml. Ajouter 40 ml de CHCl₃ x 3 puis une fois 20 ml de mélange au minimum CHCl₃ : ETOH 3 l. Les extraits sont réunis et séchés avec Na₂SO₄ filtrer dans un flacon de 500 cc et concentré au vide à 10 ml. L'extrait concentré est transformé en quatre au fond d'un flacon de 25 ml. Evaporer à sec. Le résidu est dissout CHCl₃ : ETOH. La solution est appliquée sur un papier de chromatographie.

Couper à l'aide des ciseaux 2 papiers de chromatographie avec les dimensions $\frac{13}{4}$ cm et chaque papier doit être égal lié 6 cm. 1 cm du bord, mettre la ligne d'origine. Le papier est mis dans l'acétone : formamide.

4 : 1.

Après 5 cm de papier est enlevé et placé entre 3 papier filtrés. Laisser 15 minutes pour enlever l'acétone, la première portion de chaque papier mettre 0,02 ml de solution standard de lanatozide A., mettre aussi le même volume d'échantillon. Le papier est mis dans un réservoir saturé 24 heures avec CHCl₃ : tétrahydrofuran, laisser 30 minutes pour équilibrer 1 : 1

CHOD₂ : tétrahydrofurane formamide, laisser émigrer jusqu'au bout du papier et laisser 1 heure encore, enlever et mettre dans l'étuve 60 minutes à 105°C.

Couper le chromatogramme avec des ciseaux en pulvérisant. voir le commencement.

Mettre dans l'étuve 10 minutes 105°C, exposer à l'UV marquer les taches de lanatoside, les taches sont coupées en petits morceaux et placées dans un flacon et les papiers vides dans un autre flacon comme standard. Dans chaque flacon, ajouter 10 ml de xanthidrol : acide acétique cristallisé.

0,1 g/100 ml 1 ml
acide acétique cristallisé : 0,1 ml acide chlorhydrique concentré (Préparer fraîchement).

Ensuite , dans chaque flacon ajouter 10 ml de solution, secouer pour 1 ml et introduire dans un chauffe-eau 3 minutes, enlever le flacon et le refroidir dans la glace 5 minutes, laisser 10 minutes à la température normale d'intérieur et filtrer. Lire dans le tube à 530 en comparant avec le flacon standard. Faire d'autres extinctions standards par comparaison. Le poids est 100 g.

METHODES POUR OBTENIR LES ALCALOIDES DU QUINQUINA

Extraction des alcaloïdes et plus spécialement de la quinine.

Les écorces sont pulvérisées et arrosées avec un lait de chaux additionné d'une petite quantité de soude. La masse est soumise à un brassage mécanique vers 50° avec un dissolvant approprié, non miscible à l'eau. On a proposé l'emploi de tétrachlorure de carbone, de benzène, d'essence de térébenthine, d'huile de jòuille et surtout d'huiles lourdes de schistes.

La solution d'hydrocarbures contenant les alcaloïdes est décantée, puis agitée avec de l'acide sulfurique dilué. Les alcaloïdes passent en solution aqueuse à l'état de sulfates et le dissolvant est récupéré par simple séparation.

La liqueur sulfurique, neutralisée à l'ébullition par le carbonate de sodium (en présence de tournesol) laisse cristalliser , par refroidissement, du sulfate de quinine basique impur.

Le sulfate de quinine est dissous dans l'eau; la solution est décolorée au noir animal, filtrée, et le sel est purifié par cristallisations répétées.

Les eaux mères provenant de ce traitement contiennent encore de la quinine, ainsi que tous les alcaloïdes voisins.

Traitement des eaux-mères.-Les eaux-mères de l'opération précédente sont additionnées de tartrate alcalin, qui précipite la quinine restante et la cinchonidine à l'état de tartrates insolubles.

Le précipité des tartrates de quinine et de cinchonidine est traité par la soude en présence d'éther, qui dissout les deux alcaloïdes ainsi libérés. Après vingt-quatre heures de contact, la majeure partie de la cinchonidine cristallise au sein de l'éther et la quinine reste en solution. La solution éthérée de quinine est décantée et agitée avec de l'acide sulfurique dilué. Le sulfate de quinine passe en solution aqueuse que l'on évapore pour cristallisation.

On peut encore réunir les eaux-mères et les eaux de lavage et y ajouter une solution de carbonate de sodium qui précipite la totalité des alcaloïdes. Le précipité est séparé,

lavé et desséché vers 35°. On le dissout alors dans l'acide sulfurique à 50°B, à raison de 1 litre pour 3 kg de bases alcaloïdiques. La solution chaude de sulfate neutre de quinine et des autres alcaloïdes est abandonnée à la cristallisation. Le sulfate neutre de quinine beaucoup moins soluble que les sulfates des autres bases, cristallise relativement pur, les autres restant en solution. Le sulfate neutre est alors purifié en passant par le stade de sulfate basique.

Le sel se présente le plus souvent en fines aiguilles légères, cotonneuses, ce qui lui a valu le nom de sulfate léger. Cet aspect particulier est dû à l'existence d'une petite quantité de sulfate de cinchonidine, la séparation de cinchonidine et de la quinine par cristallisation dans l'éther n'étant pas totale.

Le sulfate de quinine pur a l'aspect de cristaux aiguillés plus brillants, plus volumineux, plus denses. Il est désigné sous le nom de sulfate lourd.

Pour donner au produit pur l'aspect du sulfate léger, qui est souvent recherché dans le commerce, on peut le faire cristalliser lentement en présence d'une petite quantité de sulfate d'ammonium, que l'on élimine ensuite par essorage des cristaux avec un peu d'eau.

Purification du sulfate de quinine. - La purification du sulfate commercial nécessite l'élimination totale de la cinchonidine qui peut être réalisée de différentes façons :

- On dissout le sel dans 30 parties d'eau à 83-90°l. La solution ainsi saturée est agitée avec une quantité de charbon égale à 1 p.100 du poids du sel, puis abandonnée au refroidissement jusqu'à 50-60°. On soumet alors la masse à la filtration et on essore les cristaux qui se sont déposés. On recueille ainsi les deux tiers du sulfate de quinine dissous initialement; l'autre tiers reste dans la liqueur avec les autres alcaloïdes.

En répétant la même opération sur le sulfate déjà purifié, on arrive à un produit presque pur.

QUINIDINE.

Préparation. - On l'extrait des résidus de fabrication du sulfate de quinine, après précipitation par le sel de Seignette, de la majeure partie de la quinine et de la cinchonidine à l'état de tartrates.

Ce résidu, désigné dans le commerce sous le nom de quinoïdine, est décoloré au noir animal et additionnée d'iodure de potassium, qui précipite la quinidine à l'état d'iodhydrate,

à peine soluble dans l'eau.

L'iodhydrate de quinidine est isolé, lavé à l'alcool pour éliminer l'iodhydrate de cinchonine entraîné au cours de la préparation, puis traité par l'ammoniaque, qui libère la quinidine. La base est encore impure; on la transforme en acétate, on décolore la solution au noir animal et on déplace la quinidine par l'ammoniaque. Le précipité est dissous dans l'alcool, on évapore ensuite la solution alcoolique pour cristallisation.

On peut passer de la quinine à la quinone avec un excellent rendement et par réduction de la cétone obtenue par l'isopropylate de sodium en milieu toluène, on obtient un mélange de quinine et de quinidine, dont on sépare la quinidine. Ce procédé valorise la quinine.

CINCHONIDINE.

Préparation. - On part des tartrates insolubles provenant du traitement des eaux-mères du sulfate de quinine par le sel de Seignette. Ces tartrates, constitués par un mélange de sels de quinine et de cinchonidine, sont lavés à l'eau froide, puis décomposés par l'ammoniaque qui déplace les alcaloïdes. On les dissout dans l'alcool fort. La cinchonidine, moins soluble, cristallise; la quinine rest en solution. La purification est poursuivie en passant par l'intermédiaire du sulfate acide (1 mol. de base + 2 mol. SO_4H_2), que l'on fait cristalliser dans l'alcool à 90°C.

Le sulfate acide de cinchonidine est traité par l'ammoniaque qui déplace l'alcaloïde. Ce dernier est dissous dans l'alcool fort et soumis à la cristallisation. On peut aussi l'extraire de la quinidine, après élimination de la quinidine à l'état d'iodure. La solution d'iodure de cinchonidine restante est traitée par l'ammoniaque, qui précipite l'alcaloïde.

TEINTURE DE QUINQUINA

Pour l'obtention de cette teinture, on peut suivre généralement les indications pour les Teintures, étant donné l'absence d'un percolateur d'une mesure adéquate, on peut faire l'extraction par macération,, matières utilisées :

- écorce de quinquina : 100 grammes
- alcool à 70 jusqu'à 500 grammes

Le produit végétal constitué par la poudre d'écorce de *Cinchona ledgeriana* est soumis à la macération pendant 10 jours, on décante, on presse, on filtre. Résultent presque 450 ml de teinture, couleur brune rougeâtre d'odeur caractéristique et goût fort amer.

METHODES DE CONTROLE DE QUALITE POUR PHYSOSTIGMA
VENENOSUM

L'ésérine s'extrait des fèves de Calabar, dont la teneur en ésérine préformée est en moyenne de 0,3 p.100. L'aspect extérieur de la drogue a peu d'importance pour son évaluation; souvent des semences vermoulues ont une teneur en alcaloïdes très élevée. L'estimation de la matière première en ésérine doit être faite sur analyse par une méthode qui peut être en principe identique à celle suivie pour l'extraction industrielle ou bien effectuée par un procédé spécialement établi (extraction par l'éther en présence de bicarbonate de sodium et dosage alcalimétrique du résidu étheré avec le rouge de méthyle comme indicateur : $1 \text{ cm}^3 \text{ ClH N/10} = 0,0275 \text{ g ésérine}$).

Une précaution importante à prendre pour la préparation de cet alcaloïde, réside dans ce fait qu'on doit opérer en l'absence de toute trace d'ammoniaque dans les solvants, les matières intermédiaires et l'atmosphère des locaux, afin d'éviter la formation de rubrésérine qui colore le produit final en rouge.

METHODES DE PRÉPARATION. POUR L'ESERINE

On fait digérer au bain-marie la fève de Calabar, pulvérisée avec de l'alcool à 90°C , additionné de 1 p.1000 d'acide tartrique, à raison de 3 litres d'alcool pour 1 kg de poudre. Après décantation, on répète deux fois le traitement sur le résidu, avec les mêmes quantités d'alcool tartrique.

Les liqueurs alcooliques acides sont réunies, filtrées puis distillées pour séparer la majeure partie de l'alcool. Le résidu est évaporé au bain-marie à l'air libre jusqu'à ce qu'il ne renferme plus d'alcool. Après refroidissement, l'extrait acide est délayé dans une petite quantité d'eau distillée, puis filtré pour éliminer les résines insolubles.

Pour priver la liqueur tartrique des matières colorantes on l'agite à deux ou trois reprises avec de l'éther, jusqu'à ce que celui-ci cesse de se colorer.

La solution aqueuse ainsi purifiée contient l'ésérine en milieu acide à l'état de tartate; elle est alors additionnée de carbonate monosodique en léger jusqu'à réaction alcaline au tournesol. L'ésérine libérée est dissoute par agitation avec de l'éther à plusieurs reprises.

Par évaporation spontanée, l'éther abandonne l'ésérine que l'on purifie par de nouvelles cristallisations dans l'éther ou le benzène.

Ce procédé fournit environ 1 g d'ésérine par kg. de fève de Calabar.

Propriétés - L'ésérine est un solide cristallisé en lamelles ou tables rhomboidales incolores, se solvant en rose ou en jaune brun au contact de l'air. F: 106-107°.

Elle est à peine soluble dans l'eau, mais facilement soluble dans l'alcool, le chloroforme, l'éther, le benzène, les huiles.

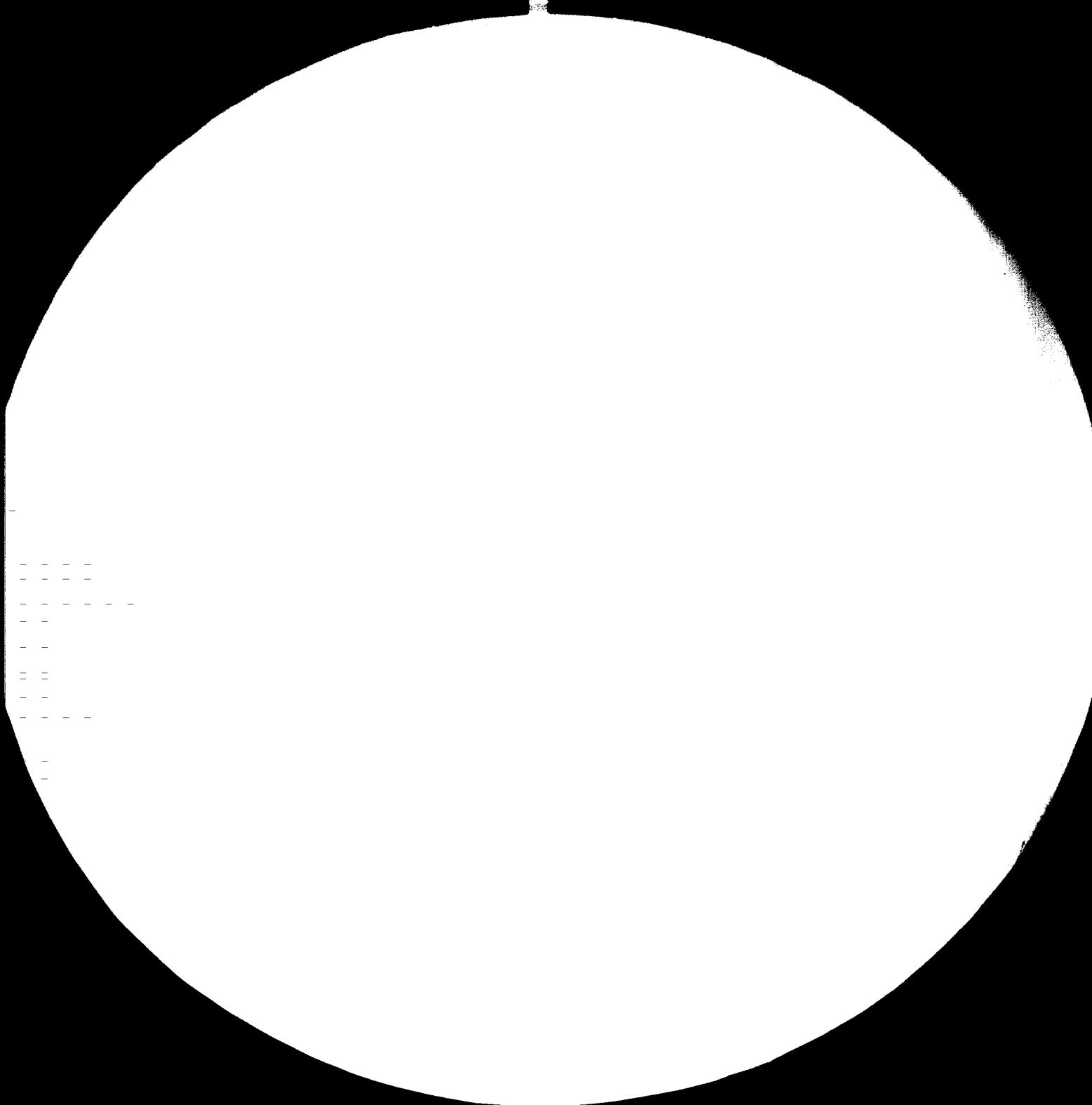
Elle est lévogyre: son pouvoir rotatoire spécifique, déterminé dans l'alcool, est $(\alpha_D) = -89^\circ$; $(\alpha_D)_1 = -94^\circ$.

C'est une base nettement alcaline, monovalente, se combinant aux acides en donnant des sels incolores qui, presque tous, à l'exception du salicylate, se teintent rapidement en rouge à l'air. Ils sont déliquescents et d'une conservation difficile.

Usages - L'ésérine est, comme la pilocarpine, mais à un degré moindre, un excitant du système vague et un paralysant du sympathique. Elle exerce sur l'oeil une action antagoniste de l'atropine. Elle agit en effet comme myotique, c'est-à-dire qu'elle provoque la contraction de la pupille. Elle diminue la pression intraoculaire. A l'intérieur, l'atropine et l'ésérine présentent également un antagonisme marqué. L'administration de doses élevées d'atropine permet à l'animal de supporter une dose d'ésérine quinze fois mortelle. Chez l'homme on observe aussi une action analogue, aux doses thérapeutiques. L'ésérine augmente l'amplitude des battements du coeur, qu'elle déprime ensuite, et élève la pression sanguine. Après administration de physostigmine, l'acétylcholine, à doses modérées et élevées, provoque une forte augmentation de la pression sanguine chez l'animal atropinisé. Elle excite la sécrétion glandulaire et exalte le peristaltisme gastro-intestinal, qui est encore accru par administration simultanée d'acétylcholine.

G-946







MICROCOPY RESOLUTION TEST CHART

NATIONAL BUREAU OF STANDARDS-1963-A

1 11

11 11

1 11 11

1 11

11 11

1 11 11

SALICYLATE D'ÉSÉRINE

On dissout séparément 10 g d'ésérine et 5,25 g d'acide salicylique dans l'éther officinal, puis on mélange les deux solutions. Le salicylate d'ésérine insoluble dans l'éther, se précipite à l'état cristallin; on le lave à l'éther pour éliminer l'excès d'acide.

On peut encore opérer de la façon suivante: on dissout dans le minimum d'alcool méthylique foid des proportions équimoléculaires d'ésérine et d'acide salicylique, on mélange ces solutions et on ajoute en agitant d'abord un volume égal d'éther qui détermine une première précipitation du salicylate. On la complète par addition d'une même quantité d'éther et on abandonne à la cristallisation pendant douze heures. Le salicylate est lavé à l'éther et desséché à 50-60° à l'abri de lumière.

Propriétés : Le salicylate d'ésérine a l'aspect de petits cristaux anhydres, prismatiques, incolores, inodores, fusibles à 182°; 184-187° après dessiccation à 100°. Parfaitement sec, il est inaltérable à la lumière; mais s'il est humide ou exposé à l'humidité, il ne tarde pas à se colorer en rouge.

A la température de 15° il est soluble dans 100 parties d'eau, dans 24 parties d'alcool à 95° et dans 12 parties d'alcool à 90°; il est peu soluble dans l'éther(1 partie dans environ 250 cm³).

Il est lévogyre; son pouvoir rotatoire, déterminé sur une solution à 2 p.100 dans l'alcool à 95° est $(\alpha_D) = - 78,8$
 $(\alpha_D) = - 84,9^\circ$; $(\alpha_D) = - 99,2^\circ$

La Pharmacopée internationale indique pour une solution aqueuse à 1 p.100 p/v: $(\alpha) = - 89,4^\circ$ à $- 94^\circ$.

Usages : En oculistique, on l'utilise en collyres à 0,05 g pour 10 g d'eau distillée saturée d'acide benzoïque, à la dose de 1 goutte dans l'oeil, trois ou quatre fois par jour, dans le traitement du glaucome, des perforations et des ulcérations de la cornée.

METHODES DE CONTROLE DE QUALITE POUR PAUSIKRYSTALLIA
YOHIMBE

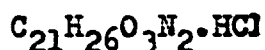
METHODE D'EXTRACTION POUR YOHIMBINE

Dosage : La poudre humectée avec une solution de carbonate de sodium est épuisée au Soxhlet par le benzène. La solution benzénique d'alcaloïdes est agitée avec une solution aqueuse d'acide formique à 2/100. Celle-ci est décantée, additionnée de bicarbonate de sodium qui libère l'alcaloïde, puis agitée avec du chloroforme. La liqueur chloroformique évaporée à sec laisse un résidu alcaloïdique, qui est dissous dans un minimum d'alcool absolu et d'acétone. L'addition d'acide chlorhydrique concentré, jusqu'à réaction acide au rouge congo, détermine la cristallisation quantitative de la yohimbine à l'état de chlorhydrate pur. On essore celui-ci, on le lave à l'alcool et à l'acétone, on le sèche et on le pèse.

Préparation : On humecte 1000 parties d'écorce pulvérisée avec une quantité juste suffisante d'une solution de carbonate de sodium à 7/100. La poudre humide est épuisée, soit au benzène, soit de préférence à l'éther, avec 1500 parties de solvant. La liqueur étherée d'alcaloïdes est additionnée de 400 parties d'une solution aqueuse d'acide oxalique à 1/10, puis distillé dans un récipient en verre, tout contact métallique en solution acide intervenant pour altérer la yohimbine.

La solution jaune d'oxalate de yohimbine est filtrée, purifiée par agitation avec de la poudre de zinc, filtrée à nouveau puis additionnée de 200 parties d'éther et alcalinisée légèrement par le carbonate de sodium. L'alcaloïde passe en milieu étheré. On décante cette liqueur, qui est traitée peu à peu par une solution alcoolique de gaz chlorhydrique, en évitant tout excès. Le chlorhydrate de yohimbine précipite et forme un dépôt résineux qui s'agglomère. L'éther est décanté et le résidu repris par 200 parties d'un mélange d'acétone et de méthyléthylcétone. Les impuretés et les alcaloïdes voisins se dissolvent dans ce milieu et le chlorhydrate de yohimbine apparaît comme une poudre fine insoluble. On répète ce lavage à deux reprises, et on essore. On fait alors sécher à 30-40°.

METHODE DE CONTROLE DE QUALITE POUR
YOHIMBINUM HYDROCHLORICUM
Chlorhydrate de yohimbine.



Pds, mol. 390,90

Examen organoleptique : cristaux aciculaires, incolores ou poudre cristalline blanche, de saveur faiblement amère, produisant sur la langue une légère anesthésie.

Point de fusion: 302-303°

Pouvoir rotatoire spécifique = + 103° + 106°, déterminé dans une solution aqueuse de 20 ml contenant 0,20 g de substance

Solubilité : Eau à 20° 140 p

Eau à 100° 30 p

Alcool légèrement soluble

Alcool absolu.. . . insoluble

La solution aqueuse a une réaction neutre ou faiblement acide.

Réaction d'identité.

Mélangez 0,01 g avec 3 gouttes d'acide nitrique(R); il apparaît une coloration jaune, virant au rouge-brun après l'addition de 2 ml d'hydroxyde de sodium à 10 pour cent(R)
Traitez 0,02 g avec 1 ml d'acide sulfurique(R), 0,01 d'alun ferri-ammoniacal(R) et agitez; il apparaîtra une coloration violette virant au bleu foncé.

Dissolvez 0,10 g dans 10 ml d'eau et ajoutez 5 ml d'ammoniaque diluée(R) ou 0,20 g de carbonate de sodium(R) il se formera un précipité de yohimbine base. Après être séparé lavé à l'eau et séché, le précipité a un point de fusion à 230-235°.

Dissolvez 0,05 g dans 5 ml d'eau, ajoutez 0,5 ml d'acide nitrique dilué(R) et 1 ml de nitrate d'argent 0,1N; il se formera un précipité blanc, caséux.

Condition de pureté.

Dissolvez 0,10 g dans 10 ml d'eau fraîchement bouillie et refroidie, en chauffant au bain-marie et, après refroidissement, complétez jusqu'à 15 ml. La solution obtenue devra être limpide, incolore et neutre au tournesol.

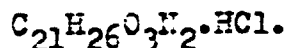
Sulfates: 10 ml prélevés de la solution précédente ne doivent pas répondre aux exigences de l'essai pour les sulfates.

Perte à la dessiccation: Une prise voisine de 0,50 g exactement pesée et séchée à 100-105° jusqu'au poids constant, ne doit subir une perte supérieure à 2 pour cent du poids.

Résidu d'incinération: Une prise voisine 0,50 g exactement pesée et calcinée jusqu'au poids constant, ne doit pas donner un résidu pondérable.

Dosage: pesez exactement une prise voisine de 0,30 g, dissolvez la dans un mélange neutralisé préparé de 10 ml d'alcool avec 5 ml de chloroforme, et titrez à l'hydroxyde de sodium 0,1 n jusqu'à l'apparition d'une coloration rose (indicateur phénolphaléine).

1 ml d'hydroxyde de sodium 0,1 n correspond à 0,03909 g



Le chlorhydrate de yohimvine doit contenir 99,4 p.cent $C_{21}H_{26}O_3N_2 \cdot HCl$. calculé par rapport à la substance sèche.

Incompatibilités : Alcalis, substances à réaction alcaline, bromures, iodures, iode, tanin.

Conservation: En récipient bien fermé, à l'abri de la lumière.

Separandum.

Doses maximales :

Dose simple 0,02 g

Dose journalière . . . 0,04 g

METHODE DE CONTROLE DE QUALITE POUR HEXAPHOSPHATUM

(Phytine)

Mélange de sels de calcium et de magnésium des acides inosito-phosphoriques et , particulièrement de l'acide inosito-hexa-phosphorique.

Caractères : Poudre amorphe, blanche, inodore.

Solubilité : Peu soluble dans l'eau, soluble dans l'acide chlorhydrique dilué.

Réaction d'identité. :

- dissolvez 0,10 g dans 1 ml d'eau, ajoutez 1 ml d'acide nitrique(R) 1 g de nitrate d'ammonium(R) et 3 ml de molybdate d'ammonium(R); il se forme un précipité blanc.

- dissolvez 0,20 g dans 5 ml d'acide chlorhydrique 1 n et ajoutez 4-5 gouttes de chlorure ferrique(R); il se forme un précipité blanc-jaunâtre.

- agitez 0,50 g avec 20 ml d'acide acétique à 30 p.cent(R) et filtrez. A 5 ml de filtrat ajoutez 1 ml d'oxalate d'ammonium Il se forme un précipité blanc, insoluble, dans l'acide acétique et insoluble dans l'acide chlorhydrique.

Conditions de pureté.

Limite de couleur et de transparence. Dissolvez 1 g dans 10 ml d'acide chlorhydrique dilué (R) et ajoutez 10 ml d'eau; la solution doit avoir la même couleur et la même transparence qu'un essai à blanc contenant 10 ml d'étalon de couleur No.8 et 10 ml d'étalon de transparence respectivement.

Chlorurea :. Dissolvez 0,20 g dans 5 ml d'acide nitrique à 25 p.cent(R) et completez avec de l'eau jusqu'à 20 ml.

1 ml de cette solution , additionné d'eau jusqu'à 10 ml devra avoir une teneur en ions de chlore égale à 3 ml de solution étalon(0,03 mg d'ions de chlore). Additionnée d'eau jusqu'à 10 ml, à savoir 0,3 pour cent en plus.

Amidon : Dissolvez 0,25 g dans un mélange de 3,5 ml d'acide chlorhydrique 1 n et 46,5 ml d'eau; la solution obtenue doit être limpide ou transparente. Un éventuel résidu, après séparation, ne devra pas blenir lorsqu'on ajoute une goutte d'iode 0,01 n.

Sucres: Agitez 2 g avec 10 ml d'eau et filtrez; le filtrat ne devra pas réduire le réactif de Fehling directement ou après que le filtrat a été inverti.

Sels d'ammonium: Faites bouillir 0,20 g dans 5 ml d'hydroxyde de sodium à 10 pour cent(R); il ne devra pas se dégager de vapeurs qui bleuissent le papier rouge de tournesol.

Métaux lourds: Chauffez dans une capsule de porcelaine un mélange de 0,50 g, 2 ml d'acide sulfurique(R) et 5 ml de peroxyde d'hydrogène(R) jusqu'à la séparation complète des vapeurs d'acide sulfurique; calcinez ensuite. Au résidu ajoutez 4ml d'acétate d'ammonium(R) neutralisé au préalable avec de l'hydroxyde de sodium 1 n(indicateur phénolphtaléine) triturez avec une baguette de verre, chauffez à l'ébullition, ajoutez 5 ml d'eau, chauffez de nouveau à l'ébullition et filtrez, en lavant avec 5 ml d'eau. Aux filtrats réunis ajoutez 0,5 ml d'acide acétique à 30 p.cent(R) et 5 ml d'eau hydrosulfurée(R). La teneur en métaux lourds ne doit pas dépasser la teneur des 5 ml d'étalon(0,005 mg d'ions de plomb) additionnés d'eau à 10 ml, en ajoutant également 0,5 ml d'acide acétique à 30 p.cent. (R) et 5 ml d'eau hydrosulfurée(R), c'est-à-dire 0,001 p.cent au plus.

Phosphore minéral: Dissolvez 0,50 g dans 20 ml d'eau et 1 ml d'acide chlorhydrique(R); ajoutez 10 ml de solution aqueuse à 10 p.cent de chlorure ferrique(R); il se forme un précipité abondant. Filtrez le mélange jusqu'à l'obtention d'un filtrat limpide. Mélangez 10 ml de filtrat avec 10 ml de molybdate d'ammonium(R); il ne devra pas se former immédiatement un précipité jaune.

Arsenic : 0,0005 g au maximum. Procédez suivant les normes prévues au chapitre "Détermination de l'arsenic dans les combinaisons organiques" en prenant 1 g de substance.

Perte à la dessiccation : Pesez exactement une prise voisine de 0,50 g et séchez-la à 100-105° jusqu'à un poids constant; la perte ne doit dépasser plus de 10 p.cent du poids.

Résidu d'incinération: Pesez exactement une prise voisine de 0,50 g et calcinez jusqu'à un poids constant; le résidu ne devra dépasser 68 p.cent, calculé par rapport à la substance sèche.

Dosage :

Dosage du phosphore lié organiquement. Pesez exactement une prise voisine de 0,20 g et dissolvez -la dans 20 ml d'acide chlorhydrique 0,1 n dans un ballon jaugé de 100 ml; diluez avec 50 ml d'eau, ajoutez 25 ml de sulfate de cuivre 0,1 n et 0,50 g d'acétate de sodium(R) Agitez énergiquement jusqu'à la dissolution de l'acétate de sodium; completez avec de l'eau au trait de jauge, agitez et laissez reposer pendant 5 min. Après cet intervalle, filtrez à travers un filtre sec dans un ballon séché; rejetez les premiers 15 ml et mesurez 50 ml du filtrat dans un flacon au bouchon rodé; ajoutez 2 g d'iodure de potassium(R), mélangez bien et laissez reposer pendant 10 minutes. L'iode mis en liberté sera titré au thiosulfate de sodium 0,1 n. (indicateur amidon).

Le titre du sulfate de cuivre s'établit en utilisant 25 ml de la solution de sulfate de cuivre 0,1 n.

1 ml de sulfate de cuivre correspond à 0,003410 g de phosphore lié organiquement.

L'hexaphosphate doit contenir 18 pour cent au minimum de phosphore lié organiquement, calculé par rapport à la substance séchée.

Conservation: A l'abri de l'humidité.

TEINTURE DE PILIPILI

Pour la préparation de cette teinture, on utilise le procédé d'extraction par macération, matières utilisées :

- pilipili : 100 grammes
- l'alcool à 70° jusqu'à 500 grammes

Le produit végétal constitué par la poudre de fruits secs de *Capsicum frutescens* est macéré pendant 10 jours avec la quantité d'alcool. Après ce temps, on décante, on presse on filtre, on obtient presque 450 ml de teinture avec une couleur rouge-orange d'odeur caractéristique, de goût piquant et brûlant.

TEINTURE D'ECORCE DE MANGUIER

A cause de l'absence d'un percolateur de laboratoire, on peut obtenir d'abord la teinture par macération.

On utilise les matériels suivants :

- Ecorce de manguiier : 100 gr.
- Alcool 70° jusqu'à 500 ml.

L'écorce séchée de mangifera finement pulvérisée est humectée avec 100 ml d'alcool 70°, on la triture bien dans un mortier pour l'homogénéité, de l'imbibition avec le solvant, ensuite on le introduit dans un récipient de capacité appropriée et on ajoute le reste de solvant. On ferme le récipient, on l'agite fortement et on le maintient ainsi pendant 10 jours, en le faisant agiter 3-4 fois par jour. Ce délai expiré, on décante le liquide surnageant, on exprime vigoureusement le résidu, végétal et de liquide recueilli est maintenu au repos encore 6 jours. On filtre et on le conserve dans des flacons de couleur brune, à une température basse (15-20°C) On en résulte la teinture d'un goût astringent amer.

EXTRAIT DE MANGUIER.

100 gr de teinture sont concentrés sur bain-marie sous pression réduite jusqu'à 10 gr (concentration 1 à 10)

EXTRAIT DE PLANTAIN

A cause de l'absence d'un percolateur de laboratoire, on obtient d'abord la teinture par macération (les indications générales pour les extraits).

100 gr. de teinture de plantain sont distillés sous pression réduite sur bain-marie jusqu'à une quantité de 20 gr pour avoir un rapport drogue/solvant 1 à 1.

EXTRAIT DE PILIPILI

100 grammes de teinture sont soumis à la distillation sur bain-marie sous pression réduite jusqu'à l'obtention de 10 gr. on obtient un extrait de couleur rouge dans le rapport drogue/solvant de 1 à 1.

MEDICAMENTS TRADITIONNELS PROCURÉS AU
CAMEROUN QUI SONT PROPOSÉS POUR L'ÉTUDE
PHYTOCHIMIQUE.

<u>Dénomination vernaculaire</u>	<u>Indications thérapeutiques</u>
1. STOMACHIQUE	
2. STIMULENT FORT	
3. DESORDRES MENTAUX	
4. QUAJANGADAM	
5. L'AXADAM AUTOMATIC	soigne: les trompes bouchées, maux de dos, maux de bas ventre, stérilité - Impuissance (hommes et femmes), maux des testicules, blénorrhagie <u>dosage:</u> pompe par l'an
6. BIANG MISSONG MIX	contre : toutes sortes de vers intestinaux (ascaris, Ankylostome oxyures, et. Prendre avec la banane douce le matin sans manger. soigne : Gales, l'exéma, filaires gonflage du cou. mode d'emploi: frotter au bien embaumer chaque soir
8. WOTIADALDAM MIXTURE	soigne : les reins, fatigue, l'impuissance, donne la force, active les testicules. <u>dosage :</u> 1/2 verre matin et soir
9. VACCINE	

PROGRAMME POUR L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE DES PLANTES
MEDICINALES.

I. LES PLANTES UTILISEES PAR LA MEDECINE TRADITIONNELLE.

- Plante ou partie de la plante utilisée
empiriquement :

1. Analyses physicochimique qualitatives
2. Préparation du matériel d'expérimentation :
 - extraits totaux
 - extraits purifiés
 - extraits fractionnés
3. Déterminations quantitatives
4. Isolement et identification des molécules
actives définis chimiquement

II. LES PLANTES MEDICINALES EXPORTÉES.

- Plante ou partie de la plante qui est exportée

1. Mettre au point des méthodes d'analyse
pour faire des fiches techniques de contrôle
de qualité.
2. Déterminations quantitatives des principes
actifs.
3. Préparation du matériel d'expérimentation -
extraits et teintures, ou de substance pure.
4. Mettre au point des méthodes d'analyse pour
les extraits, teintures et éventuellement
pour les formes galéniques.

III. LES PLANTES MEDICINALES OFFICINALES QUI SONT INTRODUITES
EN CULTURE.

- L'étude pour chaque partie de la plante

1. Déterminations quantitatives des principes
actifs d'après les Pharmacopées internationales
2. L'extraction de principes actifs d'après
le cas échéant, préparation des extraits,

teintures, etc. L'isolement des substances chimiques - purification.

3. Fiche de contrôle de qualité pour chaque produit.

IV. LES PLANTES MÉDICINALES QUI SONT UTILISÉES EN ALIMENTATION

- L'étude de la plante ou partie de la plante utilisée en alimentation.

1. Analyses physicochimiques qualitatives
2. Préparation du matériel d'expérimentation - extraits et teintures
3. Déterminations quantitatives des principes actifs.

V. MÉDICAMENTS TRADITIONNELS

1. Analyses physicochimiques qualitatives
2. L'extraction des principes actifs
3. Déterminations quantitatives des principes actifs.

FICHE D'ACCOMPAGNEMENT DES ECHANTILLONS

ETUDIANT

Noms Prénoms Année . .
Adresse

Fournisseur
(de l'échantillon ou de l'indication)

Noms Prénoms
Adresse

ECHANTILLON

Nom

Provenance : préciser

- l'origine(région)
- la plante fournissant la drogue
- son habitat habituel (plaines, montagnes, forêts, oueds, etc)
- son port général (herbe, arbuste, arbre)
- le lieu exacte de cueillette
- les conditions de la récolte (à telle saison, avant ou après floraison, lors de la fructification)
- l'organe utilisé (plante entière, feuille, fleur, écorces racines)
- autres indications

UTILISATIONS :

- l'usage thérapeutique traditionnel(e)
- la forme d'administration (s)
- la posologie habituelle pendant jours
- précautions particulières
- contre indications : toxicité éventuelle
- autres indications

Economie :

- la drogue est :

peu	peu	peu
assez utilisée	assez répandue	assez chère
très	très	très
- commercialisation
- au poids ; mesures utilisées; prise de vente au détail
- au volume ; la drogue est-elle obtenue directement par cueillette ou acheté chez les herboristes, les guérisseurs

PERSONNEL INTERNATIONAL PROPOSE POUR LE CAMEROUN
CONCERNANT LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE, CHIMIQUE
ET PHARMACEUTIQUE APPLICATIVE ET POUR LA VA-
LORISATION DES PLANTES MEDICINALES

- Un Expert en pharmacologie	4 mois x 4500 \$ = 18000 \$
- Un " Technologue (Chimiste)	4 mois x 4500 \$ = 18000 \$
- Un " en mécanique	4 mois x 4500 \$ = 18000 \$
- Un " Ingénieur (Electricien)	4 mois x 4500 \$ = 18000 \$
- Un " ONUDI consultant de haute niveau l'assistance et l'intervention pendant 3 ans, 2 mois par année	6 mois x 4500 \$ = <u>27000 \$</u>
Total	99000 \$

EVALUATION ESTIMATIF DE L'ASSISTANCE INTEGREE
POUR LA VALORISATION DES PLANTES MEDICINALES
AU CAMEROUN

-0-0-0-0-0-

- 1) Coût estimatif d'équipements proposés pour compléter les laboratoires du Centre d'Etudes des Plantes Médicinales et pour des recherches applicatives au niveau pilote au Cameroun 85.650 US\$

- 2) Coût estimatif d'équipements proposés pour le Centre d'Etudes des Plantes Médicinales concernant le ramassage, la conservation et la recherche agricole pour la valorisation de la flore camerounaise 45.300 US\$

- 3) Personnel international proposé 99.000 US\$

- 4) Coût estimatif pour des réactifs et solvants100.000 U \$

- Total 329,950 US\$

Les plantes médicinales et aromatiques

- A) la flore spontanée
- B) la culture

LA PHYTOTHERAPIE

Traitement des maladies par les plantes ou simples connaît depuis quelques années un regain en faveur . La nature est à la mode: Shorupooings, produits de beauté, aliments colorants et parfumés, garantis naturels, tisanes, etc. sont de plus en plus rencontrés dans les pays industrialisés.

Cette vogue peut s'expliquer par le fait que d'une part , les produits synthétiques sont certes puissants mais souvent agressifs d'autre part, les nombreux travaux ont apporté des précisions sur les constituants des végétaux expliquant scientifiquement les propriétés connues de manière empirique depuis des siècles.

A) Le ramassage des plantes de la flore spontanée, demand une équipe de ramasseurs qui est instruite par un chef d'équipe, avant le ramassage prend les mesures suivantes:

- vérification de l'intégrité et du manque d'impuretés des voitures et des caisses superposables qui servent pour le transport des plantes ramassées.

- le chef de l'équipe donnera des indications pour les espèces et les parties des plantes qu'il faut ramasse

- pour éviter la destruction rapide des bassins des plantes médicinales, on ne fait pas le ramassage de toutes les plantes qui se trouvent sur le même endroit spécialement quand on récolte la plante entière (herba) .

Les principales modes de dessiccation

Dans tous les cas, les plantes, entières ou coupées, doivent être disposées en couches minces, entre lesquelles l'air doit circuler librement.

Séchage à l'ombre et sous abri

Il se fait à la température ambiante, dans les hangars, des granges, des greniers. C'est le procédé le plus simple, le plus employé à l'échelle artisanale.

On étale les plantes sur des papiers, des toiles, ou mieux sur des claies qui permettent une meilleure aération, on peut aisément construire des séchoirs portatifs comprenant, par exemple, un cadre en bois de 1,50 sur 2,80 m sur lequel est tendu un grillage ou une toile grossière. Plusieurs cadres munis de pieds peuvent être superposées de façon à ce que les couches de plantes soient espacées de 30 à 40 cm. Lorsqu'on dispose d'une pièce ou d'un bâtiment spécial, on peut y installer des séchoirs fixes. Les plantes entières ou les sommités fleuries peuvent aussi être disposées à cheval sur fils de fer (séchage en guirlande) ou suspendues en bouquets. La ventilation doit être très bonne, on peut l'accélérer par un système de courant d'air mais on doit éviter au moyen de volets ou de rideaux l'action directe du soleil qui décolore les plantes. Les jours de pluies ou de brouillard, il est préférable de fermer les ouvertures. Il faut surveiller constamment le séchage, retourner les plantes, rejeter les parties présentant un début de développement de moisissures.

Cette méthode, excellente pour de petites quantités de plantes, on peut utiliser en climat humide. Si non la dessiccation est trop lente et des micro-organismes se développent. Cette altération est très rapide en tropical.

Séchage au soleil et à l'air libre:

C'est un moyen très économique dans les climats chauds et secs, on étale ainsi sur des toiles ou des plateaux des drogues peu fragiles: écorces, racines, supportant bien l'action des rayons solaires. Mais ce procédé est contre-indiqué pour les fleurs qu'il décolore pour les plantes à huiles essentielles qui perdraient une partie de leurs principes actifs. Pourtant dans les pays à climat chaud et humide ce procédé rapide est préférable à une dessiccation lente à l'ombre. On sèche ainsi les écorces de cannelle, de quinquina, les racines de curcurna, de ginpermbre etc. La nuit, il faut couvrir les plantes pour les protéger contre la condensation de rosés au matin.

Les plantes que l'on vient de récolter contiennent une proportion importante d'eau, variable, notamment avec l'organe considéré, les graines et les fruits secs ont la teneur la plus faible (5 à 10%) mais à l'état frais, les écorces renferment 30 à 20 % d'eau, les feuilles de 80 à 90% . On utilise parfois, en médecine et rhizomes de 70 à 85% , les fleurs et les fruits de 80 à 90% . On utilise parfois, en médecine populaire, les plantes médicinales à l'état frais (secs, catoplasmes); dans l'industrie, elle servent pour la préparation d'alcoolatures et de la distillation d'huiles essentielles. Mais la plupart du temps, se pose le problème de leur conservation.

La plante coupée se fane plus ou moins rapidement suivant la texture de l'organe, la température et l'humidité de l'air. Elles consomment d'abord ses réserves, mais la déshydratation entraîne en quelques heures, en quelques jours la mort progressive des cellules végétales. C'est alors que se manifestent des dégradations. Certaines se font sous l'influence des enzymes (on disait autrefois ferments ou diastases) de la plante : à la mort, les cellules deviennent perméables et les enzymes localisées dans certaines cellules ou dans des points différents d'une même cellule viennent en contact avec les constituants contenus dans le suc caculaire. Ces composés subissent alors des hydrolyses ou des oxydations souvent préjudiciables à l'action thérapeutique des drogues. Ces phénomènes enzymatiques nécessitent la présence en eau inférieure à 10%.

D'autres altérations se produisent sous l'action de l'oxygène de l'air et de la lumière. De plus, tant que la teneur en eau est importante peuvent proliférer sur les végétaux coupés des bactéries et des moisissures. C'est pourquoi il y a intérêt à éliminer rapidement la majeure partie de l'eau des organes récoltés. On ne doit jamais les entasser ou les mettre en sacs à l'état frais sous peine de provoquer des fermentations.

La dessiccation est le procédé de conservation des drogues végétales le plus anciennement employé, il reste le plus important. La déshydratation entraîne en même une diminution considérable de volume des plantes, fait intéressant pour leur stockage et leur expédition.

Séchage à l'air chaud

C'est le procédé le plus utilisé en climat température humide et dans les exploitations importantes, car il permet de traiter rapidement de grandes quantités de drogues. La durée de séchage de dix à vingt jours à la température ambiante ramenée à quelques heures.

L'air chaud et sec passe à travers les plantes à sécher se charge d'humidité et se renouvelle par tirage naturel et mieux par ventilation forcée aspirante ou soufflante. Pour 100 kilogrammes de plantes fraîches, on doit évacuer sous forme de vapeur, 60 à 80 kg d'eau contenue dans les tissus du végétal. On rencontre de nombreux types de séchoirs.

- Dans les plus simples, la source de chaleur est au rez-de-chaussée d'une construction en brique. A la partie supérieure de celle-ci se trouvent sur un ou plusieurs étages, des claies disposées en chicane, portant les plantes à sécher.

- On emploie beaucoup les séchoirs-tunnel, galeies horizontales que les drogues parcourent sur des wagonnets portant des cardes-séchoirs superposés. A une extrémité du tunnel, se trouve la source de chaleur: foyer à bois, à charbon appareil électrique, à l'autre extrémité, un ventilateur-aspirateur. Les chariots sont introduits successivement à l'extrémité opposée à la source de chaleur lorsqu'il arrivent près de celle-ci, la dessiccation des plantes qu'ils portent doit être terminée.

- Il existe des séchoirs à bande transporteur dans lesquels les plantes sont disposées sur un ruban transporteur sans fin. Le courant d'air chaud et sec envoyé en sens inverse par une ventilation forcée. Le chargement et le déchargement se font de manière continue à chaque extrémité. Dans certains types de déchargement se font de manière continue à chaque extrémité. Dans certains types de séchoirs, les plantes subissent une ascension hélicoidale dans une tour où circule l'air chaud.

La température de l'air chaud a été discutée. On a longtemps préconisé une température moyenne de 30°C à 60°C pour sécher les plantes médicinales, les racines fragiles (fleurs, sommités, feuilles) étant traités à plus basse température (20°C à 40°C) que les racines et les écorces (60°C à 70°C) mais on s'est rendu compte que ces températures étaient souvent favorable à des dégradations enzymatiques. Pour la conservation des principes actifs, il est préférable de sécher à une température de 25°C à 30°C avec une forte ventilation ou de porter à 100 - 120°C quelques minutes (dans ce dernier cas, les phénomènes enzymatiques étant stoppés, on a ce qu'on appelle une stabilisation)

dans les séchoirs flash souvent rotatifs, mise au point pour le séchage du foin et de la luzerne, les plantes sont encore en contact seulement quelques secondes avec un air à 600 - 800 °C. Bien entendu le végétal est porté à une température très inférieure à celle de l'air chaud (que l'on ne peut déterminer que par des ondes thermo-électriques).

Mais cette méthode n'a guère été utilisée jusqu'ici pour les plantes médicinales car elle est de manière délicate et il faudrait étudier chaque cas en particulier. Les plantes doivent toujours être parfaitement triées, débarrassées des fragments noircis ou attaqués par les insectes, les moisissures.

Autres procédés de dessiccation

Ils sont encore pour la plupart, au stade expérimental, ou à petite échelle:

- séchage par les rayons infrarouges employés pour les légumes, et les fruits déshydratés, il n'est pas à conseiller pour les plantes médicinales, car il peut altérer les principes actifs.

- cryodessiccation ou lyophilisation: c'est une dessiccation par sublimation directe de l'eau du végétal préalablement congelé au vide profond Co, 2 à 0, 02 mm de mercure. La sublimation de la glace nécessite un apport de calories fourni par le chauffage d'un solvant (pentanol) à température aussi basse que possible (30°C), la vapeur d'eau produite se dispose à l'état sur un condenseur. Ce procédé a été essayé pour diverses plantes médicinales (Camomille, Digitale, Valériane, Rose rouge) et a fourni des drogues d'un tel aspect. Mais outre qu'il est très coûteux, il n'a pas jusqu'ici permis d'obtenir à l'échelle industrielle des plantes d'activité supérieure à celle des drogues séchées à la température ordinaire et souvent il y a plutôt une diminution d'activité (perte de substances volatiles en particulier).

Perte de poids au séchage

Le récolteur doit savoir que les plantes fraîches perdent un poids considérable au cours de la dessiccation et que le rendement de leurs récoltes est variable avec les espèces, les organes et l'époque de la récolte.

- pour 1 kg de racines, on obtient 300 à 400 grammes de drogues sèches;
- pour 1 kg de feuilles, on obtient en général 150 à 200 grammes de drogues sèches
- pour 1 kg de fleurs, on obtient en général 100 à 200 grammes de drogues sèches.

les drogues ainsi séchées retiennent encore une quantité d'eau de l'ordre de 5 à 10% qui n'est éliminée que par séjour à l'étuve à $100^{\circ}\text{C} \pm 200^{\circ}\text{C}$ pendant plusieurs heures ou dans le vide en présence d'un déshydratant (chlorure de calcium, acide sulfurique). Cette petite quantité d'eau n'est généralement pas possible les drogues ne sont pas stockées trop longtemps. Cependant dans le cas de la poudre Digitale, les pharmacopées exigent une teneur en eau inférieure à 3% pour une bonne dessiccation.

Stabilisation des plantes médicinales

Par des procédés de dessiccation décrites précédemment et sauf si la température dépasse 100°C les enzymes des plantes ne sont qu'imbibées et peuvent exercer à nouveau leur action si la drogue est replacée dans des conditions favorable d'hydratation et de température. Les enzymes étant de nature protéique ne sont dénaturées au'à une température supérieure à 80°C (plus élevée en milieu anhydre). Les divers procédés préconisés sont:

Traitement par l'alcool bouillant

Les plantes sont projetées par petites quantités dans un récipient (ballon de grande taille ou cuve, reliés à un réfrigérant) refermant de l'alcool éthylique bouillant. Les enzymes sont détruites et leur action est stoppée, mais il y a extraction concomitante des nombreux constituants de la plante qui sont solubles dans l'alcool. Aussi ce procédé permet-il seulement d'obtenir des alcoolatures et des extraits stabilisés, plus actifs que les teintures de drogue séchée dans le cas de diverses plantes : Méruone, marron d'Inde, valériane.

Traitement par la vapeur d'eau sous pression et surtout par la vapeur d'alcool sous pression :

Les vapeurs produites dans un générateurs sont envoyées dans un autoclave à double parois, chauffé par envoi de vapeur d'eau dans sa double enveloppe. Les plantes sont introduites en couche mince dans des paniers grillagés, lorsque la température voulue est atteinte, une pression de 1kg est maintenue quelques minutes à l'intérieur de l'autoclave. L'alcool est récupéré dans un condenseur. Ce procédé a été préconisé pour digitale, kola, scille etc. mais, outre qu'il est couteux et délicat (danger d'incendie) et qu'il ne se prête pas au traitement de grandes quantités de plantes, il peut provoquer des altérations (plantes à principes actifs volatiles en particulier).

Traitement par l'air chaud

Le séchage par l'air chaud est une stabilisation lorsque la température atteint 80 °C à 100 °C , c'est un excellent procédé mais le chauffage ne doit pas être chargé sous peine d'altérer ou de détruire d'autres constituants que les enzymes. Celles peuvent être également détruites par des courants de liquide tension.

Toutes ces méthodes ne peuvent être appliquées sans discernement et leur emploi est réservé à quelques plantes chez lesquelles elles donnent de bons résultats.

Le séchage à une température inférieure à 30 °C avec une ventilation poussée reste le procédé de choix pour conserver aux drogues les propriétés de la plante fraîche.

Cas pour lesquels la fermentation des drogues est nécessaire

Ils sont peu nombreux. Cependant, il existe des drogues dont l'arôme recherché n'apparaît qu'après fermentation: gousse de vanille(dont l'odeur due à la vanilline) et substances voisines se forme après hydrolyse de glucoside, graines de cacoyers, feuilles de théier dans la préparation du thé voir (pour celle du thé vert elles sont au couhaire stabilisées ; de même les racines de lentane destinées à la liquoristerie après un séchage partiel sont mises à fermenter en tas pour en développer l'odeur et la couleur, les feuilles de tabac sont pendues en guirlandes plusieurs semaines dans les hangars pour ramener leur teneur en eau) 25% puis réunies en paquets ou macroques et comprimées en belle ou elles subissent la fermentation , étape essentielle dans la préparation des tabacs à fumer.

Le conditionnement et le stockage

Ils doivent être précédés d'un tri soigneux qui éliminet les matières étrangères, les organes abimés et classe les drogues par catégorie et par qualité. Lors les plantes doivent être transportées, on recherche l'emballage qui assure le maximum d'espace c'est pourquoi les feuilles, les herbes sont parfois comprimées. L'herboristerie demand actuellement beaucoup de drogues coupées plus ou moins grossièrement (fragments de 1 à 15 cm de long dans le coupé normal de 6 à 10 mm de long la coupe même directement utilisable pour les tisanes simples ou composés) .

Les sachets-dose ou infusettes renferment des fragments de 1 à 30 mm seulement.

Les plantes qui fixent facilement les odeurs (thé) doivent être parfaitement

emballées (feuilles métalliques) pour les autres, on utilise des sacs ou des caisses. L'étiquetage doit être lisible. Le stockage est très bien ventilé par de l'air sec. Il faut prendre des précautions contre risques d'incendie, et d'autre part prévenir et enrayer les attaques des rongeurs, des insectes et acariens de champignons.

La plupart des drogues doivent être renouvelées chaque année les droguists . Les fleurs et les sommités de plantes aromatiques surtout sont de conservation limitée.

CONFERENCE II

ASPECTS TECHNIQUES DE L'EXTRACTION DES SUBSTANCES NATURELLES
LES PLANTES MEDICINALES

Le but de cette conférence est de donner un aperçu général de techniques et de l'appareillage utilisés actuellement dans l'industrie pharmaceutique, dans l'industrie extractive, notamment des plantes médicinales.

Les problèmes qui se posent sont assez complexes du fait que les appareils employés représentent souvent une transposition des appareils utilisés dans l'industrie extractive et, plus spécialement dans l'industrie des huiles alimentaires et des sucres.

Mais, dans cette industrie, les quantités de matière première employée sont très grandes et les fabrications sont classiques, ce qui permet d'amortir les installations coûteuses. Dans ce cas des produits pharmaceutiques, qui ont une vie relativement courte, la situation est différente. La psychologie des malades entre en jeu et les médecins sont obligés de prescrire constamment des spécialités nouvelles. Par conséquent, l'appareillage prévu doit être polyvalent et la même machine doit pouvoir servir à différentes fabrications.

Après ces quelques mots d'introduction, je voudrais énumérer les étapes principales de l'extraction pour nous occuper, ensuite, plus particulièrement des appareils utilisés pour chaque opération. De façon générale, les extractions commencent par une division des matières premières suivie d'une extraction par les solvants des principes actifs contenus dans les poudres. Les collatures riches obtenues sont extraites par des solvants non miscibles. Une concentration et une purification sont par la suite nécessaires.

Division des solides

Les matières premières (les plantes médicinales) le plus souvent employées dans l'industrie pharmaceutiques se présentent sous forme solide. Pour augmenter les surfaces de contact, pour rendre les corps aptes à réagir, il est nécessaire de provoquer une rupture sur le plan mécanique, et nécessaire de diviser

des cellules et les tissus. L'opération préalable à l'extraction est de façon presque générale, le broyage.

On emploie actuellement dans l'industrie trois procédés de broyage:

1. - le procédé par section
2. - le procédé par percussion
3. - le procédé mixte

Dans le premier cas, la division des solides se fait par coupure et les broyeurs utilisés sont équipés de couteaux animés d'un mouvement de va-et-vient horizontal ou vertical ou bien encore d'un mouvement circulaire.

Dans le cas de percussion, l'effet brisant est réalisé par des coups brusques portés par des marteaux exactement comme dans le cas de pilon et du mortier. La plupart des appareils industriels sont équipés de marteaux qui tournent à grande vitesse entre des couronnes dentées fixes.

Dans cet appareil, est effectué en même temps le broyage et le tamisage, à l'aide de tamis calibrés ou de grilles qui ne laissent passer que les poudres d'une certaine granulométrie. C'est le procédé mixte.

L'industrie utilise des appareils assez divers comme par exemple les broyeurs à cylindres parallèles, broyeur à cylindres sont concasseurs à mâchoires broyeurs à galets.

Tout en étant une opération physique simple, pour laquelle existent des appareils appropriés, la façon dont la matière première est divisée peut avoir une importance considérable pour la suite des opérations. Il est évident que, dans le cas de l'extraction solide-liquide, il est intéressant d'augmenter la surface d'échanges. Pourtant, parfois, les difficultés de broyage sont si grande (par exemple dans le cas de graines huileuses) que l'on préfère un traitement sous broyage, même si les rendements sont moins élevés. C'est à dire qu'il existe des cas où il faut choisir après avoir fait un calcul économique, ou il faut mettre en balance les augmentations de rendement d'un coté et les difficultés techniques de l'autre.

Actuellement, pour certains extracteurs, la préparation primaire de matière première est encore plus grande. Une fois les matières premières broyées, on les agglomère en plaquettes ou lamelles, traitement qui ouvre la voie des

percolations poussées. Ce procédé est très récent et, dans certains cas donne des résultats excellents.

Je ne veux pas insister sur les traitements spéciaux, comme, par exemple, la division par ultra-sous, la fermentation etc qui ont comme but de faciliter également l'extraction.

Une fois la matière première préparée, l'opération qui suit est l'extraction solide-liquide

À ce stade, il faut d'une part, faire le choix du solvant, d'autre part celui de l'appareil le plus adapté. Cependant, il est encore nécessaire, avant de passer à l'extraction proprement dite de purifier les matières premières à l'aide d'un dégraissage, comme, par exemple, dans le cas de l'extraction des alcaloïdes. On peut partager les appareils utilisés actuellement en deux grands groupes selon leur fonctionnement :

I . Extracteurs en discontinu

II . Extracteurs en continu

Les méthodes d'extraction employées sont :

- a)- l'épuisement par simple contact
- b)- l'épuisement par contact multiple
- c)- l'épuisement par contre-courant.

a)- l'épuisement par simple contact :

Les appareils, qui travaillent en discontinu, par charges, sont encore les plus utilisés du fait que les quantités de matières premières traitées, par l'industrie pharmaceutique sont relativement faibles. Parmi les extracteurs discontinus par simple contact, on rencontre encore partout des percolateurs.

Percolateurs :

Les percolateurs sont des cuves tronconiques de capacité variable que l'on remplit avec des plantes broyées, on ajoute ensuite le solvant d'extraction choisi qui passe, on ajoute du solvant frais et ainsi de suite jusqu'à épuisement total de la plante. Le système a l'avantage d'être peu coûteux et très simple. Par contre, les temps d'une opération sont longs et les bilans faibles.

Le problème de trouver un appareil polyvalent, capable de traiter des quantités moyennes de plantes reste donc posé.

Une solution possible est de combiner différents procédés d'extraction, voire la macération, la percolation accélérée et la filtration. Dans ce but, nous avons essayé d'utiliser un filtre à bande.

Dans ce procédé, la poudre à extraire est mise en contact avec le solvant, sous agitation. Après le temps nécessaire, le mélange poudre + solvant est envoyé à l'aide d'une pompe de circulation sur une bande filtrante en mouvement continu.

Sous cette bande sont placées des cellules sous vide. La plante est ainsi essorée. On peut réaliser un contre-courant par pompage du solvant frais et obtenir des collatures de plus en plus chargées au fur et à mesure que passent des matières premières de moins en moins épuisées.

Selon cette conception, sont réunis la macération et la percolation par lavages successifs. Théoriquement, l'extraction s'effectue de façon méthodique, mais en pratique des difficultés surgissent. On ne peut pas pousser l'essorage à fond au fait que la couche de plante se fissure et donne lieu à des passages préférentiels.

De même, dans le cas de l'extraction aqueuse, un colmatage de la toile diminue la vitesse de filtration. Un autre inconvénient est que, dans le cas des solvants non miscibles à l'eau, la récupération des solvants qui restent dans la plante est impossible.

Le prix de ce genre de filtre est important et l'encombrement grand.

Le filtre peut être remplacé par une décanteuse en continu,

Conçue spécialement pour la séparation des quantités importantes de sédiment lourd. Le mélange est introduit dans le distributeur où il est mis en rotation et poussé entre vis et bol par effet centrifuge. Les particules solides décantent dans la partie cylindrique du bol. Le liquide progresse dans le même sens que le sédiment. Si la mise en agitation de la plante avec le solvant ne pose pas de problème particulier, par contre le choix du filtre est très important.

La construction du filtre est ingénieuse. La surface filtrante peut être augmentée ou diminuée à volonté. Les plateaux, munis des toiles en acier inoxydable

sont solidaires d'un axe central. La filtration s'effectue sous pression et les détails sont importants. Le filtre est muni d'une double enveloppe qui permet de travailler à chaud ou de récupérer les solvants en fin d'opération. Une fois la filtration terminée, on a la possibilité de faire des lavages successifs jusqu'à épuisement total de la plante. De même, dans ce système, si la filtration est difficile, on peut garnir les plateaux d'une précouche d'adjuvant de filtration, genre Kieselgubr, qui augmente encore les surfaces de contact. L'opération terminée, on met en route un moteur qui fait tourner les plateaux à grande vitesse et le filtre est nettoyé de façon pratiquement instantanée. La force centrifuge développée projette la poudre sur les parois et la fait tomber par gravité dans la partie basse du filtre.

Les appareils décrits jusqu'ici sont des appareils qui fonctionnent en discontinu et, à part le Soxhlet par simple contact. Comme nous l'avons déjà dit, il est possible de réaliser un contre-courant à l'aide de plusieurs unités d'extraction. Une solution moins coûteuse est de relier un seul extracteur à plusieurs cuves de stockage et de faire des lavages successifs avec des collatures à différents degrés de concentration.

REGLES DE SECURITE D. TRAVAIL POUR OBTENIR DES PLANTES MEDICINALES

Lorsqu'on moult les plantes, on respecte les instructions pour moult des plantes.

Avant le commencement du broyage des plantes, il faut vérifier si le moulin est nettoyé et en bon état de fonctionnement (il doit être bien fixé sans fissure, chaque pièce à sa place). L'épuisement électrique du moulin ne doit pas présenter des défauts. Aussi, il faut vérifier si l'équipement électrique de la salle de travail est en bon état. Le moulin et tous les appareils électriques doivent être munis d'une prise de terre pour éviter tout danger d'électrocution. Périodiquement, l'équipement électrique doit être vérifié par un électricien.

Pendant le broyage :

L'opération doit porter un masque de toile couvrant la bouche et le nez pour être protégé contre la poussière des plantes qui se dégage. Pour une plus grande efficacité du masque, il faut le porter mouillé afin qu'il retienne une plus grande quantité de poussière. Pour la manipulation des plantes toxiques, il faut porter des gants. Pour la protection contre les bruits, le travailleur opérateur portera dans l'oreille des "antiphones" (en cuir ou en coton). L'apport des plantes dans la salle de broyage doit se faire conformément aux préparations pour éviter l'accumulation

d'une grande quantité de plantes qui incommoderait la circulation et qui diminuerait le volume d'air de la salle. L'alimentation en plantes du moulin se fera en petites quantités pour éviter l'obturation du moulin et la surcharge du moteur.

Il faut avoir un soin spécial pour le broyage des plantes ou des parties des plantes dures ou fibreuses (racines, écorces) . Les corps étrangers (pierre, terre, morceaux de métal, etc.) qui peuvent se trouver accidentellement seront éliminées avant l'introduction des plantes dans le moulin . Ne pas soumettre au broyage les plantes qui contiennent des corps étrangers ou d'autres sortes de plantes. En cas de pressage, il faut employer une pelle en bois spécialement conçue et que est livrées avec le moulin et accrochée obligatoirement au côté du moulin. La poudre est collectée dans des vases destinés à cet unique usage.

Pour éviter le dégagement des poussières des plantes broyées à la sortie du moulin entre celui-ci et le vase pour les plantes broyées, on fixe un tuyeau en toile comme une chaussette.

Le vase pour la poudre est prévu avec un filtre d'aération. Pendant le travail, sur le moulin sera placée une étiquette toujours à la même place avec le nom des plantes broyées. Le vase avec la poudre obtenue portera sur la face un porte-étiquette en métal dans lequel on introduira chaque fois l'étiquette adéquate comprenant, le nom des plantes broyées. La date et le nom de l'opérateur qui a broyé les plantes. Le vase pour la poudre doit être posé vide et le poids doit être mentionné sur le vase avec de la peinture. Le vase avec la poudre sera toujours à la même place pour éviter des confusions.

A la fin du broyage, le moulin et les vases seront nettoyés et la poussière qui s'est déposée sur les murs et par terre sera aspirée avec un aspirateur à poussière.

Dans la chambre où on manipule de l'alcool et dans la chambre où se fait la percolation la sédimentation, la filtration et l'emballage des teintures tout feu est interdit. L'emploi d'appareillages électriques sans protection antideflagrante est également interdit. La chambre où l'on prépare la teinture, la chambre de sédimentation et le dépôt de teinture sont fermées en dehors du programme de travail.

L'appareil est formé d'une cuve en acier inoxydable, munie d'une double enveloppe et d'une agitation. La poudre est placée dans l'appareil et on ajoute la quantité du solvant nécessaire pour une première extraction. On met en route l'agitation et la plante entre en contact intime avec le solvant. L'opération peut dérouler à chaud ou à froid, en introduisant , dans la double enveloppe , la vapeur, l'eau froide ou même un mélange réfrigérant. Une fois l'extraction terminée (le temps nécessaire varie habituellement entre 15 et 30 minutes), on arrête l'agitation et on laisse la plante décanter. On abaisse le filtre qui flotte à la surface de la collature. On soutire sous vide le surnageant . La plante essorée rest dans l'appareil et on ajoute une nouvelle quantité de solvant frais et ainsi de suite jusqu'à épuisement total. Pour récupérer le solvant qui reste dans la plante, on peut, ou bien chauffer par la double enveloppe, ou bien introduire un jet de vapeur directement dans la poudre et entraîner ainsi le solvant.

Cet appareil donne de très bons résultats. L'inconvénient essentiel est qu'il n'existe pas de possibilité d'augmenter le volume dans un même rapport que la surface de filtration.

EXTRACTEURS EN CONTINU :

Dés que les quantités de matières premières traitées dépassent un certain tonnage, les extracteurs en discontinu ne sont plus rentables, du fait que les opérations de chargement et de déchargement, ainsi que le nettoyage, entraînent les frais de main-d'oeuvre trop élevés et les temps morts d'utilisation sont trop grands.

A ce moment, il est obligatoirement d'employer des appareils en continu, avec une progression constante et ininterrompue de la matière première qui rencontre en sens inverse les solvants d'extraction.

Ces appareils peuvent être horizontaux, verticaux, circulaires, hélicoïdaux, etc... Ils ont été conçus pour la fabrication des sucres, des huiles alimentaires, pour l'extraction du café ou des jus de fruits. Il est assez rare d'employer ce genre d'appareil dans l'extraction des substances naturelles, du fait que, d'une part leur prix et leur encombrement sont très grands, alors que leur polyvalence est réduite et chaque appareil est employé à une extraction bien définie.

Je pense qu'il est quand même utile de passer rapidement en revue les différents types d'appareils actuellement employés.

L'extracteur est constitué d'une colonne cylindrique verticale munie de plateaux avec des fentes opposées. Un râcleur à mouvement circulaire balaie les plateaux et fait descendre la poudre d'un étage à l'autre. Le solvant réalise un circuit ascendant inverse.

L'extracteur est construit sur le même principe, est divisé en trois zones. Dans la zone inférieure, on envoie, par pompage du solvant frais. Dans la zone médiane, l'extraction est effectuée par du solvant qui provient de la zone inférieure et, dans la zone supérieure par du solvant qui provient de la zone médiane.

L'extracteur réalise un double circuit. Premièrement le produit à extraire, placé dans des godets perforés, entre en contact avec un solvant à demi saturé. Dans un deuxième parcours, le produit déjà traité vient en contact avec du solvant neuf.

Cet appareil, conçu pour l'extraction des huiles, est employé dans l'industrie pharmaceutique pour l'extraction de la quinine.

Circuits horizontaux : La poudre progresse sur un tapis roulant constitué par des cadres mobiles garnis de toile en acier inoxydable.

Le contre-courant est réalisé par pompage de solvant frais et des fractions de plus en plus chargées au fur et à mesure qu'ils rencontrent des produits de moins en moins épuisés.

Circuits circulaires : Le principe de ces extracteurs est le même que celui des extracteurs horizontaux. Les divers compartiments d'une roue tournent autour d'un axe central et viennent en contact avec du solvant frais ou avec du solvant déjà enrichi.

L'avantage de ce système par rapport aux autres extracteurs est surtout le faible encombrement de l'appareil.

Circuit hélicoïdaux : Dans ce système, la matière à traiter avance grâce à un mouvement imprimé par une vis d'Archimède trouée. Le solvant frais est envoyé par pompage en sens inverse.

Les appareils d'extraction solide-liquide qui ont été décrits ont été choisis pour donner une idée générale des différentes possibilités qui existent. En réalité, la gamme des extracteurs est plus large et le choix de l'appareil le plus adapté représente un problème délicat. Du choix fait à cette étape dépend, dans une large mesure, la rentabilité globale du processus.

EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE

Les collatures riches obtenues à la suite de l'extraction solide-liquide doivent être purifiées et concentrées. Cette opération peut être réalisée à l'aide d'un autre solvant, non miscible au premier, insoluble et de densité différente. Les principes dissous dans les collatures doivent avoir une solubilité relative plus grande dans le solvant choisi afin de pouvoir réaliser une extraction sélective.

L'extraction liquide-liquide est réalisée toujours en deux temps :

- a- Mise en contact intime des deux phases par agitation. C'est à ce stade que l'échange s'effectue ;
- b- Décantation et séparation par différence de densité.

En pratique, l'extraction liquide-liquide a lieu en plusieurs équipements successifs en employant des solvants de polarité, ou ce qui est encore plus courant, en faisant des équipements alternés dans des phases lipophiles ou hydrophiles, après modification de pH. Un exemple typique est l'extraction des alcaloïdes où on obtient, dans un milieu alcalin, les alcaloïdes-bases, souvent insolubles dans l'eau, dans un milieu acide des alcaloïdes salifiés le plus souvent entièrement solubles dans l'eau.

Le problème, tel qu'il a été présenté, est simplifié au maximum. En pratique, dans la plupart des cas, les deux phases sont légèrement solubles l'une dans l'autre. Souvent, des émulsions se forment aux interphases qui gênent la séparation. Des phénomènes de tensions interfaciales ont lieu et les problèmes techniques qui se posent sont difficiles à résoudre.

Comme dans le cas de l'extraction solide-liquide, plusieurs solutions d'épuisement sont possibles :

- a- par simple contact ;
- b- par contact multiple ;
- c- par contre-courant

a/- L'épuisement par simple contact est le cas le plus simple. L'exemple typique est l'opération effectuée au laboratoire dans une ampoule à décanter. Les deux phases à extraire sont placées dans une ampoule, agitées, et laissées en repos pour décanter. On soutire une des phases et on recommence l'opération. Si ce système est employé partout à l'échelle de laboratoire, il a l'inconvénient de ne tenir compte ni des temps nécessaires ni des volumes de solvants utilisés.

Même au laboratoire, on emploie actuellement plusieurs ampoules à décanter et on réalise un épuisement en cascade. Quand il s'agit d'utiliser des quantités plus importantes, l'agitation des deux phases et la séparation ne peuvent plus être réalisées dans une ampoule à décanter. Pour résoudre ce problème, on a mis au point des appareils qui, tout en utilisant le principe du simple contact, peuvent travailler en continu.

L'extraction en continue peut être réalisée à l'aide des supercentrifugeuses.

SEPARATEUR CENTRIFUGE

Le principe de ces machines est d'utiliser la force centrifuge, d'abord pour mélanger les deux phases à extraire, ensuite pour les séparer. Le procédé peut être réalisé à l'aide de deux machines, une munie d'un bol émulsionneur, l'autre d'un bol séparateur. Les deux phases sont envoyées dans la première machine où elles se mélangent. L'émulsion formée est envoyée, ensuite, dans un deuxième appareil, muni d'un bol séparateur, où l'on sépare de nouveau les deux phases, l'une enrichie, l'autre épuisée. Les supercentrifugeuses fonctionnent uniquement par la force centrifuge développée. La vitesse de rotation du bol est très grande (elle va jusqu'à 50.000 rot./min.). Les deux phases se séparent par différence de densité.

L'inconvénient de cet appareil est que les deux phases sortent librement dans l'atmosphère et, dans le cas des solvants, il se produit une forte perte de solvants.

Le même principe est utilisé par d'autres appareils comme, par exemple, le séparateur suivant.

La vitesse de rotation de ces appareils est plus faible, mais la séparation est plus facilitée par une construction différente. Le bol séparateur contient une pile d'assiettes traversées par des canaux extérieurs, médians ou intérieurs, en fonction de la différence de densité entre les deux phases. La plage de séparation peut être déplacée vers les canaux, en réglant la pression de sortie des deux liquides. Comme dans le cas des supercentrifugeuses, dans le principe de l'épuisement à simple contact, on travaille habituellement avec deux machines, l'une équipée d'un bol mélangeur, où les deux phases sont mises en contact intime, l'autre avec un bol séparateur.

L'avantage de ce système est que la sortie des liquides se fait sous pression ce qui dans presque tous les cas, évite les mousses, les émulsions sont cassées au niveau des assiettes et l'on peut séparer de grands volumes de solvants.

EPUISEMENTS A CONTACTS MULTIPLES

b/- Epuisement à contacts multiples :

Les appareils qui utilisent ce principe sont construits de la même manière que les appareils Soxhlet. Dans une colonne est placée une des phases qui est traversée en continu par l'autre phase, laquelle s'enrichit progressivement. Le solvant arrive dans un récipient chauffé où il distille. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et le solvant propre passe de nouveau à travers la phase à épuiser.

Le processus a lieu en discontinu. Le désavantage de ce système est que les principes extraits sont en contact permanent avec une source de chaleur.

L'épuisement par contacts multiples peut être réalisé aussi avec plusieurs unités de mélangeurs séparateurs à simple contact montés en série.

c/- Epuisement par contre-courant :

L'extraction liquide-liquide par contre-courant s'effectue actuellement de façon presque générale par des extracteurs centrifuges. La découverte des antibiotiques et leur production industrielle a eu comme suite la nécessité de trouver un extracteur liquide-liquide capable de traiter de façon méthodique et efficace de très grandes quantités de solvants. Un tel extracteur a été réalisé.

Dans ce dispositif, les contre-courants sont réalisés dans un circuit hélicoïdal au sein d'une centrifugeuse tournant à environ 2.000 rot./min. Dans une seule opération, on réalise un mélange intime des deux phases, un épuisement par contre-courant, une séparation de deux phases. Les deux phases sont introduites sous pression des conduits parallèles. La phase légère entre dans l'appareil à la périphérie du rotor, tandis que la phase lourde est admise dans la région axiale. Les deux phases entrent en contact intime au long d'un circuit en spirale et sont séparées ensuite. Les débits sont réglés par des rotamètres. Ce type d'appareil réalise un épuisement en 6-8 étages théoriques, ce qui suffit, de façon habituelle, à un épuisement total.

Il est possible de réaliser les mêmes performances en mettant en série plusieurs séparateurs à simple contact et en introduisant les deux phases à contre-courant. Dans ce cas, au niveau de chaque appareil, un dispositif de remélange est monté.

Si les extracteurs qui fonctionnent par force centrifuge sont maintenant très employés dans l'industrie, d'autres systèmes restent valables ou bien représentent l'avenir.

Il faut dire quelques mots au sujet de l'extracteur vertical à contre-courant.

Le fonctionnement de cet appareil est le suivant : le mélange à fractionner est admis au milieu d'une colonne et entre en circuit au sein d'un contre-courant déjà établi par l'introduction par le bas du solvant léger et par le haut du

solvant lourd. La colonne est traversée par un axe central qui tourne à l'aide d'un moteur à une vitesse donnée. Le mélange se fait à l'aide de palettes fixées sur l'axe, dans des chambres de broissage et la décantation à travers des sections garnies de matériaux poreux.

Les rendements de ce système peuvent être augmentés par l'emploi de colonnes pulsées. Dans ce cas, les deux phases sont envoyées en contre-courant par des pompes doseuses à pulsations et sont obligées d'entrer en contact intime en passant par des plateaux perforés. Le débits des pompes peut être réglé à volonté, ce qui augmente les rendements de l'appareil.

L'extraction à contre-courant en continu peut être réalisée aussi dans des colonnes horizontales.

Les deux phases sont envoyées en sens inverse par des pompes doseuses, dans des chambres de mélanges où a lieu le transfert. Le mélange passe ensuite par une plaque perforée dont le rôle est de casser les émulsions. Les deux solvants décantent ensuite dans des tubes par gravité.

Dans ce système, on peut varier le débit des liquides à l'aide de pompes doseuses, la vitesse d'agitation, le nombre des colonnes.

L'un des derniers procédés d'extraction liquide-liquide en continue, mis au point, est une colonne pulsée à disques rotatifs excentrés. Ce procédé est employé pour l'extraction industrielle du caprolactame. L'efficacité de cette colonne est grande et les rendements très élevés. Des recherches sont en cours dans le but de rendre ce système polyvalent.

Je voudrais dire encore quelques mots au sujet des différents types d'évaporateurs employés dans l'industrie.

A part les évaporateurs classiques, qui sont décrits et employés partout, dans l'industrie de l'extraction des substances naturelles, où on rencontre souvent des produits thermolabiles, on utilise des évaporateurs en continu sous vide, à grands débits et à faible contact avec la source de chaleur. Un tel appareil est l'évaporateur LUWA.

Dans cet appareil, le produit est repris par un agitateur central, projeté sur une paroi chaude et évaporé de façon presque instantanée. Le concentrat est recueilli en bas de l'évaporateur, tandis que les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant.

Le même effet est obtenu avec l'évaporateur centritherme de ALFA LAVAL.

Dans ces appareils, on réalise une concentration poussée, mais l'opération doit être arrêtée dès que le produit atteint une certaine viscosité.

Un autre type d'évaporateur est l'évaporateur rotatif. Cet appareil est la transposition fidèle de l'appareil de laboratoire, mais la capacité du ballon peut être de 20, 50 et même 100 litres. Ce système est, d'habitude employé en fin d'opération pour amener les extraits à sec.

Un troisième système est l'évaporateur sous vide qui fonctionne par thermosiphon.

EVAPORATEUR PAR THERMOSIPHON

Dans ce procédé, le liquide à évaporer vient en contact avec un bouilleur latéral chauffé à la vapeur ou par des résistances électriques. Au point d'ébullition, un circuit fermé se forme, les vapeurs passent dans un réfrigérant où elles sont condensées.

Les techniques de purification des extraits obtenus sont les techniques classiques de chromatographie sur colonne, de cristallisation, etc...

Le principe des appareils employés est d'habitude le même qu'au stade du laboratoire, à une échelle plus grande, et peut être dans ce domaine des études sont à faire, justement pour essayer de trouver des méthodes plus économiques, spécifiques à l'industrie.

