

ANNEE: 2011

THESE N°: 51

**RUBIA TINCTORUM L., (EL FOUA), PLANTE MÉDICINALE  
POTENTIELLEMENT DANGEREUSE : MISE À JOUR BIBLIOGRAPHIQUE  
ET ANALYSE PHYTOCHIMIQUE D'ÉCHANTILLONS MAROCAINS.**

THESE

*Présentée et soutenue publiquement le 27 Avril 2011*

PAR

*Mlle. ODOUNGA Karen Flora*

*Née le 10 Décembre 1984 à Moanda (Gabon)*

*De L'Ecole Royale du Service de Santé Militaire - Rabat*

Pour l'Obtention du Doctorat en  
Pharmacie

**MOTS CLES:** Rubia tinctorum L. – Anthraquinones – Cancérogènes – Lucidine – Rubiadine.

**JURY**

**Mr. A. ETTAIB**

Professeur de Physiologie

**PRESIDENT**

**Mr. D. TOUATI**

Professeur de Pharmacognosie

**DIRECTEUR DE THESE**

**Mme. C. BENABDELLAH**

Professeur d'Hématologie

**JUGES**

**Mr. H. ER RIHANI**

Professeur d'Oncologie



**UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI**  
**FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

*UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI*

*FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT*

**DOYENS HONORAIRES :**

- 1962 - 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ  
1969 - 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH  
1974 - 1981 : Professeur Bachir LAZRAK  
1981 - 1989 : Professeur Taieb CHKILI  
1989 - 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI  
1997 - 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

- Doyen : Professeur Najia HAJJAJ  
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines  
Professeur Mohammed JIDDANE  
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération  
Professeur Ali BENOMAR  
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie  
Professeur Yahia CHERRAH  
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

**PROFESSEURS :**

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie  
4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid Cardiologie  
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie  
7. Pr. HAMANI Ahmed\* Cardiologie  
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire  
9. Pr. SBIHI Ahmed Anesthésie - Réanimation

10. Pr. TAOBANE Hamid\*

Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

11. Pr. ABROUQ Ali\*

Oto-Rhino-Laryngologie

12. Pr. BENOMAR M'hammed

Chirurgie-Cardio-Vasculaire

13. Pr. BENSOUDA Mohamed

Anatomie

14. Pr. BENOSMAN Abdellatif

Chirurgie Thoracique

15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Physiologie

Novembre 1983

16. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir\*

Pneumo-phtisiologie

17. Pr. BALAFREJ Amina

Pédiatrie

18. Pr. BELLAKHDAR Fouad

Neurochirurgie

19. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia

Rhumatologie

20. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Cardiologie

Décembre 1984

21. Pr. BOUCETTA Mohamed\*

Neurochirurgie

22. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil

Radiothérapie

23. Pr. MAAOUNI Abdelaziz

Médecine Interne

24. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi

Anesthésie -Réanimation

25. Pr. NAJI M'Barek \*

Immuno-Hématologie

26. Pr. SETTAF Abdellatif

Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

27. Pr. BENJELLOUN Halima

Cardiologie

28. Pr. BENSALD Younes

Pathologie Chirurgicale

29. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa

Neurologie

30. Pr. IHRAI Hssain \*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale

31. Pr. IRAQI Ghali

Pneumo-phtisiologie

32. Pr. KZADRI Mohamed

Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

33. Pr. AJANA Ali

Radiologie

34. Pr. AMMAR Fanid

Pathologie Chirurgicale

35. Pr. CHAHED OUAZZANI Houria ép.TAOBANE

Gastro-Entérologie

36. Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq

Pneumo-phtisiologie

37. Pr. EL HAITEM Naïma

Cardiologie

38. Pr. EL MANSOURI Abdellah\*

Chimie-Toxicologie Expertise

39. Pr. EL YAACOUBI Moradh

Traumatologie Orthopédie

40. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah

Gastro-Entérologie

41. Pr. LACHKAR Hassan

Médecine Interne

42. Pr. OHAYON Victor\*

Médecine Interne

43. Pr. YAHYAOUI Mohamed

Neurologie

Décembre 1988

44.	Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib	Chirurgie Pédiatrique
45.	Pr. DAFIRI Rachida	Radiologie
46.	Pr. FAIK Mohamed	Urologie
47.	Pr. HERMAS Mohamed	Traumatologie Orthopédie
48.	Pr. TOLOUNE Farida*	Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

49.	Pr. ADNAOUI Mohamed	Médecine Interne
50.	Pr. AOUNI Mohamed	Médecine Interne
51.	Pr. BENAMEUR Mohamed*	Radiologie
52.	Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali	Cardiologie
53.	Pr. CHAD Bouziane	Pathologie Chirurgicale
54.	Pr. CHKOFF Rachid	Pathologie Chirurgicale
55.	Pr. FARCHADO Fouzia ép. BENABDELLAH	Pédiatrique
56.	Pr. HACHIM Mohammed*	Médecine-Interne
57.	Pr. HACHIMI Mohamed	Urologie
58.	Pr. KHARBACH Aïcha	Gynécologie -Obstétrique
59.	Pr. MANSOURI Fatima	Anatomie-Pathologique
60.	Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda	Neurologie
61.	Pr. SEDRATI Omar*	Dermatologie
62.	Pr. TAZI Saoud Anas	Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

63.	Pr. AL HAMANY Zaïtounia	Anatomie-Pathologique
64.	Pr. ATMANI Mohamed*	Anesthésie Réanimation
65.	Pr. AZZOUZI Abderrahim	Anesthésie Réanimation
66.	Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM	Néphrologie
67.	Pr. BELKOUCHI Abdelkader	Chirurgie Générale
68.	Pr. BENABDELLAH Chahrazad	Hématologie
69.	Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif	Chirurgie Générale
70.	Pr. BENSOUDA Yahia	Pharmacie galénique
71.	Pr. BERRAHO Amina	Ophthalmologie
72.	Pr. BEZZAD Rachid	Gynécologie Obstétrique
73.	Pr. CHABRAOUI Layachi	Biochimie et Chimie
74.	Pr. CHANA El Houssaine*	Ophthalmologie
75.	Pr. CHERRAH Yahia	Pharmacologie
76.	Pr. CHOKAIRI Omar	Histologie Embryologie
77.	Pr. FAJRI Ahmed*	Psychiatrie
78.	Pr. JANATI Idrissi Mohamed*	Chirurgie Générale
79.	Pr. KHATTAB Mohamed	Pédiatrie
80.	Pr. NEJMI Maati	Anesthésie-Réanimation
81.	Pr. OUAALINE Mohammed*	Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
82.	Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH	Pharmacologie

83. Pr. TAOUFIK Jamal

Chimie thérapeutique

Décembre 1992

- 84. Pr. AHALLAT Mohamed
- 85. Pr. BENOUDA Amina
- 86. Pr. BENSOUA Adil
- 87. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
- 88. Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
- 89. Pr. CHRAIBI Chafiq
- 90. Pr. DAOUDI Rajae
- 91. Pr. DEHAYNI Mohamed\*
- 92. Pr. EL HADDOURY Mohamed
- 93. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
- 94. Pr. FELLAT Rokaya
- 95. Pr. GHAFIR Driss\*
- 96. Pr. JIDDANE Mohamed
- 97. Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
- 98. Pr. TAGHY Ahmed
- 99. Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale  
Microbiologie  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Gynécologie Obstétrique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Anesthésie Réanimation  
Neurochirurgie  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Anatomie  
Gynécologie Obstétrique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie

Mars 1994

- 100. Pr. AGNAOU Lahcen
- 101. Pr. AL BAROUDI Saad
- 102. Pr. BENCHERIFA Fatiha
- 103. Pr. BENJAAFAR Nouredine
- 104. Pr. BENJELLOUN Samir
- 105. Pr. BEN RAIS Nozha
- 106. Pr. CAOUI Malika
- 107. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
- 108. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT
- 109. Pr. EL AOUAD Rajae
- 110. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
- 111. Pr. EL HASSANI My Rachid
- 112. Pr. EL IDRISI LAMGHARI Abdennaceur
- 113. Pr. EL KIRAT Abdelmajid\*
- 114. Pr. ERROUGANI Abdelkader
- 115. Pr. ESSAKALI Malika
- 116. Pr. ETTAYEBI Fouad
- 117. Pr. HADRI Larbi\*
- 118. Pr. HASSAM Badredine
- 119. Pr. IFRINE Lahssan
- 120. Pr. JELTHI Ahmed
- 121. Pr. MAHFOUD Mustapha
- 122. Pr. MOUDENE Ahmed\*
- 123. Pr. OULBACHA Said
- 124. Pr. RHRAB Brahim

Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Ophtalmologie  
Radiothérapie  
Chirurgie Générale  
Biophysique  
Biophysique  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Gynécologie Obstétrique  
Immunologie  
Traumato-Orthopédie  
Radiologie  
Médecine Interne  
Chirurgie Cardio- Vasculaire  
Chirurgie Générale  
Immunologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Médecine Interne  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Anatomie Pathologique  
Traumatologie - Orthopédie  
Traumatologie- Orthopédie  
Chirurgie Générale  
Gynécologie -Obstétrique

125. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR Dermatologie  
 126. Pr. SLAOUI Anas Chirurgie Cardio-Vasculaire

Mars 1994

127. Pr. ABBAR Mohamed\* Urologie  
 128. Pr. ABDELHAK M'barek Chirurgie - Pédiatrique  
 129. Pr. BELAIDI Halima Neurologie  
 130. Pr. BRAHMI Rida Slimane Gynécologie Obstétrique  
 131. Pr. BENTAHILA Abdelali Pédiatrie  
 132. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali Gynécologie - Obstétrique  
 133. Pr. BERRADA Mohamed Saleh Traumatologie - Orthopédie  
 134. Pr. CHAMI Ilham Radiologie  
 135. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae Ophtalmologie  
 136. Pr. EL ABBADI Najia Neurochirurgie  
 137. Pr. HANINE Ahmed\* Radiologie  
 138. Pr. JALIL Abdelouahed Chirurgie Générale  
 139. Pr. LAKHDAR Amina Gynécologie Obstétrique  
 140. Pr. MOUANE Nezha Pédiatrie

Mars 1995

141. Pr. ABOUQUAL Redouane Réanimation Médicale  
 142. Pr. AMRAOUI Mohamed Chirurgie Générale  
 143. Pr. BAIDADA Abdelaziz Gynécologie Obstétrique  
 144. Pr. BARGACH Samir Gynécologie Obstétrique  
 145. Pr. BEDDOUCHE Amokrane\* Urologie  
 146. Pr. BENAZZOUZ Mustapha Gastro-Entérologie  
 147. Pr. CHAARI Jilali\* Médecine Interne  
 148. Pr. DIMOU M'barek\* Anesthésie Réanimation  
 149. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine\* Anesthésie Réanimation  
 150. Pr. EL MESNAOUI Abbes Chirurgie Générale  
 151. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila Oto-Rhino-Laryngologie  
 152. Pr. FERHATI Driss Gynécologie Obstétrique  
 153. Pr. HASSOUNI Fadil Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène  
 154. Pr. HDA Abdelhamid\* Cardiologie  
 155. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed Urologie  
 156. Pr. IBRAHIMY Wafaa Ophtalmologie  
 157. Pr. MANSOURI Aziz Radiothérapie  
 158. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia Ophtalmologie  
 159. Pr. RZIN Abdelkader\* Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
 160. Pr. SEFIANI Abdelaziz Génétique  
 161. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali Réanimation Médicale

Décembre 1996

162. Pr. AMIL Touriya\* Radiologie  
 163. Pr. BELKACEM Rachid Chirurgie Pédiatrie  
 164. Pr. BELMAHI Amin Chirurgie réparatrice et plastique  
 165. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim Ophtalmologie

166. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan	Chirurgie Générale
167. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*	Parasitologie
168. Pr. GAOUZI Ahmed	Pédiatrie
169. Pr. MAHFOUDI M'barek*	Radiologie
170. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid	Chirurgie Générale
171. Pr. MOHAMMADI Mohamed	Médecine Interne
172. Pr. MOULINE Soumaya	Pneumo-phtisiologie
173. Pr. OUADGHIRI Mohamed	Traumatologie-Orthopédie
174. Pr. OUZEDDOUN Naima	Néphrologie
175. Pr. ZBIR EL Mehdi*	Cardiologie

#### Novembre 1997

176. Pr. ALAMI Mohamed Hassan	Gynécologie-Obstétrique
177. Pr. BEN AMAR Abdesselem	Chirurgie Générale
178. Pr. BEN SLIMANE Lounis	Urologie
179. Pr. BIROUK Nazha	Neurologie
180. Pr. BOULAICH Mohamed	O.RL.
181. Pr. CHAOUIR Souad*	Radiologie
182. Pr. DERRAZ Said	Neurochirurgie
183. Pr. ERREIMI Naima	Pédiatrie
184. Pr. FELLAT Nadia	Cardiologie
185. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra	Radiologie
186. Pr. HAIMEUR Charki*	Anesthésie Réanimation
187. Pr. KANOUNI NAWAL	Physiologie
188. Pr. KOUTANI Abdellatif	Urologie
189. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid	Chirurgie Générale
190. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ	Pédiatrie
191. Pr. NAZI M'barek*	Cardiologie
192. Pr. OUAHABI Hamid*	Neurologie
193. Pr. SAFI Lahcen*	Anesthésie Réanimation
194. Pr. TAOUFIQ Jallal	Psychiatrie
195. Pr. YOUSFI MALKI Mounia	Gynécologie Obstétrique

#### Novembre 1998

196. Pr. AFIFI RAJAA	Gastro-Entérologie
197. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*	Pneumo-phtisiologie
198. Pr. ALOUANE Mohammed*	Oto-Rhino-Laryngologie
199. Pr. BENOMAR ALI	Neurologie
200. Pr. BOUGTAB Abdesslam	Chirurgie Générale
201. Pr. ER RIHANI Hassan	Oncologie Médicale
202. Pr. EZZAITOUNI Fatima	Néphrologie
203. Pr. KABBAJ Najat	Radiologie
204. Pr. LAZRAK Khalid ( M)	Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

205. Pr. BENKIRANE Majid\* Hématologie  
206. Pr. KHATOURI ALI\* Cardiologie  
207. Pr. LABRAIMI Ahmed\* Anatomie Pathologique

Janvier 2000

208. Pr. ABID Ahmed\* Pneumophtisiologie  
209. Pr. AIT OUMAR Hassan Pédiatrie  
210. Pr. BENCHERIF My Zahid Ophtalmologie  
211. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd Pédiatrie  
212. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine Pneumo-phtisiologie  
213. Pr. CHAOUI Zineb Ophtalmologie  
214. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer Chirurgie Générale  
215. Pr. ECHARRAB El Mahjoub Chirurgie Générale  
216. Pr. EL FTOUH Mustapha Pneumo-phtisiologie  
217. Pr. EL MOSTARCHID Brahim\* Neurochirurgie  
218. Pr. EL OTMANYAzzedine Chirurgie Générale  
219. Pr. GHANNAM Rachid Cardiologie  
220. Pr. HAMMANI Lahcen Radiologie  
221. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim Anesthésie-Réanimation  
222. Pr. ISMAILI Hassane\* Traumatologie Orthopédie  
223. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss Gastro-Entérologie  
224. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim\* Anesthésie-Réanimation  
225. Pr. TACHINANTE Rajae Anesthésie-Réanimation  
226. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida Médecine Interne

Novembre 2000

227. Pr. AIDI Saadia Neurologie  
228. Pr. AIT OURHROUI Mohamed Dermatologie  
229. Pr. AJANA Fatima Zohra Gastro-Entérologie  
230. Pr. BENAMR Said Chirurgie Générale  
231. Pr. BENCHEKROUN Nabihia Ophtalmologie  
232. Pr. CHERTI Mohammed Cardiologie  
233. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma Anesthésie-Réanimation  
234. Pr. EL HASSANI Amine Pédiatrie  
235. Pr. EL IDGHIRI Hassan Oto-Rhino-Laryngologie  
236. Pr. EL KHADER Khalid Urologie  
237. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah\* Rhumatologie  
238. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
239. Pr. HSSAIDA Rachid\* Anesthésie-Réanimation  
240. Pr. LACHKAR Azzouz Urologie  
241. Pr. LAHLOU Abdou Traumatologie Orthopédie  
242. Pr. MAFTAH Mohamed\* Neurochirurgie  
243. Pr. MAHASSINI Najat Anatomie Pathologique  
244. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae Pédiatrie  
245. Pr. NASSIH Mohamed\* Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale

246. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Neurologie

Décembre 2001

247. Pr. ABABOU Adil	Anesthésie-Réanimation
248. Pr. AOUAD Aicha	Cardiologie
249. Pr. BALKHI Hicham*	Anesthésie-Réanimation
250. Pr. BELMEKKI Mohammed	Ophtalmologie
251. Pr. BENABDELJLIL Maria	Neurologie
252. Pr. BENAMAR Loubna	Néphrologie
253. Pr. BENAMOR Jouda	Pneumo-phtisiologie
254. Pr. BENELBARHDADI Imane	Gastro-Entérologie
255. Pr. BENNANI Rajae	Cardiologie
256. Pr. BENOUCHEANE Thami	Pédiatrie
257. Pr. BENYOUSSEF Khalil	Dermatologie
258. Pr. BERRADA Rachid	Gynécologie Obstétrique
259. Pr. BEZZA Ahmed*	Rhumatologie
260. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi	Anatomie
261. Pr. BOUHOUCHE Rachida	Cardiologie
262. Pr. BOUMDIN El Hassane*	Radiologie
263. Pr. CHAT Latifa	Radiologie
264. Pr. CHELLAOUI Mounia	Radiologie
265. Pr. DAALI Mustapha*	Chirurgie Générale
266. Pr. DRISSI Sidi Mourad*	Radiologie
267. Pr. EL HAJJOUI Ghziel Samira	Gynécologie Obstétrique
268. Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
269. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie
270. Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
271. Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophtalmologie
272. Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale
273. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil	Radiologie
274. Pr. ETTAIR Said	Pédiatrie
275. Pr. GAZZAZ Miloudi*	Neuro-Chirurgie
276. Pr. GOURINDA Hassan	Chirurgie-Pédiatrique
277. Pr. HRORA Abdelmalek	Chirurgie Générale
278. Pr. KABBAJ Saad	Anesthésie-Réanimation
279. Pr. KABIRI El Hassane*	Chirurgie Thoracique
280. Pr. LAMRANI Moulay Omar	Traumatologie Orthopédie
281. Pr. LEKEHAL Brahim	Chirurgie Vasculaire Périphérique
282. Pr. MAHASSIN Fattouma*	Médecine Interne
283. Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
284. Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
285. Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
286. Pr. NABIL Samira	Gynécologie Obstétrique
287. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
288. Pr. OUALIM Zouhir*	Néphrologie
289. Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale

- |                                     |                                   |
|-------------------------------------|-----------------------------------|
| 290. Pr. SEFIANI Yasser             | Chirurgie Vasculaire Périphérique |
| 291. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia | Pédiatrie                         |
| 292. Pr. TAZI MOUKHA Karim          | Urologie                          |

Décembre 2002

- |   |   |
|---|---|
| 293. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*         | Anatomie Pathologique                   |
| 294. Pr. AMEUR Ahmed *                    | Urologie                                |
| 295. Pr. AMRI Rachida                     | Cardiologie                             |
| 296. Pr. AOURARH Aziz*                    | Gastro-Entérologie                      |
| 297. Pr. BAMOU Youssef *                  | Biochimie-Chimie                        |
| 298. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*             | Endocrinologie et Maladies Métaboliques |
| 299. Pr. BENBOUAZZA Karima                | Rhumatologie                            |
| 300. Pr. BENZEKRI Laila                   | Dermatologie                            |
| 301. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*               | Gastro-Entérologie                      |
| 302. Pr. BERNOUSSI Zakiya                 | Anatomie Pathologique                   |
| 303. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya          | Psychiatrie                             |
| 304. Pr. CHOHO Abdelkrim *                | Chirurgie Générale                      |
| 305. Pr. CHKIRATE Bouchra                 | Pédiatrie                               |
| 306. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair | Chirurgie Pédiatrique                   |
| 307. Pr. EL ALJ Haj Ahmed                 | Urologie                                |
| 308. Pr. EL BARNOUSSI Leila               | Gynécologie Obstétrique                 |
| 309. Pr. EL HAOURI Mohamed *              | Dermatologie                            |
| 310. Pr. EL MANSARI Omar*                 | Chirurgie Générale                      |
| 311. Pr. ES-SADEL Abdelhamid              | Chirurgie Générale                      |
| 312. Pr. FILALI ADIB Abdelhai             | Gynécologie Obstétrique                 |
| 313. Pr. HADDOUR Leila                    | Cardiologie                             |
| 314. Pr. HAJJI Zakia                      | Ophtalmologie                           |
| 315. Pr. IKEN Ali                         | Urologie                                |
| 316. Pr. ISMAEL Farid                     | Traumatologie Orthopédie                |
| 317. Pr. JAAFAR Abdeloihab*               | Traumatologie Orthopédie                |
| 318. Pr. KRIOULE Yamina                   | Pédiatrie                               |
| 319. Pr. LAGHMARI Mina                    | Ophtalmologie                           |
| 320. Pr. MABROUK Hfid*                    | Traumatologie Orthopédie                |
| 321. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*          | Gynécologie Obstétrique                 |
| 322. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*          | Cardiologie                             |
| 323. Pr. MOUSTAINE My Rachid              | Traumatologie Orthopédie                |
| 324. Pr. NAITLHO Abdelhamid*              | Médecine Interne                        |
| 325. Pr. OUJILAL Abdelilah                | Oto-Rhino-Laryngologie                  |
| 326. Pr. RACHID Khalid *                  | Traumatologie Orthopédie                |
| 327. Pr. RAISS Mohamed                    | Chirurgie Générale                      |
| 328. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*    | Pneumophtisiologie                      |
| 329. Pr. RHOU Hakima                      | Néphrologie                             |
| 330. Pr. SIAH Samir *                     | Anesthésie Réanimation                  |
| 331. Pr. THIMOU Amal                      | Pédiatrie                               |
| 332. Pr. ZENTAR Aziz*                     | Chirurgie Générale                      |
| 333. Pr. ZRARA Ibtisam*                   | Anatomie Pathologique                   |

## PROFESSEURS AGREGES :

### Janvier 2004

334. Pr. ABDELLAH El Hassan	Ophthalmologie
335. Pr. AMRANI Mariam	Anatomie Pathologique
336. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas	Oto-Rhino-Laryngologie
337. Pr. BENKIRANE Ahmed*	Gastro-Entérologie
338. Pr. BENRAMDANE Larbi*	Chimie Analytique
339. Pr. BOUGHALEM Mohamed*	Anesthésie Réanimation
340. Pr. BOULAADAS Malik	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
341. Pr. BOURAZZA Ahmed*	Neurologie
342. Pr. CHAGAR Belkacem*	Traumatologie Orthopédie
343. Pr. CHERRADI Nadia	Anatomie Pathologique
344. Pr. EL FENNI Jamal*	Radiologie
345. Pr. EL HANCHI ZAKI	Gynécologie Obstétrique
346. Pr. EL KHORASSANI Mohamed	Pédiatrie
347. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*	Cardiologie
348. Pr. HACHI Hafid	Chirurgie Générale
349. Pr. JABOUIRIK Fatima	Pédiatrie
350. Pr. KARMANE Abdelouahed	Ophthalmologie
351. Pr. KHABOUZE Samira	Gynécologie Obstétrique
352. Pr. KHARMAZ Mohamed	Traumatologie Orthopédie
353. Pr. LEZREK Mohammed*	Urologie
354. Pr. MOUGHIL Said	Chirurgie Cardio-Vasculaire
355. Pr. NAOUMI Asmae*	Ophthalmologie
356. Pr. SAADI Nozha	Gynécologie Obstétrique
357. Pr. SASSENOU ISMAIL*	Gastro-Entérologie
358. Pr. TARIB Abdelilah*	Pharmacie Clinique
359. Pr. TIJAMI Fouad	Chirurgie Générale
360. Pr. ZARZUR Jamila	Cardiologie

### Janvier 2005

361. Pr. ABBASSI Abdellah	Chirurgie Réparatrice et Plastique
362. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*	Chirurgie Générale
363. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid	Microbiologie
364. Pr. ALLALI Fadoua	Rhumatologie
365. Pr. AMAR Yamama	Néphrologie
366. Pr. AMAZOUZI Abdellah	Ophthalmologie
367. Pr. AZIZ Nouredine*	Radiologie
368. Pr. BAHIRI Rachid	Rhumatologie
369. Pr. BARKAT Amina	Pédiatrie
370. Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
371. Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophthalmologie
372. Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie
373. Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophthalmologie
374. Pr. BOUKLATA Salwa	Radiologie

375. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
376. Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique
377. Pr. EL HAMZAoui Sakina	Microbiologie
378. Pr. HAJJI Leila	Cardiologie
379. Pr. HESSISSEN Leila	Pédiatrie
380. Pr. JIDAL Mohamed*	Radiologie
381. Pr. KARIM Abdelouahed	Ophtalmologie
382. Pr. KENDOSSI Mohamed*	Cardiologie
383. Pr. LAAROUSSI Mohamed	Chirurgie Cardio-vasculaire
384. Pr. LYAGOUBI Mohammed	Parasitologie
385. Pr. NIAMANE Radouane*	Rhumatologie
386. Pr. RAGALA Abdelhak	Gynécologie Obstétrique
387. Pr. SBIHI Souad	Histo-Embryologie Cytogénétique
388. Pr. TNACHERI OUZZANI Btissam	Ophtalmologie
389. Pr. ZERAIDI Najia	Gynécologie Obstétrique

#### AVRIL 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*	Rhumatologie
424. Pr. AFIFI Yasser	Dermatologie
425. Pr. AKJOUJ Said*	Radiologie
426. Pr. BELGNAoui Fatima Zahra	Dermatologie
427 Pr. BELMEKKI Abdelkader*	Hématologie
428. Pr. BENCHEIKH Razika	O.R.L
429 Pr. BIYI Abdelhamid*	Biophysique
430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine	Chirurgie - Pédiatrique
431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*	Chirurgie Cardio - Vasculaire
432. Pr. CHEIKHAoui Younes	Chirurgie Cardio - Vasculaire
433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas	Gynécologie Obstétrique
434. Pr. DOGHMI Nawal	Cardiologie
435. Pr. ESSAMRI Wafaa	Gastro-entérologie
436. Pr. FELLAT IbtiSSam	Cardiologie
437. Pr. FAROUDY Mamoun	Anesthésie Réanimation
438. Pr. GHADOUANE Mohammed*	Urologie
439. Pr. HARMOUCHE Hicham	Médecine Interne
440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*	Anesthésie Réanimation
441 Pr. IDRIS LAHLOU Amine	Microbiologie
442. Pr. JROUNDI Laila	Radiologie
443. Pr. KARMOUNI Tariq	Urologie
444. Pr. KILI Amina	Pédiatrie
445. Pr. KISRA Hassan	Psychiatrie
446. Pr. KISRA Mounir	Chirurgie - Pédiatrique

447. Pr. KHARCHAFI Aziz\*
448. Pr. LAATIRIS Abdelkader\*
449. Pr. LMIMOUNI Badreddine\*
450. Pr. MANSOURI Hamid\*
451. Pr. NAZIH Naoual
452. Pr. OUANASS Abderrazzak
453. Pr. SAFI Soumaya\*
454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
455. Pr. SEFIANI Sana
456. Pr. SOUALHI Mouna
457. Pr. TELLAL Saida\*
458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Médecine Interne  
 Pharmacie Galénique  
 Parasitologie  
 Radiothérapie  
 O.R.L  
 Psychiatrie  
 Endocrinologie  
 Psychiatrie  
 Anatomie Pathologique  
 Pneumo - Phtisiologie  
 Biochimie  
 Pneumo - Phtisiologie

### Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila
459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar \*
462. Pr. BAITE Abdelouahed \*
463. Pr. TOUATI Zakia
464. Pr. OUZZIF Ez zohra \*
465. Pr. BALOUCH Lhousaine \*
466. Pr. SELKANE Chakir \*
467. Pr. EL BEKKALI Youssef \*
468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi \*
469. Pr. EL ABSI Mohamed
470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader \*
471. Pr. ACHOUR Abdessamad \*
472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq \*
473. Pr. GHARIB Noureddine
474. Pr. TABERKANET Mustafa \*
475. Pr. ISMAILI Nadia
476. Pr. MASRAR Azlarab
477. Pr. RABHI Monsef \*
478. Pr. MRABET Mustapha \*
479. Pr. SEKHSOKH Yessine \*
480. Pr. SEFFAR Myriame
481. Pr. LOUZI Lhoussain \*
482. Pr. MRANI Saad \*

Anatomie pathologique  
 Anesthésie réanimation  
 Anesthésier réanimation  
 Anesthésie réanimation  
 Anesthésie réanimation  
 Cardiologie  
 Biochimie  
 Biochimie  
 Chirurgie cardio vasculaire  
 Chirurgie cardio vasculaire  
 Chirurgie cardio vasculaire  
 Chirurgie générale  
 Chirurgie générale  
 Chirurgie générale  
 Chirurgie générale  
 Chirurgie générale  
 Chirurgie plastique  
 Chirurgie vasculaire périphérique  
 Dermatologie  
 Hématologie biologique  
 Médecine interne  
 Médecine préventive santé publique et hygiène  
 Microbiologie  
 Microbiologie  
 Microbiologie  
 Virologie

483. Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
484. Pr. ICHOU Mohamed *	Oncologie médicale
485. Pr. TACHFOUTI Samira	Ophtalmologie
486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophtalmologie
487. Pr. MELLAL Zakaria	Ophtalmologie
488. Pr. AMMAR Haddou *	ORL
489. Pr. AOUI Sarra	Parasitologie
490. Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie
491. Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
492. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
493. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib *	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

### Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen *	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUHSAIN Sanae *	Biochimie
Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AMAHZOUNE Brahim *	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie

Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
Pr. DOGHMI Kamal *	Hématologie clinique
Pr. ABOUZAHIR Ali *	Médecine interne
Pr. ENNIBI Khalid *	Médecine interne
Pr. EL OUENNASS Mostapha	Microbiologie
Pr. ZOUHAIR Said*	Microbiologie
Pr. L'kassimi Hachemi*	Microbiologie
Pr. AKHADDAR Ali *	Neuro-chirurgie
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie
Pr. AGADR Aomar *	Pédiatrie
Pr. KARBOUBI Lamyra	Pédiatrie
Pr. MESKINI Toufik	Pédiatrie
Pr. KABIRI Meryem	Pédiatrie
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *	Pneumo-phtisiologie
Pr. BASSOU Driss *	Radiologie
Pr. ALLALI Nazik	Radiologie
Pr. NASSAR Ittimade	Radiologie
Pr. HASSIKOU Hasna *	Rhumatologie
Pr. AMINE Bouchra	Rhumatologie
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *	Traumatologie orthopédique
Pr. KADI Said *	Traumatologie orthopédique

### Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq*	Médecine interne
Pr. ERRABIH Ikram	Gastro entérologie
Pr. CHERRADI Ghizlan	Cardiologie
Pr. MOSADIK Ahlam	Anesthésie Réanimation
Pr. ALILOU Mustapha	Anesthésie réanimation
Pr. KANOUNI Lamyra	Radiothérapie
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*	Radiologie
Pr. DARBI Abdellatif*	Radiologie
Pr. EL HAFIDI Naima	Pédiatrie
Pr. MALIH Mohamed*	Pédiatrie
Pr. BOUSSIF Mohamed*	Médecine aérologique
Pr. EL MAZOUZ Samir	Chirurgie plastique et réparatrice
Pr. DENDANE Mohammed Anouar	Chirurgie pédiatrique

Pr. EL SAYEGH Hachem  
 Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
 Pr. RAISSOUNI Zakaria\*  
 Pr. BOUAITY Brahim\*  
 Pr. LEZREK Mounir  
 Pr. NAZIH Mouna\*  
 Pr. LAMALMI Najat  
 Pr. ZOUAIDIA Fouad  
 Pr. BELAGUID Abdelaziz  
 Pr. DAMI Abdellah\*  
 Pr. CHADLI Mariama\*

Urologie  
 Chirurgie générale  
 Traumatologie orthopédie  
 ORL  
 Ophtalmologie  
 Hématologie  
 Anatomie pathologique  
 Anatomie pathologique  
 Physiologie  
 Biochimie chimie  
 Microbiologie

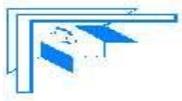
### ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

### **PROFESSEURS**

1. Pr. ABOUDRAR Saadia
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima
3. Pr. ALAOUI KATIM
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
5. Pr. ANSAR M'hammed
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed
9. Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia
10. Pr. DAKKA Taoufiq
11. Pr. DRAOUI Mustapha
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen
13. Pr. ETTAIB Abdelkader
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbes
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine
17. Pr. KABBAJ Ouafae
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine
19. Pr. REDHA Ahlam
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
21. Pr. TOUATI Driss
22. Pr. ZAHIDI Ahmed
23. Pr. ZELLOU Amina

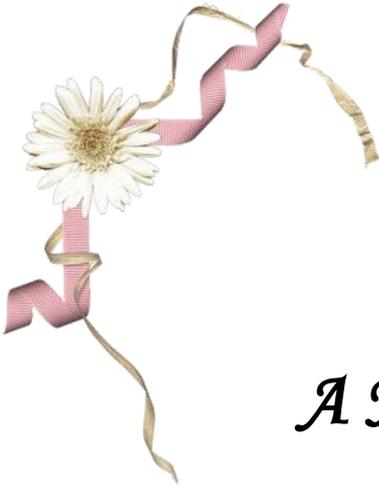
Physiologie  
 Biochimie  
 Pharmacologie  
 Histologie-Embryologie  
 Chimie Organique et Pharmacie Chimique  
 Applications Pharmaceutiques  
 Génétique Humaine  
 Microbiologie  
 Biochimie  
 Physiologie  
 Chimie Analytique  
 Pharmacognosie  
 Zootechnie  
 Pharmacologie  
 Chimie Organique  
  
 Biochimie  
 Biologie  
 Biochimie  
 Chimie Organique  
 Phytochimie  
 Pharmacologie  
 Chimie Organique

*\* Enseignants Militaires*



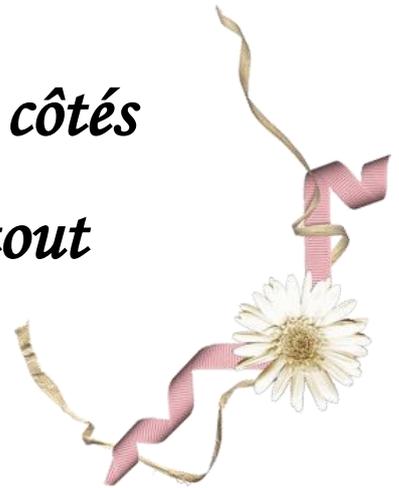
# *Dedicaces*





*A Notre Dieu Tout-Puissant  
Dieu de bonté, de miséricorde, d'amour, de  
paix*

*Toi qui es toujours à mes côtés  
Je te rends grâce pour tout*





*A SA MAJESTE LE ROI MOHAMED VI*  
*Chef suprême et Chef d'Etat Major Général des*  
*Forces Armées Royales*

*Que la lumière divine l'accompagne pour toute sa vie*





*A SON EXCELLENCE ALI BONGO ONDIMBA*

*Président de la République du GABON et Chef*

*suprême des Forces Armées Gabonaise*

*Que les grâces divines lui soient accordées pour que  
notre pays rayonne*





*A mon très cher père et ma très chère mère*

*Feux Monsieur et Madame BOUKYA*



*Je vous dédie ce travail*

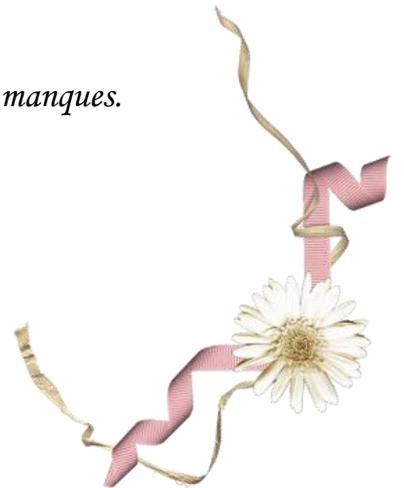
*A vous qui m'avez ouvert le chemin dans la vie et m'avez éduquée dans les préceptes de  
Notre Dieu*

*Ma reconnaissance est éternelle*

*Que ces quelques mots puissent vous maintenir vivants dans nos cœurs*

*Papa : je ne t'ai pas bien connu mais mes frères me l'ont rassuré, tu as été un père  
merveilleux*

*Maman : tu es partie trop tôt et Dieu seul sait combien tu me manques.*





*A mon très cher père et ma très chère mère*

*Monsieur et Madame SIMETH*



*A vous qui m'avez appris les valeurs familiales*

*L'amour que vous m'avez apporté ainsi que les valeurs humaines sont des choses qui n'ont pas de prix*

*Je ne saurais citer tout ce que vous m'avez offert*

*Ma reconnaissance est profonde et éternelle*

*Puisse Dieu vous garder, vous protéger et vous combler de grâces*

*Je vous aime très fort*





*A mon très cher père*  
*ODOUNGA Célestin*



*Tu m'as donné la vie papa*  
*Et par ce travail j'espère te rendre honneur*  
*Il n'y a pas de mots pour exprimer les sentiments qui m'animent à ton égard*  
*Saches seulement que le respect et l'admiration que je te porte sont infinis*

*Puisse Dieu te bénir, te protéger et t'accorder une longue et belle vie*

*Avec tout mon amour*





*A ma très chère mère*  
**BALINGUI Marianne**



*Tu m'as donné la vie maman*  
*Et par ce travail j'espère te rendre honneur*  
*Tu es une femme exceptionnelle que j'admire vraiment*  
*Tu as eu peu et tu m'as toujours beaucoup donné*  
*Dieu seul te rendra ce qui t'es dû*  
*Tout ce que je peux te dire c'est que je t'aime très fort*  
  
*Puisse Dieu te garder et te combler de ses grâces*





*A mes frères*

*Georges, Grégory, Claudia, Ulrich et Paul-André*

*L'affection que je vous porte est sans limites. Si je suis là aujourd'hui c'est essentiellement grâce à vous.  
Pardonnez-moi si je ne le fais pas mais seul Dieu seul saura vous montrer l'amour que je vous porte.*

*Merci*

*Que Dieu vous garde*

*A mes chers frères et sœurs,*

*A tous mes bébés,*

*Par ce travail je vous ouvre la voie en espérant vous montrer l'exemple. Je le vois déjà beaucoup parmi vous le suivent.*

*Que Dieu vous accompagne dans vos vies et qu'elles soient belles et longues.*

*A Monsieur et madame MANGOLLO et leurs enfants*

*A toutes mes familles maternelle et paternelle*

*Pour votre soutien, vos encouragements*

*Puisse-je honorer tous les espoirs que vous avez mis en moi*

*A Ma Véro,*

*A Monsieur LÉBOUSSI et sa famille*

*Et à toutes ces personnes qui ont été ma famille au Maroc*

*Un grand merci*





***A toute ma promotion de l'Ecole Royale du Service de Santé Militaire :***

*IBO ISSA Mamane Nasser ; OUMAROU Mahamane Mamane Nassirou ; EBINI Ebozoa Claude ; MFA Sandy Keith Elpidio Akoueté ; NDOUDOU MOU Jean Jacques ; ABA'A ABA'A Roger, OUEDRAOGO Cheik Oumar, YO Moustapha Stéphane Louzoum ; SOME Blintim ; TRAORE Cheikh Ismael Abdel Kader ; MAKELE Lesly ; NGUIA Nzame Noella Mélodie ; ODOUNGA Karen Flora ; MBOUMBA Ovenga Sergine ; NDONG NDOUTOUME Sévère Prince ; DOUMBLA Ibrahima ; ANON ADIKO Nicolas Fabrice ; DIEKOUADIO Fabrice Ariel Basile ; EMANE Eyah Salomon Arsene ; EBO'O Francois Bertin ; FEIMONAZAOUI Teddy Freddy Chéryl ; MAVITCHI MAVITSY Ange Claude ; NGUEMA Leticia Dominique ; NGOMA Souamy Marielle Léida ; NDJIBI Bettina ; BEFIO Syodong Elysé Job*

*Lorsque tout a commencé, nous étions des individus. Les épreuves et la solidarité nous ont rassemblés et aujourd'hui c'est une nouvelle famille que j'ai dans mon cœur. Nous avons tant partagé et si nous en sommes là aujourd'hui ce n'est que par la volonté de Dieu. Aussi, mon vœu le plus cher c'est que ce qui a été créé ne soit défait que par Dieu et que notre même Dieu nous garde tous dans sa divine bonté.*

*Magali l'a dit avant moi : « qu'il nous accorde à tous le succès auquel nous avons tous droit! »*

***A tous mes anciens et mes jeunes de l'Ecole Royale du Service de Santé Militaire***

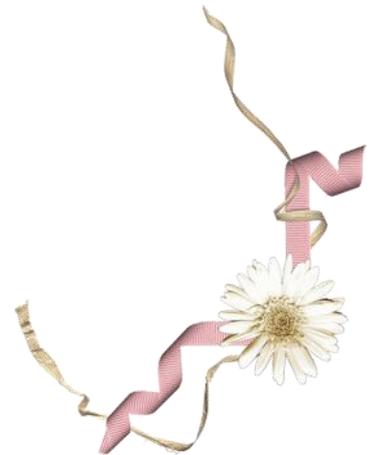
*Merci pour votre soutien et vos conseils. Que Dieu vous garde*

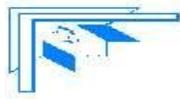
***A mes amis et confrères***

*Chandryca, Elsie, Carine, Aichatou, Maïmouna, Marina, Gilbert, Lamine, Bissan, Anicet, Karl, Prudence, Fils, ... la liste est longue.*

***A tous ceux là que je porte dans mon cœur mais je n'ai pas pu nommer***

***Recevez mes remerciements les plus sincères.***





# *Remerciements*



*A notre Maître et président du jury*

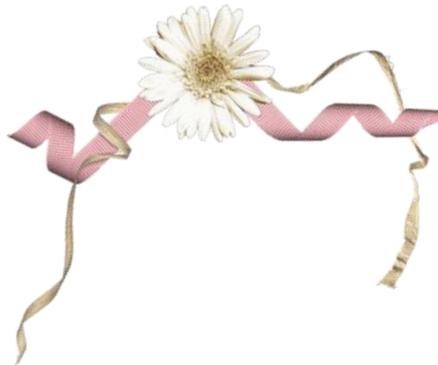
*Monsieur A. ETTAIB*

*Professeur de Physiologie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat*

*Lorsque vous m'avez donné votre accord pour siéger en tant que Président du jury, grande a été ma joie et profonde ma gratitude pour que vous mettiez votre confiance en mon travail.*

*C'est donc pour nous un grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de notre thèse.*

*Veillez trouver ici, cher maître, l'expression de ma vive reconnaissance, mon profond respect et ma respectueuse considération.*



*A notre Maître et Directeur de thèse*

*Monsieur D. TOUATI*

*Professeur de Pharmacognosie- Phytochimie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de  
Rabat*

*Je vous remercie vivement pour la confiance que vous avez placée en moi en me proposant le  
sujet de ce mémoire et d'avoir encadré mes premiers pas dans le domaine de la  
Pharmacognosie et de la Phytochimie.*

*Vous avez été d'une patience indescriptible et je le reconnais je l'ai très souvent mise à rude  
épreuve.*

*Je ne saurais jamais comment vous remercier pour ce que vous venez de m'apporter à travers  
ce travail : ceci est le don d'une vie.*

*Soyez assuré de ma vive reconnaissance pour m'avoir fait bénéficier de votre rigueur  
scientifique et de votre expérience.*

*La chaleur de votre accueil, les heures de travail, votre amabilité, le sérieux de vos  
compétences et ce calme qui m'a toujours valu le respect que je vous porte sont autant de  
qualités qui amplifient ma considération pour vous.*

*J'espère, à travers ce travail, vous avoir rendu honneur et qu'à jamais vous en serez fier.*

*Que notre Dieu Tout Puissant veille sur vous !*



*A notre Maître et membre du jury*

*Madame C. BENABDELLAH*

*Professeur d'hématologie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat*

*Nous sommes grandement sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de faire partie de notre jury de thèse.*

*Veillez trouver ici l'expression de toute ma considération pour la qualité de votre enseignement durant mes années d'étude à la faculté.*

*Je vous prie de bien vouloir accepter l'expression de mes sentiments respectueux.*



*A notre Maître et membre du jury*

*Monsieur H. ERRIHANI*

*Professeur d'oncologie médicale à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat*

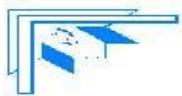
*Nous sommes honorés de vous avoir dans notre jury de thèse.*

*Je sais combien de fois grandes sont vos responsabilités et rien ne pourrais exprimer la gratitude qui est la mienne pour le temps que vous nous accordez.*

*Je vous adresse ma profonde reconnaissance pour votre accueil et votre disponibilité.*

*Je vous prie de bien vouloir accepter l'expression de mes sentiments respectueux.*





# SOMMAIRE



<b>INTRODUCTION-BUT DU TRAVAIL.....</b>	<b>1</b>
---	----------

## **PREMIERE PARTIE : *Rubia tinctorum* L. (El foua)**

<b>Plante médicinale potentiellement dangereuse : mise à jour bibliographique.....</b>	<b>3</b>
--	----------

Chapitre I : Aspects botaniques .....	4
---------------------------------------	---

I.1. Généralités de systématique .....	4
--	---

I.2. Famille des Rubiacées (Gentianales).....	5
---	---

I.3. Genres et espèces de Rubiacées à importance économique, alimentaire et pharmacologique.....	6
--	---

I.3.1. Genre <i>coffea</i> : <i>Coffea arabica</i> (caféier) .....	7
--	---

I.3.2 Genre <i>Cinchona</i> : <i>cinchona officinalis</i> (Quinquina).....	8
--	---

I.3.3 Genre <i>carapichea</i> : <i>carapichea ipecacuanha</i> (ipeca).....	9
--	---

I.4. Genre <i>Rubia</i> .....	11
-------------------------------	----

I.5. <i>Rubia tinctorum</i> , Linné.....	11
--	----

I.6. Distribution.....	13
------------------------	----

Chapitre II : <i>Rubia tinctorum</i> (la garance) au fil du temps : histoire et usages, médecine et croyances populaires.....	15
---	----

II.1. Histoire et usages comme colorant.....	15
--	----

II.2. Histoire de la médecine dans l'usage de <i>Rubia tinctorum</i> .....	22
--	----

II.3. Médecine contemporaine et croyances populaires.....	25
---	----

Chapitre III : Composition chimique de <i>Rubia Tinctorum</i> .....	30
---	----

Introduction .....	30
--------------------	----

III.1. Généralités sur les anthraquinones.....	30
--	----

III.1.1. Biosynthèse .....	31
----------------------------	----

III.1.2. Extraction – Isolation – Purification .....	34
--	----

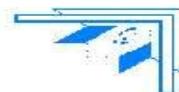
III.1.3. Propriétés physico-chimiques .....	35
---	----

III.1.4. Action pharmacologique .....	35
---------------------------------------	----

III.2. Anthraquinones et autres produits isolés de <i>Rubia tinctorum</i> .....	36
---	----

Chapitre IV : Toxicité de <i>Rubia tinctorum</i> .....	42
IV.1. Toxicités aigue, subaiguë et chronique.....	42
IV.2. Mise en évidence des effets mutagènes et cancérigènes de <i>Rubia tinctorum</i> et de ses dérivés anthraquinoniques .....	45
IV.3. Toxicité chez l'Homme .....	48
IV.4. Composés à effet inhibiteur de cancérigènes.....	50
IV.5. Décisions des grandes instances de la santé .....	52
<b>DEUXIEME PARTIE: Recherche de principes signalés “mutagènes-cancérigènes”</b>	
<b>dans des échantillons de rhizome de <i>Rubia tinctorum</i> d'origine marocaine.....</b>	<b>55</b>
Introduction.....	56
Chapitre I : Screening phytochimique .....	57
I.1. Détection des tanins flavaniques : tanins condensés ou tanins proanthocyaniques ...	57
I.2. Détection des alcaloïdes .....	58
I.3. Détection des anthracénosides .....	60
I.4. Détection des saponosides .....	61
Chapitre II : Analyse chimique d'échantillons de rhizome de <i>Rubia tinctorum</i> d'origine marocaine.....	63
II.1. Extraction .....	63
II.1.1. Généralités .....	63
II.1.2. Réalisation .....	63
II.2. Analyse des extraits chloroformique et méthanolique .....	66
II.2.1. Chromatographie analytique.....	66
II.2.2. Chromatographie préparative : chromatographie sur colonne .....	70
II.2.3. Mise en évidence des produits majoritaires.....	73
Chapitre III : Caractérisation des anthraquinones : génines et hétérosides .....	76
III.1. Généralités sur les procédés utilisés .....	76
III.1.1. La chromatographie liquide haute performance (HPLC).....	76
III.1.2. La spectrophotométrie UV-Visible .....	77

III.1.3. La spectrométrie de masse .....	78
III.2. Protocoles d'analyses.....	78
III.2.1. HPLC couplée à la masse.....	79
III.2.2. Spectrophotométrie UV-Visible.....	79
Chapitre IV : Résultats et présentation des produits isolés .....	80
IV.1. Extrait chloroformique de <i>Rubia tinctorum</i> .....	80
IV.2. Différentes fractions tirées de l'extrait chloroformique de <i>Rubia tinctorum</i> .....	86
IV.3. Extrait méthanolique de <i>Rubia tinctorum</i> .....	91
<b>CONCLUSION GENERALE</b> .....	95
<b>RESUMES</b>	
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	



# **INTRODUCTION- BUT DU TRAVAIL**



*Rubia tinctorum* (**El fouda**) est une plante très utilisée depuis des millénaires comme source de couleur rouge avec ses variantes pour la teinture des textiles, en cosmétologie, dans les aliments comme additif mais aussi en tant que drogue aux nombreuses vertus thérapeutiques. Elle est très répandue dans le monde et particulièrement en Europe, en Asie et en Afrique du Nord.

Au Maroc et dans le bassin méditerranéen, c'est une plante ubiquitaire. Elle est utilisée à des fins tinctoriales par obtention d'un colorant rouge destiné à la teinture, la peinture et même l'alimentation. A cela s'ajoute son usage médicinal dans de nombreux domaines. En effet elle est très prisée par les femmes marocaines, comme purgatif, après l'accouchement. La décoction de la plante entière est prescrite dans les anémies et toutes les maladies du sang. Sa prise quotidienne est conseillée pour augmenter le volume sanguin et améliorer le teint. Réputée aphrodisiaque, elle est souvent incorporée au pain dont elle colore la mie en rouge et utilisée comme condiment dans la cuisson des plats. Sa décoction est administrée aux nourrissons comme anti diarrhéique.

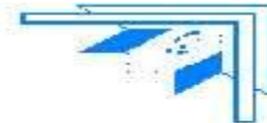
Cependant *Rubia tinctorum* est très riche en dérivés anthraquinoniques. Elle est considérée selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et quelques autres organismes de la santé et de l'alimentation (tels que Santé Canada ou encore le Ministère français de l'Agriculture) comme comportant des risques pour le consommateur. Des études récentes ont montré un certain pouvoir mutagène voir même cancérigène de certains dérivés anthraquinoniques.

Nous nous sommes proposés dans une première partie du présent travail de réaliser une étude bibliographique approfondie de la plante, en mettant particulièrement l'accent sur ses emplois et sa toxicité afin d'attirer l'attention sur les dangers potentiels de son utilisation en usage traditionnel au Maroc.

Une deuxième partie est consacrée à l'analyse phytochimique et la présentation des résultats obtenus personnellement au laboratoire de Pharmacognosie-Phytochimie à partir des racines de *Rubia tinctorum*. Cette partie comporte une étape de screening, puis une phase d'extraction, séparation et identification des métabolites secondaires majeurs, essentiellement des anthraquinones, dans des échantillons marocains de cette espèce.



## Première partie



### *Rubia tinctorum* L.

# Plante médicinale potentiellement dangereuse : mise à jour bibliographique

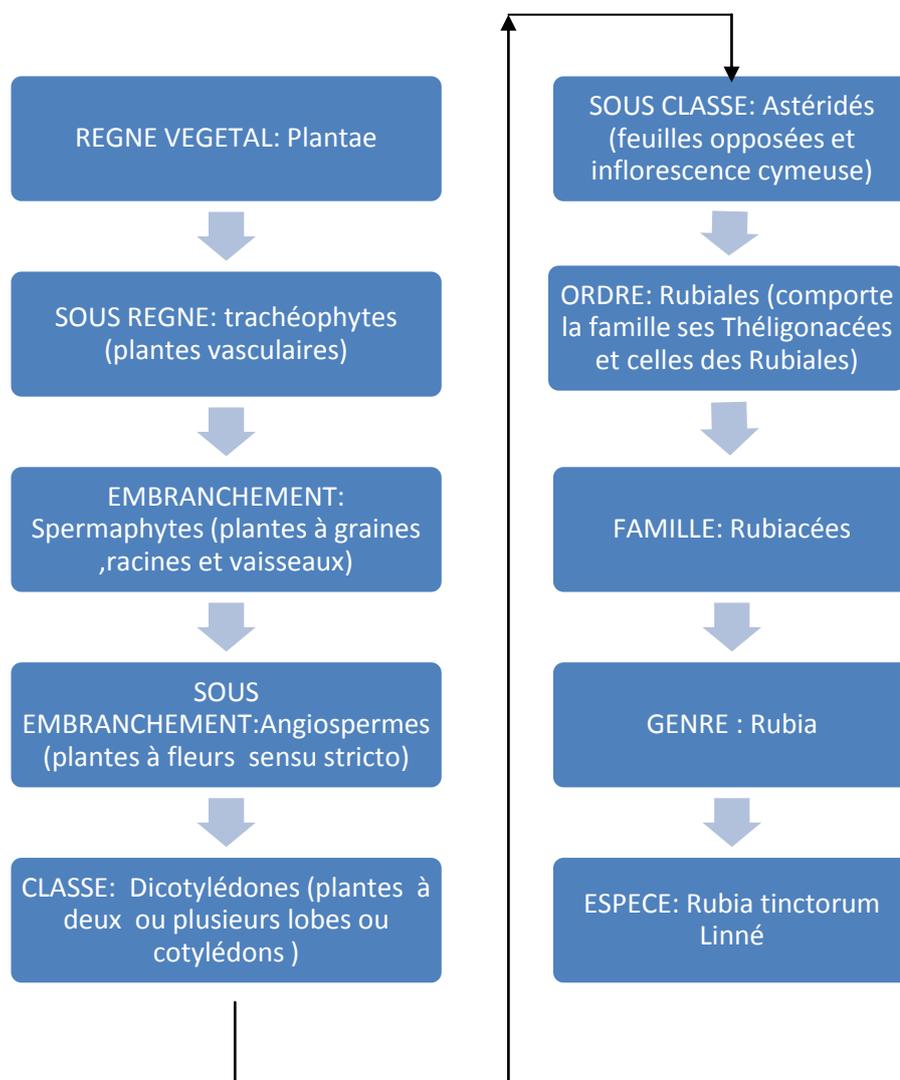


# Chapitre I : Aspects botaniques

## I.1. Généralités de systématique

Pour bien situer *Rubia tinctorum L.*, nous présentons dans un premier temps une description de la famille des Rubiacées, nous aborderons ensuite les caractéristiques de quelques genres importants, ainsi que celles de quelques espèces choisies pour l'importance de leur utilisation en tant que plante médicinale ou alimentaire ; puis nous décrirons de façon détaillée les caractères botaniques de l'espèce étudiée.

La classification botanique de cette plante peut être résumée de la façon suivante [1,2,3,4] :



## I.2. Famille des Rubiacées (Gentianales)

La famille des Rubiacées est l'une des familles les plus vastes parmi les plantes à fleurs, la quatrième après les *Asteraceae*, les *Orchidaceae* et les *Fabaceae* [5]. Ce sont des arbres, des arbustes, des buissons, des lianes ou des plantes herbacées largement répandus [1]. Elle comprend plus de 10 000 espèces réparties en 600 genres.

La plupart des espèces se rencontrent dans les régions tropicales et subtropicales, mais on rencontre aussi des Rubiacées dans les régions tempérées et même jusque près des pôles. Les Rubiacées vivent dans tous les biotopes, même dans les déserts. Elles sont nombreuses dans les forêts tropicales, aussi bien humides que sèches où elles vivent surtout dans le sous-bois. Les savanes sont moins riches en Rubiacées et ce sont surtout les formes herbacées qui y sont présentes. Un caractère distinctif important est fourni par la disposition des feuilles. Les Rubiacées ont les feuilles opposées décussées, les feuilles elles-mêmes sont simples et à marge entière [5].

### Caractères principaux [1,5,6,7,8]:

**Les feuilles** sont opposées-décussées, simples, stipulées avec des stipules parfois aussi développées que les feuilles pouvant former des pseudoverticilles. Dans un verticille de 6 éléments, 2 seulement sont des feuilles proprement dites tandis que les 4 autres (deux par feuille) ne sont que des stipules très développées.

**Les inflorescences** sont très diverses : cymes, racèmes, panicules ; moins souvent les fleurs sont solitaires.

**Les fleurs** sont régulières, hermaphrodites, tétracycliques, tétra ou pentamères, ont différentes couleurs et sont généralement adaptées à la pollinisation par les insectes. Le calice est généralement ouvert, parfois accrescent, mais souvent très réduit ; les sépales sont libres ou soudés. La corolle est formée de 4 à 10 pétales plus ou moins soudés.

**Le fruit** est un schizocarpe, une capsule, une baie, ou une drupe.

**Les graines** sont généralement albuminées et rarement ailées, parfois exalbuminées et l'embryon généralement droit, parfois courbe.

**L'androcée** est constitué de 4 à 5 étamines toutes fertiles, oppositépales ; les filets sont soudés au tube de la corolle ; les anthères sont introrses à déhiscence longitudinale ou parfois poricide.

**Le gynécée** est formé de 2 à 9 carpelles soudés ; l'ovaire est infère; on note 1-*n* ovules anatropes dans chaque loge en placentation pariétale ou axile; un style à sommet divisé suivant le nombre de carpelles.

### **I.3. Genres et espèces de Rubiacées à importance économique, alimentaire et pharmacologique**

On peut citer comme genres de cette famille :

- ✓ Le caféier (genre *Coffea*) : la plus importante par son intérêt économique
- ✓ Le quinquina (genre *Cinchona*) : importante dans le milieu médical, donne la quinine, utilisée comme un remède contre le paludisme,
- ✓ L'Ipéca (genre *Carapichea*) : largement connue comme émétique [5]
- ✓ Le gardénia (genre *Gardénia*) : plante d'intérieur

A ceux-là s'ajoute le genre *Psychotria*. C'est aussi dans cette famille qu'est placé *Dialypelalanthus*, un arbre de la forêt tropicale brésilienne anciennement placé dans sa propre famille. Elle comprend encore les genres *Adina*, *Breonia*, *Cephalanthus*, *Mitragyna*, *Nauclea*, *Neonauclea*, *Sarcocephalus*, *Uncaria* qui formaient la famille des Naucéléacées. Selon la classification phylogénétique les Rubiacées appartiennent à l'ordre des Gentianales dans le groupe *Euasterid 1* [1].

Jusqu'à récemment, les Rubiacées n'avaient pas encore été étudiées de façon aussi large que les autres familles. C'est partiellement en raison de la taille de la famille et de sa réputation comme étant « difficile », avec de nombreux genres mal définis. Plus récemment cependant, les Rubiacées ont désormais fait l'objet d'études détaillées. Des conférences internationales

ont été maintenant organisées afin de fournir une plate-forme de contact pour les spécialistes des Rubiacées (1993, Missouri Botanical Garden, Saint-Louis, États-Unis d'Amérique; 1995, jardin botanique national de Belgique, Meise, Belgique) [5].

### I.3.1. Genre *coffea* : *Coffea arabica* (caféier)

Le caféier, du genre *Coffea* est d'origine africaine (province de Kaffa en Éthiopie), mais se cultive beaucoup dans les forêts humides tropicales. Il a été distribué par les commerçants du Yémen au monde entier au cours du 15ème siècle. Aujourd'hui, il en reste quelques plants dans les forêts pluviales du Sud de l'Éthiopie. Le café pousse comme un arbuste dans une grande diversité d'arbres, d'arbustes et de plantes annuelles.

Il s'agit d'un arbre ou arbuste à feuilles lancéolées ; les fleurs sont blanches, assez grandes, pentamères, et l'ovaire infère est inséré dans la base du calice.



Figure 1 : Dessin d'un caféier (fleur, fruit feuilles)



Figure 2 : Plants de caféier

Le fruit est une drupe rouge (verte à l'origine) à maturité, qui contient deux noyaux, avec une face aplatie. Ces deux noyaux sont issus de la soudure des deux carpelles en placentation axile. Le grain de café correspond à la graine débarrassée de son péricarpe et sans tégument. La graine contient naturellement beaucoup de caféine ; d'autres produits aromatiques présents

dans la graine et exprimés grâce à la torréfaction, vont procurer le goût. La caféine, outre son effet stimulant, est employée en cosmétologie comme amincissant.

Le fruit est la seule partie de la plante qui est utilisée [3,4,9,10,11].



Figure 3 : Fruit et fleur de café

### I.3.2 Genre *Cinchona* : *cinchona officinalis* (Quinquina)

Les quinquinas sont des arbres originaires de la Cordillère des Andes poussant en haute altitude. Ainsi, de par son origine et des jésuites de Lima qui l'ont rapporté à Rome, elle porte aussi les noms d'Herbe des Jésuites ou encore écorce du Pérou [1].

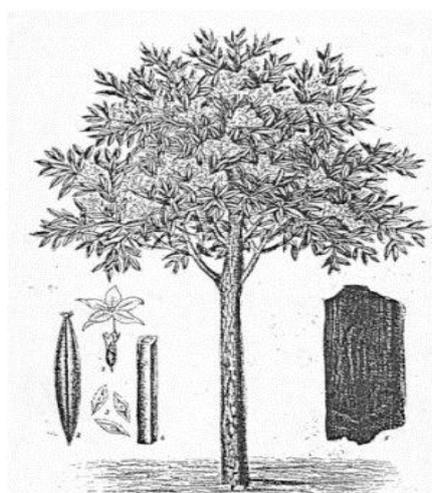


Figure 4 : Arbre et écorce de quinquina



Figure 5 : Feuilles et fleurs de quinquina

C'est un grand arbre de plus de 20 m de hauteur, le tronc est très large et l'écorce qui est la partie utilisée est rouge brunâtre à gris, elle est crevassée et de goût amer. Les feuilles peuvent mesurer jusqu'à 50 cm. L'inflorescence est constituée de petites fleurs blanches. Le fruit est une capsule ligneuse contenant de nombreuses graines. Ils poussent bien en haute altitude (au Pérou) à 15°C environs et dans les zones où les précipitations sont abondantes [12,13].

L'écorce de l'arbre à quinquina (*Cinchona* sp.) est la source exclusive de la quinine [14].



Figure 6 : Ecorces, feuilles et fleurs de quinquina

### I.3.3 Genre *carapichea* : *carapichea ipecacuanha* (ipecac)

Encore appelée: *ipecac* (anglais), *brasilianische Brechwurzel* (allemand), *ipecacuanha* (portugais), ou encore *raicilla*, son nom scientifique définitif lui a été donné en 2002. L'ipéca est un antiémétique originaire des vallées forestières humides du Brésil. C'est un sous-arbrisseau, sauvage ou cultivé, herbe vivace subligneuse à tige dressée [1,4]. Les racines sont noueuses, les feuilles opposées elliptiques initialement velues puis glabres sont d'un beau vert. Ses petites fleurs blanches, de types 4 ou 5 forment un capitule dense entouré de bractées cordiformes. Le fruit est une drupe ovoïde, vert foncé à violet foncé à 1 ou 2 noyaux.



**Figure 7 : Feuilles et fleur d'ipéca**

Sa racine, de saveur acre et nauséabonde contient de l'émétine en grande quantité, responsable des propriétés émétisantes et encore utilisées, surtout à l'hôpital où elles sont préparées magistralement. Elles sont indiquées dans certaines intoxications aiguës afin d'aider le malade à vider son estomac [15].

Le sirop d'ipéca a été retiré de la vente en France. Il est toutefois disponible sans ordonnance au Canada [16].



**Figure 8 : Feuilles, fleur et fruit d'ipéca**

## I.4. Genre *Rubia*

Il s'agit de plantes à feuilles opposées, simples et entières avec des stipules assez développées. Ces stipules peuvent même prendre l'aspect de pseudo-limbe (et simuler une disposition verticille) ou encore se développer en gaine.

Les fleurs sont pentamères ou tétramères, petites et régulières. Elles se regroupent en capitule ou ont une propension à évoluer vers cette inflorescence.

L'ovaire est infère, le fruit très variable mais parfois utile et la graine est encore albuminée [3].

## I.5. *Rubia tinctorum*, Linné

Latin <sup>1</sup>	Rubia ou Rubea tinctorum, Rubia tinctoria
Français	Garance des teinturiers, rouge des teinturiers
Français carolingien	Waranta, warantia, warentia, varentia, garantia [17]
Anglais	Indian garance, dyer's madder
Allemand	Färberröte, krapp
Portugais	Garanca, robbia salvatica
Espagnol	Rubia de tintes, granza [1,4]
Grec	Eruthrodanon, erythrodanon, teitron, erythro-rhyza [8,18]
Vernaculaire/Maroc	Foua, Fuwwa tarûbiya [19]

---

<sup>1</sup> Rubia pourrait provenir de terme « rubere » qui signifie rougir : Référence [8]

La garance (*Rubia tinctorum*) est une plante grimpante vivace par ses rhizomes, à tiges couchées ou grimpantes mesurant jusqu'à 1,5 m de long et munies sur les angles d'aiguillons crochus [1,17].



Figure 9 : Tige de garance avec ses aiguillons



Figure 10 : plant de garance

Les feuilles sont assez grandes, lancéolées, annuelles, minces, caduques, à bords minces, avec un réseau de nervures secondaires très saillant en dessous. Apparemment verticillées, munies sur les bords et sur la nervure principale de petits aiguillons qui permettent à la plante de se soutenir en s'appuyant sur les autres plantes (mais aussi de s'accrocher aux vêtements, ce qui permet de la reconnaître [20]).



Figure 11 : Feuilles de garance

Les fleurs sont jaune-vif en cymes axillaires et terminales. Elles s'épanouissent en début d'été (juin-juillet) et portent 4 à 5 pétales soudées à leur base. La corolle est à lobes ovales-lancéolés, non aristés. Les anthères sont linéaires-oblongues et les stigmates obovales en massue [21]. Le fruit est charnu, c'est une baie de la taille d'un pois, noir à maturité.



Figure 12 : Fleur et fruits de garance

Le rhizome peut atteindre 80 cm de long et les racines sont rampantes et contiennent une matière colorante rouge : l'alizarine, les anthraquinones à effet laxatif et la purpurine [1].



Figure 13 : Racines de garance

## I.6. Distribution

Cette espèce est originaire d'Asie occidentale et centrale : Turquie, Syrie, Liban, Jordanie, Irak, Iran, Tadjikistan, Turkménistan, Ouzbékistan et d'Europe de l'Est : Russie (Crimée), Ukraine, ex-Yougoslavie. On la retrouve, dans la péninsule ibérique, dans le bassin méditerranéen oriental, cultivée en France surtout dans le midi et elle existe en général en

Europe méridionale. Elle a été répandue par la culture et naturalisée çà et là dans les régions tempérées [1]. On la retrouve aussi en Afrique septentrionale [22].



**Figure 14 : Distribution géographique de la garance**

*Rubia tinctorum* est une plante qui pousse sur les sols très riches, humides et profonds mais sa racine n'est extractible que lorsque le terrain présente en plus la caractéristique d'être très léger. Maintenant on la retrouve un peu partout mais elle se plaît à croître sur des sols calcaires, les haies, les buissons et les abords de routes [19,22].



**Figures 15 : Plant de garance dans une haie en abord de route, en bordure d'eau ou dans un milieu riche en matière organique.**

## Chapitre II : *Rubia tinctorum* (la garance) au fil du temps : histoire et usages, médecine et croyances populaires

### II.1. Histoire et usages comme colorant

Les Carolingiens utilisent le terme *warantia*, mot apparenté au francique *warjan*, *wratja*, *wraihja* (goth), du verbe *wreihan*, protéger [23]. Du bas latin " waranta " [17] et originaire de Ghafghaz (Perse) [24], la garance a été utilisée pour teindre des textiles dès 2000 avant JC dans une zone originelle élargie : en Inde, en Palestine, en Égypte et chez les Scythes au 9<sup>ème</sup> siècle avant JC [25]. Les Grecs l'appelaient *Erythrodanon*, littéralement « qui donne le rouge ». Les romains la connaissaient bien, elle était « employée en médecine comme en diurétique » et ils l'appelaient : *Rubia* (rouge), *Rubia passiva*.

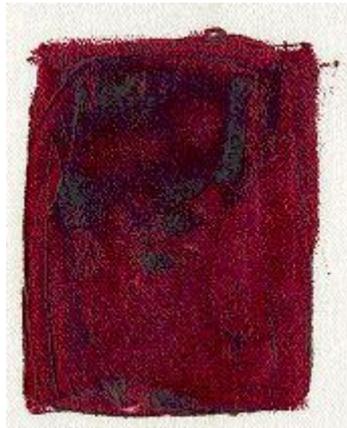


Figure 16 : Morceau de coton teint avec de la garance au Pakistan (-3000 Av J-C)

Les premiers signes de la teinture viennent de l'Inde, où un morceau de coton teint avec de la garance a été récupéré sur les lieux archéologiques de Mohenjo-Daro (fig 16), situé dans le district de Larkana (fig 17) dans la province actuelle du Sindh au Pakistan (3<sup>e</sup> millénaire avant notre ère). En sanskrit (langue autrefois parlée en Inde), cette plante est connue sous le nom Manjishtha [26].

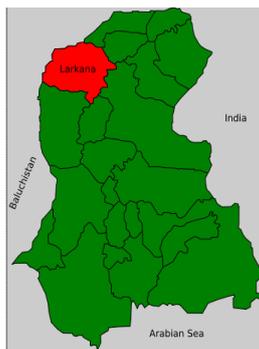


Figure 17 : Province du Larkana au Pakistan

Un des textiles les plus anciens teints à partir de garance est une ceinture trouvée dans la tombe de Toutankhamon. Cela remonte à 1350 avant JC. Au cours des temps des pharaons en Egypte, ni l'alun ni aucun autre mordant n'a été utilisé lors de la teinture (ce qui n'a pas été le cas depuis le début notre ère). Dans les environs de la Mer Morte, une pochette de laine teinte avec de la garance à partir de 135 après JC a été trouvée. En Chine certaines gravures de trésors archéologiques ont révélé l'utilisation de la garance pour teindre les tissus [27]. Il a été utilisé par des ermites pour teindre leurs vêtements de safran. Un autre des plus vieux textiles teints avec de la garance provient de la tombe de la reine Arégonde (fig 18) mérovingien de Saint-Denis près de Paris (entre 565 et 570 après JC) [28]. Des vestiges de tissus colorés (fig 9) à partir de constituants contenus dans la racine de *Rubia tinctorum* ont aussi été découverts sur le site archéologique de Masada dans la région de la mer morte proche de Jérusalem vers le 7<sup>ème</sup> siècle.



Figure 18 : Reine Arégonde



Figure 19 : Vestige de tissu coloré par la garance (Jérusalem)

De plus l'ingénieur romain Vitruve (1<sup>er</sup> siècle avant JC) précise qu'il faut ajouter de la craie au bain de teinture et qu'elle était employée dans les couleurs pourprées. Les Gaulois, eux, la mélangeaient avec le suc bleu du pastel pour obtenir un beau violet [28]. De ce rouge, les peintres firent une belle laque et naguère, le mélangeaient à l'alumine pour obtenir du rose.

Ne pouvant être cultivée avec les moyens de l'époque dans la plupart des autres régions du monde (sauf exceptions, par exemple en Australie où elle fut utilisée localement pour la peinture traditionnelle), elle a été l'objet d'un commerce intense (exemple : présence de garance dans une tombe norvégienne du 8<sup>ème</sup> siècle avant JC ou dans le Japon médiéval, à Pompéi,...) car sa beauté et sa tenue étaient très recherchées tant pour la teinture que pour la peinture et l'écriture (encres).

Cette plante était traditionnellement cultivée dans les régions centrales et occidentales de l'Iran. La culture de la garance a régné dans les régions Centre de l'Iran comme la province de Yazd pour l'industrie de colorant et extraction des composants de drogue [24].

Par un glissement classique du *w/v* vers le *g*, *warantia* devint "garantia", et enfin "garance", en français. C'est l'origine des mots garant, garantie, parce que le prix de la garance était fixé et contrôlé par l'Etat [9]. Tardivement, la Hollande s'est spécialisée dans cette culture mais en a gardé le monopole. Elle n'est apparue en France que dans les années 1760 [25] au 18<sup>ème</sup> siècle par un agronome arménien Jean Althen [29].

La culture de la garance qui présentait un grand intérêt économique grâce à la teinture extraite de ses racines, avait été tentée sous le règne de Louis XIV. En 1754 Jean Althen commença des essais de culture à Saint-Chamond, puis les renouvela à partir de 1763 avec plus de réussite dans le Comtat Venaissin, avec l'appui du marquis de Caumont, premier consul d'Avignon. Il n'y eut cependant aucun essor significatif à cause des importations du Levant. Mais les guerres de la Révolution ayant entravé le commerce, les cultivateurs se lancèrent dans cette culture qui se développa pour atteindre son maximum vers 1860 [1]. Elle sera cultivée dans le Comtat Venaissin où elle sera à l'origine d'une industrie fructueuse. Le caractère protecteur de la garance antique est peut-être dû au fait que le rouge est couleur du pouvoir, du roi, de l'armée, qui est chargée de défendre un pays [29].

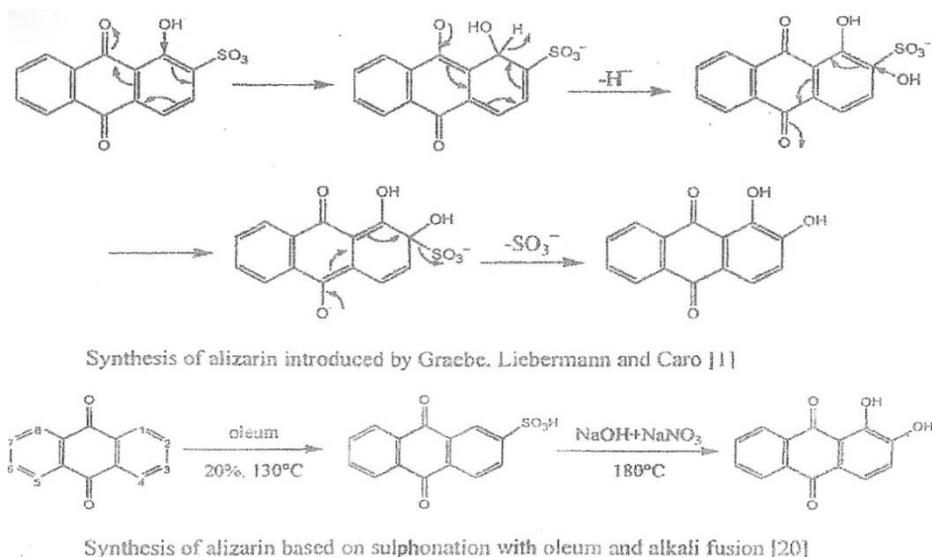
En 1839, on compte cinquante moulins à garance en Vaucluse (département du sud-est de la France), alors qu'il n'y avait que dix moulins sur la Sorgue en 1804. Le Vaucluse, certaines années, génèrera jusqu'à pratiquement 65% de la garance au niveau mondial. À partir de 1860, plusieurs grandes crises (terres surexploitées, qualité moins bonne, etc.) touchent cette culture de plus en plus concurrencée par les progrès récents de la chimie. Il n'existe plus qu'un seul des cinquante moulins en 1880 [1]. On le sait, avant la guerre de 1914-1918, le pantalon des fantassins français étaient d'un rouge vif, un rouge garance (Fig.20). Du côté anglais, ce sont les soldats d'infanterie qui portaient des tuniques de couleur garance [29,30].



**Figure 20 : Soldats français dans leurs uniformes couleurs garance**

En 1823, Kuhlmann réussit à séparer un « principe cristallisé » à partir de la racine de *Rubia tinctorum*. Robiquet et Colin isolèrent des aiguilles rouges auxquelles ils donnèrent le nom d'alizarine [17] ; il s'agit du principe colorant de la plante.

Le développement de la chimie au 19<sup>ème</sup> siècle va permettre de produire à moindre coût une alizarine synthétique (Fig.21) [25,29].



**Figure 21 : Synthèses chimiques de l'alizarine**

En 1869, deux savants, Graebe et Liberman, brevetèrent en Angleterre la fabrication industrielle de l'alizarine, principe colorant de la garance, à partir de l'anthracène du goudron de houille. Peu après, la fabrication de l'alizarine devenait industrielle [17].



**Figures 22 : Alizarine diluée, en dégradé de couleurs et en poudre**

Parmi les colorants végétaux, la garance est l'un des plus permanents, surtout en tant que teinture. Elle faisait partie des teintures dites "bon teint" et permettait également de colorer le cuir (mordant typique : alun). L'alun apparaît d'ailleurs assez souvent dans les recettes, y compris en peinture [25]. C'est la racine de la garance teinturière (*Rubia tinctorum*) qui contient une substance colorante rouge, l'alizarine, laquelle donne aux tissus la belle couleur rouge que l'on connaît. Il existe diverses nuances dans la palette garance : du rose au foncé en passant par le cramoisi [31].



**Figure 23 : Différentes teintes obtenues à partir de la teinte garance**

La garance colore le squelette des animaux qui en consomment et celui des ouvriers qui travaillent dans les fabriques la produisant ou l'employant [29]. L'alizarine naturelle est encore utilisée et vendue aujourd'hui dans les bazars de villages reculés en Afghanistan par exemple et est encore familière des haies et des bords de route d'Europe [32]. Garidel dans son livre «*Plantes qui naissent aux environs d'Aix* » précise que les feuilles et les tiges servent à nettoyer la vaisselle d'étain...préférable à l'Equisetum [27]. Un avantage de taille de cette plante est qu'elle améliorait les terrains par le fait qu'il fallait la bêcher en profondeur mais en plus que sa culture se faisait à la période où les autres plantes nécessitaient peu de soins.



**Figure 24 : Teinture de fils et toiles de coton**

En Afrique, l'usage et la description de cette plante est moins éloquent car *Rubia tinctorum* est surtout considérée comme l'espèce européenne. Celle que l'on retrouve beaucoup plus en Afrique est *Rubia cordifolia* dont l'usage tinctorial s'avère moins important mais s'apparente tout aussi à celui de *Rubia tinctorum*. Les principales données disponibles sur cet usage viennent d'Afrique du sud où ses racines sont utilisées pour teindre la laine, et de l'Ethiopie où elles servent aussi à teindre la laine mais en plus les paniers à pain en diverses teintes

rouge, rose, violet ou marron. Les racines sont un ingrédient important des formules d'encre rouges, qui peuvent également comprendre d'autres plantes tinctoriales rouges. En Tanzanie, on utilise la cendre des tiges et des feuilles brûlées comme sel végétal pour attendrir les légumes lors de la cuisson. *Rubia cordifolia* est largement utilisée en médecine traditionnelle africaine depuis le Soudan et l'Éthiopie jusqu'en Afrique du sud [33].

Pour ce qui est du Maroc, on trouve *Rubia tinctorum* chez tous les droguistes. La plante est utilisée en général en médecine et dans le nord du pays elle sert pour la teinture. Par contre dans le sud du Maroc, les populations ignorent cet usage [34]. Elle est aussi utilisée pour colorer les tapis, les couvertures et les teintures murales. Pour cela on utilise la laine, le coton ou encore les poils de chèvres ou de dromadaires [19].



Figure 25 : Maison de teinture marocaine



Figure 26 : Tapis teint à partir de garance

En Afrique sa commercialisation reste limitée aux marchés locaux pour être utilisée en médecine traditionnelle et quelques fois encore comme colorant.

## II.2. Histoire de la médecine dans l'usage de *Rubia tinctorum*

*Rubia tinctorum* est une plante utilisée depuis des milliers d'années. Ses usages sont donc très divers et varient selon les régions et les peuples qui les utilisent. Les propriétés les plus citées dans la littérature pour cette plante sont [9,26]:

- ✓ Son activité diurétique et surtout en tant qu'hypotenseur
- ✓ Son activité emménagogue
- ✓ Son activité dans les obstructions de la rate
- ✓ Son activité purgative/laxative
- ✓ Son activité cholagogue.

A celles-ci s'ajoutent des actions diverses telles, celles citées par Pierre Joseph Garidel<sup>2</sup>: la garance "comme débouchant les obstructions du foie, de la rate et de la matrice". Elle est une des cinq racines apéritives mineures, avec les racines de :

- Chiendent : *Elytrigia repens*, famille des Poacées



Figure 27 : Dessin de plant de chiendent



Figure 28 : Plant de chiendent

- Câprier : *Capparis spinosa*, famille des Capparacées

<sup>2</sup> Pierre Joseph Garidel : (botaniste français du XVIIIème siècle) dans son livre "*Histoires des plantes qui naissent aux environs d'Aix et dans d'autres endroits de la Provence, 1715*"



Figure 29 : Plant de câprier



Figure 30 : Fleur et feuilles de câprier

- Eryngion (Chardon Roland): *Eryngium campestre*, famille des Apiacées



Figure 31 : Fleur, feuilles et plant de chardon

- Ononis (Bugrane, Arrete-bœuf, Ononide épineuse) : *Ononis spinosa*, famille des Fabacées



Figure 32 : Fleur d'ononis



Figure 33 : Plant d'ononis

D'après le docteur Gérard Debuigne<sup>3</sup>, la garance est aussi recommandée contre la jaunisse, l'anémie et les dartres. Leclerc<sup>4</sup> confirmait les propriétés diurétiques, pour lesquelles les arabes l'emploient encore [1]. Certains principes actifs auraient des propriétés dissolvantes entraînant la formation de complexes solubles calciques et magnésiens et seraient donc cités dans la prévention de la formation des calculs [35].

Selon Culpeper<sup>5</sup>, elle a été utilisée dans le traitement de l'ictère, l'obstruction de la rate, la mélancolie, la paralysie, les hémorroïdes, la sciatique et les ecchymoses : les racines doivent être bouillies dans du vin et du sucre ou du miel ajouté. La graine de la garance gorgée de vinaigre et de miel est utilisée pour le gonflement de la rate, les feuilles et les tiges sont utilisées en cas de retard dans les menstruations ou encore les feuilles et les racines sont écrasées et appliquées sur des taches de rousseur et d'autres colorations de la peau [26].

Elle a aussi des propriétés purgatives et cholérétiques par les feuilles. En herboristerie, la garance est connue pour être cholagogue, antilithiasique, astringente et laxative [23,27]. En usage traditionnel la décoction de racine est hypotensive et utilisée dans les infections de l'arbre urinaire, les diarrhées et la stérilité.

Selon Dioscoride<sup>6</sup>, *Rubia tinctorum* (*eruthrodanon*) est diurétique et bon pour soigner la jaunisse, la sciatique, les paralysies, les morsures d'animaux venimeux, les dartres blanches (*leukos alphos*). Il note également qu'il « fait venir les règles, le fœtus et l'arrière-faix » et qu'il consume la rate [21].

Quelques documents de littérature l'indiquent aussi dans les états suivants [36]:

- ✓ Catarrhe
- ✓ Cystites colibacillaires (l'acidité urinaire combat la prolifération microbienne)
- ✓ Etats congestifs

---

<sup>3</sup> Gérard Debuigne : dans son livre intitulé : « *Dictionnaire des plantes qui guérissent* » (Larousse 1972),

<sup>4</sup> Albert Mathieu Leclerc du Sablon : botaniste français, dans son ouvrage « *cours de botanique* », 1933

<sup>5</sup> Nicholas Culpeper dans son célèbre herbier intitulé : « *The English Physician ou The Complet Herbal* »

<sup>6</sup> Dioscoride : (M.M. III, 143), médecin, pharmacologue et botaniste grec dont l'œuvre a été la source principale de connaissance en matière de plantes médicinales durant l'Antiquité

- ✓ Insuffisance rénale chronique
- ✓ Lithiases rénales : phosphocalciques
- ✓ Néphrites suite à une grippe
- ✓ œstrogène insuffisant (ménopause)
- ✓ Ostéoporose
- ✓ Pyérites
- ✓ Rubiadine glucoside
- ✓ Syndrome néphrétique des glomérulonéphrites chroniques.

### **II.3. Médecine contemporaine et croyances populaires**

Une étude réalisée sur des rats au laboratoire a démontré des effets positifs quant à l'administration d'extrait de *Rubia tinctorum* sur la leishmaniose cutanée, une des plus importantes maladies infectieuses dans le monde. En effet, il a été démontré que les extraits de *Rubia tinctorum* gardaient la lésion humide mais empêchaient les infections secondaires et les nécroses [27]. On attribue aussi à cette plante des vertus contre les plaies et les ulcères ainsi qu'une activité aphrodisiaque [37].

De plus, les extraits de *Rubia tinctorum* sont utilisés pour le traitement du rein et de calculs vésicaux en Orient et en Occident [38,39]. Des plantes contenant du 1-hydroxyanthraquinone ont été largement utilisées pour des buts pharmaceutiques comme le traitement de reins et calculs urinaires, en tant que mixture laxative et comme sédatif doux [a. in 38]. La racine de garance a aussi été utilisée médicalement pour les troubles menstruels et urinaires [b. in 38].

En fait, les principes actifs de la plantes désintègrent ou peut être dissolvent les calculs urinaires, phosphatiques et magnésio-calciques dans les reins et la vessie. On considère maintenant cela douteux, les effets s'expliquant comme le résultat de la diminution des spasmes dans le système urinaire due à l'action du groupe entier de principes actifs, ce qui facilite l'élimination des calculs des voies urinaires. Sont également protestés les propriétés diurétiques de ces constituants qui, cependant sont éliminés dans l'urine et lui donnent sa coloration rouge (qui n'a rien à voir avec le sang) [40].

Les racines ont une activité antimicrobienne, antifongique [36,37] par les anthraquinones parmi lesquelles quatre ont été étudiées (3-hydroxy-2-formylanthraquinone, nordmannacanthal, damnacanthal, alizarine 1-méthyléther) qui agissent contre :

- *Cladosporium cucumerinum*,
- *Candida albicans aspergillus fumigatus*
- *Trichophyton mentagrophytes*.

Une autre activité antimicrobienne a été démontrée contre 18 bactéries différentes : *Salmonella typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *S. paratyphi C*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *Shigella flexneri 2a*, *Sh sonnei*, *Sh. largei-sachsii*, *Sh. boydii*, *Sh. ambigua*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli O55*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Mycobacterium tuberculosis var. hominis* [36].

D'autres documents lui attribuent les propriétés suivantes [36,41]:

- ✓ Antioxydant, dont l'activité est comparée à 76% à celle du Trolox<sup>7</sup>
- ✓ Antianémique
- ✓ Anti hémorragique
- ✓ Anti inflammatoire urinaire
- ✓ Apport en fer
- ✓ Augmente la diurèse
- ✓ Draineur hépato vésiculaire
- ✓ Draineur rénal volumétrique et phosphaturique
- ✓ Diminution du pH des urines grâce à l'acide rubérythrique
- ✓ Stimule le péristaltisme intestinal
- ✓ Tonique amer

---

<sup>7</sup> Trolox : Puissant antioxydant analogue structural hydrosoluble de la vitamine E [1].

Au Maroc, elle est aussi utilisée comme plante apéritive pour faire grossir, mais aussi en cas de convalescence où elle a la réputation de permettre la remise en forme. Son usage est beaucoup plus important en cas d'anémie ou encore pour faciliter l'accouchement chez les femmes et même après. En effet, la décoction de la plante entière est prescrite dans les anémies et toutes les maladies du sang. Sa prise quotidienne est conseillée pour augmenter le volume sanguin et améliorer le teint. Sans doute, ces indications ont-elles un rapport avec « la théorie des signatures », tiges et racines étant en effet fortement colorées en rouge du fait de la présence d'une matière colorante. Réputée aphrodisiaque, elle est souvent incorporée au pain dont elle colore la mie en rouge. Sa décoction est administrée aux nourrissons comme antidiarrhéique [34]. Elle est écrasée sous sa forme fraîche et introduite lors de la confection du pain ou encore comme condiment dans la cuisson des plats.

Sous forme de décoction la drogue s'administre à la dose d'une cuillère à café écrasée pour une tasse d'eau ; on fait bouillir pendant environ 20 minutes, 3 fois par jour après le repas. En poudre on la prend en doses de 1gramme également 3 fois par jour, avec une pincée de bicarbonate de soude [40].

Le pouvoir colorant de cette plante n'a pas été difficile à découvrir car les animaux qui en consomment se font repérer de loin : les moutons paraissent maculés de sang, le bec et les pattes des oiseaux sont teintés de rouge et l'effet ne s'arrête pas là car le lait et les os prennent aussi cette teinte [42]. Ceci est effectivement dû au fait que sa fixation est facilitée par la présence de calcaire (parfois additionnée de craie) et d'un mordant, souvent l'alun.



Figure 34 : Colorant de garance fixé sur les arrêtes d'un poisson

La plante est utilisée aussi en infusion ou en extrait liquide. En agriculture les fanes peuvent être utilisées pour l'alimentation du bétail [28]. Elle aurait aussi réapparu au Japon et en Corée en tant que colorant alimentaire autorisé en 1995 et serait contenue dans les boissons, les confiseries, les viandes transformées (jambon et les saucisses) et la pâte de poisson bouilli. L'utilisation de ce colorant n'a pas été autorisée aux États-Unis et dans l'Union Européenne [25,36,39,43,44].

Les dérivés naturels et synthétiques de la plante (les anthraquinones : cf. chapitre chimie), affichent en particulier, de nombreux effets bénéfiques tant chez les mammifères et les êtres humains comme antibactériens, antitrypanosomes et activités antinéoplasiques ; d'autres effets tels que la peroxydation lipidique, l'inhibition de la motilité intestinale et l'inhibition de la télomérase humaine ont également été décrits. Les anthracyclines antibiotiques, qui sont connues pour être des substances clés pour le traitement de plusieurs cancers, sont également des anthraquinones. En plus des propriétés mentionnées ci-dessus, les anthraquinones du genre *Rubia* de la famille des Rubiacées montrent également certains effets physiologiques importants : hépatoprotecteurs, immunomodulant, anti-inflammatoires, antagonistes du canal calcique, antithrombotique ainsi que les activités de liaison des ADN chez les animaux et les humains [45]. Il a même été démontré que *Rubia tinctorum* aurait une activité antibactérienne contre certaines bactéries Gram (+) et Gram (-), levures, champignons filamenteux et actinomycètes [46,47]. Les propriétés antifongiques ont été mises en évidence par la méthode de diffusion des disques [37]. A cela s'ajoute une activité antidiarrhéique par les extraits aqueux de racines [48].

L'alizarine, produit dérivé de la plante, est utilisée sous forme d'alizarine rouge en tant que colorant histochimique qui met en évidence le calcium et particulièrement les dépôts de calcium dans les tissus mous, ou encore dans le dépistage des cristaux de phosphate de calcium dans le liquide articulaire en rhumatologie [49]. Ce colorant est utilisé par les dermatologistes pour détecter le calcium dermique dans les troubles comme *pseudoxanthoma elasticum* (PXE) et *calcinosis cutis* [50] mais aussi en ophtalmologie [51] et comme colorant médicinal et cosmétique [38]. On lui attribue aussi les propriétés de bactéricide, antifongique

spasmodique et facilite l'élimination de calculs urinaires contenant des phosphates de calcium et de magnésium [52].



Figure 35 : Poudre d'alizarine industrielle

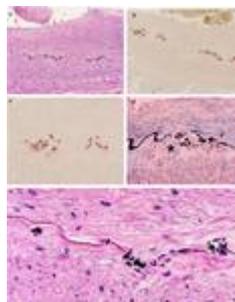


Figure 36 : PXE confirmé par l'alizarine

Concernant le nordamnacanthol, une autre anthraquinone dérivée de la plante, des études suggèrent que celui-ci peut agir comme un système de défense chimique contre les insectes phytophages durant les premiers stades de la croissance des plantes [53].

La purpurine aurait, quant à elle, une activité contre les flagellés responsables de la maladie de Chaggas [27].

## Chapitre III : Composition chimique de *Rubia Tinctorum*

### Introduction

La bibliographie montre la richesse de *Rubia tinctorum*, parties aérienne et souterraine, en dérivés anthracéniques quinoniques essentiellement des anthraquinones. Les anthracènes sont largement distribués dans le règne végétal ; particulièrement chez les Dicotylédones dans les familles des Légumineuses (*Cassia*), Hypericacées (*Hypericum*), Polygonacées (*Rheum*, *Rumex*, *Polygonum*), Rhamnacées (*Rhamnus*), les césalpiniacées (sénés) et Rubiacées (*Rubia*, *Morinda*, *Galium*). Chez les monocotylédones, seulement la famille des Liliacées (l'Aloès) contient cette classe de produits chimiques. Environ 90 % de ces composés dérivent du 9,10-anthracenedione avec plusieurs hydroxy et d'autres groupes fonctionnels, comme le méthyle, l'hydroxyméthyle et le groupement carboxy. Les hydroxyanthraquinones sont les principes actifs de beaucoup de drogues de phytothérapie [c. in 38]. Les anthraquinones sont retrouvées aussi chez les Champignons et les Lichens [54].

### III.1. Généralités sur les anthraquinones

Les anthraquinones sont des composés colorés en orange et rouge ; il s'agit de polyphénols, dérivés de l'anthracène, sous forme oxydée par opposition aux anthrones qui sont la forme réduite. Les anthrones sont souvent accompagnées de leurs formes tautomères : les anthranols, et ils sont interconvertibles en fonction du pH.

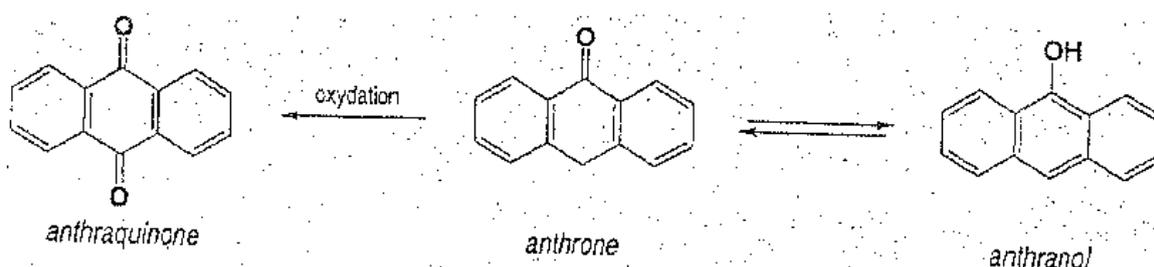


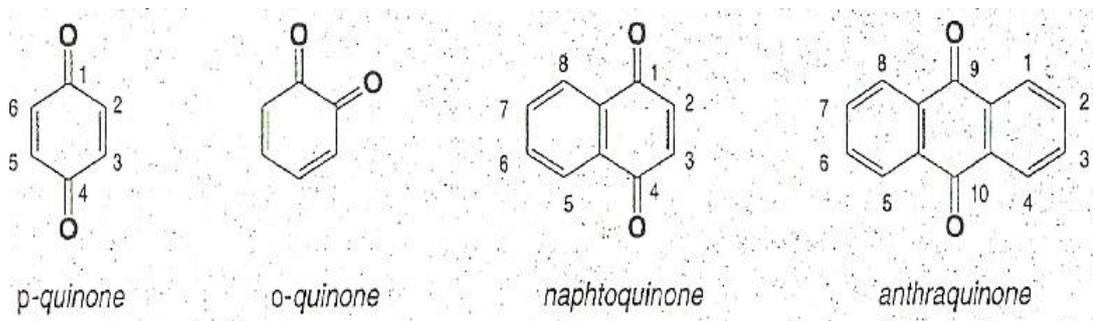
Figure 37 : Interconversion de l'anthrone avec ses formes tautomères

Les anthracénosides, constituent la forme combinée hétérosidique : ce sont des génines liées à des oses banals : glucose, rhamnose, xylose, plus rarement l'apiose. La liaison avec la génine

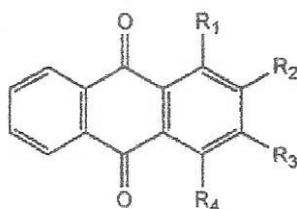
engage souvent l'hydroxyle phénolique en C-8 ou celui en C-6. La génine peut être liée à deux oses [54]. Les composés les plus importants dans les racines de *Rubia tinctorum* sont des anthraquinones ; ils sont rencontrés sous formes libre et hétérosidique (combinée).

### III.1.1. Biosynthèse

Les quinones sont des composés oxygénés issus de l'oxydation de phénols et ils correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques caractérisés par un motif *para*-quinone ou éventuellement *ortho*-quinone. Les quinones naturelles ont leur dione conjuguée aux doubles liaisons d'un noyau benzénique (benzoquinones) ou à celles d'un système aromatique polycyclique condensé : naphtalène (naphtoquinones), anthracène (anthraquinones)... [54].

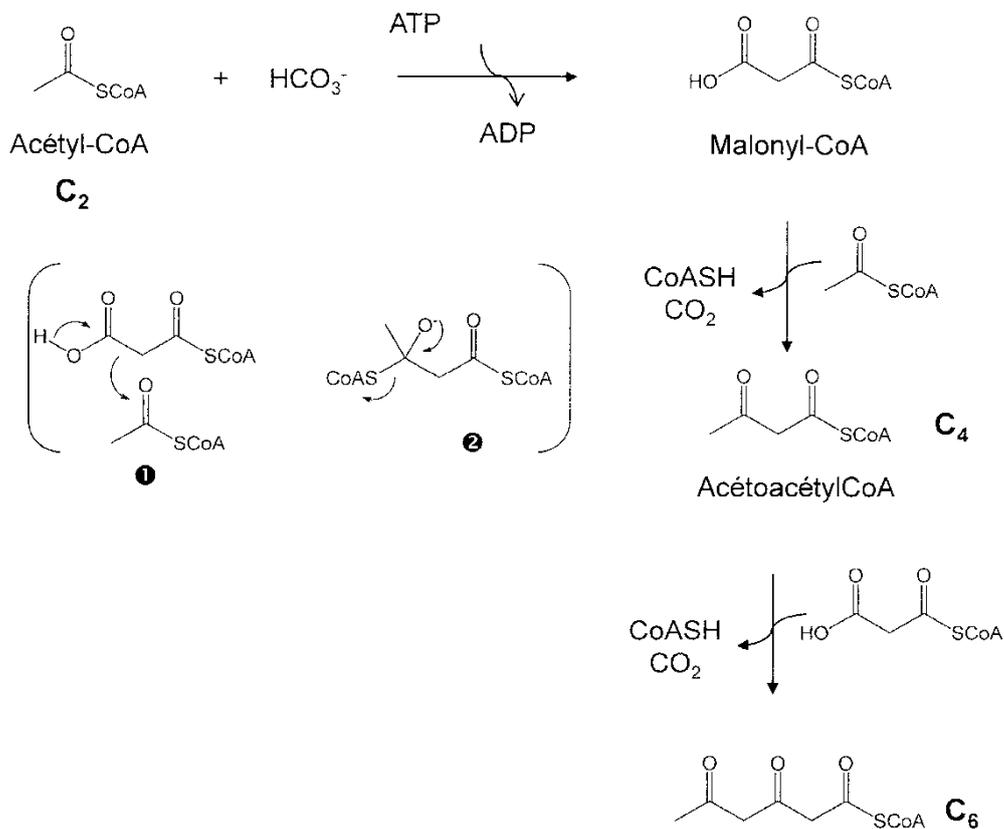


La biosynthèse des quinones est caractérisée par la diversité des voies métaboliques. Pour aboutir aux anthraquinones, deux voies principales sont utilisées : la voie des polyacétates et la voie de l'acide mévalonique précurseur universel des terpènes associé à l'acide isochorismique.

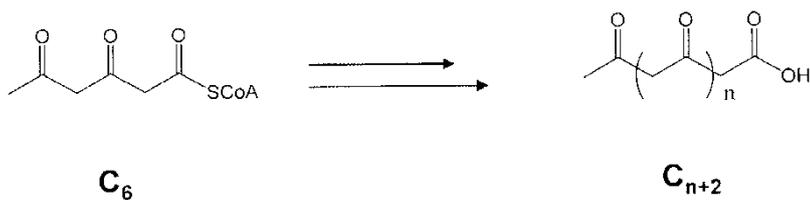


## VOIE DES POLYACETATES

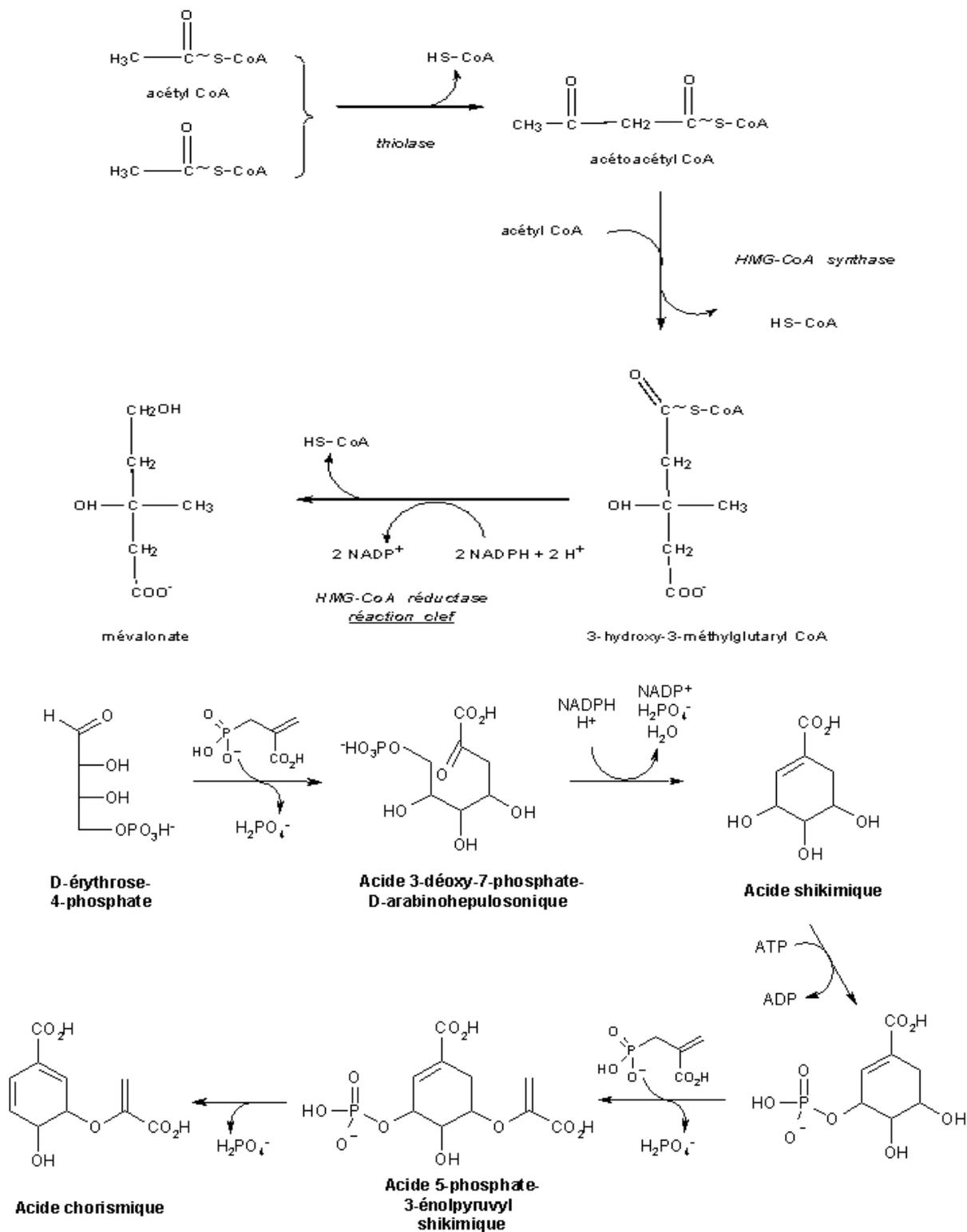
### 1) Formation des chaînes polycétoniques

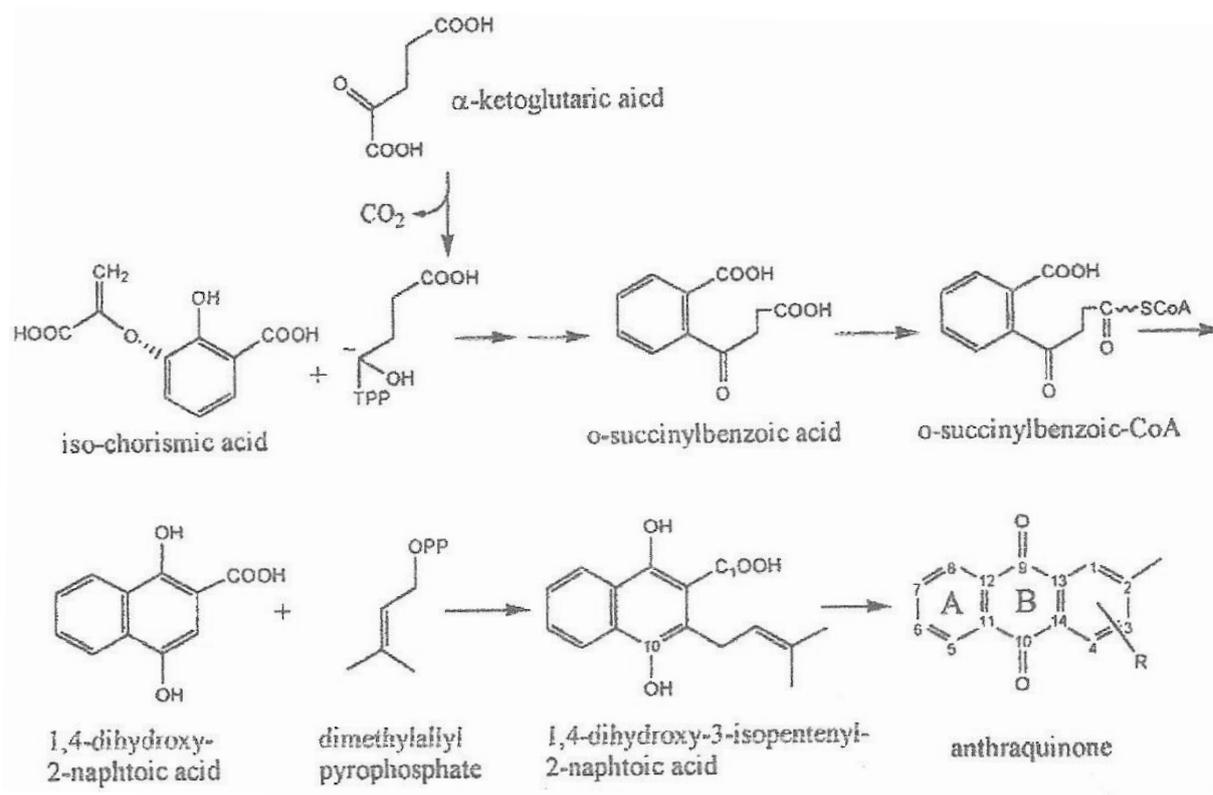


### 2) Cyclisation des chaînes polycétoniques



## VOIE DES ACIDES CHORISMIQUE ET MEVALONIQUE





### III.1.2. Extraction – Isolation – Purification [38,6]

Les anthraquinones peuvent être extraites à l'éther, au chloroforme ou au dichlorométhane. Les glycosides quant à eux sont extraits par des solvants plus polaires tels que l'acétate d'éthyle, le méthanol et l'eau.

Il existe plusieurs méthodes pour le fractionnement et la purification et parmi celles-ci on a :

- La chromatographie sur colonne basse pression
- La chromatographie sur papier ou sur couche mince de silica gel TLC
- La chromatographie en phase gazeuse
- La chromatographie liquide haute performante (HPLC) en phase inverse
- L'électrophorèse capillaire.

Les hydroxyanthraquinones ont été isolées par l'extraction au soxhlet avec l'acétate d'éthyle, l'évaporation du solvant et la dissolution dans le méthanol. La séparation a été accomplie par HPLC avec détection spectrométrique à 410 nm.

Une méthode de HPLC en phase inverse a été développée pour la caractérisation simultanée d'anthraquinones glycosides et aglycones dans les extraits de *Rubia tinctorum*. Les anthraquinones, y compris la lucidine, sont séparées sur une colonne en phase inverse avec gradient d'eau-acétonitrile comme éluant et avec détection ultra-violette à 250 nm. L'élucidation des structures est faite sur la base de spectres de :

- Lumière spectroscopique UV-visible
- Spectroscopie infrarouge
- Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire
- Spectroscopie de masse.

### III.1.3. Propriétés physico-chimiques

Les anthraquinones sont des composés colorés en rouge-orangé. Le squelette carboné et l'aromaticité font la lipophilie de la molécule. Ce sont aussi des polyphénols ce qui fait que le solvant adéquat sous forme génine est le chloroforme, car il est moyennement polaire. Les anthraquinones sont des polyphénols dont on peut tirer profit des réactions générales : en milieu alcalin ils donnent des phénates dont la solubilisation est possible dans l'eau. Cette réaction est spécifique des anthraquinones : c'est la réaction de BORNTRÄGER qui fait rougir une solution contenant des anthraquinones. En utilisant l'acétate de magnésium à la place de la soude, le dérivé obtenu est stable [55].

Les quinones libres ou génines sont pratiquement insolubles dans l'eau et leur séparation passe par les techniques chromatographiques habituelles. L'extraction des hétérosides est réalisée par l'eau dans laquelle ils sont solubles, ou par des solutions hydroalcooliques de titre plutôt faible. L'identification des anthraquinones se fait habituellement en chromatographie sur couche mince (CCM) [54].

### III.1.4. Action pharmacologique

Les formes anthraquinoniques libres n'ont pas d'activité pharmacologique marquée. Ces génines libres présentes dans la drogue ou formées par un début d'hydrolyse gastrique et qui atteignent l'intestin sont absorbées au niveau de l'intestin grêle, sont glucurono-conjuguées au

niveau hépatique et en grande partie éliminées par voie urinaire. On note aussi l'existence d'un cycle entérohépatique.

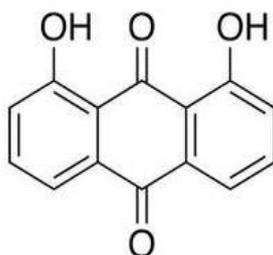
Les hétérosides quant à eux ne sont ni résorbés ni hydrolysés au niveau de l'intestin grêle. Parvenus au côlon, ils sont hydrolysés par les  $\beta$ -glucosidases de la flore intestinale et les anthraquinones libérées sont réduites et vont agir sur la motilité intestinale [54]. Action sur la pompe Na-K-ATPase dans la membrane des cellules des entérocytes : en inhibant la pompe, on augmente le sodium dans les cellules du côlon ce qui entraîne une diminution de la réabsorption d'eau et de sodium. Ceci explique l'effet laxatif.

Ce mécanisme est plus adapté aux constipations occasionnelles et pour un traitement inférieur à 10-15 jours car l'utilisation abusive des anthraquinones peut conduire à des mélanoses rectocoliques [55], par un effet cytotoxique. En effet, ces molécules sont capables d'induire des modifications cellulaires et un dépôt de produits insolubles dans les cellules dont les fragments sont captés par ces macrophages. Un usage immodéré de ces produits peut les rendre agressifs et donc parfois responsables d'une ulcération colique [54].

### III.2. Anthraquinones et autres produits isolés de *Rubia tinctorum* [6, g. in 38,52,56].

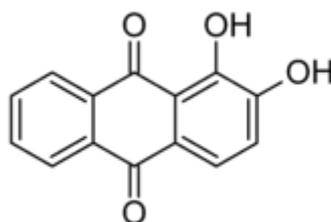
L'étude de la composition chimique des racines de *Rubia tinctorum* a montré sa richesse en anthraquinones sous ses deux formes libre et combinée. Un certain nombre de composés ont été caractérisés par des méthodes analytiques diverses. Ce sont :

- 1,3-dihydroxy-2-ethoxymethylantraquinone,
- 1,8-dihydroxyantraquinone,

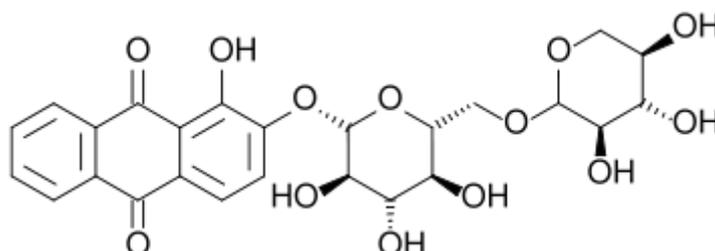


- 1-hydroxy-2-methoxyantraquinone,
- 1-hydroxy-2-methylantraquinone,

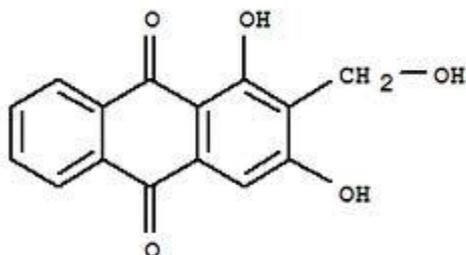
- Alizarine (1,2-dihydroxyanthraquinone), produit d'hydrolyse de l'acide rubérythrique:



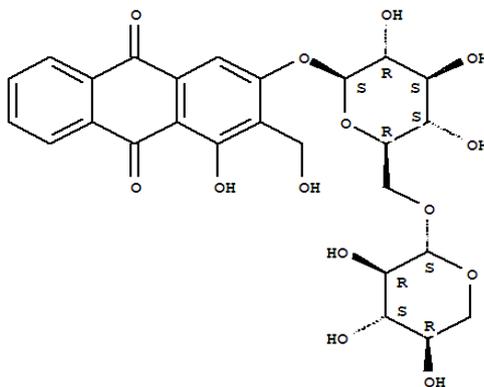
- Acide rubérythrique (alizarine primeveroside; alizarine glycoside ; 1-hydroxyanthraquinone-2-O-β-D-primeveroside):



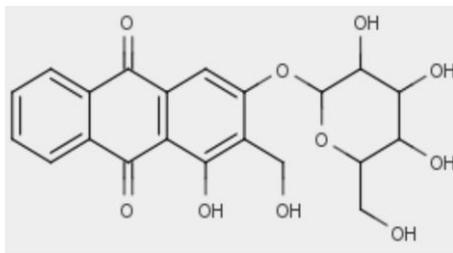
- Lucidine (1,3-dihydroxy-2-hydroxymethylantraquinone)



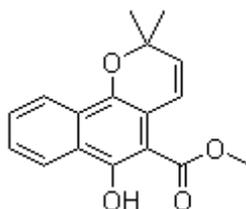
- Lucidin- 3-O-primeveroside (1-hydroxy-2-hydroxyméthylantraquinone-3-O-6-β-D-primeveroside),



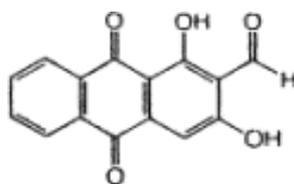
- Lucidine glucoside



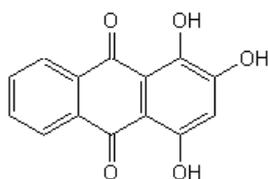
- Mollugine (rubimaillin ou 6-hydroxy-2,2-diméthyl-2H-naphtho [1,2-b] pyran-5-acide carboxylique, ester de méthyle) : c'est une naphthoquinone



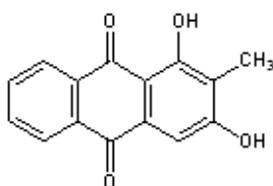
- Nordamnacanthal (1,3-dihydroxy- 2-anthraquinonecarboxaldehyde ou 1,3-dihydroxy-2-formylantraquinone),



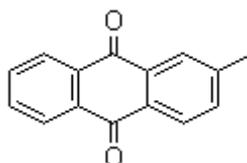
- Purpurine (oxylizarin; 1,2,4-trihydroxyanthraquinone ; Uroérythrine) :



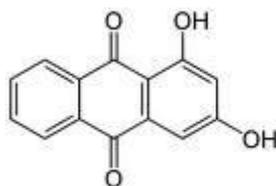
- Rubiadine (1,3-dihydroxy-2-methylantraquinone) :



- Tectoquinone (2-méthylantraquinone),



- Xanthopurpurine (1,3-dihydroxyanthraquinone)



La majorité des anthraquinones présentes dans la plante sont sous forme glycosidique [e. **in 38**]. L'alizarine est le composé le plus connu et étudié de la plante [6]. Elle est présente dans les racines jeunes et s'accumule sous les deux formes conjuguée et libre. Dans les racines âgées elle se présente surtout sous sa forme conjuguée. La lucidine primeveroside, l'acide rubérythrique et la purpurine sont présents dans tous les types de racines. Il existe d'autant

plus de colorants différents qu'elles sont âgées, jusqu'à 19 colorants : le rhizome âgé d'un an n'en contient que quatre. La lucidine primeveroside et l'acide rubérythrique ont montré des teneurs relatives presque identiques. La composition des racines en purpurine augmente en fonction de l'âge [1,57,58].

En plus des composés anthracéniques retrouvés dans les racines, il existe d'autres produits que l'on retrouve essentiellement dans les parties aériennes. Ce sont [c. in 38,6]:

- 1,3-dihydroxyanthraquinone,
- 1-hydroxy-2-hydroxyméthylanthraquinone
- 1-hydroxy-2-hydroxyméthylanthraquinone 3-glucoside,
- 1-méthoxy-2-méthylanthraquinone,
- 2-éthoxyméthylanthraquinone,
- 2-hydroxyanthraquinone
- 2-hydroxyméthylanthraquinone-3-O-β-D-glucoside
- 2-hydroxyméthyl-8-hydroxyanthraquinone-3-O-β-D-glucoside
- 2-hydroxyméthylquinizarine (1,4-dihydroxy-2-hydroxyméthylanthraquinone)
- 2-méthoxyanthraquinone
- 2,6-dihydroxyanthraquinone,
- 3,8-dihydroxy-2-hydroxyméthylanthraquinone 3-glucoside,
- 7-hydroxy-2-méthylanthraquinone,
- 7-hydroxytectoquinone (2-hydroxy-7-méthylanthraquinone),
- Alizarine diméthyléther (1,2-diméthoxyanthraquinone),
- Alizarine 1-méthylether (2-hydroxy-1-méthoxyanthraquinone),
- Alizarine 2-méthylether (1-hydroxy-2-méthoxyanthraquinone),
- Anthragallol (1,2,3-trihydroxyanthraquinone),
- Anthragallol 2,3-diméthylether (1-hydroxy-2,3-méthoxyanthraquinone),
- Anthragallol 3-méthylether (1,2-dihydroxy-3-méthoxyanthraquinone),
- Christofin (1,4-dihydroxy-2-éthoxyméthylanthraquinone,
- Lucidine ω-éthyléther (1,3-dihydroxy-2-éthoxyhéméthylanthraquinone),

- Lucidine glucoside (1-hydroxy-2-hydroxyméthylantraquinone-3-O- $\beta$ -D-glucoside),
- Lucidine  $\omega$ -méthyléther (1,3-dihydroxy-2-méthoxyhéméthylantraquinone),
- Lucidin-O-ethyl éther,
- Munjistine (2-carboxy-1,3-dihydroxyanthraquinone),
- Munjistine méthylester (2-carboxyméthyl-1,3-dihydroxyanthraquinone),
- Pseudopurpurine (2-carboxy-1,3,4-trihydroxyanthraquinone),
- Runiadine (1-hydroxyanthraquinone-2-C- $\beta$ -D-glucoside),
- Quinizarine (1,4-dihydroxyanthraquinone),
- Quinizarine-2-carboxylic acid (2-carboxy-1,4-dihydroxyanthraquinone),
- Xanthopurpurine diéthylméther (1,3-diméthoxyanthraquinone),
- Xanthopurpurine 3-méthylether (1-hydroxy-3-méthoxyanthraquinone).

A ces composés anthracéniques s'ajoutent divers produits tels que [41,6] :

- Scopoletine ou 7-hydroxy-6-méthoxycoumarine (coumarine) ;
- Flavonoïdes
- Acides organiques :
  - Acide citrique
  - Acide cinnamique (dérivés) : hexadecyl ferulate, octadecyl ferulate, eicosyl ferulate
  - Acide tartrique
  - Acide malique
- Iridoides (groupe des monoterpénoïdes) : asperuloside, acide asperulosidique, monotropeine
- Naphtoquinone : lapachol méthyléther
- Vitamine C dans la feuille
- Œstrogène
- Fer.

## Chapitre IV : Toxicité de *Rubia tinctorum*

*Rubia tinctorum* est utilisée depuis des millénaires comme source de couleur rouge avec ses variantes pour la teinture des textiles, en cosmétologie, dans les aliments comme additif mais aussi en tant que drogue aux nombreuses vertus thérapeutiques.

*Rubia tinctorum* contient des anthraquinones en grande quantité. Plusieurs chercheurs européens et asiatiques essentiellement des allemands et des japonais, se sont penchés, dès le début des années quatre vingt, un peu plus sur ces anthraquinones, car, semble t'il, elles auraient des propriétés mutagènes voire même cancérigènes.

Dans ce qui suit, et à partir de données que nous avons rassemblées dans les articles scientifiques publiés mais aussi dans les rapports de l'OMS, de Santé Canada et d'autres grandes instances de la santé, nous présentons les travaux qui ont été réalisés sur la toxicité de la plante.

### IV.1. Toxicités aiguë, subaiguë et chronique

Dans le cadre de l'évaluation de la sécurité de la racine de garance (RG), utilisé comme colorant alimentaire, des tests de toxicité ont été réalisés à l'aide de souris (C57BL / 6 x C3H) F1 des deux sexes. Un test de toxicité aiguë a été effectué par l'administration par gavage pendant **14 jours** de RG dissous dans l'eau distillée à des doses de 0, 500, 2000, 3500, et 5000 mg / kg de poids corporel à des groupes de chaque sexe. Une souris mâle recevant 5000 mg / kg de poids corporel était morte avant la fin de l'étude, indiquant que la dose maximale tolérée de RG a été entre 3500 et 5000 mg / kg de poids corporel. Un essai de toxicité subaiguë de RG a été réalisé avec 62 souris de chaque sexe, avec un régime contenant RG à des concentrations de 0 ; 0,3 ; 0,6 ; 1,25; 2,5 et 5% pour **90 jours**. Toutes les souris ont toléré ces doses de RG. Leur poids n'a pas été affecté par le traitement. Aucune des souris traitées avec RG n'a montré de signes cliniques de toxicité. Un examen histopathologique a montré des kystes de rétention au niveau des reins et des kystes épidermiques vaginaux chez quelques-unes des souris traitées ou de contrôle. Pas de lésions hyperplasiques, préneoplasiques et néoplasiques et aucun signe pathologique de toxicité n'a été trouvé. Ces résultats suggèrent

que l'exposition alimentaire à RG à ces doses n'a pas d'effets toxiques aigus ou subaigus sur des souris [59].

Une autre étude préliminaire de la toxicité chronique et du pouvoir cancérigène a été réalisée. Pendant **90 jours** des doses répétées de 0; 0,6; 1,2; 2,5 et 5,0% de la substance d'essai ont été administrées à des rats F344. Les résultats démontrent des effets toxiques de RG sur le foie (chez les femelles à 5%) et les reins (chez les mâles à 1,2% ou plus; chez les femelles à 0,6% ou plus). En outre, la toxicité sur le système hématopoïétique et/ou de l'os apparaît probablement lorsque les rats sont traités avec 1,2% ou plus de RG à long terme. La dose sans effet toxique ou NOAEL (*No Observable Adverse Effect Level*) a été établie à 0,6% chez les mâles, mais n'a pu être déterminée chez les femelles [60].

Une autre étude plus récente rapporte que l'administration orale et répétée de l'extrait à des rats F344 pendant **13 semaines**, a eu plusieurs effets observés. L'étude a été réalisée sur cinq groupes d'animaux, composés chacun de 10 mâles et 10 femelles. Ils ont été soumis à un régime contenant 0 ; 0,6 ; 1,2; 2,5 ou 5,0% RG. Pendant l'expérience, la diminution du poids corporel était évidente à partir de la dose de 2,5%. Sur le plan hématologique, ont été enregistrées des fluctuations concernant les paramètres des globules rouges, évocatrices de faible anémie chez les femelles et une légère augmentation de la numération plaquettaire chez les deux sexes et de globules blancs chez les mâles a été observée à des doses plus élevées. Concernant le sérum, de légères fluctuations ont été observées concernant de nombreux paramètres : augmentation des protéines totales, de la bilirubine conjuguée, du calcium, et du phosphate inorganique et une diminution du rapport albumine/globuline. Des changements histopathologiques ont été principalement observés dans les tubules rénaux proximaux, comme la dégénérescence vacuolaire microvésiculaire dans le cortex et la caryomégalie dans la médullaire externe chez les deux sexes, les lésions étant évidentes même avec 0,6%. Dans la médullaire externe, l'élévation de l'activité de prolifération cellulaire, appréciée par la prolifération de cellules antigène nucléaire, a été observée chez les mâles en passant à 2,5%. La Sévérité de nécrose focale des hépatocytes n'a augmenté que chez les femelles, à 5,0%, tandis que l'augmentation du poids relatif du foie mais aussi celle de la bilirubine conjuguée a été évidente chez les deux sexes, à la dose de 1,2% [39].

Toujours afin d'évaluer la toxicité chronique de RG, une autre étude a été conduite pendant **53 semaines (une année)** sur des rats F344. Elles ont été soumises à des doses de 0%, 0,2%, 1,0% ou 5,0% de RG. Les effets enregistrés lors de l'étude précédente [39] ont été confirmés. De plus un adénome des cellules rénales a été observé chez un rat mâle recevant la dose de 5,0%. En outre, la glutathion S-transférase (GST) des cellules du foie<sup>8</sup> a été significativement plus élevée à 5,0% chez les deux sexes. Ces résultats suggèrent fortement que RG peut avoir un potentiel cancérigène pour le rein et le foie [44].

Une étude plus récente du pouvoir cancérigène, a été menée pour élucider les effets à long terme de *Rubia tinctorum* et de ses organes cibles. Des rats F344 mâles et femelles ont été soumis à un régime avec des doses de 0%, 2,5% et 5,0% pendant **104 semaines (deux années)**. Le poids corporel a été significativement réduit chez les groupes traités et pour les deux sexes tout au long de la période d'alimentation. Toutefois, les taux de survie à la semaine 104 étaient plus élevés chez les groupes traités chez les deux sexes que chez les témoins. Le poids relatif des reins et du foie a augmenté significativement chez les groupes traités pour les deux sexes. Sur le plan histologique, la fréquence de caryomégalie et d'hyperplasies atypiques des tubules, ainsi que des adénomes et des carcinomes au niveau des cellules rénales a augmenté significativement dans les groupes traités chez les deux sexes. En outre, la fréquence d'adénomes hépatocellulaires et/ou de carcinomes a augmenté de façon significative avec une relation dose-effet dans les groupes traités sans distinction de sexe. Ces résultats montrent, selon les auteurs de cette étude, que RG exerce un pouvoir cancérigène sans équivoque sur les cellules des tubules rénaux et des hépatocytes chez le rat [43].

---

<sup>8</sup> glutathion S-transférase: enzyme protéique qui intervient dans la protection des cellules comme antioxydant et marqueur tumoral

## IV.2. Mise en évidence des effets mutagènes et cancérigènes de *Rubia tinctorum* et de ses dérivés anthraquinoniques

A la fin des années quatre vingt, une équipe de chercheurs allemands a travaillé sur la lucidine (Luc), une anthraquinone majeure de RG. Son activité génotoxique a été étudiée par des tests à court terme. Le composé a été mutagène chez cinq souches de *Salmonella typhimurium* sans activation métabolique, mais le caractère mutagène s'est renforcé après addition d'un extrait de foie de rat. Luc s'est révélée mutagène pour le locus du gène de l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transférase sur les cellules V79<sup>9</sup> et capable d'induire des cassures d'ADN simple brin et des liaisons croisées (cross-links) ADN-protéines. Luc a également induit une synthèse de réparation de l'ADN chez les hépatocytes primaires de rat et de transformer, en culture, les fibroblastes des souris C3H/M2. La lucidinethylether a aussi été étudiée : elle est formée à partir de Luc par extraction de racines de garance avec l'éthanol bouillant et ce composé a également été mutagène chez *Salmonella*, mais seulement après l'addition d'un extrait de foie de rat. La lucidinethylether était faiblement mutagène pour les cellules V79 qui ont été co-cultivées avec des hépatocytes de rats. Le composé n'a pas induit de synthèse de réparation de l'ADN dans les hépatocytes de rats non traités, mais des résultats positifs ont été obtenus lorsque les hépatocytes de rats prétraités avec le phénobarbital ont été utilisés. L'équipe est arrivée à la conclusion que la lucidine et ses dérivés sont génotoxiques [61].

En 1992, des chercheurs japonais isolent plusieurs dérivés d'anthraquinones dans RG qui présentent un effet mutagène sur *Salmonella typhimurium* TA 100 et / ou TA 98 [62]. En effet vingt composés ont été isolés parmi lesquels :

- mollugine,
- 1-hydroxy-2-méthylantraquinone
- 2-éthoxyméthyle- anthraquinone
- Rubiadine
- 1,3-dihydroxyanthraquinone
- 7-hydroxy-2-méthylantraquinone
- lucidin1-methoxymethylantraquinone
- lucidin-3-O-primeveroside

<sup>9</sup> Cellules V79 : lignée de cellules de fibroblaste provenant du tissu pulmonaire d'un hamster chinois mâle et présentant l'avantage d'avoir un temps de régénération court.

Ils possèdent un pouvoir mutagène sur *Salmonella typhimurium* TA 100 et / ou TA 98. Comme les composés mutagènes isolés sont dérivés de l'anthraquinone à l'exception de la mollugine, les relations structure-effet mutagène ont également été étudiées. Les résultats suggèrent que la plus forte activité est due aux 1,3-dihydroxyanthraquinones possédant un groupe méthyle ou hydroxyméthyle sur le carbone 2.

En 1998, Luc a été signalée mutagène chez certaines bactéries et certaines cellules de mammifères. La formation d'ADN "non programmé" ou muté (UDS) dans la culture de tissus de souris après traitement avec ce composé a aussi été démontrée. Pour élucider le pouvoir cancérigène possible de RG, trois groupes de rats mâles et femelles ACI ont reçu soit un régime normal, soit un régime alimentaire supplémenté avec 1 ou 10% de RG, pour une période totale de 780 jours. Le gain de poids et le taux de mortalité n'ont pas été différents entre les trois groupes. Des lésions non néoplasiques liées au traitement ont été constatées dans le foie et les reins chez les deux sexes. En outre, une augmentation dose-dépendante de la formation de tumeurs bénignes et malignes a été observée dans le foie et les reins des animaux traités. Les analyses ont montré une augmentation du niveau global d'UDS dans le foie, le rein et le côlon des rats traités avec 10% de RG dans le régime alimentaire pendant 2 semaines. Ces observations suggèrent que l'utilisation de la racine de garance à des fins médicinales est associée à un risque cancérigène [63].

Dans une autre étude le métabolisme de deux glycosides a été étudié: l'alizarine primeveroside (AIP) et la lucidine primeveroside (LUP). AIP administré par voie orale à des rats a été métabolisé en alizarine (Al) et en 1-hydroxyanthraquinone (1-HA). Le métabolisme de l'ALP a également été observé après le traitement de ce composé avec des enzymes de foie de rat (S9) et le NADPH. 1-HA a été signalé comme induisant la synthèse d'ADN non programmé (UDS) chez les PRH et des tumeurs intestinales et du foie chez le rat après un traitement chronique. La génotoxicité in vitro de 1-HA a été confirmée. Il a également été observé que l'AIP glycoside a été capable d'induire une UDS chez les PRH, mais le composé est inactif sur les microsomes de *Salmonella*. L'administration orale de LuP à des rats conduit à l'excrétion de Luc et de rubiadine (Rub). Lorsque LuP a été traité avec S9 et NADPH, le composé a été réduit en rubiadine primeveroside (RUP), qui a été hydrolysé en Rub. Après la

Luc, Rub est alors également signalée très génotoxique pour *Salmonella typhimurium*. Toutefois, contrairement à Luc, elle requiert une activation métabolique. Dans l'essai d'UDS chez les PRH, Rub a été encore plus puissante que Luc. En outre, le LuP glycoside est actif sur les microsomes de *Salmonella* ainsi que dans l'essai d'UDS. Cette étude a démontré que l'absorption de l'antraquinone glycosides ALP et LuP a conduit chez les rongeurs à la production de cancérogène : 1-HA, Luc hautement génotoxique et Rub [47].

Les patients atteints de longue date de colite ulcéreuse ont un risque accru de développer un cancer colorectal par rapport à la population générale. 1-HA présent dans certaines plantes médicinales telles que *tinctorum Rubia L.* est un cancérigène génotoxique du côlon et de rongeurs. L'alimentation à long terme avec 1-HA induit une prolifération cellulaire dans les cryptes du côlon de rat avec des changements ulcéreux, des abcès des cryptes, une inflammation sévère et l'érosion avant l'apparition de tumeurs, qui sont similaires à ceux trouvés dans l'homme présentant une colite ulcéreuse. En outre, 1-HA a un effet synergique avec l'acétate de méthylazoxyméthanol sur la cancérogenèse colique [64].

Afin de clarifier quel composant est responsable du pouvoir cancérigène de RG, un essai biologique multi-organes à moyen terme a été réalisé sur des rats. Les reins, le foie et le gros intestin ont été particulièrement surveillés. Des rats mâles F344 âgés de six semaines ont subi un régime contenant soit 0,008% ou 0,04% Alz ou Rub, pendant **23 semaines**. Au niveau du rein, 0,04% Rub a augmenté l'incidence des tubules atypiques et des hyperplasies de façon significative dans la médullaire rénale extérieure, un site cible « cancérigène » de RG ; et a également induit des adénomes et des carcinomes au niveau des cellules rénales (15 % et 10% des animaux impliqués, respectivement). La fréquence des hyperplasies atypiques et des tumeurs du rein ont également augmenté de 0,04% d'Alz par rapport au groupe témoin, tout en étant inférieur à celle enregistrée avec Rub. Au niveau du foie, le nombre de foyers GST-P-positif sur coupe de foie de rat et la fréquence d'adénomes hépatocellulaires ont également augmenté avec Rub, avec ou sans signification ( $p < 0,01$ ), mais pas avec Alz. Au niveau du gros intestin, à la fois l'incidence et la multiplicité des dysplasies ont significativement augmenté avec 0,04% de Rub. Ces résultats indiquent le rein comme une cible de Rub et Alz, le potentiel cancérigène de ce dernier étant plus faible. Rub peut

également cibler le foie et le gros intestin, ce qui suggère que Rub joue un rôle majeur dans la cancérogénicité induite par RG [65]. De plus, les deux produits peuvent augmenter les lésions rénales prénéoplasiques [66].

RG a été établie comme ayant un potentiel cancérigène sur le rein de rat en liaison avec la dégénérescence, caryomégalie et augmentation de la prolifération des cellules des tubules rénaux et une augmentation du niveau rénal de 8-hydroxydeshydrogénase (8-OHdG). Afin de clarifier la relation causale des composants et des métabolites de RG à la cancérogenèse rénale, des rats mâles F344 ont été nourris avec Lup ou Alz, et les métabolites génotoxiques Luc ou Rub pour un maximum de **26 semaines**. Après une à quatre semaines, Luc n'a pas induit de changements rénaux. En revanche, après une semaine, une dégénérescence cortico-tubulaire est apparue chez les groupes Alz et LuP, et un gonflement cytoplasmique avec un changement basophile (cytoplasmic swelling with basophilic change) et caryomégalie dans la médullaire externe ont été observés dans le groupe traité au Rub. LuP et Rub ont augmenté l'activité de prolifération des cellules des tubules dans la médullaire externe, et Alz et LuP ont accru le niveau rénal de la 8-OHdG. Après 26 semaines, Alz (mais pas Rub) induit des tubules atypique, une lésion présumée prénéoplasique et caryomégalie dans la moelle externe [55].

En dehors des dérivés d'antraquinone, RG présente aussi d'autres dérivés ayant un pouvoir cancérigène. C'est le cas de la mollugine, une naphtoquinone. Après des analyses sur *Drosophila melanogaster*, la mollugine est mise en cause du fait que les expositions à ce dérivé ont à la fois des activités mutagènes et recombinantes sur l'ADN [67].

### **IV.3. Toxicité chez l'Homme**

La possibilité d'un risque de cancer chez l'homme doit, face aux effets observés sur les animaux, être prise en considération lorsque la garance est utilisée de façon chronique à des fins thérapeutiques.

Les plantes contenant naturellement des dérivés d'antraquinones (rhubarbe, séné, frangula, cascara, aloès) sont très souvent utilisées comme des laxatifs. Une analyse de 11 études traitant les cancers colorectaux et l'utilisation de laxatifs a montré que l'utilisation de laxatifs a

accru le risque de cancer colorectal [j. in **38**]. Par contre une étude plus récente ainsi que l'étude concernant des infirmières aux Etats-Unis n'a trouvé aucune association entre le cancer colorectal et l'utilisation de laxatifs [k. in **38**]. La pertinence de cette preuve de carcinogénicité des anthraquinones contenues dans les herbes utilisées comme laxatifs est inconnue parce qu'il est incertain que l'utilisation de laxatifs en général sous entend forcément l'utilisation d'anthraquinones.

D'autres études ont mentionné les anthraquinones spécifiquement dans l'évaluation de l'utilisation du laxatif comme un facteur de risque pour le cancer. *Melanosis coli* (décoloration des cellules dans le côlon correspondant à la mort des cellules si elle est due à un usage abusif d'anthraquinones) a été utilisé comme un marqueur d'exposition, parce que celui-ci peut à son tour refléter la consommation d'anthraquinones.

En somme, les anthraquinones ne doivent pas être utilisées à long terme et de façon abusive à cause du risque de *melanosis coli* [**68**].

### **Cas particulier du Dantrone**

Dantrone est le nom donné à une spécialité disponible depuis 20 ans et contenant du 1,8-dihydroxyanthraquinone, une anthraquinone laxative par accroissement des mouvements péristaltiques du côlon en excitant le plexus d'Auerbach. Il inhibe l'absorption colique de l'eau et du sodium [**69**].

Le 1,8-dihydroxyanthraquinone est retrouvée dans la plante entière de *Rubia tinctorum* et chez certains insectes. En plus d'être laxatif, il est aussi contenu dans certains colorants [**70**]. Les résultats de deux études de toxicité chronique chez les rongeurs publiées en 1985 et 1986, révèlent que l'administration de Dantrone à forte dose est associée à l'apparition de tumeurs intestinales et hépatiques [**71**]. Il est à l'origine d'une légère augmentation de l'incidence des carcinomes hépatocellulaire et d'une forte augmentation de l'hyperplasie polypoïde adénomateuse du côlon chez la souris mais aussi l'incidence des adénocarcinomes du côlon chez le rat. Chez l'homme, il a provoqué des aberrations chromosomiques in vitro [**70**].

Après avoir examiné les avantages et les risques associés à l'utilisation du Dantrone contenant les laxatifs stimulants, Santé Canada (Ministère du Gouvernement canadien) a conclu en 1997 que Dantrone est un cancérigène génotoxique pour les animaux et que les risques de l'utilisation de ces produits l'emportent sur les avantages thérapeutiques. Bien qu'il n'y ait aucune preuve directe que le « Dantrone » ait causé le cancer chez les humains, il peut cependant avoir un potentiel cancérigène à cause de la présence de 1,8-dihydroxyanthraquinone dans sa formulation. Les fabricants ont volontairement cessé la vente de leurs produits et de la même façon, en mai 2000, la Medicine Control Agency (MCA) du Ministère de la santé au Royaume-Uni, a sévèrement restreint l'utilisation du laxatif. Il est maintenant réservé à un usage en phase terminale chez les patients adultes malades seulement [72].

En plus de l'usage des anthraquinones par voie orale, il existe un risque pour les travailleurs des maisons de colorants et les consommateurs de produits textiles teints avec *Rubia tinctorum*. Ceux-ci devraient donc être prévenus [68].

#### **IV.4. Composés à effet inhibiteur de cancérigènes**

L'alizarine et la purpurine composés rapportés non mutagènes [68] sont signalés comme ayant un effet inhibiteur sur la génotoxicité de nombreux carcinogènes [52,73,74]. Toutefois il est important de noter qu'un faible effet mutagène a été démontré pour l'alizarine pour *Salmonella tiphymurim* [l. in 38].

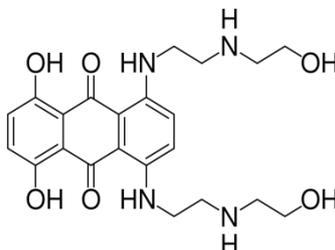
L'alizarine et la purpurine ont supprimé les lésions de l'ADN induites par 7 cancérigènes et les activités génotoxiques de plusieurs agents mutagènes y compris les amines hétérocycliques et les hydrocarbures aromatiques polycycliques sur l'ADN de la drosophile. Leur activité antigénotoxique peut être expliquée par l'inhibition du cytochrome P450, isoenzyme recombinante humaine [73,74,75].

Le ministère de la Santé de la Fédération de Russie a approuvé l'alizarine comme préparation antivirale pour les formes aiguës et récurrentes de l'herpès simplex des domaines extragénital et génital, l'eczéma herpétiforme de Kaposi, les maladies virales de la cavité buccale, zona et la varicelle chez les enfants et les adultes. Actuellement, l'usage thérapeutique de l'alizarine

n'a pas été bien établi. Des précautions doivent être prises pendant la manipulation de ce colorant en raison de l'absence de données de sécurité [72].

La purpurine est un puissant inhibiteur de l'amine hétérocyclique induite par mutagenèse bactérienne spécialement par Trp-P-1 et Trp-P-2<sup>10</sup> activés. Ce potentiel anti-mutagène de purpurine est comparable à celui des antimutagènes reconnus, l'epigallocatechin gallate (EGCG) et la chlorophylline. Le mécanisme d'inhibition a été partiellement caractérisé par Trp-P-2 et a été jugé dépendant du pH. Le mécanisme semble constituer, au moins en partie, une inhibition de la bioactivation par CYP1A2. L'utilisation de bactéries mimant le métabolisme enzymatique de médicaments à usage humain a démontré que ces observations peuvent avoir une certaine pertinence pour des effets anticarcinogènes chez l'homme. La purpurine inhibe également la mutagénicité directe du Trp-P-2 (NHOH), ce qui implique qu'il a un second mécanisme de protection, mais non identifié jusqu'à présent [75].

De plus, sur la base de la structure des anthraquinones, il a été synthétisé un produit anticancéreux indiqué dans les inductions des leucémies aiguës myéloïdes en combinaison avec la cytarabine ou l'étoposide et les lymphomes malins non hodgkiniens. Ce produit est le mitoxanthrone [76].



Dans tous les cas, dans ce travail, ces deux produits n'ont présenté aucun effet sur la carcinogénèse induite par les autres anthraquinones signalés mutagènes.

<sup>10</sup> Trp-P : Métabolite cancérigène métabolisé par le cytochrome hépatique P450 1A

## IV.5. Décisions des grandes instances de la santé

Les inconvénients non négligeables inhérents aux anthracénosides ont conduit, dans le cadre des demandes d'AMM des médicaments à base de plantes, à l'énoncé de règles spécifiques. Les principaux points énoncés dans ce texte sont les suivants :

- La présentation sous forme de tisane en vrac est à proscrire ;
- Le nombre de drogues laxatives introduites dans des associations est limité à cinq dont au maximum deux drogues à principes anthracéniques ;
- L'association entre les drogues à principes anthracéniques et les gommés, mucilages, pectines ou fibre est admise. Mais l'information du corps médical et pharmaceutique ainsi que du public devra être centrée sur les principes anthracéniques. Les mécanismes d'action des drogues ou préparations associées devront être compatibles ;
- L'utilisation des drogues à principes anthracéniques doit être limitée à des périodes courtes ne devant pas dépasser huit à dix jours ; le conditionnement doit être adapté à cette durée ;
- Sachant que la dose maximale journalière chez l'adulte en hétérosides anthracéniques est de 25mg (barabtoïne, glucofranguline A, cascarioside A, sennoside B) ou de 50mg (rhéine), la posologie journalière chez l'adulte est calculée en fonction de la teneur minimale de la drogue en hétérosides anthracéniques telle qu'exprimées aux Pharmacopées française et européenne, chaque unité de prise doit contenir au plus la moitié de la dose usuelle journalière. En cas d'association de drogues entre elles, les quantités de chacune doivent être moindres pour tenir compte de l'action cumulative des différents constituants dont les doses efficaces sont variables ;
- L'administration des laxatifs à principes anthracéniques est contre-indiquée pour les enfants de moins de dix ans. Elle est déconseillée chez les enfants de 10 à 15 ans ainsi qu'en cas de grossesse et pendant l'allaitement.
- L'information du corps médical et pharmaceutique doit mentionner les contre-indications (colopathies organiques inflammatoires [rectocolite ulcéreuse, maladie de Crohn,...], syndrome occlusif ou subocclusif, syndromes douloureux abdominaux de cause indéterminée). Elle doit mettre en garde sur la nécessité de ne pas dépasser huit

à dix jours de traitement. L'information doit également préciser que la prise prolongée peut entraîner des troubles (maladie des laxatifs, situation de dépendance). Comme pour les autres laxatifs, l'information précise que le traitement médicamenteux de la constipation n'est qu'un adjuvant au traitement hygiénodietétique (enrichissement de l'alimentation en fibre végétales, en boisson [eau], conseils d'activité physique et de rééducation de l'exonération). L'association avec des médicaments donnant des torsades de pointe (amiodarone, astémizole, bépripil, brétylium, disopyramide, érythromycine IV, halofantrine pentamidine, quinidiques, sparfloxacine, sotalol, sultopiride, terfénadine, vincamicine) est déconseillée. L'association avec les digitaliques, les diurétiques hypokaliémisants ou les corticoïdes nécessite des précautions d'emploi (surveillance de la kaliémie). Effets indésirables : possibilité de diarrhée, de douleurs abdominales, d'hypokaliémie, de coloration anormale des urines [54].

Aux États-Unis, la Food and Drug Administration (FDA) a la responsabilité des aliments et des médicaments. Ces derniers sont considérés comme des produits qui prétendent traiter, guérir, atténuer ou prévenir une maladie. Les plantes médicinales doivent suivre les mêmes procédures que celles d'un médicament chimique, sinon les produits naturels sont réglementés comme des aliments en vertu d'une obligation pour les ingrédients à être généralement reconnus comme sûrs. Les produits naturels ont généralement le statut GRAS (Generally Recognized As Safe), à condition que ceci soit soutenu par un consensus d'experts. C'est pourquoi les suppléments alimentaires et les herbes sont considérés comme des aliments à condition qu'ils soient généralement considérés comme sûrs et n'aient pas de vertus médicinales. En outre, les ingrédients et les plantes ou parties de plantes doivent être quantifiées et où les ingrédients sont répertoriés avec une référence de pharmacopée, ils doivent satisfaire à la norme prévue dans la pharmacopée. Il ya aussi des exigences spécifiques pour les additifs alimentaires qui doivent présenter une autorisation préalable à la commercialisation par l'autorité [77].

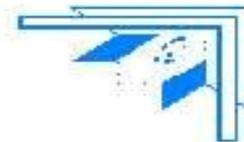
Ceci est important à préciser face à l'utilisation assez désordonnée voire anarchique des produits dits « naturels » ou « 100% bio ». *Rubia tinctorum* compte parmi ces plantes et particulièrement au Maroc, son usage n'est pas réglementé.

**OMS:** La commercialisation par les sociétés phytosanitaires de leurs spécialités contenant de l'antraquinone doit s'arrêter le 1<sup>er</sup> Juin 2009 (retrait d'AMM) selon un avis officiel publié au Journal Officiel du 14 Mars 2009. La date limite d'écoulement des stocks à la distribution de ces produits est fixée au 30 novembre 2009. La fin de leur utilisation proprement dite est programmée au 15 Juin 2010. Les graines semées à l'automne 2010 ne devront pas avoir reçu de protection avec un traitement à base d'antraquinones [76].

Depuis 1987, d'autres instances ont pris des décisions allant dans ce sens. Ce sont en outre [78]:

- L'Office Fédéral de la Santé en Allemagne (Janvier 1987)
- Le Ministère de la Santé et des Affaires Sociales au Japon (Février 1987)
- La Food and Drug Administration aux Etats-Unis (Mars 1987)
- Le Committee on Safety and Medicines en Grande-Bretagne : première restriction (Avril 1987) et une seconde (Mai 2000)
- Le Ministère de la Santé à Singapour (Janvier 1988)
- Santé Canada au Canada (Novembre 1997).

Ces dernières années, il a été démontré que plusieurs hydroxyantraquinones naturelles et synthétiques sont mutagènes. La toxicité des anthraquinones n'est donc pas une spécificité de *Rubia tinctorum*. En effet, d'autres plantes tels que *Cassia angustifolia* et *Cassia fistula* de la famille des Légumineuses contenant des anthraquinones ont aussi été étudiées dans ce sens et la toxicité de ces composés s'est avérée réelle [79].



## DEUXIEME PARTIE

### Recherche de principes signalés “mutagènes-cancérigènes” dans des échantillons de rhizome de *Rubia tinctorum* d'origine marocaine



## Introduction

*Rubia tinctorum* est très prisée par les femmes marocaines, comme purgatif, après l'accouchement. La décoction de la plante entière ou des racines est aussi prescrite dans les anémies et toutes les maladies du sang. Sa prise quotidienne est conseillée pour augmenter le volume sanguin et améliorer le teint. Réputée aphrodisiaque, elle est souvent incorporée au pain dont elle colore la mie en rouge et utilisée condiment dans la cuisson des plats. Sa décoction est administrée aux nourrissons comme antidiarrhéique.

Des dérivés anthraquinoniques ont été retrouvés en quantité importante dans les échantillons européens et asiatiques de *Rubia tinctorum*. Certains parmi eux sont établis comme mutagènes et potentiellement cancérigènes. Cette toxicité sur laquelle de nombreux scientifiques ont travaillé a poussé les grandes instances de la santé à faire retirer ces dérivés de tous les produits de consommation alimentaires, sanitaires voire même d'autres secteurs (cosmétique, textile...)

Aucun travail d'envergure officielle et scientifique n'a été abordé quant à l'étude de cette plante au Maroc. Nous nous sommes donc proposé, dans cette deuxième partie du présent travail, de pratiquer des analyses sur des échantillons marocains des racines, dans le but de vérifier la présence de ces mutagènes et peut être aussi, à travers ce travail, faire prendre conscience des dangers de l'utilisation abusive **d'el foua** aux de professionnels de la santé pour les consommateurs.

## Chapitre I : Screening phytochimique

Le screening phytochimique consiste à détecter de façon qualitative les principales familles de produits naturels qui peuvent se trouver dans un échantillon végétal. Dans ce travail, ce screening concerne la recherche de:

- Tanins flavaniques (condensés ou tanins proanthocyaniques)
- Alcaloïdes
- Anthracénosides
- Saponosides.

### I.1. Détection des tanins flavaniques : tanins condensés ou tanins proanthocyaniques

Les tanins sont des complexes polyphénoliques capables de précipiter les protéines. On distingue classiquement deux types de tanins : les tanins flavaniques et les tanins hydrolysables. La réaction qui permet leur détection est la réaction classique de Batesmith qui consiste à traiter des tanins à chaud en milieu acide pour libérer les anthocyanes correspondants de couleur rougeâtre (rouge à rouge violacé selon la drogue) [56].

#### ❖ Manipulation :

- introduire, dans un tube à essais, 300 mg environ de matériel végétal broyé et 10 ml d'acide chlorhydrique 2N,
- porter le tube à essais au bain-marie bouillant pendant au moins 15 minutes, il doit se développer alors une coloration rougeâtre,
- laisser refroidir le tube complètement,
- rajouter 3 ml de butanol,
- confronter les deux phases.

La phase organique devient rougeâtre : elle a extrait les anthocyanes formés.

❖ **Résultats :**



**Figure 38 : détection des tanins flavaniques**

- Témoin *Acacia sp* (à droite) : coloration rouge
- Echantillon *Rubia tinctorum* (à gauche) : coloration vert jaunâtre

❖ **Conclusion :** La réaction est négative pour notre échantillon de *Rubia tinctorum* ; il ne contient donc pas de tanins flavaniques.

## I.2. Détection des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des molécules organiques hétérocycliques azotées basiques pouvant avoir une activité pharmacologique [1]. La propriété générale la plus utilisée pour la caractérisation des alcaloïdes est la formation de précipité, blanc ou coloré, en milieu aqueux acide avec certains sels de métaux lourds complexes iodés. Dans la pratique on utilise souvent :

- Une solution neutre d'iodomercurate de potassium : réactif de Mayer
- Une solution acide d'iodobismuthate de potassium : réactif de Dragendorff [56].

❖ **Manipulation :**

- réduire en poudre, au mortier, le matériel végétal fourni,
- ajouter 10 ml environ d'une solution d'acide sulfurique à 1%,
- laisser macérer, en triturant, pendant 5 minutes,
- filtrer sur papier filtre,

- partager le filtrat entre 2 tubes :
  - ajouter dans le premier tube 3-4 gouttes de réactif de Mayer.

L'extrait devient alors trouble et un précipité blanchâtre se forme progressivement,

- ajouter dans le deuxième tube 3-4 gouttes de réactif de Dragendorff.

L'extrait devient alors trouble et un précipité rougeâtre se forme progressivement.

❖ **Résultats :**



**Figure 39 : Détection des alcaloïdes de *Peganum harmala***



**Figure 40 : Détection des alcaloïdes de *Rubia tinctorum***

- Témoin *Peganum harmala* (fig. 39) : présence d'un précipité blanc en présence du réactif de Mayer (M) et d'un précipité rouge en présence du réactif de Dragendorff (D).
- Echantillon *Rubia tinctorum* (fig. 40): pas de précipité.

❖ **Conclusion :** la réaction est négative pour notre échantillon. Il ne contient donc pas d'alcaloïdes.

### I.3. Détection des anthracénosides

Les anthracénosides sont des dérivés phénoliques de l'antracène existant à différents états d'oxydation : la forme réduite (anthrones-anthranols) et la forme oxydée (anthraquinones). Ils sont présents dans la plante, souvent, sous forme hétérosidique. Leur caractérisation se fait par la réaction de Börntrager : les solutions d'anthraquinones libres donnent en présence d'un alcali une coloration rouge plus ou moins violacée donnée en général par les quinones. Les hétérosides de quinones ou anthraquinones doivent être hydrolysés et/ou oxydés au préalable [56].

#### ❖ Manipulation :

- introduire dans un tube à essais 500 mg environ de matériel végétal finement broyé,
- ajouter 10 ml d'une solution d'acide chlorhydrique 2N,
- porter au bain-marie pendant 10 minutes,
- filtrer sur papier filtre dans un tube à essais,
- ajouter au filtrat refroidit 10 ml de toluène et agiter avec précaution pour confronter les deux phases,
- transférer le toluène après décantation, dans un autre tube, à l'aide d'une propipette,
- agiter le toluène avec un volume égal d'une solution de NaOH 1N.

La couche aqueuse devient alors rougeâtre.

#### ❖ Résultats :



Figure 41 : Détection des anthracénosides de *Rubia tinctorum*

- Témoin *Cassia angustifolia* : la couche aqueuse devient rougeâtre (à violacée)
- Echantillon *Rubia tinctorum* : la couche aqueuse devient rougeâtre (Fig. 41).

❖ **Conclusion** : la réaction est positive pour notre échantillon. Il contient donc des anthracénosides.

#### **I.4. Détection des saponosides**

Les saponosides sont des hétérosides naturels ayant comme propriétés physicochimiques les plus caractéristiques, la modification de la tension superficielle et le pouvoir moussant en solution aqueuse. Un test préliminaire de détection peut être pratiqué par simple agitation d'une décoction de la drogue examinée [56].

❖ **Manipulation** :

- mettre 1g de matériel végétal, finement broyé, dans un erlen ou ballon de 200 ml,
- additionner 100 ml d'eau distillée,
- porter à ébullition pendant 20 minutes
- filtrer sur papier filtre dans erlen de 100 ml et compléter, au volume,
- introduire dans un tube à essais 2 ml de décoction et 8 ml d'eau distillée,
- agiter le tube horizontalement et fortement pendant 20 secondes et laisser reposer sur un porte tubes.

La formation et la persistance d'une mousse, pendant au moins 15 minutes, indiquent la présence probable de saponosides.

❖ **Résultats :**



**Figure 42 : Mousse obtenue pour la détection des saponosides**

- Témoin *Saponaria officinalis* : formation d'une mousse qui persiste au delà de 15 minutes.
- Echantillon *Rubia tinctorum* : formation d'une mousse de quantité et qualité quasiment identiques au témoin qui persiste au delà de 15 minutes (fig. 42).

❖ **Conclusion** : la réaction est positive pour notre échantillon. Il contient donc des saponosides.

A partir de ce screening phytochimique, nous pouvons alors conclure que nos échantillons de racines de *Rubia tinctorum* contiennent effectivement des anthraquinones et des saponosides mais sont déficients en alcaloïdes et en tanins flavaniques.

## **Chapitre II : Analyse chimique d'échantillons de racines de *Rubia tinctorum* d'origine marocaine.**

L'analyse chimique d'échantillons de *Rubia tinctorum* consiste tout d'abord à faire passer les principes contenus dans les racines vers un solvant, grâce à une forte affinité, en utilisant des méthodes d'extraction à froid ou à chaud. Les principes extraits sont ensuite séparés par chromatographie, révélés et caractérisés par la lumière ou des réactions colorimétriques puis récoltés afin d'être identifiés.

### **II.1. Extraction**

#### **II.1.1. Généralités**

Les techniques utilisées dans ce travail pour réaliser les extractions sont :

- L'extraction au soxhlet
- L'extraction par macération à froid.

La technique d'extraction au soxhlet est une méthode d'épuisement continue. Elle se fait par le transfert d'un ou plusieurs composés de la drogue vers une phase organique polaire ou non polaire en fonction du degré d'affinité et/ou de miscibilité avec le solvant d'extraction approprié. C'est une méthode d'extraction à chaud.

La macération à froid quant à elle est une opération qui consiste à laisser séjourner dans un liquide, à la température ambiante, une substance dont on veut extraire les principes solubles.

#### **II.1.2. Réalisation**

Le matériel végétal, 30g de racines réduites en poudre, est introduit dans une cartouche à soxhlet dont le ballon contenant 250ml de chloroforme. Le ballon est posé à l'intérieur d'une calotte chauffante qui maintient le solvant à ébullition à une température constante (Fig. 43).



**Figures 43 : Soxhlet en cours d'extraction**

Pendant environ 72 heures, le soxhlet fait passer un cycle toutes les 10 minutes environ jusqu'à épuisement total du contenu de la cartouche. Ainsi, en suivant l'évolution des cycles, on voit défiler un extrait jaune orangé qui devient rouge, puis jaune vers la fin de l'extraction.

Lorsque le contenu de la cartouche est épuisé, on récupère une solution rouge-orangée contenant les extraits de la plante contenus dans le solvant, ici le chloroforme (Fig. 44). Cette solution est concentrée à l'évaporateur rotatif de façon à obtenir un extrait sec qui constitue notre extrait chloroformique (EC) (Fig. 45).



**Figure 44 : Extrait chloroformique liquide**



**Figures 45 : Extrait chloroformique en évaporation dans un évaporateur rotatif**

On en retire environs 1.62g d'extrait sec.

Rendement à l'extraction 1,62

Pourcentage 6,7%

Extraction par macération :

Le matériel végétal résiduel est ensuite laissé macérer pendant 24 heures dans un ballon contenant 300ml d'acétate d'éthyle. On filtre et on récupère un liquide jaune doré (EAE) (Fig. 46). Le solvant est évaporé à l'évaporateur rotatif afin d'obtenir un produit concentré, qui servira pour les chromatographies.



**Figure 46 : Liquide jaune doré de l'extrait d'acétate d'éthyle**

Rendement à l'extraction	2,66
Pourcentage	8,86%

Le matériel végétal résiduel après filtration est laissé macérer dans un ballon contenant 300ml d'un solvant plus puissant que le chloroforme et l'acétate d'éthyle : le méthanol (Fig. 47). Ceci afin de récupérer un maximum des composés restant.



**Figure 47 : Extrait méthanolique en macération**

Rendement à l'extraction	1,61
Pourcentage	5,36%

Le produit de la macération est concentré à l'évaporateur rotatif. On obtient l'extrait méthanolique (EM) :

## **II.2. Analyse des extraits chloroformique et méthanolique**

### **II.2.1. Chromatographie analytique**

La chromatographie analytique est effectuée par chromatographie sur couche mince (CCM) : c'est une chromatographie d'adsorption.

- ❖ **Principe :** Un faible volume d'extrait est déposé sur une plaque chromatographique dont la partie inférieure est immergée dans un solvant. Celui-ci monte par capillarité le long de la plaque et entraîne les composés de l'extrait à des vitesses différentes selon

leur affinité pour le solvant. Ces composés séparés sont rendus visibles par l'emploi de réactifs chimiques ou en utilisant une lampe à ultraviolet (UV).

Toutes les CCM sont réalisées sur des plaques conçues à base de gel de silice sur des feuilles d'aluminium.

- ❖ **Réalisation :** Les trois extraits (EC, EAE et EM) sont repris dans leurs solvants respectifs de façon à obtenir trois phases liquides concentrées. Une chromatographie est effectuée pour l'analyse qualitative afin d'obtenir un profil de migration et donc permettre la séparation des produits. Chacune des phases subit une migration dans une cuve (Fig. 47) saturée à :
  - 100% de chloroforme (Fig. 50)
  - 5% de méthanol + 95% de chloroforme (Fig. 51).

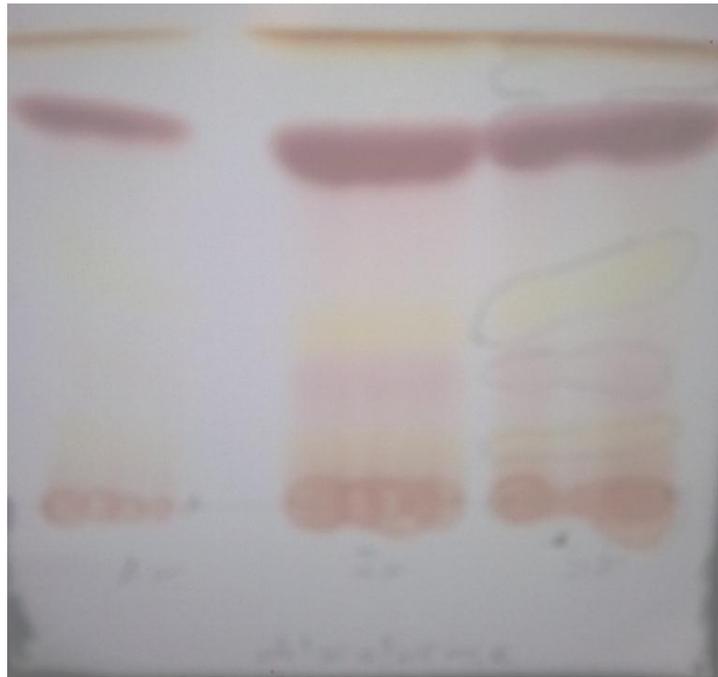
La révélation des chromatogrammes après migration se fait tout d'abord à la lumière naturelle puis à l'aide d'une lampe UV à 254 et à 365nm (Fig. 48).



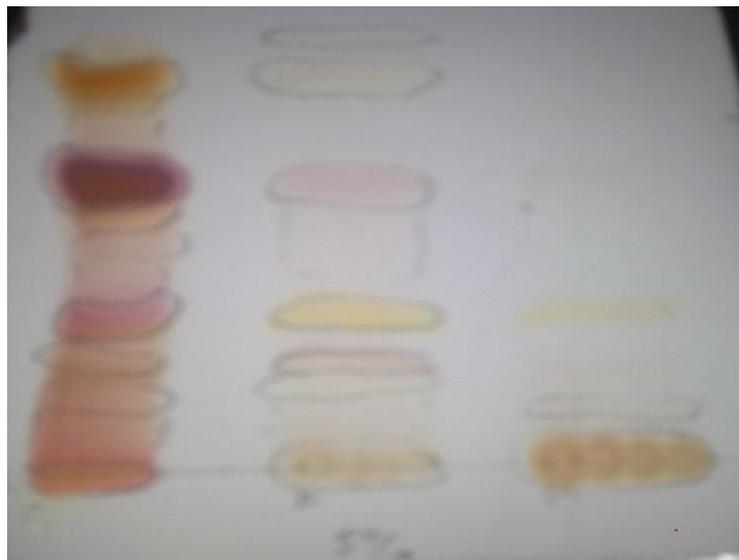
Figure 48 : Cuve de migration CCM



Figures 49 : Lampe UV à 256 et 365 nm



**Figure 50 : Migrations en concentrations croissantes d'EC dans 100% de chloroforme et observation à la lumière naturelle**



**Figure 51 : Migration dans 5% de méthanol et observation à la lumière naturelle**

Pour caractériser les anthraquinones, on utilise la réaction de Börntrager en faisant passer la plaque de silice après migration au dessus de vapeurs d'ammoniaque. Au niveau des bandes de migration les mélanges qui comportent des anthraquinones sont colorés en rouge plus ou moins violacé.

La CCM de l'extrait EC permet de séparer plusieurs produits depuis le dépôt jusqu'au front de migration avec un produit pourpre, un jaune et un bleu ciel (observable en fonction des différentes lumières appliquées). La CCM au méthanol (EAE) présente des coloris en moindre quantité et plus ou moins identiques à ceux d'EC, mais avec une disposition totalement différente. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que les différents solvants n'ont pas extraient les mêmes produits à partir du matériel végétal. En effet, le chloroforme est un solvant moins polaire que le méthanol, il va extraire les produits les plus lipophiles contenus dans le matériel végétal. En se basant sur le screening phytochimique et la réaction de Börntrager, on peut déduire que certains des produits lipophiles sont les formes génines d'anthraquinones et de même, les produits rapportés par le méthanol sont les hétérosides, plus polaires.

Après CCM dans le chloroforme 100% et le mélange méthanol/ chloroforme (5-95%) des extraits EC, SEM et EAE, il en ressort que les profils chimique de EM et celui de EAE sont similaires.

L'hydrolyse, réalisée ci-après, des extraits EAE et EM a montré que les hétérosides de ces deux phases polaires sont à base des mêmes génines natives extraites dans le chloroforme.

❖ **Manipulation :**

- Prélever 20ml de chaque extrait, concentrer à l'évaporateur rotatif
- Ajouter 100ml de HCL 2N
- Chauffer le tout pendant une heure
- Refroidir et confronter au chloroforme pour séparer une phase aqueuse d'une phase chloroformique dont la dernière est concentrée et soumise à une CCM.

## ❖ Résultats :



**Figure 52 : Migration dans 100% de méthanol d'EC et de l'Hydrolysat et observation à la lumière naturelle**

Le chromatogramme obtenu, comparé à celui d'EC ainsi que les colorations obtenues aux vapeurs d'ammoniaque, montrent que les génines contenues dans les différentes phases sont les mêmes.

Les échantillons étudiés comportent bien des anthraquinones. Pour en connaître la nature exacte, nous allons passer à l'étape de purification par une chromatographie préparative.

### **II.2.2. Chromatographie préparative : chromatographie sur colonne**

Pour réaliser la chromatographie préparative, nous avons utilisé la technique de chromatographie sur colonne (CC).

❖ **Principe :** Le principe de la CC repose sur le même principe que celui de la CCM : les espèces chimiques à séparer sont plus ou moins entraînées par un éluant sur une phase fixe :

- La phase fixe est un solide, le plus souvent de la silice ou de l'alumine remplissant une colonne ;

- L'échantillon est déposé en haut de la colonne. La séparation des espèces chimiques est obtenue par l'écoulement continu d'une phase mobile (l'éluant) à travers la colonne ;

La séparation est basée sur une différence de vitesses d'entraînement des espèces chimiques vers le bas de la colonne.

Les principaux produits séparés sont observés et détectés à la lumière naturelle et à l'UV (254 et 364nm).

❖ **Réalisation** : Dans une colonne contenant de la silice, on incorpore 10ml de concentré d'EC qu'on laisse s'imprégner dans la silice. Puis on rajoute le chloroforme au fur et à mesure en évitant le dessèchement de la colonne et permettre une fluidité dans la migration des produits. Les composés sont recueillis en fonction des coloris, de façon plus ou moins individuelle dans des tubes à essais ou des ballons selon la quantité.

La silice est rincée avec du méthanol à la fin de la chromatographie.



Figures 53 : Etapes de réalisation de la chromatographie préparative sur colonne et séparation de fractions.

Au total, 21 fractions ont été obtenues et regroupées après CCM car il existe des ressemblances entre elles de la façon suivante :

Fraction d'origine	F1	F2	F3	3 1	3 2	3 3	3 4	3 5	3 6	3 7	3 8	3 9
Fraction obtenue après regroupement	F1	F2	F3	3 1						3 7		

Fraction d'origine	F4	4 1	4 2	4 3	F5	F6	F7	F8	F9
Fraction obtenue après regroupement	F4	4 1			F5	F6	F7		

La fraction F6 se s'alignant pas de façon logique avec les autres résultats a été éliminée, ramenant le résultat des fractions obtenus à 9. Cela peut s'expliquer par le fait que F6 ait été obtenue juste après le lavage au méthanol.

### II.2.3. Mise en évidence des produits majoritaires

Chacune des fractions obtenues a été analysée par CCM afin de mettre en évidence les produits majoritaires, les séparer et les purifier (Fig. 54 et 55).

Plusieurs mélanges de solvant sont testés afin d'obtenir le mélange adéquat pour permettre une bonne séparation pour les fractions qui comportent plusieurs composés.

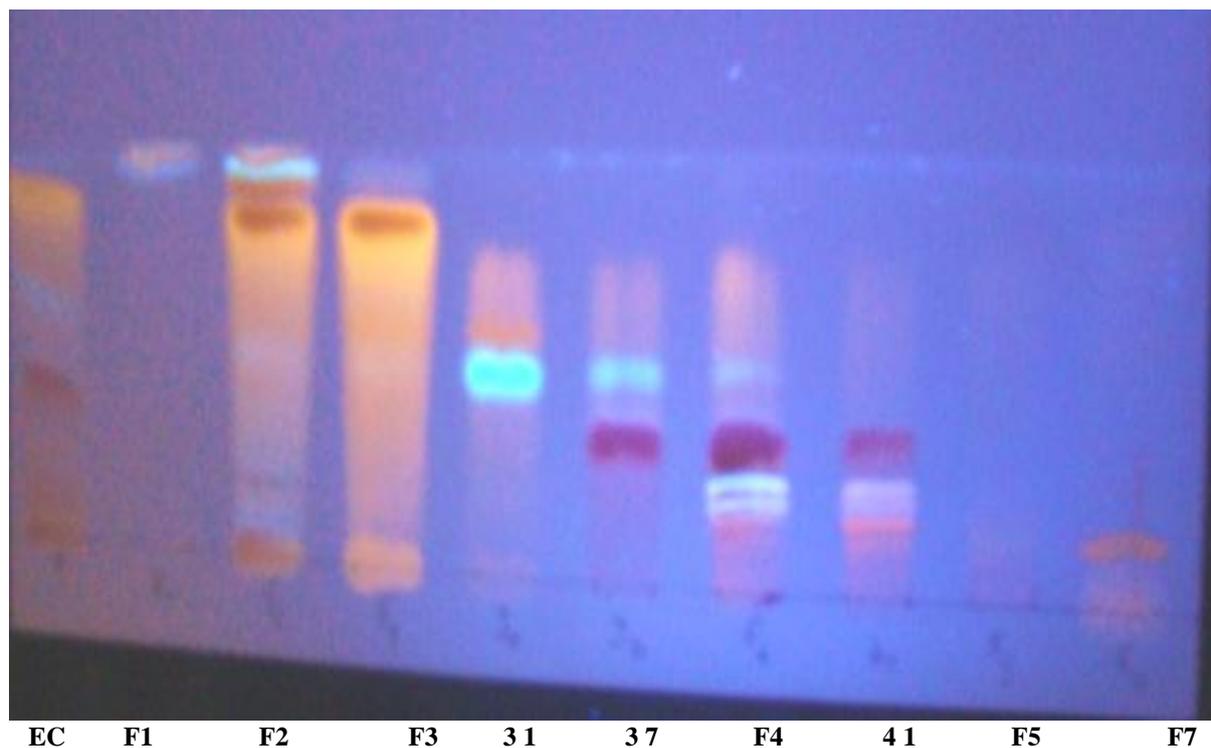


Figure 54 : CCM de mise en évidence des produits majoritaires

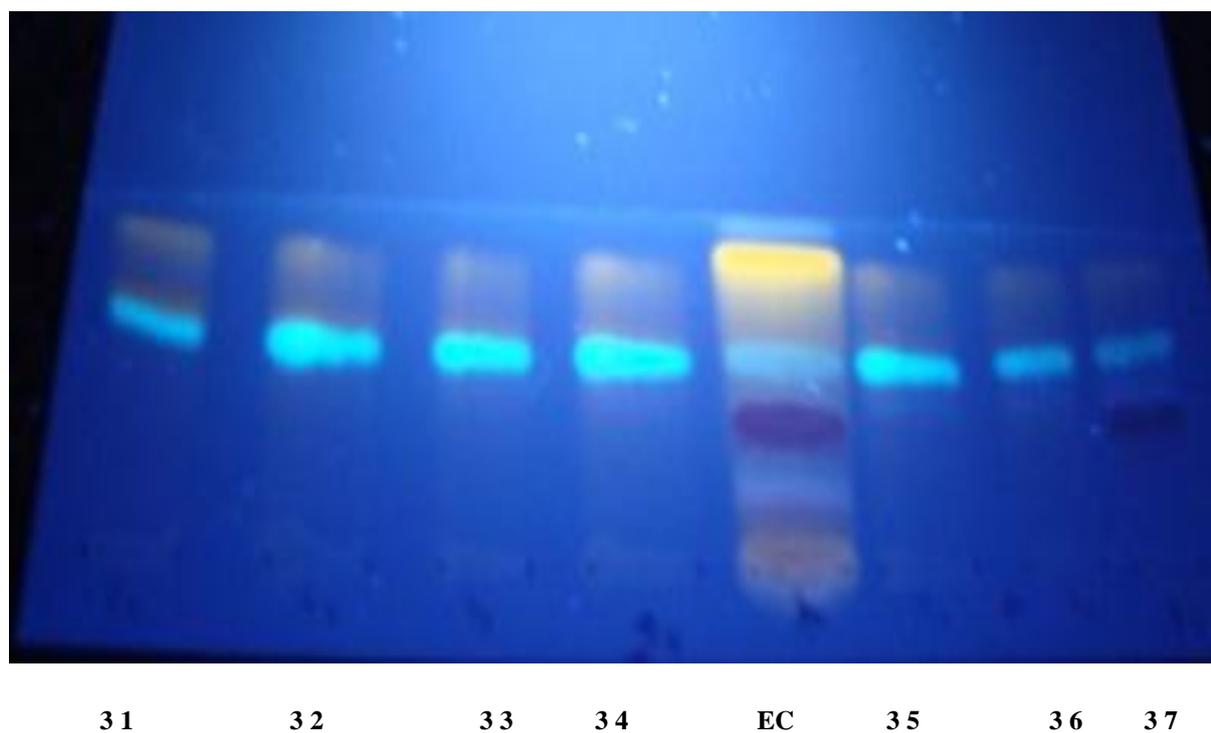


Figure 55 : CCM de mise en évidence des produits majoritaires (détail des fractions 3 1 à 3 7)

Plusieurs chromatographies ont été réalisées et les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Fraction	F1	F2	F3	3 1	3 7	F4	4 1	F5	F7
Mélange utilisé pour la séparation	100% chloroforme	100% chloroforme	5% de chloroforme dans le toluène	50% de chloroforme dans le toluène	100% chloroforme	100% chloroforme	5% de méthanol dans le toluène	-----	5% de méthanol dans le chloroforme
Produit récolté (en fonction du coloris)	Jaune	Bleu	Jaune orangé	Bleu	Bleu et pourpre	Pourpre	Pourpre	Mélange de coloris	Orangé

Les fractions jugées exploitables vont servir à la purification des produits majoritaires contenus dans le matériel végétal ici traité.

Les fractions F1, F3, 3 1, 4 1 et F7 ont permis de mettre en évidence la présence de 5 produits majoritaires différenciables à partir de leurs couleurs respectives à la lumière naturelle ou UV.

A partir de chaque fraction, une chromatographie est réalisée sur la totalité de la plaque de dimensions 20cmX20cm.

## **Chapitre III : Caractérisation des anthraquinones : génines et hétérosides**

Dans les étapes précédentes de ce travail, nous avons extrait un certain nombre d'anthraquinones contenus dans quatre fractions différentes obtenues à partir de nos échantillons. A partir de ces fractions et des extraits méthanolique et chloroformique, nous allons procéder à l'identification des produits en utilisant trois procédés complémentaires. Ce sont :

- La chromatographie liquide haute performance
- La spectrophotométrie UV-Visible
- La spectrométrie de masse.

### **III.1. Généralités sur les procédés utilisés**

#### **III.1.1. La chromatographie liquide haute performance (HPLC) [80]**

C'est une technique de séparation des constituants d'un mélange en fonction de la polarité. Un fluide (phase mobile) parcourt un tube (la colonne ou phase stationnaire) qui peut contenir des "granulés" poreux (colonne remplie) ou être recouverte à l'intérieur d'un film mince (colonne capillaire).

A l'instant initial, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne à travers la colonne. Les constituants du mélange (solutés) sont inégalement retenus lors de la traversée de la colonne. De ce phénomène appelé rétention, il résulte que les constituants du mélange injecté se déplacent tous moins vite que la phase mobile et que leurs vitesses de déplacement sont différentes. Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres. Un détecteur placé à la sortie de la colonne couplé à un enregistreur permet d'obtenir un tracé : le chromatogramme.

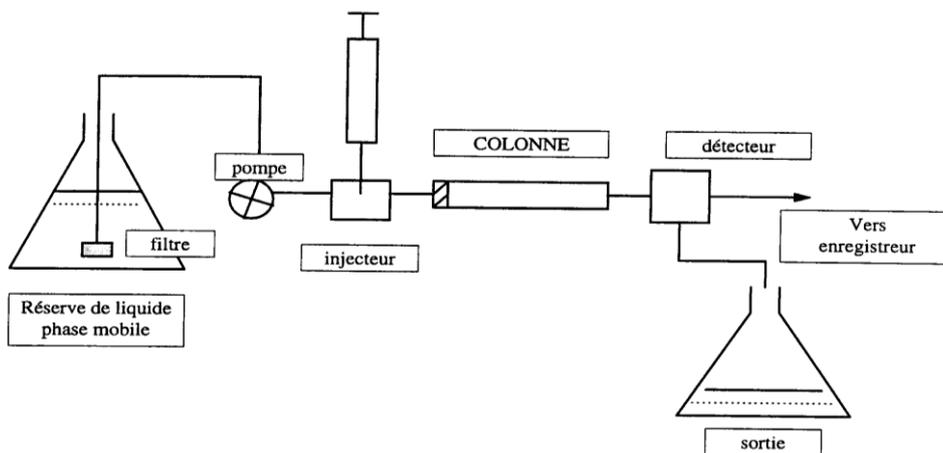


Figure 56 : Représentation schématique de l'appareillage HPLC.

### III.1.2. La spectrophotométrie UV-Visible [81]

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Elle se réalise pour des longueurs d'ondes comprises entre 190 et 400nm pour l'UV et de 400 à 750nm pour le visible. Plus l'espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière. Ainsi, on peut déterminer la concentration d'un produit contenu dans un échantillon.

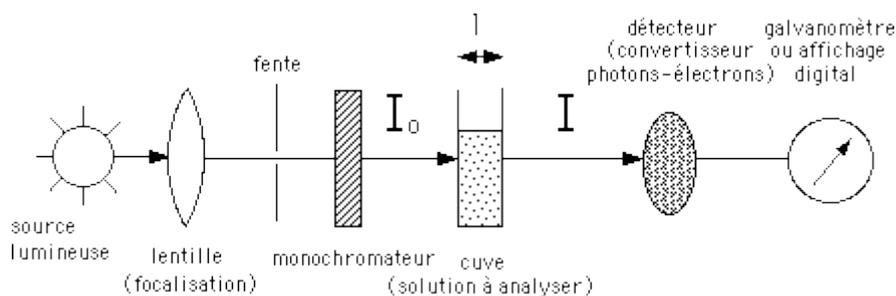


Figure 57 : Représentation schématique du principe de l'appareillage de spectrométrie UV-Visible.

- $l$  : trajet optique (en cm)
- $I_0$  : Intensité lumineuse incidente
- $I$  : Intensité lumineuse transmise

### III.1.3. La spectrométrie de masse [82]

C'est une méthode analytique qui permet de déterminer la composition, la structure, la masse moléculaire, élaborer les profils métaboliques ou de réaliser des dosages. Dans notre travail, elle a été couplée à l'HPLC.

Les différents composants de l'échantillon sont séparés par la chaîne HPLC puis introduits dans la source du spectromètre de masse. Les composés sont ensuite ionisés positivement ou négativement selon le mode utilisé, avant d'être transférés vers l'analyseur. Celui-ci sépare les ions suivant leur rapport masse sur charge ( $m/z$ ).

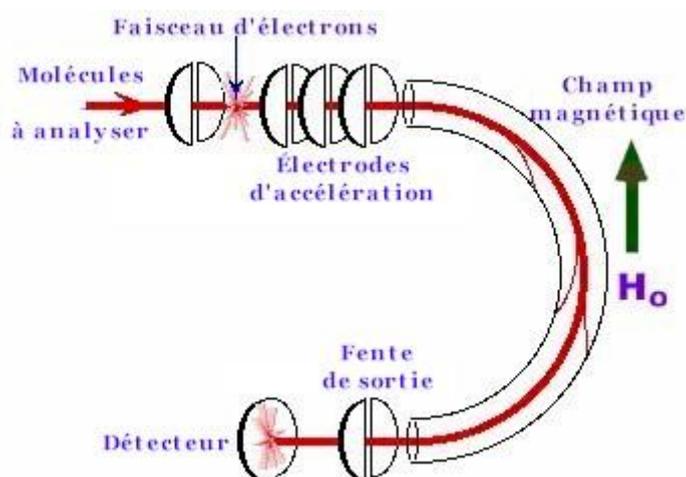


Figure 58 : Représentation schématique du principe de l'appareillage de SM.

### III.2. Protocoles d'analyses

Les procédés utilisés pour l'identification structurale des produits isolés sont :

- L'HPLC couplée à la masse
- La spectrophotométrie UV-Visible.

### III.2.1. HPLC couplée à la masse

Nos analyses ont été réalisées au laboratoire du CNRST unité UATRS de Rabat. Le chromatographe en phase liquide couplé au spectromètre de masse (LC/MS) installé dans le laboratoire est composé de :

- HPLC de type LC Surveyor de marque Thermo-Electron
- Détecteur spectromètre de masse LCQ Advantage MAX type trappe d'ions est de caractéristique technique de haute performance (résolution, sensibilité, capacité de mesure). Il est couplé à l'HPLC et sa gamme de masse : 50-2000.

Le logiciel de traitement automatique des données Xcalibur est le logiciel d'acquisition et d'analyses chromatographiques sous Windows, qui permet le contrôle total de l'instrument analytique (spectromètre, chromatographe, injecteur automatique et détecteur UV à barrettes de diodes) [83].

- ❖ Protocole d'analyse
  - Solvants :
    - A : acétonitrile 100%
    - B : Acide acétique 5% dans l'eau
  - Gradient :
    - T 0 : 100% B
    - T final : 100% A } durée de l'analyse : 45 minutes
  - Détection à 250 et 340nm
  - Colonne : RP - C18
  - Ionisation en électrospray positive et négative.

### III.2.2. Spectrophotométrie UV-Visible

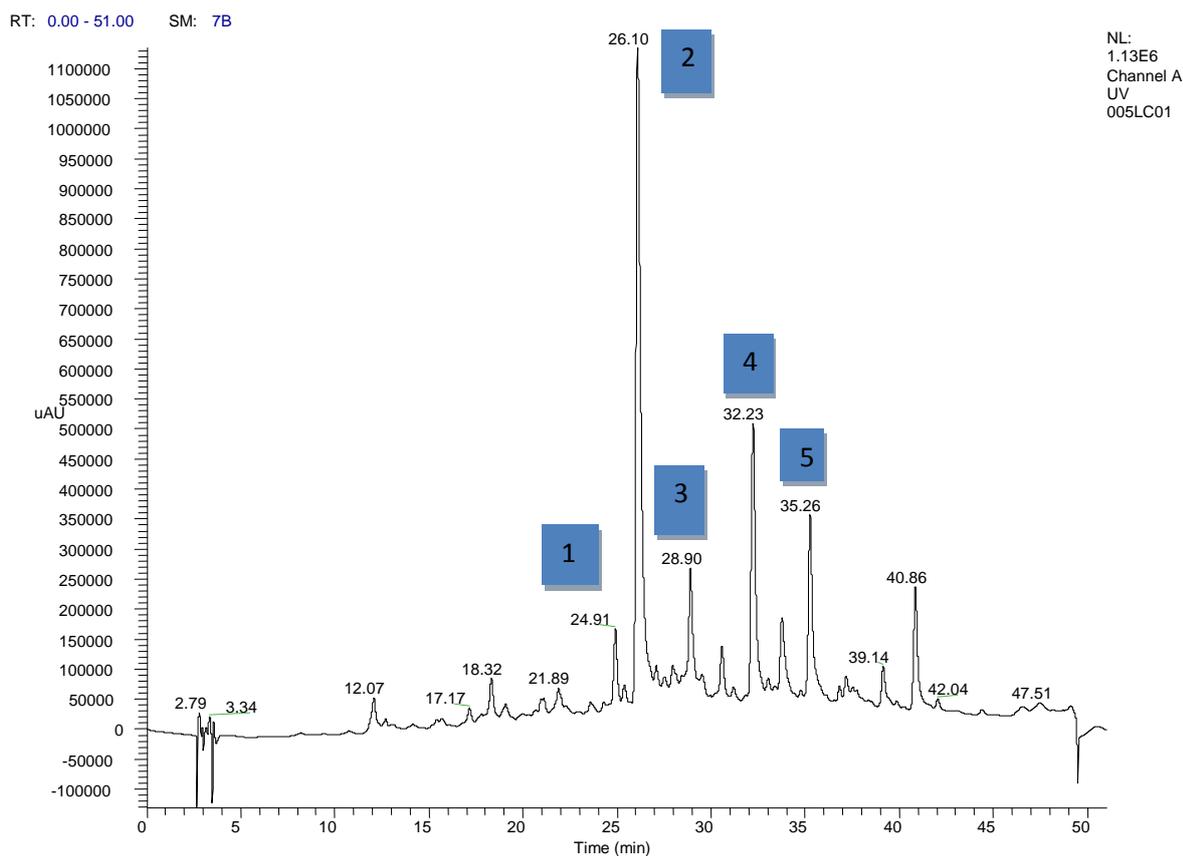
La spectrophotométrie UV-Visible est un outil analytique quantitatif qui permet de statuer sur la structure d'un polyphénol. Dans le travail suivant, les spectres UV-Visible sont obtenus en balayant un champ allant de 200 à 600nm.

## Chapitre IV : Résultats et présentation des produits isolés

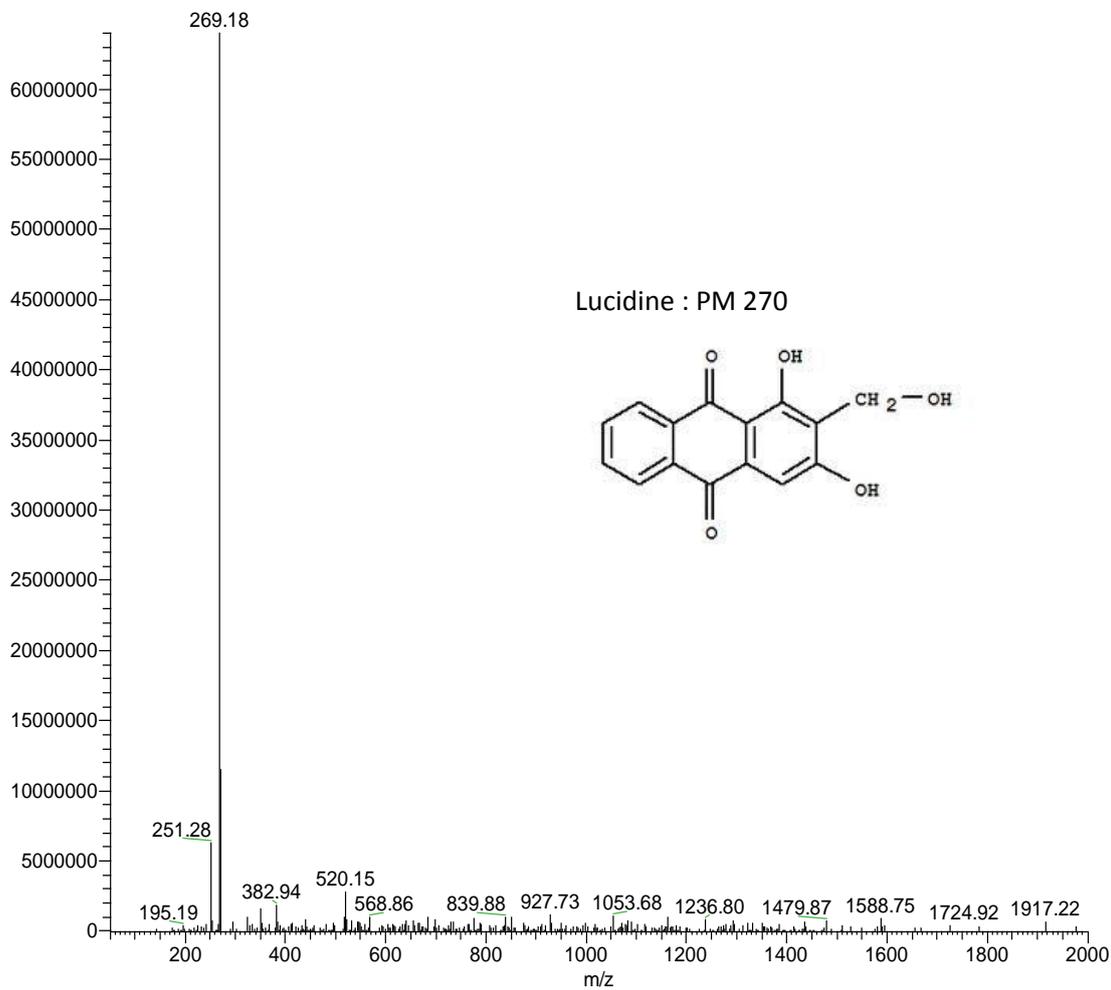
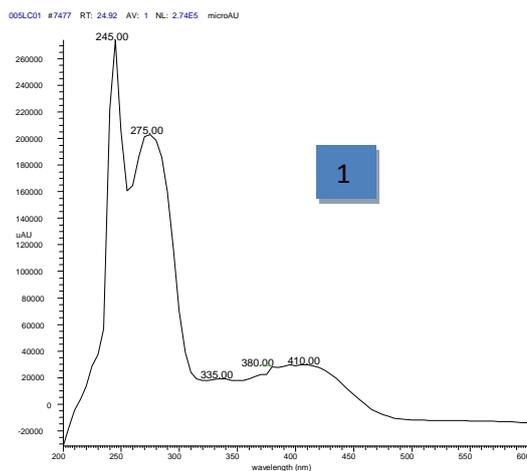
### IV.1. Extrait chloroformique de *Rubia tinctorum*

La chromatographie sur couche mince appliquée à l'extrait chloroformique et à ses différentes fractions obtenues par chromatographie sur colonne, nous a permis une identification de présomption des composés présents, grâce à leur Rf et à l'utilisation de différents réactifs. En utilisant des techniques plus spécifiques, l'identification de ces composés devient alors possible. Nous avons pu assoir définitivement leurs structures après réalisation de leur spectres UV-Visible, de 200 à 500nm, et de leur spectres masse, en mode ESI négatif, grâce au couplage HPLC-SM. Cinq produits majoritaires ont été mis en évidence. Ils présentent des spectres UV-Visible caractéristiques d'anthraquinone.

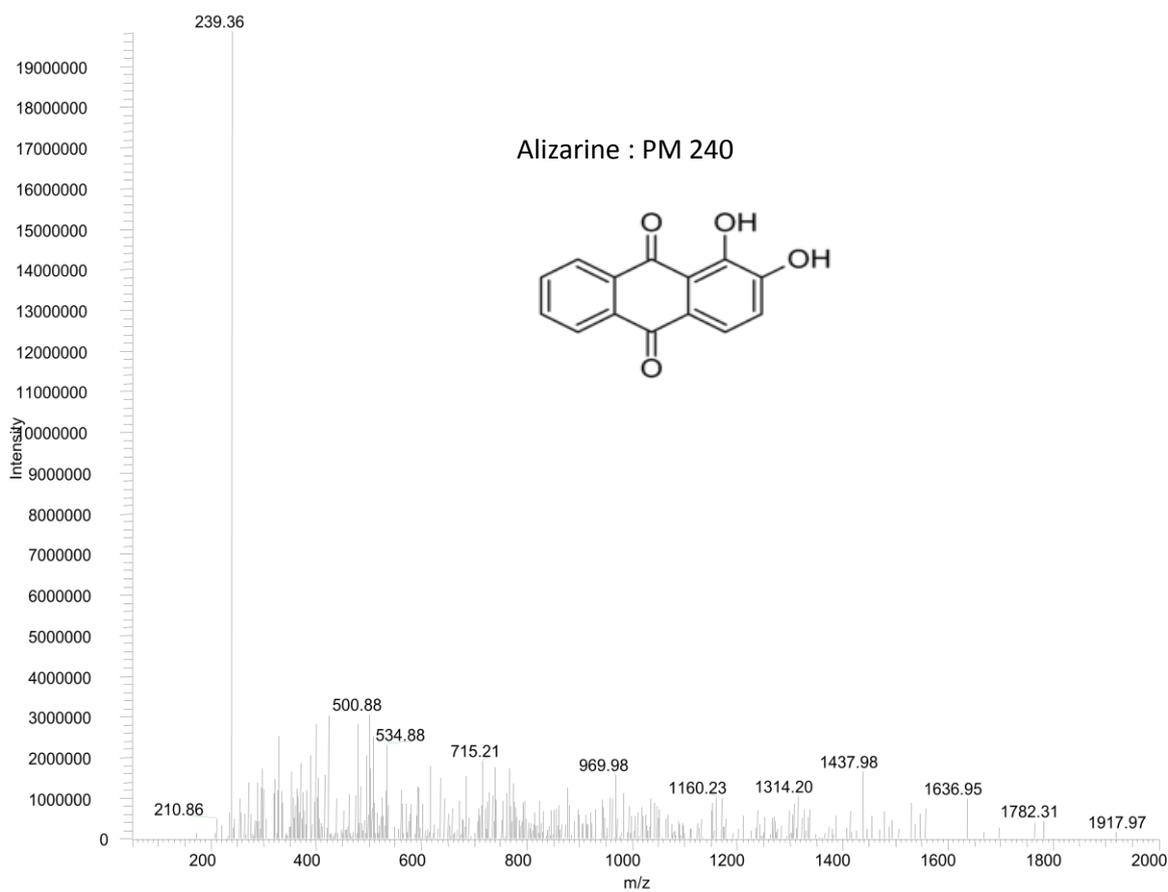
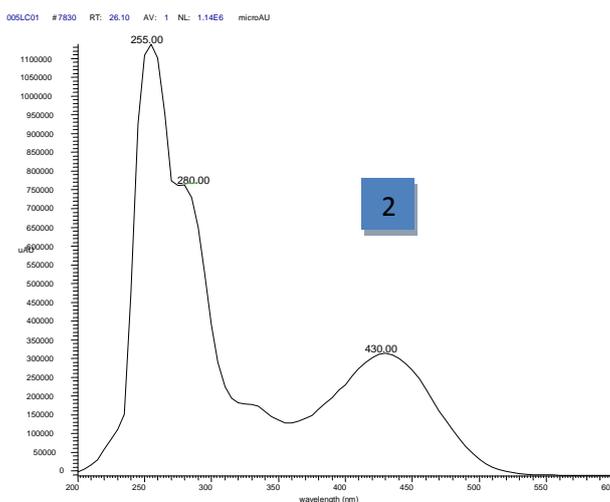
- Chromatogramme HPLC :



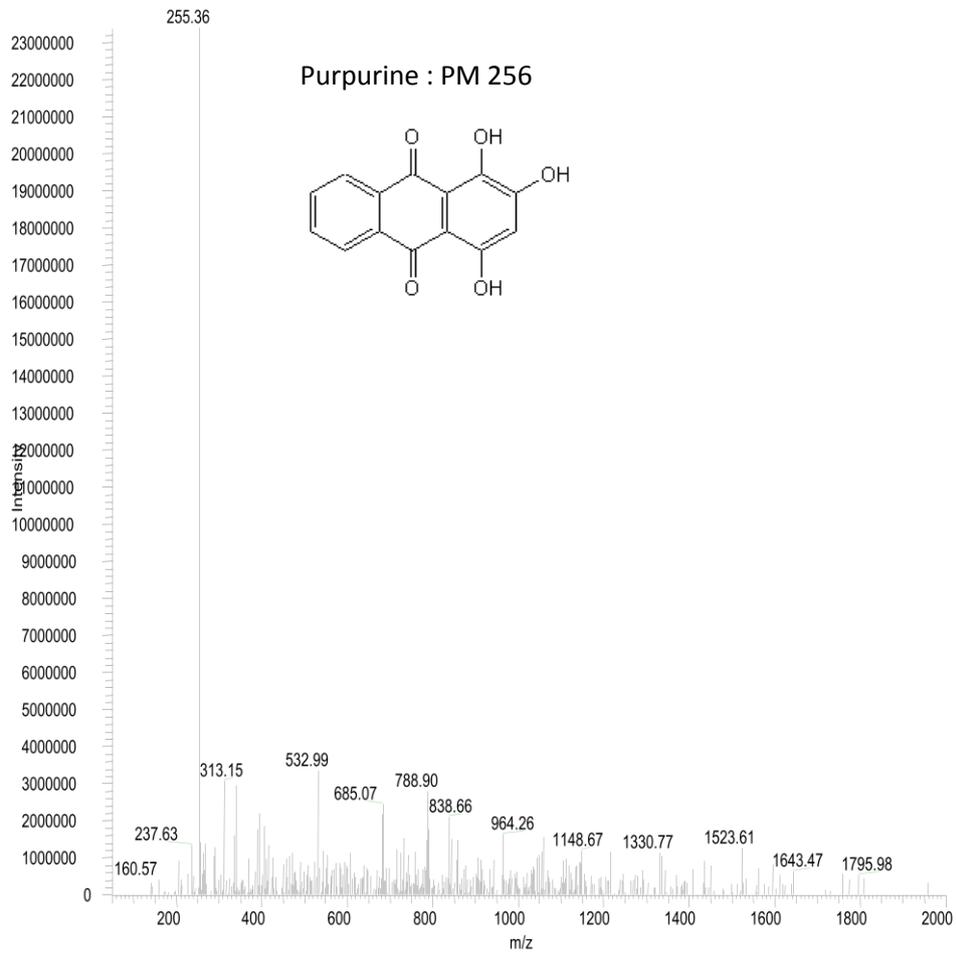
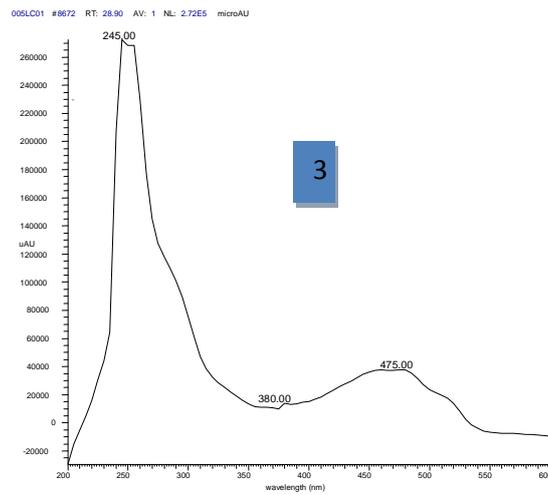
- Spectres UV-visible et de masse(ESI) du produit 1:



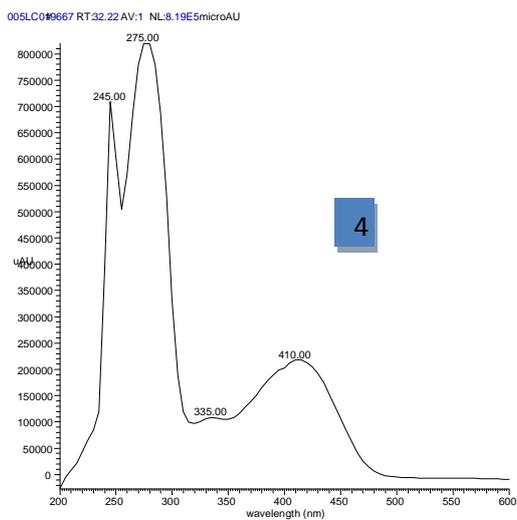
- Spectres UV-visible et de masse(ESI) du produit 2:



- Spectres UV-visible et de masse(ESI) du produit 3:

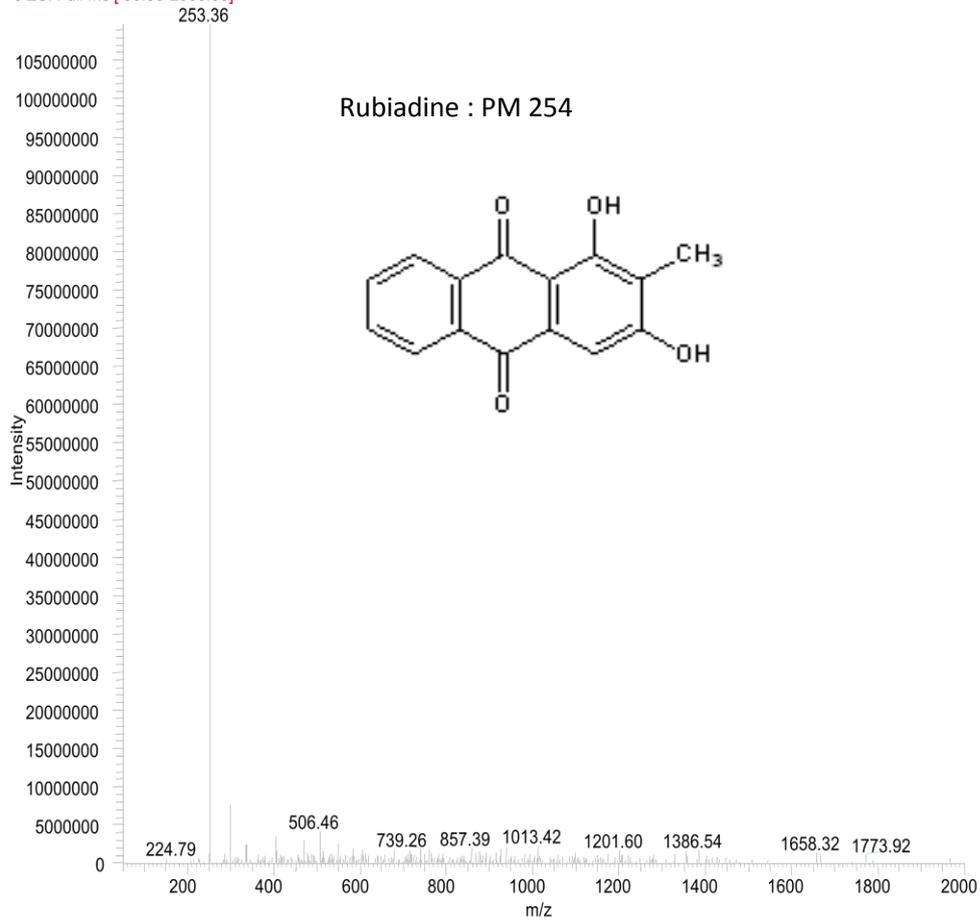


- Spectres UV-visible et de masse(ESI) du produit 4:

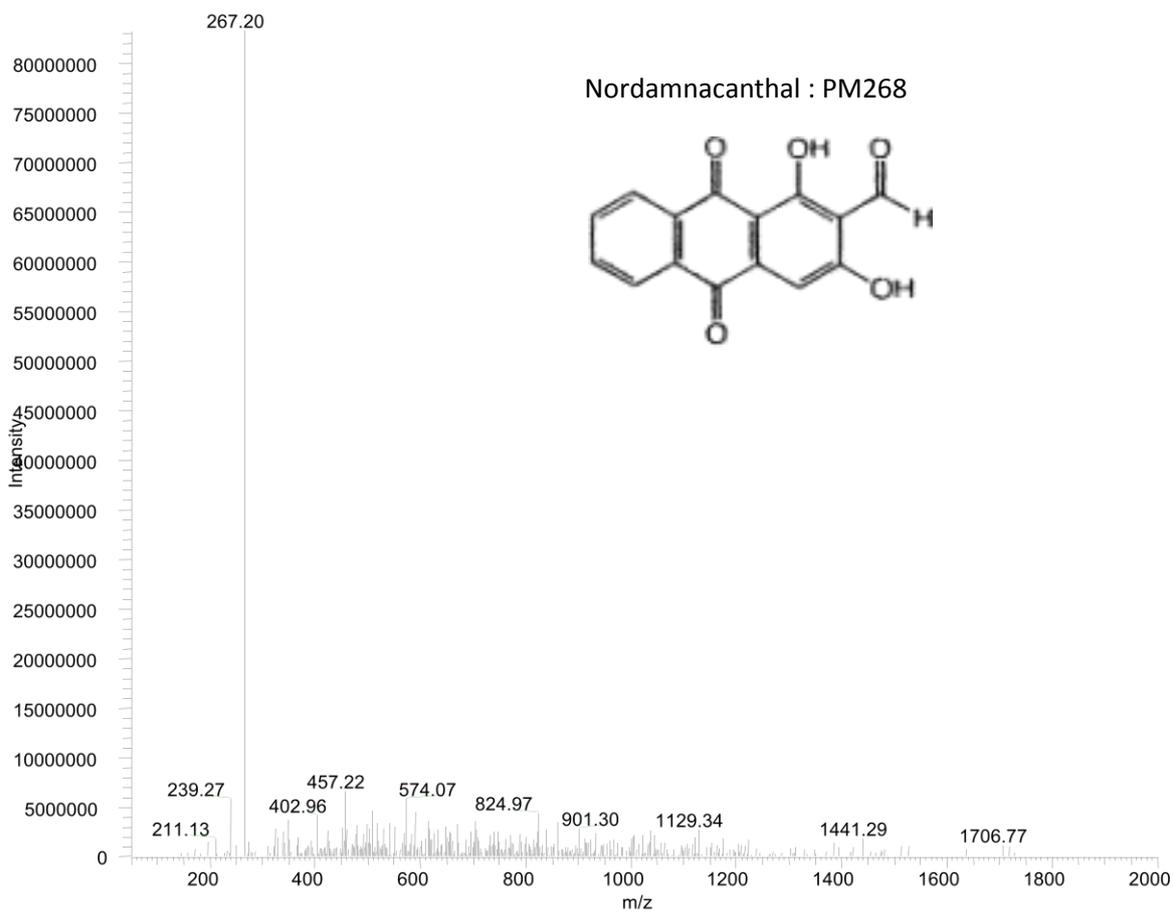
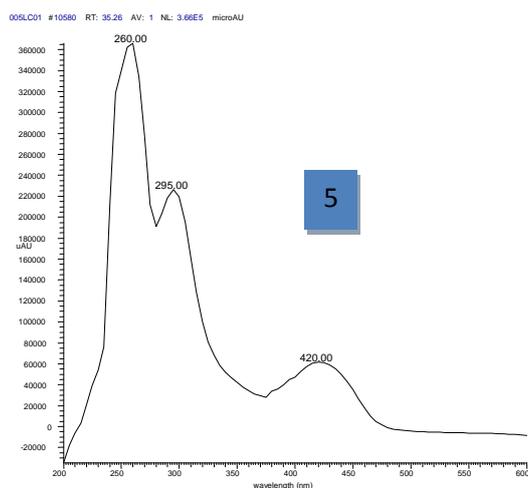


072LC01 #860 RT: 36.54 AV: 1 SB: 154 33.21-39.15, 24.84-31.97 NL: 1.10E8

F: -c ESI Full ms [ 50.00-2000.00]



- Spectres UV-visible et de masse(ESI) du produit 5:



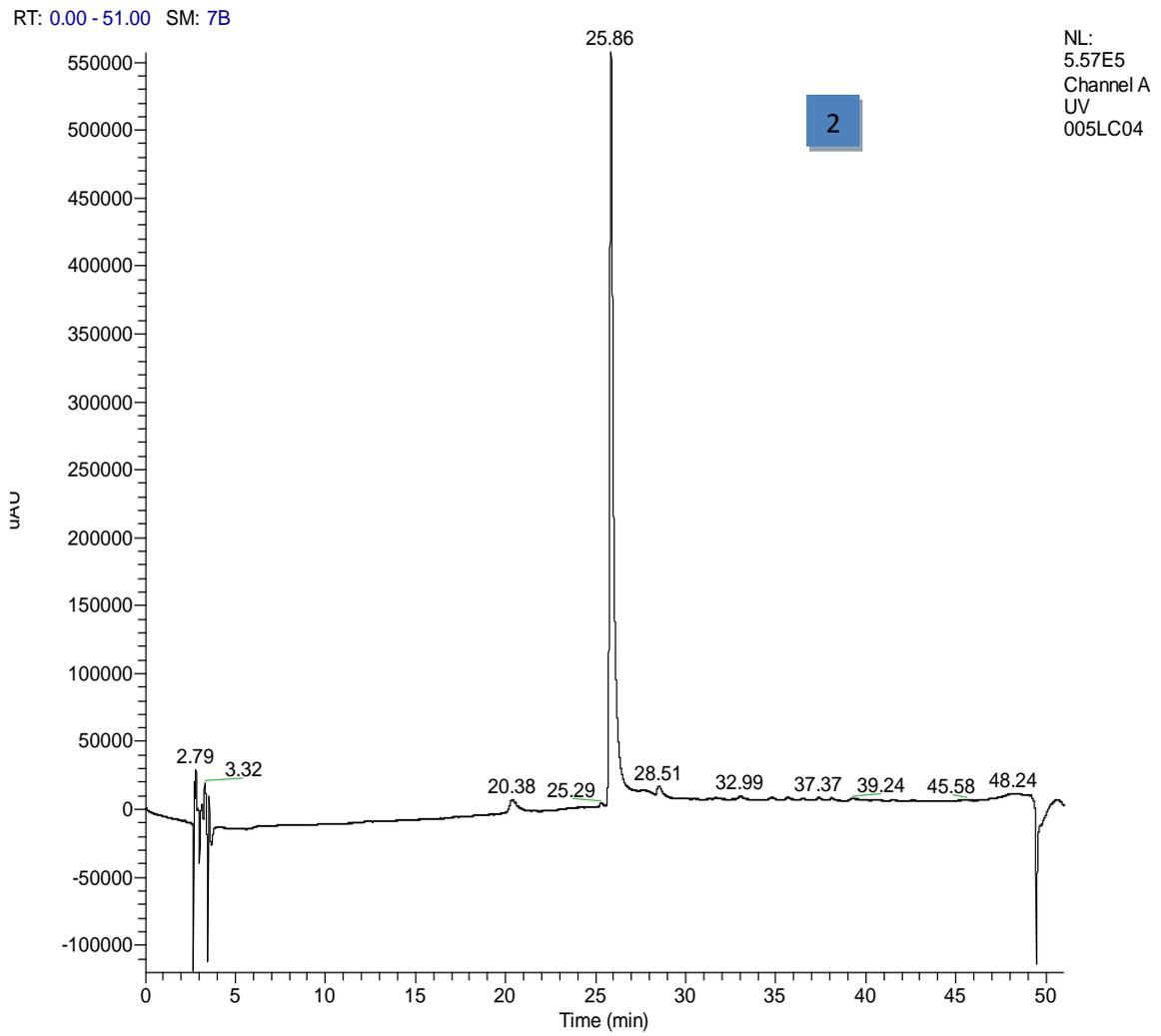
## **IV.2. Différentes fractions tirées de l'extrait chloroformique de *Rubia tinctorum***

La séparation en différentes fractions ainsi que la purification par CCM de l'extrait chloroformique, abouti à l'obtention de composés plus ou moins purs. A partir de cet extrait, nous avons pu obtenir essentiellement 3 fractions dont l'analyse chimique a mis en évidence l'existence de 3 produits de type anthraquinone. Ces fractions sont : F3, 3.1, et F7.

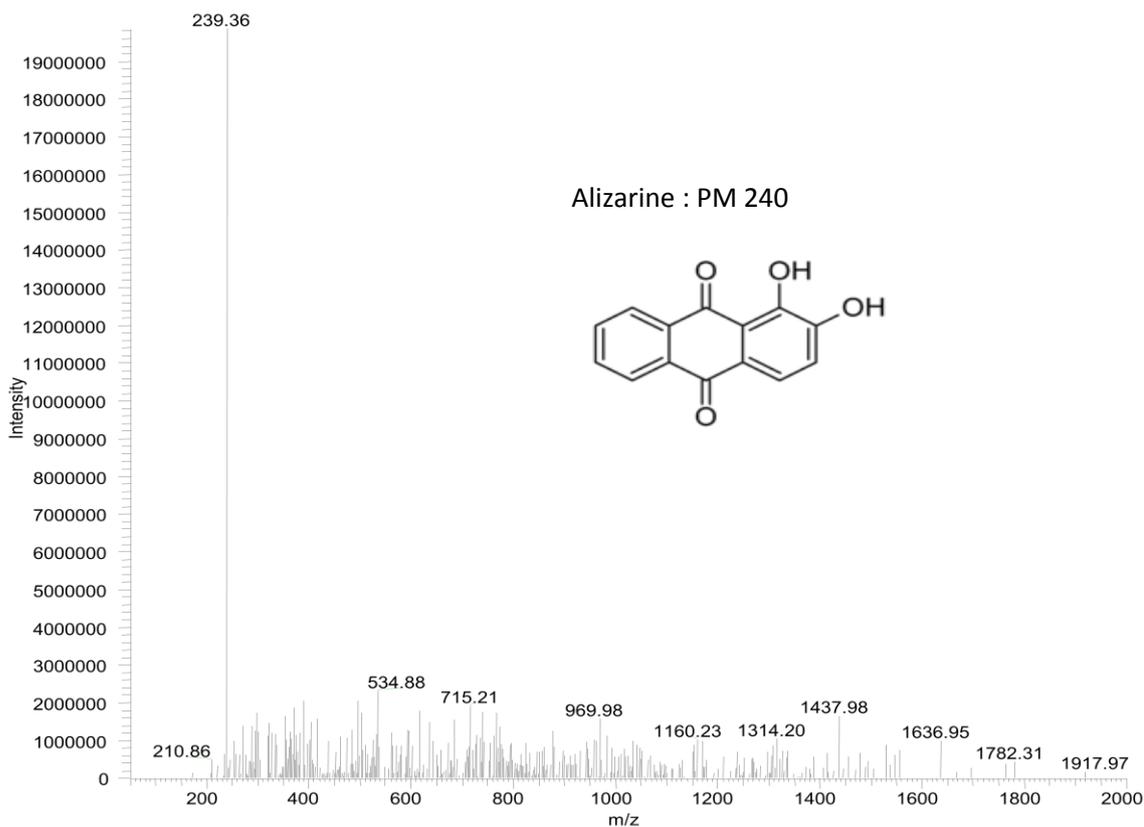
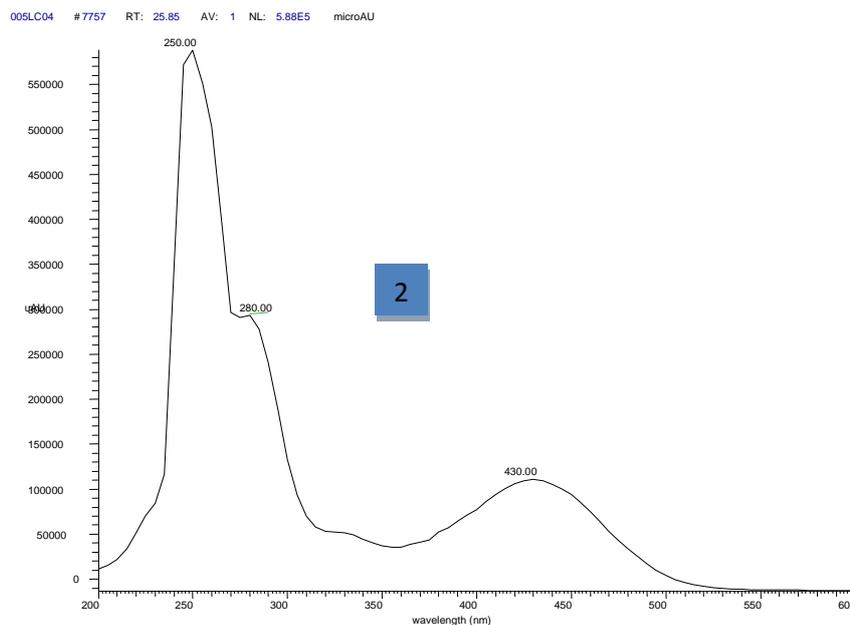
- Fraction 3.1 de l'extrait chloroformique de *Rubia tinctorum*

Après la séparation par chromatographie sur colonne des fractions contenues dans l'extrait chloroformique, la fraction 3.1 a présenté une cristallisation après évaporation totale du solvant, laissant supposer que la purification réalisée a été quasiment totale. Ceci concorde effectivement avec le résultat du chromatogramme HPLC.

- Chromatogramme HPLC :



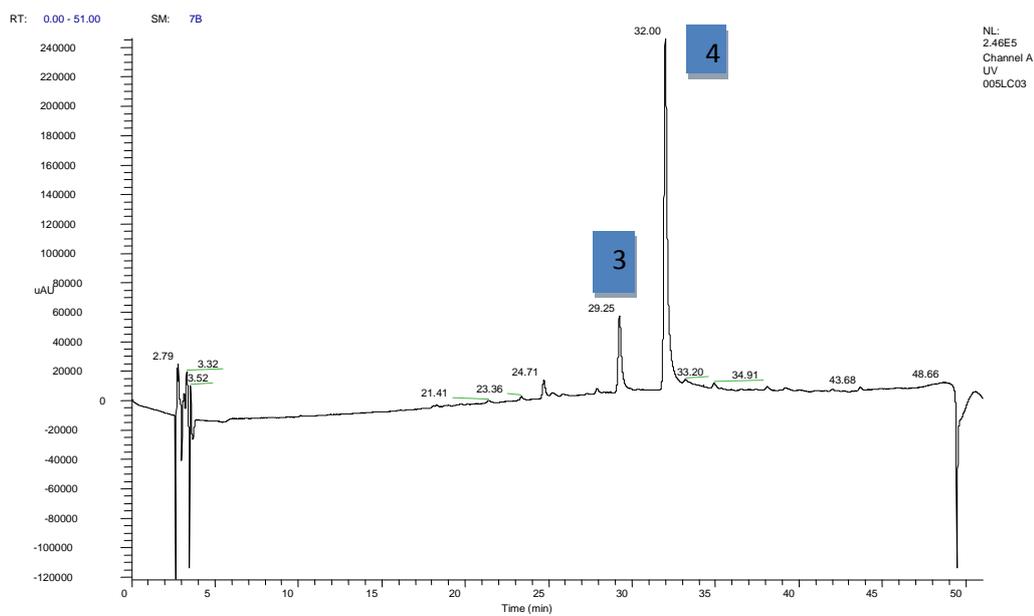
- Spectres UV-visible et de masse(ESI) du produit:



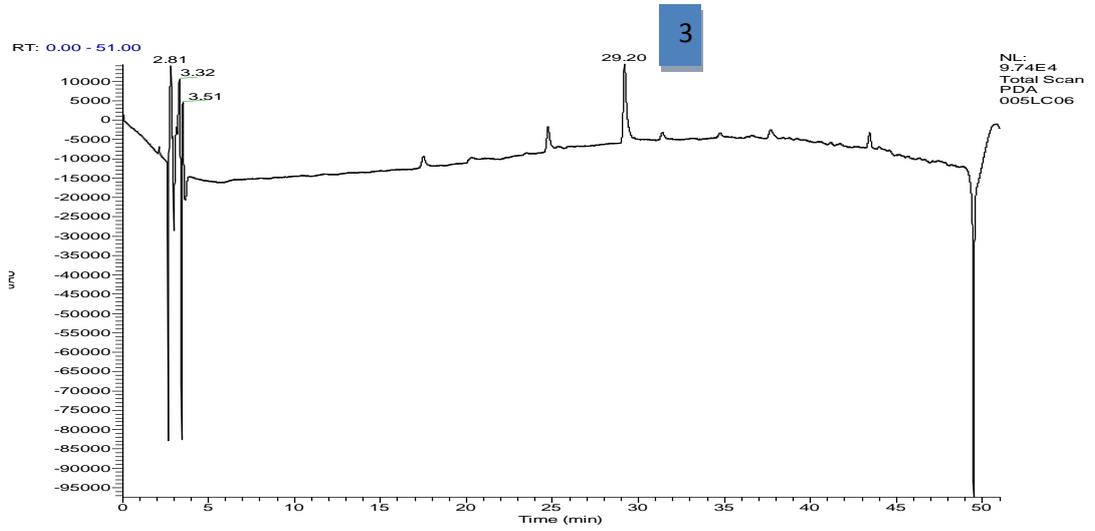
- Fractions F3 et F7 de l'extrait chloroformique de *Rubia tinctorum*

- Chromatogramme HPLC :

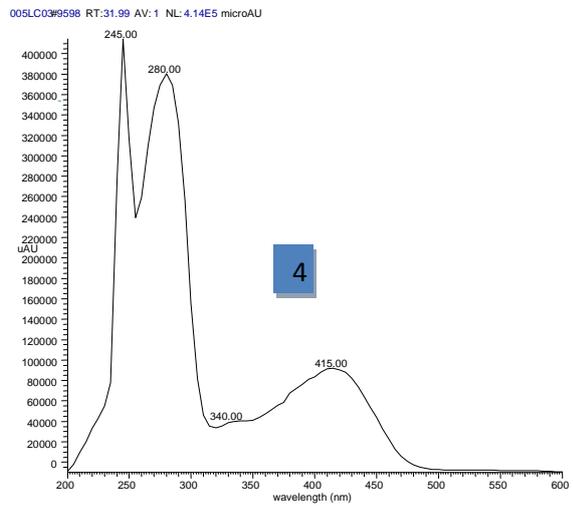
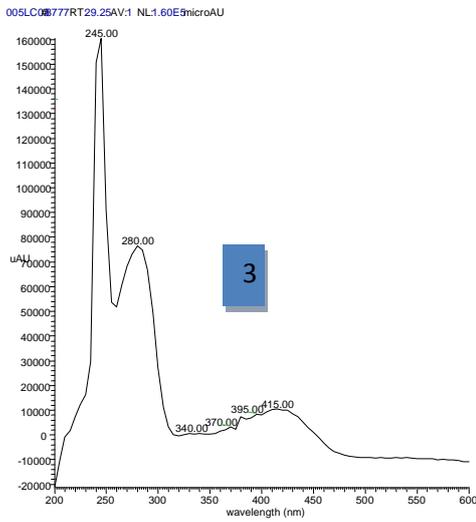
o Fraction F3



- Fraction F7



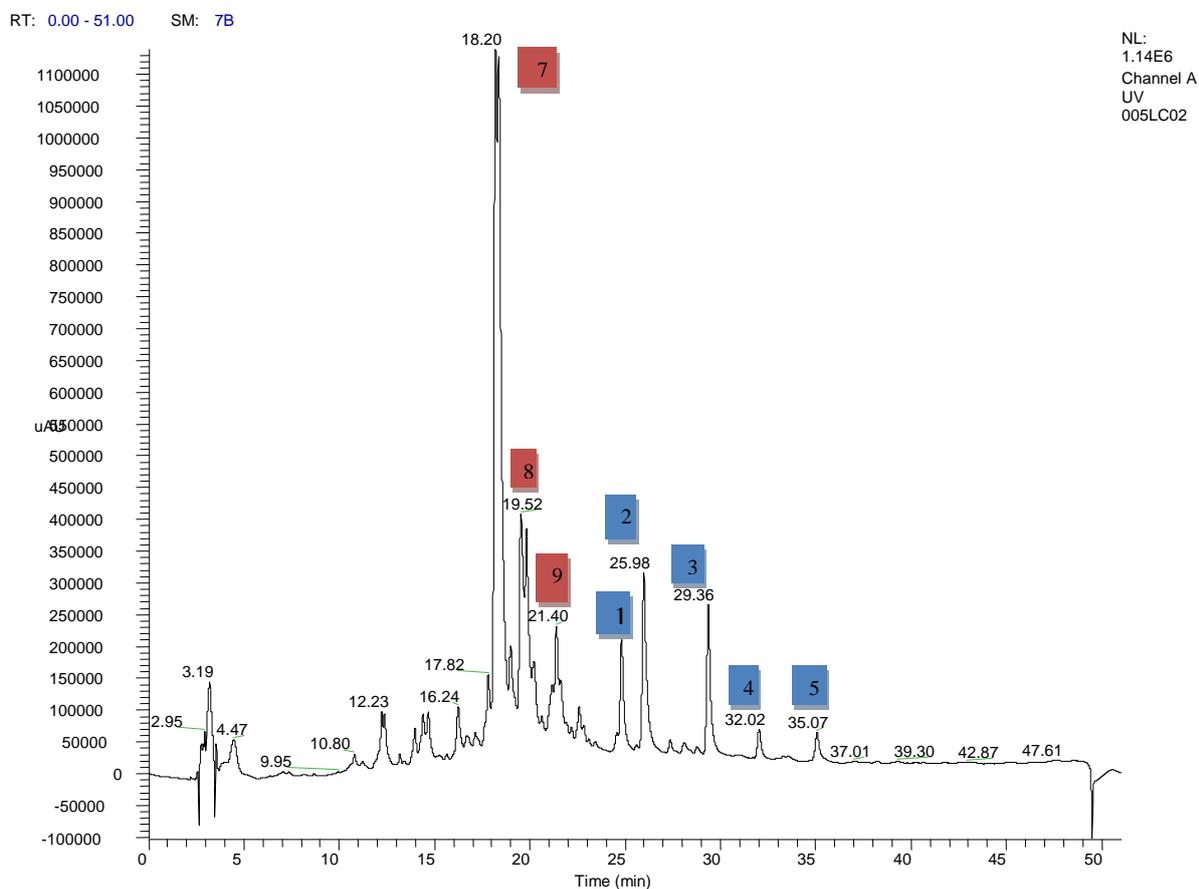
- Spectres UV-Visible des produits 3 et 4 obtenus   partir de la fraction F3et F7:



### IV.3. Extrait méthanolique de *Rubia tinctorum*

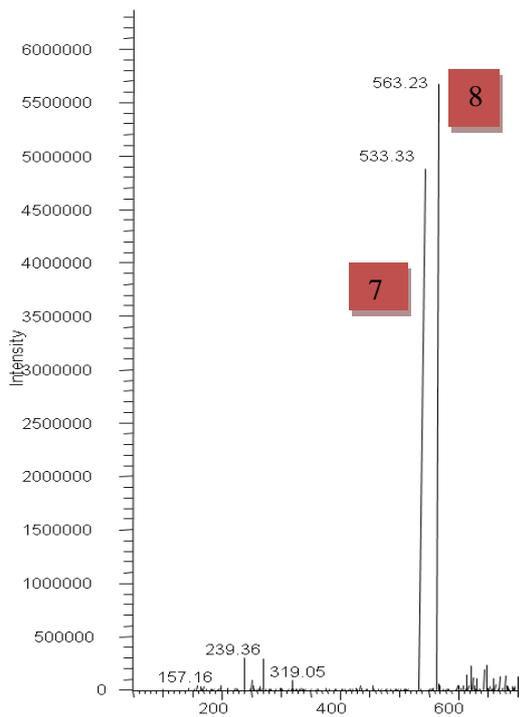
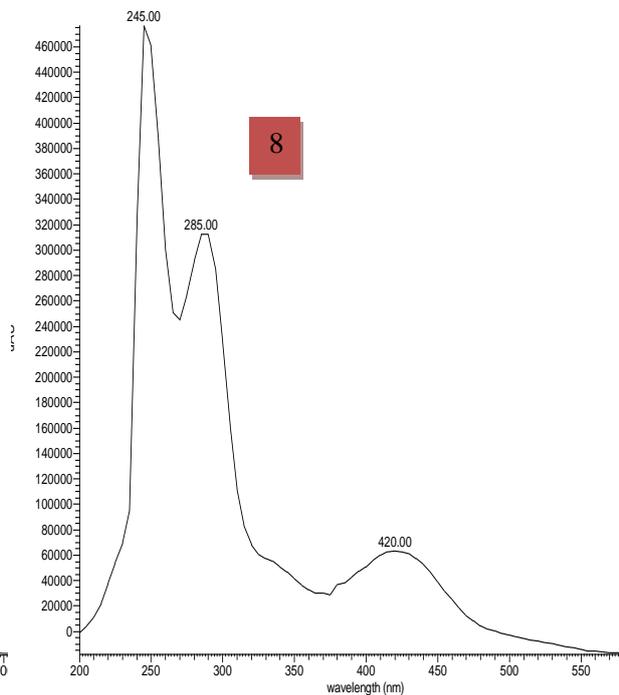
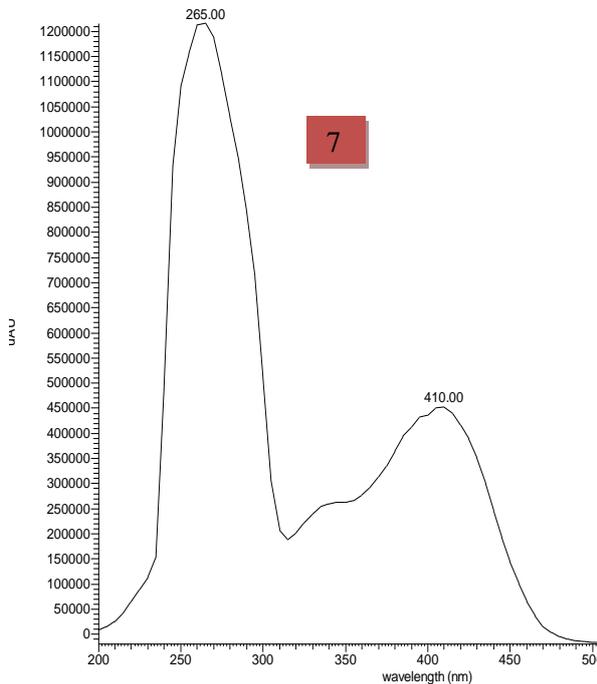
De la même façon que pour l'extrait chloroformique, l'extrait méthanolique a subi des analyses chimiques (HPLC, spectroscopie UV-Visible et SM). Nous avons pu déceler dans cet extrait, des traces de génines similaires aux génines de l'extrait chloroformique à coté de trois autres produits majoritaires. Ces trois produits ont un spectre UV-Visible caractéristique des anthraquinones et sont de poids moléculaire plus élevé que ceux contenus dans l'extrait chloroformique. Ce sont des hétérosides d'anthraquinones.

- Chromatogramme HPLC :

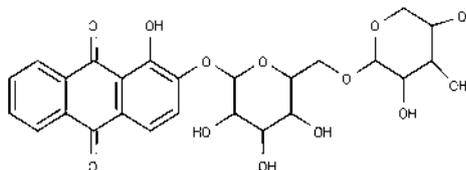


- Spectres UV-visible et de masse(ESI) des produits 7 et 8:

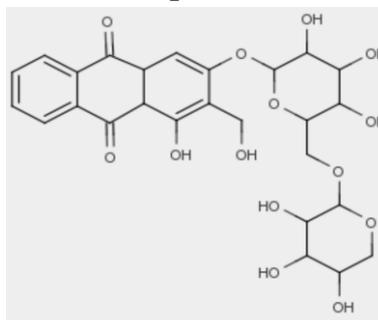
005LC02 #5462 RT: 18.20 AV: 1 NL: 1.22E6 microAU

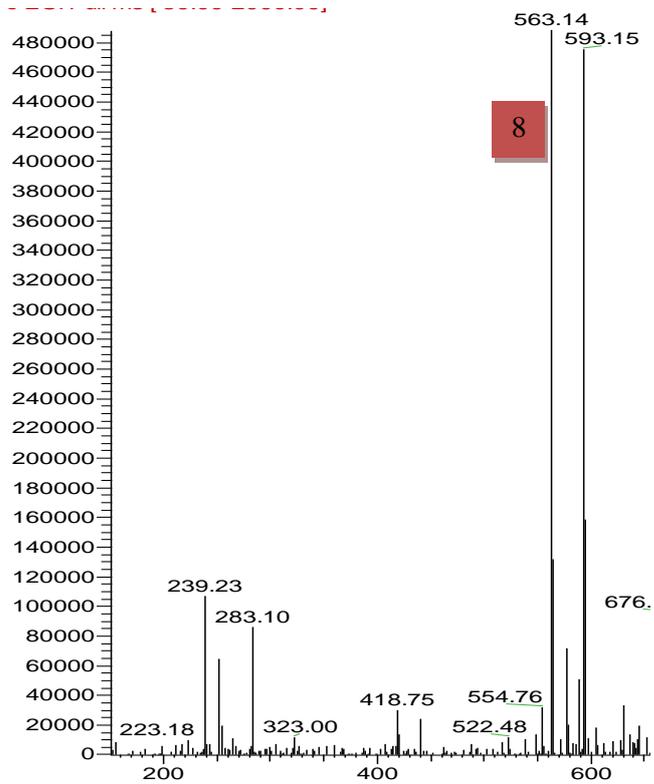


**Acide rubérythrique : PM 534**

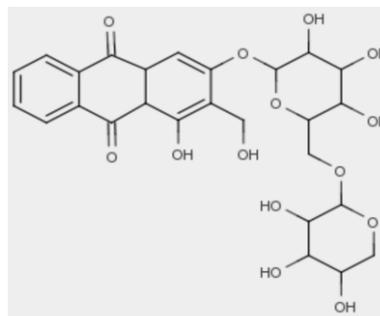


**Lucidine-3- primeveroside : PM 564**

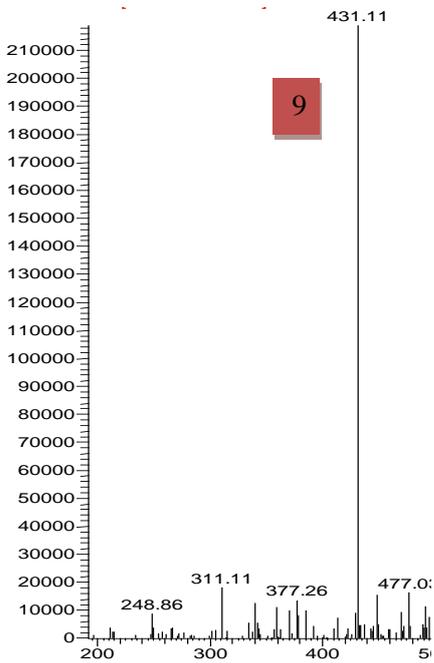
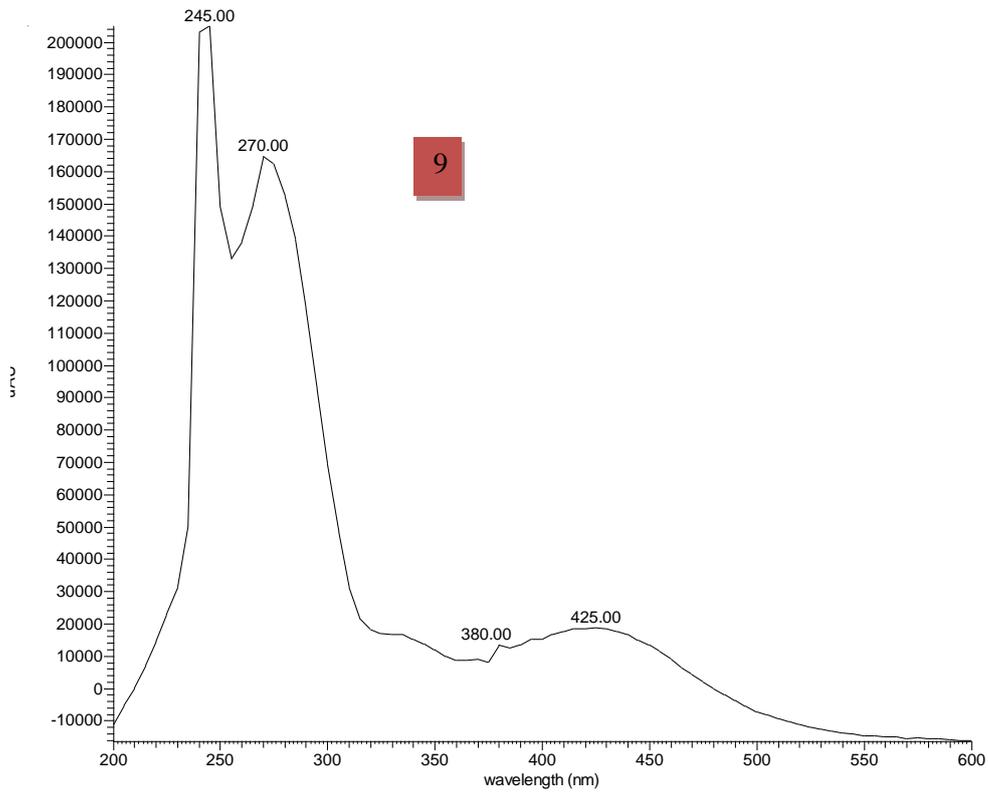




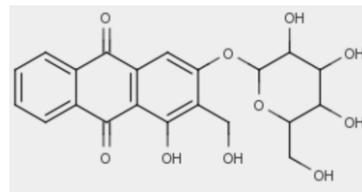
Lucidine-3- primeveroside : PM 564

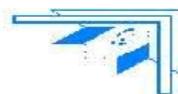
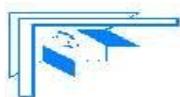


- Spectres UV-visible et de masse(ESI) du produit correspondant 9:



**Lucidine-3- glucoside : PM**  
432





# CONCLUSION GENERALE



*Rubia tinctorum* L., plante vivace appartenant à la famille des rubiacées, est utilisée depuis des siècles et dans plusieurs régions du monde comme colorant mais aussi comme plante médicinale. Au Maroc la plante, appelée **el foua**, est prisée par les femmes, comme purgatif, après l'accouchement. La décoction de la plante entière est prescrite dans les anémies et toutes les maladies du sang. Sa prise quotidienne est conseillée pour augmenter le volume sanguin et améliorer le teint. Elle est réputée aphrodisiaque et sa décoction est administrée aux nourrissons comme antidiarrhéique. Mais ces usages restent incontrôlés et inappropriés face aux directives des instances internationales de la santé.

*Rubia tinctorum* est très riche en dérivés anthraquinoniques sous formes libre et combinée. Elle est considérée selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et d'autres organismes de la santé et de l'alimentation comme comportant des risques pour le consommateur. En effet, des études récentes ont montré que certains dérivés anthraquinoniques présentent des effets mutagènes voire même un pouvoir cancérigène.

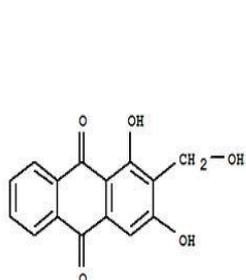
L'étude bibliographique approfondie que nous avons conduite, nous a permis de mettre l'accent sur ses emplois face à sa toxicité. De nombreuses études ont été réalisées sur des animaux de laboratoire. En général, les effets observés sont une dégénérescence des cellules du foie, caryomégalie, augmentation de la glutathion S-transférase des cellules du foie (enzyme protéique qui intervient dans la protection des cellules comme antioxydant et marqueur tumoral), augmentation de la prolifération des cellules du tubule rénal et une augmentation du taux de 8 hydroxydeshydrogénase dans le rein chez les mammifères. Les analyses ont montré une augmentation du niveau global d'ADN muté dans le foie, le rein et le côlon des rats traités aux extraits de la plante. Des mutations ont été observées aussi pour certaines bactéries comme *Salmonella typhimurium*, certains rongeurs de type hamster chinois ou encore la drosophile.

A travers certains de ses métabolites que sont : la lucidine et ses dérivés hétérosidiques, la rubiadine et ses dérivés hétérosidiques et les dérivés hétérosidiques de l'alizarine ou encore la mollugine (non anthraquinonique), *Rubia tinctorum* exerce un pouvoir génotoxique voire même cancérigène vis à vis des cellules du tube rénal, des hépatocytes et des cellules

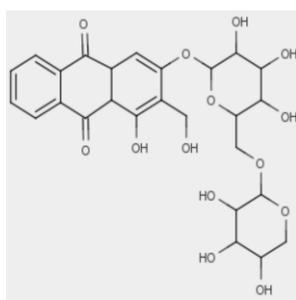
sanguines chez le rat. La plus forte activité paraît être due aux 1,3-dihydroxyanthraquinones possédant un groupe méthyle ou hydroxyméthyle sur le carbone 2.

Chez l'homme *Rubia tinctorum* est rapportée responsable d'aberrations chromosomiques. En somme, les anthraquinones ne doivent pas être utilisées à long terme à cause du risque de *melanosis coli*, qui pourrait être à l'origine d'effets mutagènes, de tumeurs voire même de cancers.

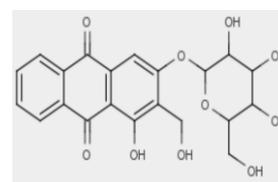
L'analyse phytochimique que nous avons conduite dans ce travail sur des échantillons de racines d'*el foua* d'origine marocaine, montre la présence des anthraquinones majeures signalées mutagènes voire même cancérigènes. Elles ont été caractérisées par chromatographie (CCM et HPLC), et par spectrométries UV-Visible et de masse. Il s'agit de la lucidine (1) et de deux de ses dérivés hétérosidiques : la lucidine-3-O- primeveroside (2) et la lucidine-3-O-glucoside (3), de la rubiadine (4), de l'acide rubérythrique (5); en plus de l'alizarine (6), de la purpurine (7), et probablement aussi du nordamnacanthal (8).



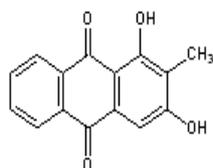
(1)



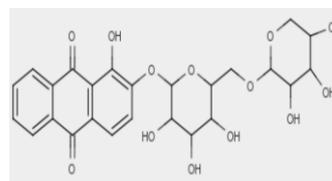
(2)



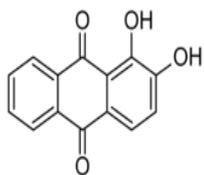
(3)



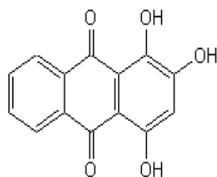
(4)



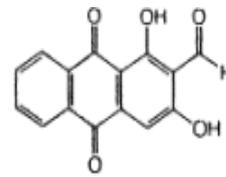
(5)



(6)

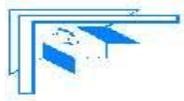


(7)



(8)

En conclusion, face à l'usage large d'el foua par les populations au Maroc, il s'impose d'attirer l'attention sur les dangers potentiels que représenterait une consommation régulière et abusive de la plante. Une mise en garde accompagnée de mesures de suivi contre les méfaits des constituants de cette plante doit être effectuée afin d'éviter un éventuel problème de santé publique.



# RESUMES



## RESUME

**Titre : *Rubia tinctorum* L., (El foua), plante médicinale potentiellement dangereuse : mise à jour bibliographique et analyse phytochimique d'échantillons marocains.**

**Auteur : ODOUNGA Karen Flora**

**Mots clés : *Rubia tinctorum* L., anthraquinones, cancérigènes, lucidine, rubiadine.**

*Rubia tinctorum* L., el foua, est utilisée depuis des siècles, dans plusieurs régions du monde, comme colorant mais aussi comme plante médicinale. Au Maroc, la plante est très prisée par les femmes comme purgatif, après l'accouchement et prescrite contre l'anémie et toutes les maladies du sang. Elle est réputée aphrodisiaque et sa décoction est administrée aux nourrissons comme antidiarrhéique. Mais ces usages restent incontrôlés et inappropriés face aux directives des instances internationales sanitaires.

En effet, *Rubia tinctorum* est très riche en dérivés anthraquinoniques sous formes libre et combinée. Elle est considérée selon l'OMS et d'autres organismes comme comportant des risques pour la santé. Des études récentes ont démontré que certains dérivés anthraquinoniques présentent des effets mutagènes à cancérigènes chez certains animaux et bactéries.

Le présent travail est une contribution à l'étude de *Rubia tinctorum*. Il comporte deux parties. Nous nous sommes proposés en premier lieu de réaliser une étude bibliographique approfondie de la plante, en mettant particulièrement l'accent sur ses emplois et sa toxicité afin d'attirer l'attention sur les dangers potentiels de son emploi en usage traditionnel au Maroc. Une deuxième partie est consacrée à l'analyse phytochimique et la présentation des résultats obtenus personnellement au laboratoire à partir d'échantillons de racines de *Rubia tinctorum* d'origine marocaine. Cette partie comporte une étape de screening, puis une phase d'extraction, séparation, purification et identification des métabolites secondaires majeurs, essentiellement des anthraquinones. Toutes les anthraquinones rapportées mutagènes voire même cancérigènes ont été détectées et caractérisées par chromatographie (CCM et HPLC) et par spectrométrie UV-Visible et de masse. Il s'agit de la lucidine et deux de ses dérivés hétérosidiques : la lucidine-3-O-primeveroside et la lucidine-3-O-glucoside ; de l'acide rubérythrique et la rubiadine ; en plus de l'alizarine, de la purpurine, et probablement aussi du nordamnacanthal.

## SUMMARY

**Title:** *Rubia tinctorium* L. (El Foua), medicinal plant potentially dangerous: Updated bibliography and phytochemical analysis of samples from Morocco.

**Author:** ODOUNGA Karen Flora

**Keywords:** *Rubia tinctorium* L., anthraquinones, carcinogen, lucidin, rubiadin.

*Rubia tinctorium* L., el Foua, has been used for centuries in many parts of the world as a colorant but also as a medicinal plant. In Morocco, the plant is highly prized by women as a purgative after childbirth and cons prescribed anemia and all blood diseases. It is considered an aphrodisiac and its decoction is administered to infants as antidiarrheal. But these uses remain uncontrolled and inappropriate deal with the directives of international health organizations.

Indeed, *Rubia tinctorium* is very rich in anthraquinone derivatives in free form and combined. It is considered by the World Health Organization (WHO) and other health organizations and food as hazardous. Recent studies have shown that some anthraquinone derivatives have mutagenic or even carcinogenic in some animals and bacteria.

This work is a contribution to the study of *Rubia tinctorium*. It consists of two parts. We proposed a first party undertake a thorough literature review of the plant, with particular emphasis on its many uses and its toxicity to draw attention to the potential dangers of its use in traditional use in Morocco. A second part is devoted to the phytochemical analysis and presentation of results we obtained in the laboratory from samples of *Rubia tinctorium* roots of Moroccan origin. This part includes a step of screening, then a phase extraction, separation, purification and identification of major secondary metabolites, mainly anthraquinones. Five anthraquinones aglycones: lucidin, alizarin, purpurin, rubiadin and probably also nordamnacanthal and three of their heterosidics derivatives: lucidin-3-O-primeveroside, the lucidin-3-O-glucoside and ruberythric acid, reported mutagenic or even carcinogenic, were detected and characterized by UV-Visible and mass spectroscopies.

## ملخص

**العنوان:** رُوبيا تَنكُتوروم (الفوة)، العشب  ذات الخطورة المحتملة: استعراض شامل للبحث والتحليل النبات-كيميائي لعينات نباتية من أصل مغربي.

**من طرف:** أودونكا كرين فُلُورا.

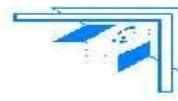
**الكلمات الأساسية:** روبيا تَنكُتوروم - أنتراكينون - سُميَّة - مُطفرة - مُسرَّطنة لِسيدين - غيببادين.

تستعمل الفوة منذ عقود في العديد من المناطق في العالم كملون وكعشبة ذات استعمالات طبية. في المغرب يتم استخدامها من قبل النساء كمسهل بعد الولادة، وفي حالات فقر الدم، وفي العديد من أمراض الدم الأخرى. كما تعرف هذه العشب  كمنشط جنسي وتستعمل عند الرضع كمضاد للإسهال. لكن هذه الاستعمالات تضل غير مقننة ولا تستجيب لتوجيهات منظمة الصحة العالمية.

وفي الواقع، رُوبيا تَنكُتوروم غنية بمشتقات الأنتراكينون على شكل حر أو مجتمعة. فهي تعتبر من قبل منظمة الصحة العالمية وباقي منظمات الصحة والتغذية أكثر خطورة. وقد أثبتت الدراسات الحديثة أن إحدى هذه المشتقات يمكن أن تحدث طَفَرَات وبعض السرطانات عند الحيوانات والبكتيريات.

ما هية هذه الأطروحة هي المساهمة في إلقاء الضوء على نبتة الفوة، وذلك على مرحلتين: في المرحلة الأولى تم استعراض شامل للأبحاث التي أجريت على هذه النبتة مع التركيز بصفة خاصة على استخداماتها، وسميتها من أجل تقنين استخداماتها في المغرب. والمرحلة الثانية من أطروحائنا خصصت لعرض نتائج تحليلاتنا الكيميائية لعينات جذور الفوة المغربية الأصل. من اجل ذلك فُمنَّا أولاً بفرز متبوع بمرحلة الاستخراج، فصل وتحديد المركبات خصوصا الأنتراكينون.

وقد تم الكشف عن المركبات الأنتراكينونية المعروفة كمسببة لطفرات وسرطانات و تم دراستها بواسطة الكروماتوغرافي (فوق الطبقة الرقيقة والكروماتوغرافي السائلة عالية الجودة) والتحليل الطيفي بالأشعة فوق البنفسجية والمرئية، والتحليل الطيفي الكتلي. وهي كالتالي: لِسيدين، وإثنان من المشتقات: لِسيدين - 3 - 0 - بريميفيروزيد - وليسيدين -3-0 كليكوزيد، حمض الروبييرينك وريبيادين، وزيادة هناك أليزغين، واحتمالا كذلك نُرَدَامُنَاكَذَالَ.



# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- [1] **Wikipédia l'encyclopédie libre** ; La garance des teinturiers, [*en ligne*]. Site disponible sur : « <http://fr.wikipedia.org> ».
- [2] **Bertin, P., Kinet, J-M.** ; Formation en biologie végétale, faculté d'ingénierie biologique, agronomique et environnementale (Fac AGRO), faculté des Sciences (Fac SC), Université catholique de Louvain (UCL) [*en ligne*]. Site disponible sur : « [http://www.afd-ld.org/~fdp\\_bio/](http://www.afd-ld.org/~fdp_bio/) ».
- [3] **Chalandre, M-C.** ; Cours de première année de Pharmacie, UFR de Pharmacie et Ingénierie de la Santé – ANGERS, 1999-2000, [*en ligne*]. Site disponible sur : « [www.123bio.net](http://www.123bio.net) ».
- [4] **USDA-NRCS** ; United states department of agriculture (Natural resources conservation service), [*en ligne*]. Site disponible sur : « <http://plants.usda.gov> ».
- [5] **Jardin Botanique Belge** ; [*en ligne*]. Site disponible sur : « [http://www.br.fgov.be/PUBLIC/GENERAL/EDUCATION/EDUCATIONFR/infobl\\_ad\\_rubiaceae.html](http://www.br.fgov.be/PUBLIC/GENERAL/EDUCATION/EDUCATIONFR/infobl_ad_rubiaceae.html) ».
- [6] **Dronnet, E.**; Belles fleurs de France, [*en ligne*]. Site disponible sur : « [http://erick.dronnet.free.fr/belles\\_fleurs\\_de\\_france/rubiaceae.html](http://erick.dronnet.free.fr/belles_fleurs_de_france/rubiaceae.html) ».
- [7] **A fleur de Pau**; [*en ligne*]. Site disponible sur : « <http://www.afleurdepau.com/Flore/rubiaceae/f.htm> ».
- [8] **Sonnini, C.** ; Nouveau dictionnaire d'histoire appliqué aux arts, à l'agriculture, l'économie rurale et domestique, à la médecine, etc. 1818, 522-525, [*en ligne*]. Site disponible sur: « [www.googlebooks.fr](http://www.googlebooks.fr) ».
- [9] **Hindorf, H., Omondi, C.** ; A review of three major fungal diseases of *Coffea arabica* L. in the rainforests of Ethiopia and progress in breeding for resistance in Kenya, Coffee Research Foundation, 2009-2010, POB4.
- [10] **Thierry, V.** ; Le café, [*en ligne*]. Site disponible sur : « [sites.estvideo.net/cafe/botanique.html](http://sites.estvideo.net/cafe/botanique.html) ».
- [11] **Les spermatophytes**; [*en ligne*]. Site disponible sur : « <http://aquagazel.free.fr/biologie/PresentationPDF2009/9-LesSpermatophytes.pdf> ».
- [12] **Les plantes médicinales**, [*en ligne*]. Site disponible sur : « <http://plantesmedicinales.free.fr/plante.htm#quinquina> ».

- [13] **Association santorun** ; Plantes et traditions : Le quinquina, Santorun contact n°2, 2005, 2.
- [14] **Prabhakaran Nai, K.P.**; Cinchona (Cinchona sp), The Agronomy and Economy of Important Tree Crops of the Developing World, 2010, 111-129.
- [15] **Boullard, B.** ; Plantes médicinales du monde: croyances et réalités, Estem, 2001, 539.
- [16] **Santé Canada** ; Médicaments et produits de santé, [en ligne]. Site disponible sur : « <http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/prodpharma/applic-demande/guide-ld/label-etiquet-pharm/poison-fra.php> ».
- [17] **De Chawlowski, S.** ; Encyclopédie Universalis, [en ligne]. Site disponible sur : « <http://www.universalis.fr/encyclopedie/garance/> ».
- [18] **Ducourthial, G.** ; Atlas de la flore magique et astrologique de l'antiquité : Propriétés thérapeutiques des plantes selon Dioscoride, Belin 2003 525 ou the Greek herbal of Dioscorides book III, 160<sup>ème</sup> plante.
- [19] **Bellakhder, J.** ; Le maghreb à travers ses plantes, Le Fennec, 2003, 164.
- [20] **Figue-Henric, E.** ; Connaissance des teintures végétales, Dessain et tolra, 1980, 99.
- [21] **Association telabonica** : le réseau de la botanique francophone, Les notices de la Flore de la France (1937) d'Hippolyte Coste, [en ligne]. Site disponible sur : (<http://www.tela-botanica.org>).
- [22] **Pellecuer, J. et coll.** ; Hypocratus.com ; e-formation sur les plantes médicinales, [en ligne]. Site disponible sur : « [http://www.hippocratus.com/metastite/web\\_site/1/contenu/public/detail\\_plante.php?ID\\_Plante=gar001&btActif=Accueil](http://www.hippocratus.com/metastite/web_site/1/contenu/public/detail_plante.php?ID_Plante=gar001&btActif=Accueil) ».
- [23] **König, C.** ; La garance voyageuse et le rouge, colorants végétaux, [en ligne]. Site disponible sur : « [http://www.futura-sciences.com/fr/doc/t/matiere-4/d/la-couleur-et-ses-mysteres\\_757/c3/221/p10/](http://www.futura-sciences.com/fr/doc/t/matiere-4/d/la-couleur-et-ses-mysteres_757/c3/221/p10/) », 2008.
- [24] **Bafghi, A-F., Taghi Noorbala, M., Hasn Hejazian, S.**; The Effect of Rubia Tinctorium Extract on Cutaneous Leishmaniasis in BALB/c Mice, World Journal of Zoology, 2008, 3 (1), 25-29.
- [25] **Emmanuel L. et coll.** ; La garance, Documentation technique sur les arts plastiques et avoisinants, [en ligne]. Site disponible sur: « [www.dotapea.com/garance](http://www.dotapea.com/garance) ».

- [26] **HC & Jain, Bhardwaj, KK.** ; Indian Dyes and Industry During 18th-19th Century, Indian Journal of History of Science, 1982, 17 (11), 70-81.
- [27] **Goverdina, C.H., Van Beek, D. & T-A.**; *Rubia tinctorum* L., Natural Products Chemistry, 2002, 26 (7), 629-684.
- [28] **Roth, L.**; Parc et jardins botaniques, [*en ligne*]. Site disponible sur : « <http://uiabotanique.free.fr/activite/plantesimple/rubia.htm> ».
- [29] **Cessenon** ; Histoires de Cessenon et d'ailleurs, avec des textes d'actualité, [*en ligne*]. Site disponible sur : « <http://cessenon.centerblog.net> », rubrique flore, 2007.
- [30] **Rostand, J., Courrier, R., Fage, L., Grassé, P-P., Piveteau, J., Tétry, A.** ; Le grand livre des plantes (tout en couleurs), Les deux coqs d'or, 1970, 161-162.
- [31] **De Goesin-Verhaeghe, P-F.** ; Messenger des sciences et des arts, Société royale des beaux-arts et de littérature et Société royale d'agriculture et de botanique de Gand, 1830, 379-380, [*en ligne*]. Site disponible sur : « <http://books.google.fr> ».
- [32] **Zurbuchen, W.** ; La garance, Revue du Vieux Genève 1975, 5, [*en ligne*]. Site disponible sur : « [www.garance.free.fr](http://www.garance.free.fr) ».
- [33] **Jansen, P-C-M., Cardon, D.** ; Colorants et tanins, PROTA, 2005, 159-162.
- [34] **Jamal, B.** ; Médecine traditionnelle et toxicologique ouest-saharienne, Techniques Nord-Africaines, 1978, 302-303 (332).
- [35] **Les végétaliseurs** ; Pour voir la vie en vert, 2009, [*en ligne*]. Site disponible sur : « <http://www.les-vegetaliseurs.com/partagez-86-herbierwiki/planche-1185-garancedesteinturiers.html> ».
- [36] **Manojlovic, N-T., Solujic, S., Sukdolak, S., Milosev, M.**; Antifungal activity of *Rubia tinctorum*, *Rhamnus frangula* and *Caloplaca cerina*, Fitoterapia, 2005, 76 (2), 244-246.
- [37] **Enam, A-K. , Fatma, U., Al-Hussaini, A & M.**; Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*), Journal of Ethnopharmacology, 2007, 109, 1 (3), 104-112.

- [38] **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans; Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene**, 2002, 82 129-151.
- Brun and Brun, 1976; Mori and Co., 1990; Wang and Co., 1992)
  - Medical Economics Co., 1998, 2000
  - Schneider et Co, 1979; Kawasaki et Co, 1992; Derksen et Co, 1998; El-Emary et Backheet, 1998; Marczylo et Co, 2000
  - Kawasaki et Co, 1992; Westendorf et Co, 1998; Medical Economics Co., 2000
  - Blömeke et al 1992; Westendorf et Co 1998
  - Poginsky et al., 1991
  - Sonnenberg et Müller, 1993
  - Dukas and Co., 2000
  - Westendorf and Co., 1990
- [39] **Inoue, K., Shibutani, M., Masutomi, N., Toyoda, K., Takagi, H., Uneyama, C., Nishikawa, A., Hirose, M.;** A 13-week subchronic toxicity study of madder color in F344 rats, *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46, 241–252.
- [40] **Starý, F., Storchová, H., Dubourg, M-J. ;** Plantes médicinales, 1992, 178-179.
- [41] **Kakaniova, D., Vaverkova, S., Liskova, D., Urgeova, E., Jurakova, Z.;** The possibility to enhance flavonoids production in *Rubia tinctorum* L. callus cultures , *Nova Biotechnologica*, 2009, 9 (2), 191-197.
- [42] **Farcy, P., Cassier, C., Sage, M. ;** Instants de saisons, Univers-nature.com et Echo Nature magazine [*en ligne*]. Site disponible sur : « <http://isaisons.free.fr/rubia%20peregrina.htm> ».
- [43] **Inoue, K., Yoshida, M., Takahashi, M., Shibutani, M., Takagi, H., Hirose, M., Nishikawa, A.;** Induction of kidney and liver cancers by the natural food additive madder color in a two-year rat carcinogenicity study, 2009, 47(6), 1400.
- [44] **Inoue, K., Shibutani, M. , Masutomi, N. , Toyoda, K. , Takagi, H., Takahashi, M., Fujimoto, H., Hirose, M., Nishikawa, A.;** One-year chronic toxicity of madder color in F344 rats – Induction of preneoplastic/neoplastic lesions in the kidney and liver, *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46, 3303–3310.

- [45] **Orbán, N., Boldizsár, I., Szúcs, Z., Dános, B.** ; Influence of different elicitors on the synthesis of anthraquinone derivatives in *Rubia tinctorum* L. cell suspension cultures, *Dyes and Pigments*, 2008, 77 (1), 249-257.
- [46] **Kalyoncu, F., Cetin, B., Saglam, H.**; Antimicrobial activity of common madder (*Rubia tinctorum* L.) *Phytother Res.*, 2006, 20 (6), 486-492.
- [47] **Blömeke, B., Poginsky, B., Schmutte, C., Marquardt, H., Westendorf, J.**; Formation of genotoxic metabolites from anthraquinone glycosides, present in *Rubia tinctorum* L., *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 1992, 265(2), 263-272.
- [48] **Karim, A., Mekhfi, H., Ziyat, A., Legssyer, A., Bnouham, M., Amrani, S., Atmani, F., Melhaoui, A., Aziz, M.**; Anti-diarrhoeal activity of crude aqueous extract of *Rubia tinctorum* L. roots in rodents, *Journal of Smooth Muscle Research*, 2010, 46 (2), 119-123.
- [49] **Damiano, J., Bardin, T.**; *Liquide synovial normal et pathologique*, Elsevier, 2006.
- [50] **Norton, S-A.**; Useful plants of dermatology. IV. Alizarin red and madder, *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1998 39 (3), 484-485.
- [51] **Baillif, S., Chiquet, C., Werner, L., Burillon, C., Denis, P.**; Opacification of a hydrophilic acrylic intraocular lens, *Journal français d'ophtamologie*, 2005, 8 (8) e4-.
- [52] **Banyai, P., Kuzovkina, I-N., Kursinszki, L., Szoke, E.**; HPLC Analysis of alizarin and purpurin produced by *Rubia tinctorum* L. hairy root cultures, *Chemistry and materials science*, 2006, 63(13) 111-114.
- [53] **Morimoto, M., Tanimoto, K., Komai, K.**; An insect antifeedant in catch weed (*Galium aparine* L.): a strategy for damage avoidance, *Proceedings of the 4th World Congress on Allelopathy, "Establishing the Scientific Base"*, 2005, 400-402.
- [54] **Bruneton, J.**; *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales*, 3ème édition Tec et Doc, 1999, 405 -445.
- [55] **Inoue, K., Yoshida, M., Takahashi, M., Fujimoto, H., Ohnishi, K., Nakashima, K., Shibutani, M., Hirose, M., Nishikawa, A.**; Possible contribution of rubiadin, a metabolite of madder color, to renal carcinogenesis in rats, *Food Chem Toxicol.*, 2009, 47(4) 752-759.

- [56] **Touati, D.;** cours et travaux pratiques de phytochimie, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> années ; Faculté de Médecine et Pharmacie Université Mohammed V, Rabat- Maroc, 2010.
- [57] **Aouina, K., Ferchichi, Ali., Ben Salah, M.;** Etude de la composition chimique de la garance (*Rubia tinctorum* L.) dans les oasis de Gabès, Revue des régions arides, 2008, 1 (21), 236-240.
- [58] **Koren, Z-C.;** Chromatographic analyses of selected historic dyeings from ancient Israel, In Janaway R. and Wyeth P. (eds.) Scientific Analysis of Ancient and Historic Textiles: Informing, Preservation, Display and Interpretation. Archetype Publications, 2005, 194-201.
- [59] **Ino, N., Tanaka, T., Okumura, A., Morishita, Y., Makita, H., Kato, Y., Nakamura, M., Mori, H.;** Acute and subacute toxicity tests of madder root, natural colorant extracted from madder (*Rubia tinctorum*), in (C57BL/6 X C3H) F1 mice, Toxicol Ind Health, 1995, 11(4), 449-458.
- [60] **Masutomi, N., Shibutani, M., Toyoda, K., Niho, N., Uneyama, C., Hirose, M.;** A 90-day repeated dose toxicity study of madder color in F344 rats: a preliminary study for chronic toxicity and carcinogenicity studies, Kokuritsu Iyakuin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku, 2000, 118, 55-62.
- [61] **Westerdorf, J., Poginsky, B., Marquardt, H., Groth, G., Marquardt, H.;** The genotoxicity of lucidin, a natural component of *Rubia tinctorum* L., and lucidinethylether, a component ethanolic *Rubia* extracts, Cell Biol Toxicol, 1988, 4(2), 225-239.
- [62] **Kawasaki, Y., Goda, Y., Yoshihira, K. ;** The mutagenic constituents of *Rubia tinctorum*, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1992, 40(6), 1504-1509.
- [63] **Westendorf, J., Pfau, W., Schulte, A.;** Carcinogenicity and DNA adduct formation observed in ACI rats after long-term treatment with madder root, *Rubia tinctorum* L., Carcinogenesis, 1998, 19(12), 2163-2168.
- [64] **Tanaka, T., Kohno, H., Murakami, M., Shimada, R., Kagami, S.;** Colitis-related rat colon carcinogenesis induced by 1-hydroxy-antraquinone and methylazoxymethanol acetate (Review), Oncol Rep, 2000, 7(3), 501-508.

- [65] **Inoue, K., Yoshida, M., Takahashi, M., Fujimoto, H., Shibutani, M., Hirose, M., Nishikawa, A.;** Potent carcinogenicity of madder-color-related alizarin and rubiadin in a rat medium-term multi-organ bioassay, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2009, 61(4), 409-410.
- [66] **Inoue, K., Yoshida, M., Takahashi, M., Fujimoto, H., Shibutani, M., Hirose, M., Nishikawa, A.;** Carcinogenic potential of alizarin and rubiadin, components of madder color, in a rat medium-term multi-organ bioassay, *Cancer science A.*, 2009, 100(12), 2261-2267.
- [67] **Marec, F., Kollárová, I., Jegorov, A.;** Mutagenicity of natural anthraquinones from *Rubia tinctorum* in the *Drosophila* wing spot test, *Planta Med*, 2001, 67(2), 127-131.
- [68] **Jager, I., Hafner, C., Welsh C., Schneider K., Iznaguen, H., Westendorf, J.;** The Mutagenic Potential of Madder Root in Dyeing Processes of the Textile Industry, *Mutation research. Genetic toxicology and environmental mutagenesis*, 2006, 605(1-2), 22-29.
- [69] **Banque de Données Automatisée sur les Médicaments; BIAM-VIDAL** [*en ligne*]. Site disponible sur: « [www.biam2.org](http://www.biam2.org) ».
- [70] **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans; Pharmaceutical Drugs**, 1990, 50, 265-273.
- [71] **Liste récapitulative des produits dont la consommation ou la vente ont été interdits ou rigoureusement réglementés ou qui ont été retirés du marché ou n'ont pas été approuvés par les gouvernements ; Produits Pharmaceutiques**, United Nations Publications, 2006, 66.
- [72] **OMS; Pharmaceuticals: Restrictions in Use and Availability**, 2009, 9.
- [73] **Takahashi, E., Fujita, K-I., Kamataki, T., Arimoto-Kobayashi, S., Okamoto, K., Negishi, T.;** Inhibition of human cytochrome P450 1B1, 1A1 and 1A2 by antigenotoxic compounds, purpurin and alizarin, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2002, 508 (1-2), 147-156.
- [74] **Takahashi, E., Marczyklo, T-H., Watanabe, T., Nagai, S., Hayatsu, H., Negishi, T.;** Preventive effects of anthraquinone food pigments on the DNA damage induced by

- carcinogens in *Drosophila*; Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2001, 480-481, 139-145.
- [75] **Marczylo, T-H., Hayatsu, T., Arimoto-Kobayashi, S., Tada, M., Fujita, K-I., Kamataki, T., Nakayama, K., Hayatsu, H.;** Protection against the bacterial mutagenicity of heterocyclic amines by purpurin, a natural anthraquinone pigment, Mutation Research, 1999, 444(2), 451-461.
- [76] **Bauduer, F.;** Agents cytostatiques en hématologie, EMC, 1998, 881.
- [77] **Gurib-Faki, A.;** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow, Molecular Aspects of Medicine, 2005, 27(1), 1-93.
- [78] **Nakanishi, F., Nagasawa, Y., Kabaya, Y., Sekimoto, H., Shimomura, K.;** Characterization of lucidin formation in *Rubia tinctorum* L., Plant physiology and biochemistry, 2005, 43(10-11), 921-928.
- [79] **Mukhopadhyay, M-J., Saha, A., Dutta, A., Mukherjee, B. & A.;** Genotoxicity of Sennosides on the Bone Marrow Cells of Mice, Food and Chemical Toxicology, 1997, 36, 937-940.
- [80] **Umber, J.;** Cours de chimie organique, minérale et structurale, Académie de Nancy-Metz, 2006.
- [81] **Lafont, R.;** Biologie et multimédia, Université Pierre et Marie Curie Paris 2005 [*en ligne*]. Site disponible sur : « [www.snv.jussieu.fr](http://www.snv.jussieu.fr) ».
- [82] **Mathieu, C., Gagnon, J-M. ;** Séminaire de Sherbrooke institution d'enseignement privé secondaire et collégial, chimie collégial, 2000.
- [83] **CNRST division UATRS ;** [*en ligne*]. Site disponible sur : « <http://www.cnr.ac.ma/uatrs/> ».

# Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.
- ❖ D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.
- ❖ D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie, à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

- ❖ De ne pas dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
- ❖ Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.

جامعة محمد الخامس  
كلية الطب والصيدلة  
- الرباط -

قسم الصيدلي

أقسم بالله

- ❖ أن أراقب الله في مهنتي
- ❖ أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- ❖ أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- ❖ أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- ❖ أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- ❖ لأحصى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

والله على ما أقول شهيد

سنة : 2010

أطروحة رقم: 51

رُوبيا تَنُكتوروم (الفوة) ، العشبة ذات الخطورة المحتملة :  
استعراض شامل للبحث والتحليل النبات- كيميائي  
لعينات نباتية من أصل مغربي.

## أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : .....

من طرف

السيدة : أودونكا كرين فلورا .

المزادة في 10 دجنبر 1984 بموندا (الكابون)

من المدرسة الملكية لمصلحة الصحة العسكرية – الرباط  
لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: روبيا تكنوروم – أنتراكينون – سُمِيَّة – مُسْرَطنة لِسِيدِين – غِيبيادين.

### تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: عبد القادر الثايب

أستاذ في علم وظائف الأعضاء

السيد: إدريس تواتي

أستاذ في تأثير الأدوية على الجسم

السيدة: شهرزاد بنعبداالله

أستاذة في علم الدم

السيد: حسن الريحاني

أستاذ في الأنكولوجيا الطبية

مشرف

أعضاء

}