

# CARACTÉRISATIONS ANALYTIQUES DES EXTRAITS COLORANTS DES PLANTES TINCTORIALES D'AFRIQUE CENTRALE

A.B. Madiélé<sup>1,2</sup>, J.M. Quio Zhao<sup>2</sup>, V. Thiery<sup>2</sup>, H. Agnanié<sup>3</sup>, C. Brunet<sup>4</sup>, M. Graber<sup>2</sup>,  
J.M. Ouamba<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unité de chimie du végétal et de la vie (UC2V), université Marien Nguabi, Congo

<sup>2</sup>Littoral environnement et sociétés (LIENSs), université de La Rochelle, France

<sup>3</sup>Laboratoire des substances naturelles et de synthèse organométallique (LASUNSO),  
université des sciences et techniques de Masuku, Franceville, Gabon

<sup>4</sup>Centre régional d'innovation et de transferts technologiques, CRITT-Horticole, Rochefort,  
France

jm\_ouamba@yahoo.fr

(Received 11 May 2013 - Accepted 15 January 2014)

## RÉSUMÉ

*L'objectif de cette étude est de contribuer à la valorisation des plantes tinctoriales d'Afrique Centrale. Une caractérisation phytochimique est réalisée sur trois espèces végétales présumées tinctoriales. *Grewia coriacea* Mast (Malvaceae), *Harungana madagascariensis* Lam ex Poir. (Hypericaceae), *Annickia chlorantha* Oliv. (Annonaceae) ont été sélectionnées au regard de leur utilisation traditionnelle comme colorant. Les extractions classiques ont été réalisées. Les familles chimiques responsables des propriétés tinctoriales ont été mises en évidence au moyen de la chromatographie couche mince et puis quantifiées par des méthodes usuelles. L'activité antioxydante a été aussi évaluée sur les extraits de ces trois espèces.*

**Mots-clés:** plantes tinctoriales, *Grewia coriacea*, *Annickia chlorantha*, *Harungana madagascariensis*, caractérisation phytochimique, dosage, activité antioxydante

## ABSTRACT

*The aim of this study is to contribute to the valorization of the tinctorial plants of Central Africa. A chemical characterization was conducted on three vegetable species presumed tinctorial. *Grewia coriacea* Mast (Malvaceae), *Harungana madagascariensis* Lam ex Poir. (Hypericaceae), *Annickia chlorantha* Oliv. (Annonaceae) were selected because of their traditional use as colouring agents. The classical extractions were done by means of TLC, and quantified by usual methods. The antioxidant activity for the three species has also been assessed.*

**Keywords:** tinctorial plants, *Grewia coriacea*, *Annickia chlorantha*, *Harungana madagascariensis*, chemical characterization, quantified, antioxidant activity

## INTRODUCTION

En Afrique centrale, les plantes tinctoriales, produisant des colorants naturels ont été recensées et certaines ont été identifiées. Si en Europe les propriétés tinctoriales de certains végétaux ont pu être exploitées de manière très précoce (Bocquet & Berretrot, 1989), en Afrique en général et en Afrique Centrale en particulier, les études sur les propriétés tinctoriales de certains végétaux semblent latentes malgré les travaux de Jansen et Cardon (2005). La plupart des espèces indigènes utilisées en teinture se développent spontanément dans la végétation rurale et leur présence est anodine. C'est ainsi que de nombreuses espèces ont pu être exploitées traditionnellement pour la teinture. En effet, les colorants naturels sont connus pour leur usage dans la coloration des aliments, de cuirs aussi bien que des fibres naturelles. L'utilisation des colorants naturels est aussi antique que la civilisation humaine et pendant longtemps ils ont été extraits des minerais, des plantes et des animaux.

L'utilisation des espèces tinctoriales par des populations pour des raisons culturelles et d'efficacité intrinsèque justifie de plus en plus le besoin de leur valorisation. Certaines plantes sont utilisées traditionnellement comme colorants à cause de leur aspect, de la teinture qu'elles laissent au toucher, par héritage ancestral, pour des besoins d'esthétique.

Peu de travaux sont disponibles dans la littérature sur les propriétés colorantes de plantes tinctoriales issues de la flore d'Afrique Centrale. On a donc procédé à une caractérisation analytique de trois plantes tinctoriales sélectionnées : *Grewia coriacea* Mast, *Harungana madagascariensis* Lam ex Poir., *Annickia chlorantha* Oliv., pour les remarquables qualités tinctoriales qu'elles présentent pour les populations (Nsimundélé, 2004 ; Nyegue, 2011) pour leur fréquence d'utilisation, leur répartition géographique à l'échelle régionale et pour leur facilité d'approvisionnement.

Les informations reçues des herboristes et des artisans teinturiers aussi de la littérature (Osabohien & Ukponwan, 2002) indiquent que l'écorce jaune du tronc de *Annickia chlorantha* fournit un excellent colorant utilisé dans la teinture des tissus, des peaux et nattes dans certaines régions, plus particulièrement au Cameroun, au Congo, au Gabon et en RDC (Walker et Sillans, 1995). L'extrait rouge sang des fruits de *Grewia coriacea* est souvent associé avec de l'argile (Kaolin) pour décorer en rouge de nombreuses parures au cours des cérémonies traditionnelles de mariage. L'écorce du tronc de *Harungana madagascariensis* fournit une gomme jaune qui est utilisée comme colorant. En Ouganda, *Harungana madagascariensis* est une source potentielle pour le colorant textile (Wanyama *et al.*, 2011). Au Cameroun, le colorant obtenu à partir de la décoction de l'écorce sert à teindre les tissus et les nattes.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Matériel végétal

L'étude est menée sur les organes de trois espèces végétales de familles ethnobotaniques différentes. Les fruits de *Grewia coriacea* ont été récoltés dans une forêt du



### Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique au moyen de la chromatographie en couche mince (CCM) a été réalisé selon les techniques analytiques décrites dans la littérature (Bouquet, 1969; Georgievskii *et al.*, 1990; Wagner & Bladt, 1996; Chaaib, 2004; Békro *et al.*, 2007; Mamyrbékova-Békro *et al.*, 2008).

### Dosage des familles d'intérêt

La quantité des polyphénols totaux a été déterminée selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteux (Singleton & Rossi, 1965) avec quelques légères modifications. La quantité de composés phénoliques totaux a été déterminée par l'étalon réalisé avec différentes concentrations d'acide gallique dont la relation est:

$$y = 0,0021x + 0,0382 \text{ avec une corrélation } R^2 = 0,9945.$$

La quantification des flavonoïdes totaux est menée en utilisant le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) selon la méthode de Ayoola *et al.* (2008). La quantité de flavonoïdes totaux a été déterminée par l'étalon réalisé avec différentes concentrations de quercétine dont la relation obtenue à partir de la courbe d'étalonnage s'écrit:

$$y = 0,0093x + 0,0187 \text{ avec une corrélation } R^2 = 0,9702.$$

Les anthocyanes sont dosées chimiquement selon la méthode soustractive qui met en œuvre la réaction avec le bisulfite de sodium (Jurd, 1964; Ribéreau-Gayon & Stonestreet, 1965). La concentration en anthocyanes est calculée par rapport à une droite étalon préalablement établie avec la malvine3- chlorite. La relation obtenue à partir de la courbe d'étalonnage s'écrit :  $y = 0,0034x - 0,0086$  avec une corrélation  $R^2 = 0,9973$ . La quantification des alcaloïdes dans les extraits colorants est déterminée selon la méthode gravimétrique.

3 g de colorant sont agités avec 25 ml d'acide sulfurique à 10 % et 5 ml d'eau distillée. Le mélange est filtré et alcalinisé avec de l'ammoniaque jusqu'à l'obtention d'un pH 8-9, puis on fait une extraction liquide-liquide avec 50 mL de chloroforme. Le filtrat est séché sur du sulfate de sodium anhydre puis filtré. La phase organique chloroformique est évaporée à sec. Le produit brut obtenu a une masse  $M^1$ . Le pourcentage d'alcaloïde est donné par la relation :

$$A \% = [(M - M^1)/M] \times 100$$

avec M: masse de la prise d'essai qui correspond à 3 g de colorant.

### Évaluation de l'activité anti oxydante

Le test de réduction du DPPH a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits.

L'évaluation de l'activité antioxydante est réalisée comme suit:

À 1 ml d'une solution méthanolique de DPPH (100 $\mu$ M), on ajoute 0,1 ml de l'extrait de la plante. Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 20 min. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de 1 ml de solution de DPPH et de 0,1 mL de méthanol.

La préparation des échantillons et du témoin est réalisée dans les mêmes conditions opératoires. La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre et le pourcentage d'inhibition (%IP) est calculé selon la formule suivante:

$$\%IP = [(At_0 - At_{20})/At_0 \times 100]$$

avec :  $At_0$ : absorbance du témoin (ne contenant aucun antioxydant) après 20 min.

$At_{20}$ : absorbance des extraits après 20 min.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

### Rendement des extractions

Les rendements d'extraction de différents matériels végétaux étudiés sont reportés dans le Tableau 2.

TABLEAU 2

#### Rendement d'Extraction de Différents Matériels Végétaux

Extraits	Rendement (%)		
	<i>Enantia chlorantha</i>	<i>Grewia coriacea</i>	<i>Harungana madagascariensis</i>
Aqueux	7,32	16,56	14,09
H <sub>2</sub> O/EtOH	11,96	20,84	25,24

Chaque essai a été répété deux fois et chaque valeur reportée dans ce Tableau en est la moyenne. De ces résultats on constate que le mélange hydro-alcoolique donne les meilleurs rendements d'extraction par rapport à l'eau toute seule.

L'objectif de cette étude est aussi de développer ou de mettre au point une méthode d'extraction qui permet d'obtenir l'extrait le plus riche possible en principes tinctoriaux. Il s'avère, d'après ce travail, que le mélange hydro-alcoolique donne le meilleur résultat.

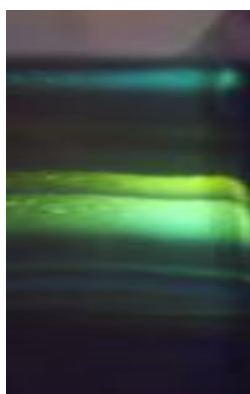
Cependant, la quantité d'extraits colorants dépend essentiellement: de l'origine de la plante, la variété, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante et la durée de conservation.

### Criblage phytochimique

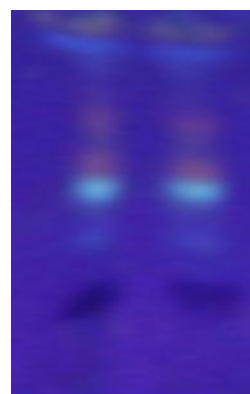
Les CCM ont été effectuées sur les extraits hydro-alcooliques. Pour cela une partie des extraits a été solubilisée dans du méthanol pur et déposée sur plaques de CCM (silicagel 60F254 – Merck sur support d'aluminium d'épaisseur 0.5 mm) et révélée avec les réactifs appropriés à chaque classe de composés. La Figure 1 représente respectivement les chromatogrammes montrant la séparation des colorants.



**Profil chromatographique de l'extrait colorant hydro-alcoolique *Annickia chlorantha* observé sous UV/366 après révélation avec le réactif de Dragendorff.**



**Profil chromatographique de l'extrait colorant de *Harungana madagascariensis* observé sous UV/254 après révélation avec le KOH alcoolique.**



**Profil chromatographique de l'extrait colorant hydro-alcoolique *Grewia coriacea* observé sous UV/254.**

**Figure1. Profil chromatographique des extraits colorants hydro-alcooliques.**

Les résultats du criblage phytochimique par CCM sont indiqués dans le Tableau 3. Les taches orange, jaune, bleu, rose, verte, pourpre observées sur les chromatogrammes dans le visible et sous UV/366 nm peuvent correspondre à différentes classes des métabolites secondaires.

La présence des flavonoïdes a été confirmée par le réactif de Neu qui les fait apparaître dans le visible sous forme de tache jaune et marron. Sous observation UV/366 nm, ces couleurs s'intensifient et se diversifient. Les flavonoïdes forment avec le réactif de Neu des complexes bien colorés dans le visible ou sous UV (Georgievskii *et al.*, 1990). Par analogie des données bibliographiques (Wagner & Bladt, 1996 ; Mamyrbékova-Békro *et al.*, 2008). Avec les résultats obtenus, on déduit que les spots révélés peuvent correspondre aux flavonoïdes.

TABLEAU 3

## Identification des Groupes Chimiques dans les Extraits par CCM

Espèces	Familles chimiques identifiées	Couleur des taches		Rf
		Dans le visible	UV/366 nm	
<i>Grewia coriacea</i>	anthocyanes	rouge	vert fluorescent	0.47
		rose	vert fluorescent	0.53
		rose	bleu fluorescent	0.56
		brun	orange	0.69
		rose	bleu clair	0.75
<i>Harungana madagascariensis</i>	flavonoïdes	jaune	jaune vert	0.25
		jaune clair	rose	0.28
		jaune pâle	jaune vert	0.47
		jaune	jaune fluorescent	0.56
		jaune	bleu fluorescent	0.78
	Composés anthracéniques	jaune	jaune brun	0.15
		jaune	rouge	0.25
		jaune	jaune orangé	0.37
		jaune	rouge cerise	0.56
		pourpre	rouge	0.74
<i>Enantia chlorantha</i>	alcaloïdes	jaune	bleu fluorescent	0,29
		jaune	jaune	0,37
		jaune	mauve	0.43
		Jaune	rouge brun	0.51
		rouge	orange	0.66
		pourpre	jaune	0.74
jaune	bleu fluorescent	0.93		

Selon Wagner et Bladt (1996), les fluorescences jaunes, jaune vertes et bleues peuvent probablement être respectivement des flavanols, des flavanones. Les composés anthracéniques sont présents dans l'extrait de *Harungana madagascariensis* (coloration violette, pourpre, jaune sous visible). La détection de ces composés par chromatographie sur couche mince révélée (avec le KOH méthanolique à 5%) a fait ressortir les taches rouges, roses et jaunes-verdâtres à différents Rf. Ces résultats sont en accord avec les études phytochimiques menées sur les écorces du tronc de *Harungana madagascariensis* des espèces du Cameroun, de Madagascar, du Nigéria et d'Australie. Sur ces espèces, la présence des composés anthracéniques et des flavonoïdes a été mise en évidence (Kouam *et al.*, 2005; Kouam *et al.*, 2006; Thin *et al.*, 2006; Debray *et al.*, 1971; Buckley *et al.*, 1972; Stout *et al.*, 1962; Ritchie *et al.*, 1964; Inuma *et al.*, 1995; Ndjakou Lenta *et al.*, 2007). Les anthocyanes se décèlent sous forme de taches jaune, mauve, rose et orange rouge. Markham (1992) et Mohammedi (2006) ont montré que les anthocyanidines-3-glycosides donnent des taches orange, rouge et mauve. Aucune étude approfondie d'un point de vue phytochimique n'a été menée sur l'espèce *Grewia coriacea*. Mais par comparaison avec d'autres espèces de la famille des malvaceae, on peut noter chez *Grewia coriacea* la présence des anthocyanidines comme la malvidine. La détection des alcaloïdes par chromatographie sur couche mince révélée avec le réactif de Dragendorff a fait ressortir deux taches bien claires dans le visible (Rf= 0,66, Rf= 0,74) et trois taches de coloration moins intense (Rf =0,43, Rf=0,51, Rf=0,93).

D'après les travaux de Harmonniere *et al.* (1975), Samir *et al.* (1989) et Oliver-Bever (1983) plusieurs alcaloïdes ont été isolés chez l'espèce *Annickia chlorantha*. Ces alcaloïdes souvent présents dans les plantes sous forme de sels (chlorure, sulfates principalement) peuvent être des principes tinctoriaux des colorants jaunes basiques. Il s'agit de la berbérine, de la jatrorrhizine, de la columbamine et de la palmatine.

De nombreuses études attribuent aux flavonoïdes, anthocyanes, composés et dérivés anthracéniques et alcaloïdes des propriétés tinctoriales (Brouillard, 1993; Brouillard & Delaporte, 1977; Clifford, 2000; Wilska-Jeszka, 1991; Cardon, 2003). La présence de ces familles chimiques dans les espèces choisies pour cette étude, peut être mise à profit pour les proposer comme des sources potentielles de colorants naturels. Leur utilisation traditionnelle comme colorants est donc bien fondée.

#### Dosage des composés d'intérêt

Afin de caractériser les extraits colorants un dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des anthocyanes et des alcaloïdes a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que les propriétés tinctoriales des plantes leur sont attribuées. La teneur des polyphénols, des flavonoïdes totaux et des anthocyanes dans les extraits a été obtenue à partir des courbes d'étalonnage établies avec les concentrations précises de l'acide gallique, de la quercétine et de la malvidine-3-chlorite. Les résultats de ces dosages sont représentés dans le Tableau 4.

TABLEAU 4

Résultats des Dosages  
Les Valeurs Correspondent à la Moyenne de Trois Répétitions (n=3)

Extraits	Polyphénols totaux (mg EAG/g)	Flavonoïdes (mg EQ/g)	Anthocyanes (mg/mL)EMvCl	Alcaloïdes quaternaires (%)
EC-1	5,17 ± 0,16	0,70 ± 0,07		33,64 ± 3,42
EC-2	8,45 ± 0,28	3,80 ± 0,14		27,36 ± 2,21
GC-1	14,98 ± 1,36	0,43 ± 0,06	12,14 ± 0,01	
GC-2	15,95 ± 0,58	5,20 ± 0,02	15,34 ± 0,04	
HM-1	24,38 ± 2,87	6,93 ± 0,28		
HM-2	27,43 ± 2,94	9,04 ± 0,31		

EC-1: extrait aqueux *Annickia chlorantha*, EC-2: extrait eau/EtOH *Annickia chlorantha*

GC-1: extrait aqueux *Grewia coriacea*, GC-2: extrait eau/EtOH *Grewia coriacea*

HM-1: extrait aqueux *Harungana madagascariensis*, HM-2: extrait eau/EtOH *Harungana madagascariensis*.

Les résultats du dosage des polyphénols ont montré que les organes des plantes étudiées contiennent tous des polyphénols. Les teneurs les plus importantes sont observées dans les écorces de l'espèce *Harungana madagascariensis*.



Les teneurs en flavonoïdes totaux varient d'une espèce à une autre. Les écorces de *Harungana madagascariensis* enregistrent la plus forte teneur. Les écorces d'*Annickia chlorantha* et les fruits de *Grewia coriacea* sont les moins riches en flavonoïdes totaux en milieu aqueux. Les teneurs en anthocyanes obtenues et exprimées en mg/ml équivalent de malvidine-3-chlorite prouvent la richesse de l'espèce *Grewia coriacea* en composés anthocyaniques. La quantité des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux dans les extraits *Annickia chlorantha* est largement supérieure à celle de l'extrait aqueux *Annickia chlorantha* obtenu dans les travaux de Ayoade *et al.* (2007). Cependant le pourcentage en alcaloïdes est presque approximatif (Ayoade *et al.*, 2007) avec celui de cet extrait. Si l'on tient compte des teneurs en composés d'intérêt d'après cette étude, on peut dire que les trois plantes, *Annickia chlorantha*, *Grewia coriacea* et *Harungana madagascariensis* sont effectivement des sources potentielles des colorants naturels.

#### Évaluation de l'activité anti oxydante

Les résultats de l'activité antioxydante déterminée à l'aide du test de DPPH sont résumés dans le Tableau 5.

TABLEAU 5

#### Résultats de l'Activité Anti-Oxydante

Espèces végétales	Pourcentage d'inhibition (%IP)	
	Extrait aqueux	Extrait eau/EtOH
<i>Annickia chlorantha</i>	20,93 ± 1,03	27,87 ± 0,83
<i>Grewia coriacea</i>	28,80 ± 3,62	71,80 ± 3,33
<i>Harungana madagascariensis</i>	71,40 ± 2,11	74,67 ± 3,72

L'activité antioxydante de ces extraits pourrait être expliquée par leur richesse en substances polyphénoliques. De nombreuses études ont déjà montré les propriétés antioxydantes des flavonoïdes, des anthocyanes et de leucoanthocyanes (Madhavi *et al.*, 1996).

Les extraits de l'écorce du tronc d'*Annickia chlorantha* ont montré une activité antioxydante modérée. L'analyse phytochimique des extraits a mis en évidence la présence des polyphénols, des flavonoïdes et des alcaloïdes. Cette activité serait donc attribuée à la présence de ces familles chimiques. L'activité antioxydante des alcaloïdes a été prouvée dans les travaux de Perez *et al.* (2003). La forte concentration d'anthocyanes dans les extraits de *Grewia coriacea* apporte une grande contribution à leur capacité antioxydante.

Les extraits de l'écorce du tronc de *Harungana madagascariensis* exhibent les plus grandes valeurs d'activité antioxydante; ceci semble être en accord avec les résultats de l'analyse du screening phytochimique. Outre les polyphénols et les flavonoïdes, l'activité antioxydante des composés anthracéniques et de leurs dérivés des écorces du tronc de

*Harungana madagascariensis* a été prouvée par d'autres auteurs (Kouam *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 1998).

### CONCLUSION

Dans ce travail, on a entrepris une caractérisation analytique et une évaluation des propriétés tinctoriales de trois plantes utilisées en Afrique Centrale comme source de colorant. Des extractions classiques ont été réalisées. Les flavonoïdes, les anthocyanes, les anthraquinones et les alcaloïdes (substances naturelles à intérêt tinctorial considérable) ont été mis en évidence par chromatographie sur couche mince et quantifiés par les méthodes classiques. Ces résultats restent cependant préliminaires et il serait intéressant d'isoler les molécules qui sous-tendent les propriétés tinctoriales dans les différents extraits et de les identifier par les méthodes appropriées.

### REMERCIEMENTS

Nous remercions sincèrement le Centre de Recherche d'Innovation et de Transfert Technique (CRITT) de l'Association Régionale de Recherche et de Développement Horticole (ARRDHOR) de Rochefort - France de nous avoir permis de mener les extractions au sein de son laboratoire.

### RÉFÉRENCES

- Ayoade, A.A., Musbau, A.A. and Musa, T.Y. 2007. Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark. *African Journal of Biotechnology*, 6(22): 2502-2505.
- Ayoola, G.A., Ipav, S.S., Solidiya, M.O., Adepoju-Bello, A.A., Coker, H.A.B., Odugbemi, T.O. 2008. Phytochemical screening and free radical scavenging activities of the fruits and leaves of *Allanblackia floribunda* Oliv (Guttiferaceae). *International Journal of Health Research*, 1(2): 81-93.
- Békro, Y.A., Békro, M.J.A., Boua, B.B., Tra Bi, F.H. et Ehile, E.E. 2007. Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend et Zarucchi (Caesalpiniaceae). *Sciences et Nature*, 4: 217-225.
- Bocquet, A. et Berretrot, F. 1989. Le travail des fibres textiles au néolithique récent à Charavines (Isère). In : Tissage, Corderie, Vannerie. Approches archéologiques, ethnologiques, technologiques. *Actes IX<sup>e</sup> rencontres internationales d'archéologie du CNRS ; musée archéologique d'Antibes, Antibes, octobre 1988*, APDCA, Juan-les-Pins, p. 113-129.
- Bouquet, A. 1969. Plantes médicinales du Congo-Brazzaville. Paris, France, *ORSTOM, Travaux et Documents*, (36): 306 p.
- Brouillard, R. 1993. *The flavonoids, advances in research since 1986*. Éd. J.B.Harborne, Chapman and Hall, London, p. 525-538.
- Brouillard, R. and Delaporte, B. 1977. Chemistry of anthocyanin pigments. II kinetic and thermodynamic study of proton transfer, hydration and tautomeric reactions of malvidin-3-glucoside. *J. Am. Chem. Soc.*, 99: 8461-8468.
- Buckley, D.G., Ritchie, E., Taylor, W.C., Young, L.M. 1972. Madagascarin, a new pigment from the leaves of *Harungana madagascariensis*. *Aust. J. Chem.*, 25: 843.
- Cardon, D. 2003. *Le monde des teintures naturelles*. Édition Belin, ISBN 2-7011-26789, 586p.

- Chaaib, K.F. 2004. *Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine Zanthoxylum zanthoxyloides (Lam.) Zepernick et Timler (Syn. Fagarazan thoxyloides L.) Rutaceae*. Thèse de doctorat Université de Lausanne (Suisse), 199 p.
- Clifford, M.N. 2000. Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden- a review. *J. Sci. Food Agri.*, 80: 1063-1072.
- Debray, M., Jacquemin, H. et Razafindrmbao, R. 1971. Contribution à l'inventaire des plantes médicinales de Madagascar. *Travaux et Documents ORSTOM*, no. 8, 150p.
- Georgievskii, V.P., Komissarenko, N.F. et Dmitrouk, S.E. 1990. Substances bioactives des plantes médicinales. Édition « Naouka » Novosibirsk, 336 p.
- Harmonniere, M., Leboeuf, M., Cave, A. et Paris, R. 1975. *Pl. Méd. Phytoch.*, 9, p. 296.
- Inuma, M., Tosa, H., Ito, T., Tanaka, T., Aqil, M. 1995. Two prenylated anthrones in *Harungana madagascariensis*. *Phytochemistry*, 40(1): 267-270.
- Jansen, P.C.M. et Cardon, D. 2005. *Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3. Colorants et tanins*. Fondation PROTA, CTA, Wageningen, Pays- Bas. 238 pp.
- Jurd, L. 1964. Reactions involved in sulfite bleaching of anthocyanins. *J. Food. Sci.*, 29: 16-19.
- Kouam, S.F., Shamsun, N.K., Krohn, K., Ngadjui, B.T., Kapche, D.G.W.F., Yapna, D., Zareem, S., Moustafa, A.M.Y. and Choudhary, M.I. 2006.  $\alpha$ -glucosidase inhibitory anthranols, kenganthranol A – C, from the stem bark of *Harungana madagascariensis*. *J. Nat. Prod.*, 69: 229 – 233 .
- Kouam, S.F., Ngadjui, B.T., Krohn, K., Wafo, P., Ajaz, A. and Choudhary, M.I. 2005. Prenylatedanthronoïd antioxidants from the stem bark of *Harungana madagascariensis*. *Phytochemistry*, 66(10): 1174-1179.
- Lee, S.K., Zakaria, H., Chung, H., Luyengi, L., Gamez, E.J.C.M., Mehta, R.J., Kinghorn, D., Pezzuto, J.M. 1998. Evaluation of the antioxidant potential of natural products. *Comb. Chem. High Throughput Screening*, 1: 35-46.
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salumkhe, D.K. 1996. *Food antioxidants, technological, toxicological, and health perspectives*. Marcel Dekker, New york.
- Mamrybékova-Békro, J.A., Konan, M.K., Békro, Y.A., Djié Bi, M.G., Zomi Bi, T.J., Mambo, V., Boua, B.B. 2008. Phytocompounds of the extracts of four medicinal plants of Côte d'Ivoire and assessment of their potential antioxidant by thin layer chromatography. *European Journal of scientific Research*, 24(2): 219-228.
- Markham, K.R. 1992. *Techniques of flavonoid identification biological techniques series*. Ed. Treherme J.E. et Rubery P.H., Academic Press, 113p.
- Mohammed, Z. 2006. *Étude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen*. Thèse de magister, 104 p.
- Ndjakou Lenta, B., Ngouela, S., Fekam, B., and al. 2007. Anti-plasmodial activity of some constituents of the root bark of *Harungana madagascariensis* Lam (Hypéricaceae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 55: 464-467.
- Nsimundélé, L. 2004. *Plantes médicinales, plantes stupéfiantes pour la pêche et plantes alimentaires du Bas – Congo*. Inédit.
- Nyegue, M.A. 2011. Dye plants of Cameroon, from tradition to new research. *International Symposium and Exhibition on Natural Dyes*, La Rochelle, France 24 – 30 April.
- Oliver-Bever, B. 1983. Medicinal plants in tropical West Africa II. Plants acting on the nervous system. *Journal of Ethnopharmacology*, 7(1): 1– 93.
- Osabohien, E., Ukponwan, D.O. 2002. Extraction of natural dyes from some local plants. *Journal of Chemical Society of Nigeria*, 27(2): 139 – 142.

- Perez, R.M., Vargas, R., Martinez, F.J., Garcia, E.V. and Hernandez, B. 2003. Antioxydant activity of alkaloids from *Bocconia arborea*. A study on six methods. *Ars Pharmaceutica*, 44(1): 5-21.
- Ribéreau-Gayon, P. et Stonestreet, E. 1965. Dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull. Soc. Chim.*, 419: 2649-2652.
- Ritchie, E., Taylor, W.C., Shannon, J.S. 1964. The constituents of *Harungana madagascariensis* Poir. *Tetrahedron Lett.*, 5(23): 1431-1436.
- Samir, A.R., Makboul, A.M., Moses, O.F., Gabriel, O., Zac, G. 1989. Alkaloids from *Enantia chlorantha*. *Bull. Fac. Sci. Assiut University*, 18(2-B): 21-29.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenols with phospho molybdic phosphotungsticacid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Stout, G.H., Alden, R.A., Kraut, J., Taylor, W.C., Young, L.M. 1962. Extraction of antioxidant components of the root bark of *Harungana madagascariensis*. *J. Am. Chem. Soc.*, 84: 1653.
- Tih, A.E., Ghogomu, R.T., Sondengam, B.L., Caux, C., Bodo, B. 2006. Minor constituents of *Harungana madagascariensis* stem bark. *J. Am. Chem. Soc.*, 84: 1653-1661.
- Wagner, H., Bladt, S. 1996. *Plant drug analysis, a thin layer chromatography*. Atlas second edition.
- Walker, A.R. et Sillans, R. 1995. *Les plantes utiles du Gabon*. Édition Sépia, 614 pp.
- Wanyama, P.A.G., Kiremire, B.T., Ogwok, P. and Murumu, J.S. 2011. Indigenous plants in Uganda as potential sources of textile dyes. *African Journal of Plant Science*, 5(1): 28-39.
- Wilska-Jeszka, J. 1991. Anthocyanins as natural food colorants. *IFI*, 3: 10-15.