

RÉPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE

FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES,
TECHNOLOGIES ET GÉOSCIENCES

UNITÉ DE RECHERCHE ET DE FORMATION

DOCTORALE EN CHIMIE ET APPLICATIONS



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDÉ I

POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCES,
TECHNOLOGY AND GEOSCIENCES

RESEARCH AND POSTGRADUATE TRAINING

UNIT FOR CHEMISTRY AND APPLICATIONS

LABORATOIRE DES SUBSTANCES NATURELLES DES PLANTES ET DES
CHAMPIGNONS MICROSCOPIQUES

LABORATORY OF FUNGI AND PLANT NATURAL PRODUCTS

Détection et isolement des constituants
chimiques des fruits d'*Alchornea cordifolia*
Schum. & Thonn. Muell. Arg. (Euphorbiaceae)
et activités antimicrobiennes des composés isolés

THÈSE

Présentée en exigence des conditions requises pour l'obtention du diplôme de
Doctorat/Ph.D en Chimie Organique

Par

EBESSA Virginie

Matricule : 94Q006

DEA en Chimie Organique

Sous la Co-direction de :

Tane Pierre (*in memoriam*)

Professeur, Université de Dschang

Kouam Fogue Siméon

Professeur, Université de Yaoundé 1



Année académique 2019-2020

RÉPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix – Travail – Patrie
UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ 1
FACULTÉ DES SCIENCES
BP 812 Yaoundé



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace – Work – Fatherland
THE UNIVERSITY OF YAOUNDÉ 1
FACULTY OF SCIENCE
P.O. Box 812 Yaoundé

DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE
DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

Attestation de correction du manuscrit de thèse de Doctorat/Ph.D de Mme Ebessa
Virginie, Matricule 94Q006

Le jeudi 30 juin 2020 à 11 heures, dans la salle S01/S02 du nouveau Bloc Pédagogique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé 1, Mme Ebessa Virginie, Matricule 94Q006; a soutenu publiquement sa thèse de Doctorat/Ph.D sur le sujet intitulé "Détection et isolement des constituants chimiques des fruits d'*Alchornea cordifolia* Schum. & Thonn. Muell. Arg. (Euphorbiaceae) et activités antimicrobiennes des composés isolés" devant le Jury constitué comme suit :

- M. Augustin Ephrem Nkengfack, Professeur à Université de Yaoundé I, Président
- M. Siméon F. Kouam, Professeur à l'Université de Yaoundé I, Rapporteur
- M. Véronique N. Penlap, Professeur à l'Université de Yaoundé I, Examineur
- M. Turibio K. Tabopda, Maître de Conférences à l'Université de Yaoundé I, Examineur
- M. Jean Claude Ndom, Maître de Conférences à l'Université de Douala, Examineur

En notre capacité de membres de Jury, nous certifions que cette thèse a été correctement corrigée par la candidate, suivant les recommandations du Jury.

En foi de quoi la présente attestation est établie et délivrée pour servir et valoir ce que de droit./-

Yaoundé, le 08 SEPT 2020,

Président

Rapporteur

Membres

TABOPDA T.
- P. V. PENLAP BEATRICE

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

FACULTE DES SCIENCES

Division de la Programmation et du
Suivi des Activités Académiques



THE UNIVERSITY OF YAOUNDÉ I

FACULTY OF SCIENCE

Division of Programming and Follow-
up of Academic Affairs

ENSEIGNANTS PERMANENTS

PERMANENT TEACHING STAFF

Année académique: 2019-2020

(Par Département et par grade)

Date d'actualisation: 12 juin 2020

Administration

Doyen : TCHOUANKEU Jean Claude, *Maître de Conférences*

Vice-Doyen / DPSAA : ATCHADE Alex de Théodore, *Maître de Conférences*

Vice-Doyen / DSSE : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

Vice-Doyen / DRC : ABOSSOLO Monique, *Maître de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Marie C.F., *Maître de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche (DAASR) : MBAZE MEVA'A Luc Léonard, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)			
N°	Noms et Prénoms	Grade	Observations
1	BIGOGA DIAGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE M. C.F.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF / FS</i>
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
17	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
18	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste

19	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
20	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Inspecteur de Service MINESUP</i>
21	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste
22	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
23	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
24	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
25	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
26	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
27	EWANE Cécile Anne	Chargée de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
30	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
31	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
32	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
34	PECHANGOU NSANGO Sylvain	Chargé de Cours	En poste
35	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
36	MBOUCHE FANMOE M. Joëlle	Assistante	En poste
37	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
38	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (48)			
1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	<i>Chef de Département</i>
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice-Doyen/FMSB/UIYI</i>
6	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
7	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
8	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
10	NOLA Moïse	Professeur	En poste
11	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
12	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTÉ</i>
13	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	<i>En poste</i>
14	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
15	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
16	DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
17	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste

18	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
19	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
20	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
21	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
22	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
23	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
26	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
27	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
28	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
29	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
30	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
31	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
32	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargé de Cours	En poste
33	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
34	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
35	MOUNGANG LucianeMarlyse	Chargée de Cours	En poste
36	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
37	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
38	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
39	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	<i>Chef Div. UBA</i>
40	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
41	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
42	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
43	YEDE	Chargé de Cours	En poste
44	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
45	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
46	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
47	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
48	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (33)			
1	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef Division/UYII</i>
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	YOUMBI Emmanuel	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
7	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP

12	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
13	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
14	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
15	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
16	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
17	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
18	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
19	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
20	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
21	MAHBOU SOMO TOUKAM Gabriel	Chargé de Cours	En poste
22	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
23	NGOOU Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
24	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
25	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
26	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
27	GODSWILL N. NTSEFONG	Assistant	En poste
28	KABELONG B. Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
29	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
30	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
31	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
32	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
33	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (34)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épse MELO	Professeur	<i>Recteur/Univ. Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Miss/PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
7	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
8	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen/Univ. Bamenda</i>
9	NENWA Justin	Professeur	En poste
10	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen FS/UDs</i>
11	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
12	DJOUFAC WOUUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
13	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
14	KAMGANG YOUNI Georges	Maître de Conférences	En poste
15	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
16	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste

17	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
18	NJIOMOU C. épse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
19	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
20	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	<i>CS/ ENS Bertoua</i>
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU Daouda	Chargé de Cours	En poste
25	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
26	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
27	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
28	NEBA née NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	<i>CT/ MINFEM</i>
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
31	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
32	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
33	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
34	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (35)

1	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/DSSE/Fac. SED</i>
2	GHOYOMU TIH Robert Ralph	Professeur	<i>Dir. IBAF/UDA</i>
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Dpt UD's</i>
4	NKENGFAK Augustin Ephrem	Professeur	<i>Chef de Département</i>
5	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
6	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
7	WANDJI Jean	Professeur	En poste
8	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>Chef Service/MINESUP</i>
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Sous/Direct. MINRESI</i>
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>Chargé d'Études Ass. n°3/MINESUP</i>

20	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
21	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
22	TCHOUANKEU Jean Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen/FS/UYI</i>
23	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
24	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
25	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
26	KAMTO Eutrophe Ledoux	Chargé de Cours	En poste
27	MVOT AKAK Carine	Chargé de Cours	En poste
28	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
29	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
30	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
31	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
32	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
33	ZONDENDEGOUMBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste
34	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
35	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div./MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA/MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
5	DJAM Xaviera YOUH-KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
6	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
7	KOUOKAM KOUOKAM E.A.	Chargé de Cours	En poste
8	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
9	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
11	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
12	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	<i>C/D Enset Ebolowa</i>
14	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
15	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
16	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
17	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
18	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane G. Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE S. Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste

24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK M. BAHANACK N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)			
1	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>
2	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
3	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
4	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef service des programmes & Diplômes</i>
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
7	AGHOUKENG JIOFACK J. Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINPLAMAT</i>
8	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
9	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
10	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
11	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
12	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
13	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
14	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
15	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
16	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
17	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
18	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
19	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
20	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
21	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
22	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
23	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M.E.	Chargée de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
26	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
29	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
30	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (18)			
1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
3	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste

5	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
6	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
7	ASSAM ASSAM Jean Paul	Chargé de Cours	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
13	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste
14	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
15	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste
16	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
17	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
18	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9- DÉPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (40)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Chef Division UN</i>
3	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
4	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
5	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
6	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
7	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
8	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	<i>Sous-Directeur/ MINRESI</i>
9	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
10	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen Univ/Bda</i>
11	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
12	WOAFO Paul	Professeur	En poste
13	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
14	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
15	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
16	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
17	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
18	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
19	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
20	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
21	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
22	SAIDOU	Maître de Conférences	<i>MINERESI</i>
23	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
24	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste

25	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
26	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Sous-Dir./ MINESUP</i>
27	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
28	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
29	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
30	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
31	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cell. MINADER</i>
32	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
33	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
34	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
35	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
36	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	<i>DA/Univ. Inter État/ Sangmalima</i>
37	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
38	AYISSI EYEBE Guy F. Valérie	Assistant	En poste
39	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste
40	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
5	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
6	NGOS III Simon	Professeur	DAAC/Uma
7	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
8	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
9	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
11	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
12	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
13	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
14	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance & du Matériel</i>
15	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
16	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
17	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
18	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste

26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	Sec. D'Etat/MINMIDT
29	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	CD/Uma
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAKOUNTE J. épse NOUMBEM	Chargée de Cours	Chef.cell / MINRESI
39	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
40	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
41	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
42	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
43	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
Département	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	09 (1)	13 (09)	14 (06)	03 (2)	38 (18)
BPA	13 (1)	09 (06)	19 (05)	05 (2)	48 (14)
BPV	06 (0)	11 (02)	09 (06)	07 (01)	33 (9)
CI	10 (1)	09 (02)	12 (02)	03 (0)	34 (5)
CO	07 (0)	17 (04)	09 (03)	02 (0)	35 (7)
IN	2 (0)	01 (0)	13 (01)	09 (01)	25 (2)
MA	01 (0)	05 (0)	19 (01)	05 (02)	30 (3)
MIB	01 (0)	05 (02)	06 (01)	06 (02)	18 (5)
PHY	12 (0)	15 (02)	10 (03)	03 (0)	40 (5)
ST	08 (1)	14 (01)	19 (05)	02 (0)	43 (7)
Total	69 (4)	99 (28)	130 (33)	45 (10)	344 (75)

Soit un total de **344 (75)** dont :

Professeurs **68 (4)**

Maîtres de Conférences **99 (28)**

Chargés de Cours **130 (33)**

Assistants **46 (10)**

() = Nombre de Femmes **75**

Le Doyen de la Faculté des Sciences

Déclaration

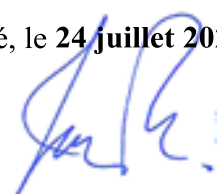
Je soussignée, EBESSA Virginie (Matricule 94Q006), titulaire d'un DEA en Chimie Organique et étudiante en cycle de Doctorat, déclare que le travail présenté dans cette thèse est original et n'a jamais fait l'objet d'une quelconque soutenance. Cependant, bien qu'il soit le fruit de plusieurs collaborations, tout l'effort a été fait afin de reconnaître à travers des remerciements, le travail de chaque chercheur impliqué. Par ailleurs, toutes les sources utilisées ont été référencées.

Yaoundé, le **24 juillet 2020**.

EBESSA Virginie

En ma qualité de Directeur de thèse de Madame EBESSA Virginie, je certifie qu'à ma connaissance, les informations ci-dessus mentionnées sont vraies.

Yaoundé, le **24 juillet 2020**.



KOUAM F. Siméon, Professeur

Dédicaces

Je dédie cette thèse à :

- mes enfants **ZE MEKA David Yvan** et **ASSOANA EBESSA Rose Larissa**;
- mon époux M. **OKALA Raymond Guy**;
- mon père M. **ZE MEKA Remy**;
- ma mère Mme **NGUELE Marie**.

Remerciements

Je voudrais tout d'abord adresser ma profonde gratitude au Professeur KOUAM FOGUE Siméon pour l'opportunité qu'il m'a donnée en acceptant de m'accompagner et de m'encadrer tout au long de ce travail. Ses encouragements et ses conseils ont été d'un apport précieux pour la conduite de bout en bout de cette thèse. Je prie beaucoup, cher Professeur, que vous ayez continuellement de l'énergie nécessaire pour la formation d'autres chercheurs.

J'aimerais aussi avoir une pensée pieuse pour la mémoire du regretté Professeur TANE Pierre, qui a guidé mes premiers pas dans la recherche, notamment pour l'obtention de ma maîtrise, et qui a également contribué comme Co-encadreur de ce travail de thèse !

J'exprime ma profonde gratitude au Commissaire Divisionnaire DILI Jacques, Directeur de la Police Judiciaire, pour le soutien sans cesse renouvelé tout au long de ce travail.

Je remercie le Professeur NKENGFACK Augustin Ephrem, Chef de Département de Chimie Organique pour son dynamisme exceptionnel, son dévouement, sa disponibilité et pour tous les efforts consentis dans l'encadrement des étudiants.

Je remercie également tout le personnel Enseignant de Chimie de l'Université de Yaoundé I pour la formation académique prodiguée, plus particulièrement les Professeurs LENTA Bruno et KAPCHE Deccaux pour leurs encouragements.

Je remercie les Commissaires Divisionnaires NJOHA Philippe et EVINA ZANGA Hermann ainsi que le Commissaire de Police TANTO Frida pour leurs encouragements.

Ma gratitude s'adresse particulièrement au Dr. MOUNTESSOU Bel Youssouf pour son soutien sans faille tout au long de ce travail.

Je remercie chaleureusement M. GUIFFO Rodrigue, technicien de laboratoire, pour sa disponibilité et sa serviabilité.

Ma profonde reconnaissance va également aux Docteurs FOTSO Ghislain, HAPPI Gervais, CHENDA Laurice, TCHAMGOUE Joseph, pour leur aide multiforme.

Je remercie également tous les étudiants chercheurs de l'équipe de recherche du Professeur KOUAM, notamment MBOBDA Alexis, WOUAMBA Steven, ANOUMEDEM Elodie, NGANDJUI Yvan pour leurs encouragements et leur esprit d'équipe.

Un grand merci à la DAAD (Service Allemand d'échange et de coopération universitaire), la TWAS (Académie mondiale des sciences), la fondation d'Alexander von Humboldt, pour leur soutien financier.

Mes remerciements à mes frères et sœurs NDJAKOMO Nicole, EDANDI Elisa Adrienne, NGUELE ZANG Yvette, ZE MEKA Thierry pour leur soutien et leur affection.

Je remercie aussi mes neveux et nièces MBO ZANG Éric Donald, NGUELE Samantha, NGUELE NGONDI Carine.

Ma gratitude à ZE NKA Pierre Damien, NKOT Jeanne Louise et KENGNE Henri pour leur énorme soutien.

Enfin, un grand merci à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

Table des matières

Attestation de correction du manuscrit de thèse de Doctorat/Ph.D.....	i
Liste officielle des Enseignants de la Faculté des Sciences	ii
Déclaration	xii
Dédicaces	xiii
Remerciements	xiv
Table des matières	xvi
Liste des abréviations et acronymes	xx
Liste des figures	xxi
Liste des schémas	xxiii
Liste des tableaux	xxiv
Résumé	xxvi
Abstract	xxvii
Introduction générale.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	3
I.1. GÉNÉRALITÉS SUR LA FAMILLE DES EUPHORBIACEAE	4
I.1.1. Le genre <i>Alchornea</i>	4
I.1.2. L'espèce <i>Alchornea cordifolia</i>	5
I.1.2.1. Description botanique	5
I.1.2.2. Position systématique.....	6
I.1.2.3. Répartition géographique d' <i>A cordifolia</i>	6
I.1.2.4. Synonymes et noms vernaculaires d' <i>A. cordifolia</i>	6
I.2. USAGES DES PLANTES DU GENRE <i>ALCHORNEA</i>	6
I.3. TRAVAUX CHIMIQUES ANTÉRIEURS SUR LE GENRE <i>ALCHORNEA</i>	7
I.3.1. Les acides gras	7
I.3.1.1. Définition	7
I.3.1.2. Différents types d'acides gras	8
I.3.1.3. Nomenclature des acides gras	8
I.3.1.4. Biosynthèse des acides gras	9
I.3.1.5. Détermination structurale des acides gras.....	9
I.3.1.5.a) Spectroscopie UV des acides gras	9
I.3.1.5.b) Spectroscopie IR des acides gras.....	9
I.3.1.5.c) Spectroscopie RMN des acides gras	10

I.3.1.6. Acides gras isolés du genre <i>Alchornea</i>	10
I.3.2. Les alcaloïdes	11
I.3.3. Les composés phénoliques	12
I.3.3.1. Les acides phénoliques	13
I.3.3.2. Les tanins	14
I.3.3.3. Les flavonoïdes	15
I.3.4. Les triterpénoïdes	18
I.3.5. Les stéroïdes	20
I.3.6. Les amides	22
I.3.7. Les hydrocarbures	22
I.4. TRAVAUX BIOLOGIQUES ANTÉRIEURS SUR LES PLANTES DU GENRE <i>ALCHORNEA</i>	23
I.5. MÉTHODES ANALYTIQUES DE DÉTECTION DES COMPOSÉS	24
I.5.1. La chromatographie sur couche mince (CCM)	25
I.5.2. La spectrométrie de masse	25
I.5.3. La chromatographie en phase liquide (HPLC) et la LC-MS	26
I.5.4. Masses des composés déjà isolés du genre <i>Alchornea</i>	27
I.5.5. Méthodologie et techniques d'études chimiques des matières végétales	29
I.5.5.1. Processus général	29
I.5.5.2. L'extraction	30
I.5.5.3. L'analyse par criblage chimique	30
I.6. GÉNÉRALITÉS SUR LES ACTIVITÉS ANTIMICROBIENNES	30
I.6.1. Définition des bactéries et quelques caractéristiques	30
I.6.1.a) Les bactéries à Gram positif	31
I.6.1.b) Les bactéries à Gram négatif	31
I.6.2. Caractérisation des bactéries par la coloration de Gram	31
I.6.3. Méthodes d'évaluation d'une activité antimicrobienne	31
CHAPITRE II : RÉSULTATS ET DISCUSSION	32
II.1. Étude chimique des fruits d' <i>A. cordifolia</i>	33
II.1.1. Collection, extraction du matériel végétal	33
II.1.2. Évaluation de l'extrait brut par LC-MS	33
II.1.3. Fractionnement de l'extrait brut	34
II.1.4. Étude et évaluation des fractions de l'extrait brut par la technique LC-MS	34
II.1.4.a) Séries I et II	34

II.1.4.b) Série III.....	36
II.1.4.c) Série IV.....	36
II.1.5. Isolement des composés des fruits d' <i>A. cordifolia</i>	37
II.1.6. Étude structurale des composés isolés.....	38
II.1.6.1. Les acides gras.....	39
II.1.6.1.a) Élucidation structurale du composé AC1.....	39
II.1.6.1.b) Élucidation structurale du composé AC2.....	44
II.1.6.1.c) Identification du composé AC3.....	50
II.1.6.1.d) Identification du composé composé.....	53
II.1.6.1.e) Identification du composé AC5.....	57
II.1.6.1.f) Identification du composé AC6.....	58
II.1.6.1.g) Identification du composé AC7.....	59
II.1.6.1.h) Identification du composé AC8.....	60
II.1.6.1.i) Identification du composé AC9.....	61
II.1.6.2. Les composés phénoliques.....	62
II.1.6.2.a) Identification du composé AC10.....	62
II.1.6.2.b) Identification du composé AC10-Ac.....	66
II.1.5.2.c) Identification du composé AC11.....	68
II.1.6.2.d) Identification du composé AC12.....	70
II.1.6.2.e) Identification du composé AC13.....	72
II.1.6.3. Les triterpènes.....	74
II.1.6.3.a) Identification du composé AC14.....	74
II.1.6.3.c) Identification du composé AC15.....	76
II.1.6.3.b) Identification du composé AC16.....	79
II.1.6.3.c) Identification du composé AC17.....	81
II.1.6.4. Identification du composé AC18.....	83
II.2. Hypothèse de liens biogénétiques entre les composés isolés.....	85
II.3. Activités antimicrobiennes de quelques composés isolés.....	86
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES.....	88
CHAPITRE III : PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	89
III.1 Appareillage.....	90
III.2. Matériel végétal.....	90
III.3. Extraction et isolement des composés.....	91
III.3.1. Analyse LC-MS de l'extrait brut.....	91

III.3.2. Chromatographie flash de l'extrait brut	91
III.3.3. Traitement de la fraction I.....	92
III.3.4. Traitement de la série II.....	92
III.3.5. Traitement de la série III	93
III.3.6. Traitement de la série IV	93
III.4. Matériel biologique et mode opératoire	94
III.5. Principe de la méthode de diffusion sur disque.....	95
III.6. Application	96
III.7. Test Analytique : Liebermann-Burchard.....	96
III.8. Caractéristiques spectroscopiques et physico-chimiques des composés.....	97
III.8.1. Acide deépoxyalchornoïque	97
III.8.2. Bisalchornoate de glycérol	97
III.8.3. Acide alchornoïque.....	97
III.8.4. Octacosanoate de 2,3-dihydroxypropyle	97
III.8.5. 1-tricosanol.....	98
III.8.6. 1-triacontanol	98
III.8.7. Acide <i>n</i> -hexacosanoïque	98
III.8.8. Acide <i>n</i> -octacosanoïque	98
III.8.9. Acide dotriacontanoïque	99
III.8.10. Acide shikimique.....	99
III.8.11. Acide triacétylshikimique	99
III.8.12. Acide gallique	99
III.8.13. Gallate de méthyle.....	100
III.8.14. kaempférol-3- <i>O</i> -galactopyranoside.....	100
III.8.15. Lupéol.....	100
III.8.16. Acide bétulinique	100
III.8.17. Friedéline.....	101
III.8.18. Épifriedélinol.....	101
RÉFÉRENCES	102
ANNEXE : PUBLICATION ISSUE DE LA THÈSE	111

Liste des abréviations et acronymes

[O]	Réaction d'oxydation
A.	<i>Alchornea</i>
CC	Chromatographie sur colonne
CCM	Chromatographie sur couche mince
DZI	Diamètre de zone d'inhibition
<i>dd</i>	Doublet de doublet
DMAPP	Diméthylallyl pyrophosphate
DMSO-d ₆	Diméthyl sulfoxyde deutérié
AcOEt	Acétate d'éthyle
FPP	Farnésyl pyrophosphate
GPP	Géranyl pyrophosphate
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Connectivity</i>
HNC	Herbier National du Cameroun
HRESIMS	<i>High Resolution ElectroSpray Mass Spectrometry</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy</i>
IPP	Isoprényl pyrophosphate
IR	Infrarouge
<i>J</i>	Constante de couplage
LC-MS	<i>Liquid chromatography-Mass spectrometry</i>
PEP	Phosphoénol pyruvate
ppm	Partie par million (Chemical shift unit)
RMN ¹³ C	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
RMN ¹ H	Résonance magnétique nucléaire du proton
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i>
TMS	Tétraméthylsilane
UV-vis	Ultraviolet-visible
<i>n</i> -Hex	Hexane acyclique
<i>p</i> -HPLC	<i>preparative High Performance Liquid Chromatography</i>
<i>sl, dl</i>	Singulet large, doublet large
ZOI	<i>Zone of inhibition</i>
SMIE	Spectre de Masse à Impact Électronique

Liste des figures

Figure 1. Image des fruits d' <i>A. cordifolia</i> (© Mai 2014, Bangangté, Source personnelle).....	5
Figure 2. Méthodologie analytique.	29
Figure 3. Principe d'extraction solide-liquide à partir d'une matière végétale.....	30
Figure 4. Profil chromatographique de l'extrait brut (pressions : 47 & 64 psi, T = 27 °C).....	33
Figure 5. Profil chromatographique de la série II (pressions : 47 & 64 psi, T = 27 °C).....	35
Figure 6. Profil chromatographique de la série III.	36
Figure 7. Profil chromatographique de la série IV.	37
Figure 8. Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé AC1.	39
Figure 9. Spectre IR du composé AC1.....	39
Figure 10. Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO-d ₆) du composé AC1.	40
Figure 11. Spectre de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO-d ₆) du composé AC1.	41
Figure 12. Spectre HMBC du composé AC1.....	42
Figure 13. Spectre HSQC du composé AC1.	43
Figure 14. Spectre ¹ H- ¹ H COSY du composé AC1.	43
Figure 15. Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé AC2.....	45
Figure 16. Spectre IR du composé AC2.....	45
Figure 17. Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) du composé AC2.....	46
Figure 18. Spectre de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) du composé AC2.....	47
Figure 19. Spectre COSY du composé AC2.	47
Figure 20. Spectre HMBC du composé AC2.....	48
Figure 21. Spectre HSQC du composé AC2.....	49
Figure 22. Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé AC3.....	51
Figure 23. Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO-d ₆) du composé AC3.	51
Figure 24. Spectre de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) du composé AC3.....	52
Figure 25. Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé AC4.....	53
Figure 26. Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃ + CD ₃ OD) du composé AC4.	54
Figure 27. Spectre de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃ + CD ₃ OD) du composé AC4.....	54
Figure 28. Spectre DEPT 135 (125 MHz, CDCl ₃ + CD ₃ OD) du composé AC4.	55
Figure 29. Spectre HMBC du composé AC4.....	55
Figure 30. Spectre COSY du composé AC4.....	56
Figure 31. Spectre de masse impact électronique du composé AC5.	57
Figure 32. Spectre de RMN ¹ H du composé AC5.....	57

Figure 33. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé AC6.....	58
Figure 34. Spectre de masse impact électronique du composé AC6.	59
Figure 35. Spectre de RMN ^1H (CDCl_3) du composé AC7.	60
Figure 36. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé AC8.....	61
Figure 37. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé AC9.....	62
Figure 38. Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé AC10.....	63
Figure 39. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) du composé AC10.	63
Figure 40. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO-d_6) du composé AC10.	64
Figure 41. Spectre HMBC du composé AC10.....	64
Figure 42. Spectre HSQC (DMSO-d_6) du composé AC10.	65
Figure 43. Spectre de masse à haute résolution (+) ESI du composé AC10-Ac.....	66
Figure 44. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) du composé AC10-Ac.	67
Figure 45. Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé AC11.....	68
Figure 46. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) du composé AC11.	69
Figure 47. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO-d_6) du composé AC11.	69
Figure 48. Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé AC12.....	70
Figure 49. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) du composé AC12.	71
Figure 50. Spectre HMBC du composé AC12.....	71
Figure 51. Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé AC13.....	72
Figure 52. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) du composé AC13.	73
Figure 53. Spectre HMBC du composé AC13.....	73
Figure 54. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé AC14.....	75
Figure 55. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) du composé AC14.....	76
Figure 56. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) du composé AC15.....	77
Figure 57. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) du composé AC15.....	77
Figure 58. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé AC16.....	79
Figure 59. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) du composé AC16.....	80
Figure 60. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé AC17.....	82
Figure 61. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) du composé AC17.....	83
Figure 62. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé AC18.....	84
Figure 63. Activité antimicrobienne (diamètre d'inhibition, mm) des composés (20 mg/mL) vis-à-vis de microorganismes.....	86
Figure 64. Activité antimicrobienne (diamètres d'inhibition, zone claire en mm) des composés (20 mg/mL) vis-à-vis de microorganismes.	87

Liste des schémas

Schéma 1. Biosynthèse des acides gras.....	9
Schéma 2. Formation de l'IPP, du DMAP et du squalène (précurseur des triterpènes).	18
Schéma 3. Formation des stéroïdes.	21
Schéma 4. Protocole d'extraction et d'isolement des composés des fruits mûrs d' <i>A. cordifolia</i>	38
Schéma 5. Quelques corrélations HMBC et COSY du composé AC1.	42
Schéma 6. Quelques corrélations HMBC et COSY du composé AC2.	49
Schéma 7. Quelques corrélations HMBC du composé AC10.....	65
Schéma 8. Liens biogénétiques entre les composés isolés.	85

Liste des tableaux

Tableau 1. Position systématique d' <i>A. cordifolia</i>	6
Tableau 2. Quelques alcaloïdes isolés du genre <i>Alchornea</i>	11
Tableau 3. Quelques acides phénoliques isolés du genre <i>Alchornea</i>	13
Tableau 4. Quelques tanins isolés du genre <i>Alchornea</i>	14
Tableau 5. Quelques flavonoïdes isolés du genre <i>Alchornea</i>	15
Tableau 6. Quelques triterpénoïdes isolés du genre <i>Alchornea</i>	18
Tableau 7. Quelques stéroïdes isolés du genre <i>Alchornea</i>	21
Tableau 8. Activités biologiques des extraits de différentes espèces du genre <i>Alchornea</i>	23
Tableau 9. Activités biologiques des composés déjà isolés d' <i>A. cordifolia</i>	24
Tableau 10. Masses théoriques des composés déjà isolés du genre <i>Alchornea</i>	27
Tableau 11. Résultats d'analyse LC-MS de l'extrait brut.	34
Tableau 12. Résultats d'analyse LC-MS de la série II.	35
Tableau 13. Résultats d'analyse LC-MS de la série III.	36
Tableau 14. Résultats d'analyse LC-MS de la série IV.	37
Tableau 15. Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) du composé AC1... ..	44
Tableau 16. Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) du composé AC2... ..	50
Tableau 17. Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) du composé AC3.	52
Tableau 18. Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) de AC4. ..	56
Tableau 19. Quelques corrélations HMBC du composé AC10.	64
Tableau 20. Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz, DMSO-d_6) du composé AC10.	65
Tableau 21. Données de RMN ^1H (500 MHz) du composé AC10-Ac dans le DMSO-d_6	68
Tableau 22. Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz, DMSO-d_6) du composé AC11.	70
Tableau 23. Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz, DMSO-d_6) du composé AC12.	72
Tableau 24. Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz, DMSO-d_6) du composé AC13.	74
Tableau 25. Données de RMN ^1H et ^{13}C (500 & 125 MHz) des composés AC14 (CDCl_3) et AC15 (CD_3OD) comparées aux données de la littérature (Abdullahi et al., 2013; Satiraphan et al., 2012, resp.).	78

Tableau 26. Données de RMN ¹ H et ¹³ C (500 & 125 MHz) des composés AC16 et AC17 (CDCl ₃) comparées à celles de la littérature (Ragasa et <i>al.</i> , 2015; Kannathasan et al., 2015). 81	
Tableau 27. Données de RMN ¹ H (CDCl ₃) des signaux caractéristiques du mélange de stérols comparées au β -sitostérol et au stigmastérol (Raju et <i>al.</i> , 2012). 84	84
Tableau 28. Diamètres d'inhibition des composés 20, 21, 78 et 86. 86	86
Tableau 29. Chromatogramme de l'extrait brut des fruits mûrs d' <i>A. cordifolia</i> 91	91
Tableau 30. Chromatogramme de la série II (6 g). 92	92
Tableau 31. Chromatogramme de la fraction III (3 g). 93	93
Tableau 32. Chromatogramme de la fraction IV (10 g). 94	94

Résumé

La recherche des métabolites secondaires bioactifs à partir des ressources naturelles s'avère parfois fastidieuse en l'absence d'un guide comme la LC-MS pour la détection. C'est dans ce contexte que le présent travail a été d'abord centré sur la détection, puis l'isolement des métabolites secondaires d'*Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae), et enfin l'évaluation des activités antimicrobiennes de certains composés isolés.

À partir de l'extrait au CH₂Cl₂/MeOH des fruits mûrs d'*Achornea cordifolia*, nous avons pu détecter et identifier par la technique LC-MS, un certain nombre de composés non encore décrits de la plante. Parmi les composés isolés, deux (02) sont des dérivés nouveaux, dix (10) isolés pour la première fois d'*A. cordifolia* par des méthodes chromatographiques usuelles telles que la chromatographie sur colonne (CC), la chromatographie sur couche mince (CCM). Les structures de ces composés ont été caractérisées par des techniques spectroscopiques (SM, RMN à 1D et à 2D) et par comparaison avec les données de la littérature.

Les deux (02) composés nouveaux dérivant de l'acide alchornoïque sont l'acide déépoxyalchornoïque et le bisalchornoate de glycérol. Dix (10) autres isolés pour la première fois d'*A. cordifolia* comprennent l'octacosanoate de 2,3-dihydroxypropyle, le 1-tricosanol; le 1-triacontanol, les acides *n*-hexacosanoïque, *n*-octacosanoïque, dotriacontanoïque et shikimique, le kaempférol-3-*O*-galactopyranoside, le lupéol et l'acide bétulinique. Les cinq (05) isolés et précédemment décrits de la plante sont l'acide alchornoïque, le gallate de méthyle, l'acide gallique, la friedéline, l'épifriedélinol, en plus du mélange de β -sitostérol et de stigmastérol.

Quatre de ces composés isolés en grande quantité ont été évalués pour leurs activités antimicrobiennes contre six souches bactériennes Gram-positives, parmi lesquelles trois d'*Escherichia coli* (ATCC 25922, clinique, ATCC 35218), deux de *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603, ATCC 13883) et une de *Citrobacter braakii* (clinique); avec la ciprofloxacine pour le contrôle positif. Les résultats de ces tests ont indiqué une activité inhibitrice significative du gallate de méthyle (DZI = 20–25 mm) et de l'acide shikimique (DZI = 12–15 mm) sur toutes les souches utilisées. L'acide gallique n'a été actif que sur *Citrobacter braakii* (DZI = 10 mm) et l'acide déépoxyalchornoïque a inhibé significativement les croissances de *Citrobacter braakii* (DZI = 20 mm) et d'*Escherichia coli* (DZI = 25 mm).

Mots clés : *Alchornea cordifolia*; LC-MS; Acides gras; Spectroscopie; Antimicrobien; Zone d'inhibition.

Abstract

The research of bioactive secondary metabolites from natural resources proves sometimes exasperating in the absence of a guide like the LC-MS for detection. It is in this context the present work was first of all focused on the detection, then the isolation of secondary metabolites of *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae), and finally the evaluation of antimicrobial activity of isolated compounds.

From the CH₂Cl₂/MeOH crude extract of the fruits of *Achornea cordifolia*, we have detected and identified by LC-MS technique, compounds not yet described in the literature from the plant. Among these compounds, two (02) were new derivatives and ten (10) were isolated for the first time from *A. cordifolia* by usual chromatographic methods such as column chromatography (CC), thin layer chromatography (TLC). The structures of these isolated compounds were characterized by spectroscopic techniques (MS, 1D and 2D NMR) and by comparison with the literature data.

The two new compounds were alchornoic acid derivatives namely deepoxyalchornoic acid and bisalchornoic ester. Ten (10) were isolated for the first time included 2,3-dihydroxypropyloctacosanoate, 1-tricosanol, 1-triacontanol, *n*-hexacosanoic, *n*-octacosanoic, dotriacontanoic, 4-*O*-methylgallic and shikimic acids, kaempférol-3-*O*-galactopyranoside, lupeol, betulinic acids. The remaining five (05) isolated compounds have been previously described in the literature. These include: alchornoic acid, methyl gallate, gallic acid, friedelin, epifriedelinol, in addition to the mixture of β -sitosterol and stigmasterol.

Four of these compounds which were isolated in large amount, were screened for their antibacterial activities against six Gram-positive bacteria strains, among which three *Escherichia coli* strains (ATCC 25922, clinical, ATCC 35218), two *Klebsiella pneumonia* strains (ATCC 700603, ATCC 13883) and one *Citrobacter braakii* strain (clinical), with ciprofloxacin for the positive control. The results of these assays revealed significant inhibitory activities of methyl gallate (20–25 mm of ZOI) and shikimic acid (12–15 mm of ZOI) against all the tested strains. Gallic acid was only active on the *Citrobacter braakii* strain (ZOI = 10 mm) and the new compound deepoxyalchornoic acid significantly inhibited the growth of *Citrobacter braakii* (ZOI = 20 mm) and *Escherichia coli* (ZOI = 25 mm).

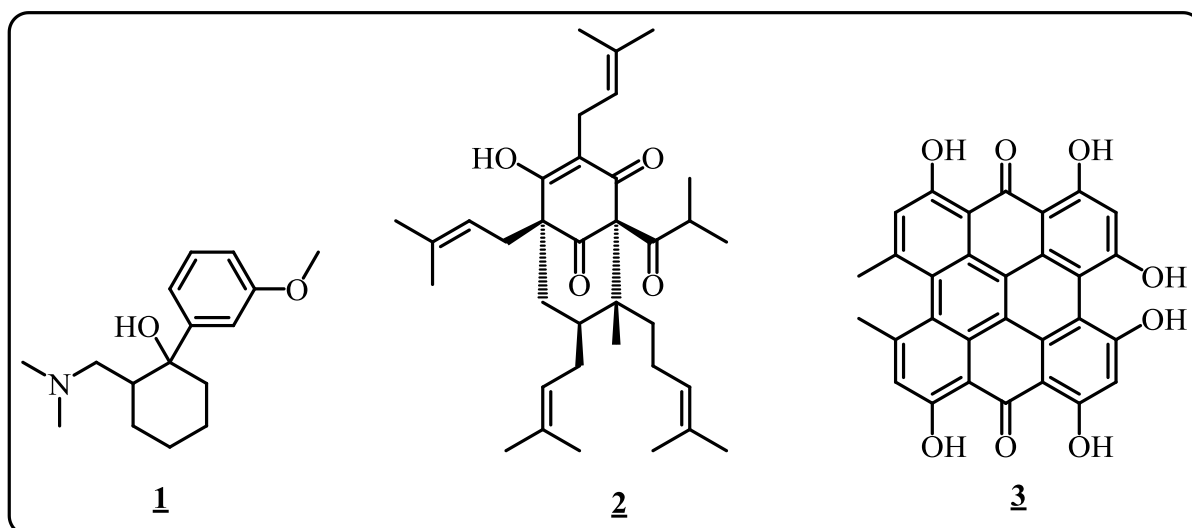
Key words: *Alchornea cordifolia*; LC-MS; fatty acids; Spectroscopy; Antimicrobial; Zone of inhibition.

Introduction générale

La chimie analytique, qui est née il y a un peu plus d'un siècle, contribue significativement à l'évolution de la chimie des substances naturelles et aux études qualitatives et quantitatives faites sur les plantes. Au cours de ces dernières années, elle a rapidement progressé du fait de l'essor qu'a connu la chimie en général. Les méthodes d'analyse permettent entre autres d'identifier les structures moléculaires dont dépendent le plus souvent les propriétés biologiques des composés. La chimie analytique utilise différents instruments pour analyser non seulement les substances chimiques pures, mais aussi des mélanges et, elle occupe dans les industries et les laboratoires de recherche une place de choix.

Dans ce domaine de la chimie, il existe plusieurs techniques d'analyse dont les plus récentes sont liées aux méthodes de détection d'une substance pure dans un mélange et aux études de la pureté d'une substance ou encore la présence de traces. La détection d'une espèce chimique ainsi que l'évaluation de sa quantité dans un échantillon peuvent être faites au moyen de la LC-MS qui est une technique complexe, coûteuse et difficile à mettre en œuvre. Cependant, elle permet d'obtenir des informations plus complètes notamment dans l'identification et la quantification des constituants chimiques d'un extrait lors de la recherche des phytomédicaments. En effet, c'est en 1992 que l'OMS a reconnu la médecine traditionnelle comme une branche de la médecine conventionnelle. Ainsi, selon ses estimations, plus de 80% de la population africaine l'utilise pour les soins de santé ([Newman et al., 2001](#)). L'OMS a mis sur pied des stratégies dans l'agenda 2013-2023 qui stipulent que les phytomédicaments devraient faire l'objet d'une monographie dans la formulation des produits médicamenteux de haute qualité. Ces stratégies visent à éclairer les dépositaires de la médecine traditionnelle sur la nécessité d'établir des paramètres de qualité, à l'aide des outils analytiques avancés et des méthodes de standardisation bien définies, afin de mettre en exergue les constituants des phytomédicaments.

Dans le souci de rechercher les principes actifs des ressources naturelles utilisées par les tradipraticiens, le chimiste mène des études au moyen des techniques de détection pouvant aboutir à la séparation et à l'analyse des constituants chimiques. C'est ainsi que les études chimiques menées sur les extraits de *Nauclea latifolia* et de *Hypericum perforatum* par Kusari et al. ([2010](#), [2014](#)) ont conduit à la détection par LC-MS des composés bioactifs tels que le tramadol **1**, l'hyperforine **2** et l'hypericine **3**.



Par ailleurs, les avancées technologiques en matière d'analyse des substances chimiques ont également trouvé des applications en biochimie pour le contrôle qualité (Kuzdzal-Savoie, 1965), en pharmacie pour la détection des impuretés (Bauer, 2001), en police scientifique pour la mise en évidence des poisons et des drogues par la caractérisation de traces de composés organiques (Minet *et al.*, 2010).

L'Université de Yaoundé I, à travers ses laboratoires de chimie, a fait de l'étude des métabolites secondaires des ressources naturelles, l'un des axes d'intérêt privilégié dans la recherche des composés bioactifs. Néanmoins, cette recherche s'avère parfois fastidieuse en l'absence d'un guide comme la LC-MS pour la détection. Dans l'optique d'appliquer cette technique moderne et de contribuer à la valorisation des ressources naturelles, nous avons entrepris, dans le cadre de nos travaux devant conduire à l'obtention du Doctorat/Ph.D, l'étude des constituants des fruits d'*Alchornea cordifolia*, une plante utilisée en médecine traditionnelle africaine pour soigner les infections respiratoires et urinaires (Kerharo, 1950).

Ainsi, l'objectif principal de ce travail est d'étudier les constituants chimiques d'*Alchornea cordifolia* en utilisant la LC-MS comme guide. Pour ce faire, nous devons identifier par LC-MS, puis isoler et caractériser les composés non encore décrits de la plante au moyen de diverses techniques d'analyse, de séparation et de caractérisation, et enfin évaluer leurs activités antimicrobiennes.

Notre travail s'articulera autour de quatre parties à savoir la revue de la littérature, les résultats et discussion, la partie expérimentale et les références bibliographiques.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1. GÉNÉRALITÉS SUR LA FAMILLE DES EUPHORBIACEAE

La famille des Euphorbiaceae compte environ 8 000 espèces dans le monde, réparties dans à peu près 310 genres (Botineau, 2010). On y retrouve des arbres, des arbustes, des lianes, des plantes succulentes et des plantes herbacées (Botineau, 2010). Ils contiennent généralement dans leurs tissus une substance laiteuse caractéristique de la famille constituée de latex blanc caoutchouteux (Dutta, 1981).

Chez les euphorbes (plantes monoïques), les fleurs mâles (réduites à une étamine) et femelles (un ovaire à 3 carpelles) sont disposées en groupes dans une structure en cloche. Par contre, chez les mercuriales (plantes dioïques), les fleurs sont composées d'un périanthe à 3 lobes verdâtres, d'où ressortent un bouquet d'étamines (fleurs mâles) ou un ovaire à deux carpelles (fleurs femelles) (Botineau, 2010).

Les fleurs des Euphorbiaceae sont toujours unisexuées à périanthe (calice et corolle) réduit ou nul, très souvent avec pieds mâles et pieds femelles ou fleurs mâles et fleurs femelles portées par un même pied, sur des inflorescences différentes. Le fruit est une capsule de petite taille s'ouvrant sur 2 à 3 valves ou coques, chacune renfermant une graine (Botineau, 2010).

Dans la famille des Euphorbiaceae, on peut citer parmi les genres les plus répandus *Bridelia*, *Drypetes*, *Croton*, *Euphorbia* et *Alchornea* sur lequel nous accorderons plus d'attention.

I.1.1. Le genre *Alchornea*

Ce sont des arbres ou sous-arbrisseaux dont les feuilles alternées, pétiolées, simples, pennies ou palminervées ont deux stipules et parfois deux stipelles. Les inflorescences en épis sont généralement unisexuées, simples ou regroupées en panicules. Les inflorescences mâles sont le plus souvent axillaires et les femelles le plus souvent terminales. Les inflorescences bractées des mâles ont plusieurs fleurs et celles des femelles ont 1 à 3 fleurs (Dutta, 1981).

Les fleurs monoïques et dioïques sont sans pétales. Dans les fleurs mâles, le calice est fermé dans la préfloraison puis divisé valvairement en 2 à 5 segments par l'anthère. Elles ont huit étamines, rarement moins; les filets sont brièvement cônés à la base et les anthères dorsifixés sont à loges parallèles. Dans les fleurs femelles, il y a 3 à 6 sépales, les ovaires ont 2 loges ou plus, mais rarement 4. On trouve un ovule par loge. Les styles sont libres ou brièvement soudés à la base. Les graines sont le plus souvent sans caroncule, parfois à caroncule rudimentaire, à albumen charnu (Dutta, 1981).

Le genre *Alchornea* compte environ 60 espèces (Wu, 1991) parmi lesquelles *Alchornea cordata*, *Alchornea hirtella*, ou *Alchornea cordifolia* qui fait l'objet de nos travaux.

I.1.2. L'espèce *Alchornea cordifolia*

I.1.2.1. Description botanique

A. cordifolia (Schum. & Thonn.) Muell. Arg. est un arbuste sempervirent, zigzaguant, à ramification lâche, atteignant 8 m de haut (Pone *et al.*, 2016). L'écorce est lisse, grise à tranche brun rougeâtre; le rameau, pubescent à glabre est gris à marron (Arbonnier, 2002).

Les feuilles sont alternes, longuement pétiolées (5 à 15 cm), largement ovales, de 10 à 28 cm de long sur 6,5 à 16,5 cm de large, cordées à la base, acuminées au sommet, à bords parfois entiers mais le plus souvent dentés, finement pubescentes dessous avec des poils étoilés devenant plus ou moins glabres. Le limbe trinervé porte quatre glandes visqueuses et brillantes aux aisselles de la première paire de nervures. Les pétioles ont 5 à 15 cm de long et les nervures sont saillantes et palmées à la base sur la face antérieure (Arbonnier, 2002).

Les fleurs femelles (de grise à verdâtre), sont très petites et en grappes pendantes sur les branches ou sur le tronc, d'environ 25 cm de long. En épi simple, elles portent des ovaires à deux loges surmontées des deux branches de style, longues de 10 à 12 mm (Arbonnier, 2002).

Les fleurs mâles vertes et très petites se trouvent sur des ramifications d'une panicule pendante longue de 10 à 20 cm. Elles sont fixées sur les grosses branches ou le tronc (De la Mensbruge, 1966).

Les fruits ont des baies biloculaires pubescentes (De la Mensbruge, 1966). Ils sont capsulaires à deux ou trois loges plus ou moins aplatis d'environ 1 cm de diamètre, plus ou moins rougeâtres à maturité, très caractéristiques à cause des deux très longs styles persistants à l'extrémité (Fig. 1), laissant apparaître des graines rouges (Arbonnier, 2002).



Figure 1. Image des fruits d'*A. cordifolia* (© Mai 2014, Bangangté, Source personnelle).

I.1.2.2. Position systématique

La position systématique d'*A. cordifolia* est donnée dans le [tableau 1](#) suivant.

Tableau 1. Position systématique d'*A. cordifolia*.

Règne	Eucaryotes
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Série	Thalamiflores
Sous-série	Meristememes
Classe	Dicotyledones
Sous-classe	Dialypetales
Ordre	Euphorbiales
Famille	Euphorbiaceae
Sous-famille	Crotonoïdes
Genre	<i>Alchornea</i>
Espèce	<i>Alchornea cordifolia</i>

I.1.2.3. Répartition géographique d'*A. cordifolia*

A. cordifolia fréquente le bord des galeries forestières et des mares, les savanes soudano-guinéennes. Elle est localement commune, répandue et disséminée du Sénégal au Cameroun ([Arbonnier, 2002](#)).

I.1.2.4. Synonymes et noms vernaculaires d'*A. cordifolia*

A. cordifolia a pour synonymes: *Alchornea cordata* Benth, *Schousboea cordifolia*, *Cacoucia caudifolia* et pour noms vernaculaires : *Christmas bush*, *dovewood*. (Angleterre). *Arbre de djeman* ou *buisson de Noël* (France), bambami (Hausa), ububo (Igbo), mbom (Efik), ewe-epa (Yoruba), tahi (Bwari), epai (Ijaw), uwonowen (Bini), oje et ose (Igara) ([Iwu, 2014](#)).

I.2. USAGES DES PLANTES DU GENRE *ALCHORNEA*

Très appréciés et largement utilisés en Afrique pour le traitement de certaines affections, seuls ou en association avec d'autres plantes, les organes des plantes du genre *Alchornea* sont utilisés à l'état frais ou sec.

Au Sénégal, *A. cordifolia* est utilisée pour traiter diverses affections respiratoires et urinaires. L'extrait décocté de ses feuilles est utilisé en Côte d'Ivoire, au Burkina Faso et en Centrafrique comme antidysentérique, contre les maux de ventre et comme emménagogue au Ghana ([Kerharo, 1950](#)). En Côte d'Ivoire, *A. cordifolia* est également utilisée pour le traitement du paludisme ([Mustofa et al., 2000](#)).

A. floribunda et *A. hirtella* sont également très utilisées dans la pharmacopée africaine pour le traitement des affections telles que les teignes, les troubles ovariens, les affections

gastro-intestinales (Swain et Downum, 1990). En République Démocratique du Congo, *A. floribunda* est l'aphrodisiaque par excellence, utilisée pour ses propriétés excitantes et enivrantes (De Wilderman, 1920).

A. cordifolia est utilisée comme ingrédient dans beaucoup de traitements connus : la poudre des feuilles de cette plante est utilisée pour le traitement des blessures, des ulcères et des douleurs; elle est également prise avec du vin de palme ou du citron dans le cas des cures de blennorragie (Lamikanra et al, 1990).

Un certain nombre d'espèces du genre *Alchornea* a déjà fait l'objet d'études phytochimiques indiquant la présence de plusieurs types de métabolites secondaires tels que les alcaloïdes caractérisés à partir de *A. floribunda* (Khuong-Huu et al., 1972), les triterpénoïdes de *A. latifolia* (Setzer et al., 2000) et *A. sidifolia* (Barbo et al., 2002), les flavonoïdes de *A. cordifolia* (Ogungbamila et Samuelsson, 1990) et *A. laxiflora* (Ogundipe et al., 2001) qui pourraient expliquer les effets pharmacologiques observés.

I.3. TRAVAUX CHIMIQUES ANTÉRIEURS SUR LE GENRE *ALCHORNEA*

Les plantes du genre *Alchornea*, en plus d'être largement utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs maladies, ont fait l'objet de plusieurs travaux phytochimiques en vue de l'identification et la caractérisation des principes actifs associés à leurs propriétés pharmacologiques. La littérature disponible à cet effet indique que plusieurs classes de métabolites secondaires ont été isolées des feuilles, tiges, racines et écorces des espèces d'*Alchornea*. Parmi ces classes de composés, on peut citer les acides gras et céramides, les alcaloïdes, les composés phénoliques (acides, tanins et flavonoïdes), les triterpénoïdes, les stéroïdes, les amides et les hydrocarbures.

I.3.1. Les acides gras

I.3.1.1. Définition

En chimie, un acide gras est un acide carboxylique à chaîne aliphatique. Les acides gras naturels possèdent une chaîne carbonée de 4 à 36 atomes de carbone (rarement au-delà de 28) et typiquement en nombre pair, car la biosynthèse des acides gras, catalysée par l'acide gras synthase, procède en ajoutant de façon itérative des groupes de deux atomes de carbone grâce l'acétyl-CoA (Moss, 1995). Il faut noter qu'une exception notable à ces assertions est l'acide heptatriacontylique, C₃₇ qui est présent dans plusieurs plantes et animaux.

Par extension, le terme "acide gras" est parfois utilisé pour désigner tous les acides carboxyliques à chaîne hydrocarbonée non-cyclique. On parle d'acide gras à *longue chaîne* (C₁₄ à C₂₄) et à très *longue chaîne* (à partir de C₂₅).

En biochimie, les acides gras sont une catégorie de lipides qui comprend notamment les acides carboxyliques aliphatiques et leurs dérivés (acides méthylés, hydroxylés, hydroperoxylés, etc.) et les eicosanoïdes. Ces derniers dérivent de l'acide eicosapentaénoïque (oméga-3) ou de l'acide arachidonique (oméga-6).

I.3.1.2. Différents types d'acides gras

On distingue chimiquement 2 groupes d'acides gras :

- Acides gras saturés : ce sont des acides carboxyliques aliphatiques comportant typiquement C_{12} à C_{24} et aucune double liaison carbone-carbone : la formule semi-développée d'un tel acide gras à n atomes de carbone étant $H_3C-(CH_2)_n-COOH$.
- Acides gras insaturés : ce sont des acides gras comportant une ou plusieurs doubles liaisons C=C. Ces doubles liaisons introduisent une isomérie *cis-trans* au niveau de chacune d'elles, la configuration *cis* étant privilégiée dans les structures biologiques tandis que la configuration *trans* demeure assez rare dans le milieu naturel.

I.3.1.3. Nomenclature des acides gras

Il existe plusieurs nomenclatures parallèles pour désigner les acides gras.

► **Nom d'usage** : c'est celui de la littérature et n'est pas systématique. Il ne suit généralement aucune règle mais est concis et non ambigu, désignant un diastéréoisomère précis d'un acide gras donné.

Exemples : acide palmitique, acide palmitoléique, etc.

► **Nom IUPAC** : tous les acides gras s'inscrivent également dans la nomenclature des composés organiques publiée par l'IUPAC (1977). Les atomes de carbone sont comptés à partir de l'extrémité carboxylique $-COOH$ et la diastéréoisométrie des doubles liaisons est indiquée par la notation (Z)/(E) (anciennement *cis/trans*).

Exemples : acide *cis*-9-hexadécénoïque ou acide (Z)-hexadéc-9-énoïque pour l'acide palmitoléique.

► **Nomenclature Δ^x** : la nomenclature « delta-x » concerne les acides gras insaturés, pour lesquels chaque double liaison est indiquée par le signe Δ précédé de sa configuration *cis* ou *trans* et suivi en exposant par la position de la double liaison le long de la chaîne aliphatique de l'acide gras depuis l'extrémité carboxylique $-COOH$ de la molécule.

Exemples : acide *cis*- Δ^9 -hexadécénoïque pour l'acide palmitoléique; acide *cis*- Δ^9 ,*cis*- Δ^{12} -octadécadiénoïque ou encore acide tout-*cis*- $\Delta^{9,12}$ -octadécadiénoïque pour l'acide linoléique.

► **Nomenclature biochimique** : en biochimie, les acides gras sont souvent désignés par des numéros de la forme C:D n-x où C = nombre d'atomes de carbone de l'acide; D = nombre de

double liaisons qu'il contient; n = nombre d'atomes de carbone et x = position de la 1^{re} double liaison comptée depuis l'extrémité méthyle $-CH_3$ de la molécule. Mais cette nomenclature est imprécise car plusieurs acides gras différents peuvent être décrits par les mêmes numéros.

Exemple : 16:1 $n-7$ pour l'acide palmitoléique.

I.3.1.4. Biosynthèse des acides gras

Les acides gras sont en général synthétisés dans les graisses animales et végétales, les huiles végétales ou les cires, sous forme d'esters. La biosynthèse des acides gras est assimilable à des condensations de Claisen successives d'unités malonyl-CoA ou méthylmalonyl-CoA sur une amorce d'acétyl-CoA catalysées par l'acide gras synthase (FAS) comme le montre le schéma 1 (Deresse, 2011).

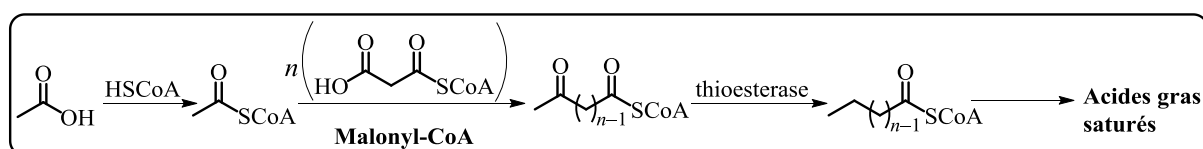


Schéma 1. Biosynthèse des acides gras.

I.3.1.5. Détermination structurale des acides gras

I.3.1.5.a) Spectroscopie UV des acides gras

La spectroscopie UV est moins utilisée dans la détermination structurale des acides gras à cause de l'absence des chromophores. C'est ainsi que pour les acides gras saturés en solution, on n'observe aucune bande d'absorption UV. Par contre, les gras saturés ($C=C$, $C=O$) absorbent en solution la lumière UV autour de λ_{\max} 230 et 240 cm^{-1} , respectivement (Simo et al., 2008; Singla et al., 2018).

I.3.1.5.b) Spectroscopie IR des acides gras

Les spectres d'absorption IR des acides gras et des esters méthyliques saturés peuvent être mesurés. En solution, la plupart des bandes d'absorption sont larges; les spectres sont qualitativement indépendants de la longueur de la chaîne mais plus la chaîne est longue, plus l'intensité relative de la vibration des méthylènes autour de ν_{\max} 720 cm^{-1} augmente progressivement. Dans l'état cristallin, les spectres IR montrent beaucoup plus de structure qu'en solution et des différences qualitatives significatives se produisent sur la longueur de la chaîne. Les spectres diffèrent également pour des variétés polymorphes du même acide, un facteur qui complique l'utilisation de tels spectres lors de l'analyse. Les principales bandes d'absorption sont assignées aux vibrations des groupes moléculaires spécifiques (Sinclair et al., 1952).

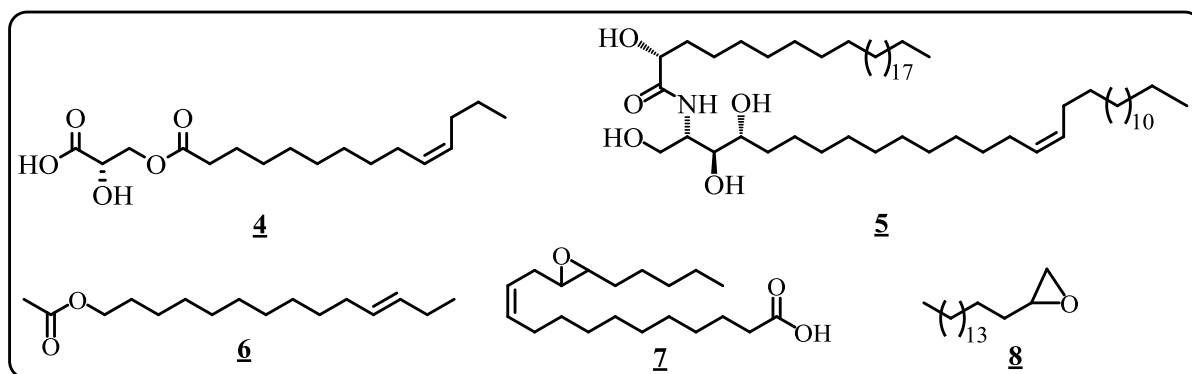
La présence de quelques groupements fonctionnels est caractérisée par des bandes d'absorption à ν_{\max} (cm^{-1}) 3650–3550 (OH libre), 1720–1710 (C=O de l'ester), 710–700 (C=C) (Kleiman *et al.* 1977; Kha *et al.*, 2002).

I.3.1.5.c) Spectroscopie RMN des acides gras

Les spectres de RMN des acides gras présentent des signaux caractéristiques permettant d'identifier rapidement ces classes de composés. Ainsi, les acides gras saturés et insaturés présentent généralement sur leurs spectres de RMN ^1H , le pic d'un méthyle terminal sous forme de triplet à δ_{H} 0,82–0,85 ppm et les signaux caractéristiques d'une longue chaîne de protons méthyléniques autour de δ_{H} 1,20–1,98; tandis sur le spectres de RMN ^{13}C , les signaux d'amas de groupements méthyléniques apparaissent autour de δ_{C} 29,1–29,8 ppm (Asilbekova *et al.*, 1987; Kleiman *et al.* 1977; Kha *et al.*, 2002; Sultana *et al.*, 2017; Singla *et al.*, 2018). Lorsqu'il y a la présence d'une double liaison, la géométrie de la molécule est *Z* si les carbones oléfiniques apparaissent autour de δ_{C} 27,4–27,8 et 31,2–31,8. Par contre, cette géométrie est *E* si les déplacements chimiques correspondant aux carbones allyliques sont de l'ordre de δ_{C} 33,0 ppm (Simo *et al.*, 2008).

I.3.1.6. Acides gras isolés du genre *Alchornea*

Les travaux chimiques effectués par Sandjo *et al.* (2011) sur les écorces d'*Alchornea laxiflora* ont conduit à l'isolement de deux dérivés nouveaux : un acide gras nommé ester d'acide (10*Z*)-tétradéc-10-énoïque-(2*S*)-2-carboxy-2-hydroxyéthyle **4** et une céramide nommée (2*R*)-2-Hydroxy-*N*-[(2*S*,3*S*,4*R*,15*Z*)-1,3,4-trihydroxy-15-triaconten-2-yl]octacosamide **5**. De plus, Kone (2018) et Kleiman *et al.* (1977) ont rapporté l'isolement de l'acétate de 11-tétradécyn-1-ol **6** et de l'acide alchornoïque **7**, respectivement à partir des feuilles et des graines d'*A. cordifolia*. Kone (2018) a également rapporté l'isolement d'un autre acide gras à savoir l'hexadécyl-oxirane **8** des feuilles d'*A. cordifolia*.



I.3.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés et considérés comme des bases de Lewis à cause du doublet d'électrons libres que porte l'atome d'azote. Habituellement, les alcaloïdes dérivent des acides aminés et sont fréquemment trouvés dans les plantes à fleurs, les champignons et certains groupes d'animaux tels que les fourmis et les grenouilles (Harborne, 1995). Les travaux chimiques antérieurs sur le genre *Alchornea* ont conduit à l'isolement des alcaloïdes de type guanidine. Certains de ces composés portant l'unité guanidine sont cycliques et d'autres sont linéaires. Le [tableau 2](#) suivant présente quelques alcaloïdes isolés du genre *Alchornea*.

Tableau 2. Quelques alcaloïdes isolés du genre *Alchornea*.

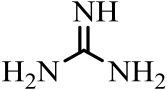
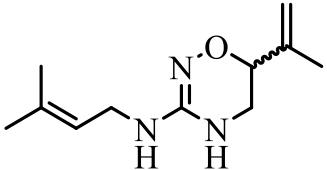
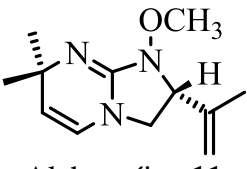
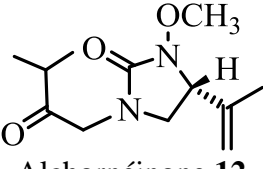
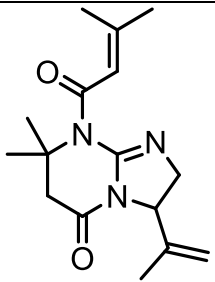
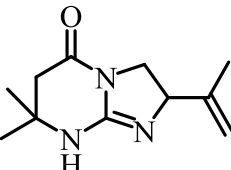
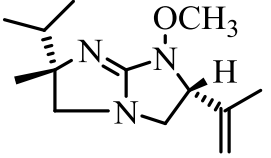
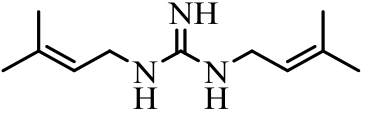
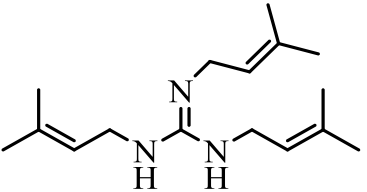
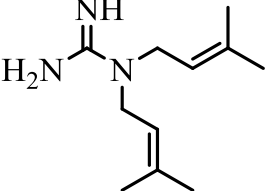
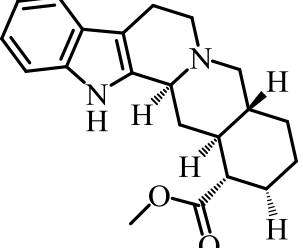
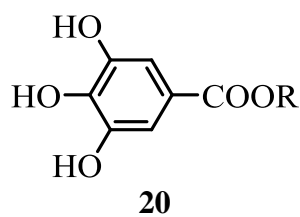
Structures et noms	Sources	Références
 <p>Guanidine 9</p>	Feuilles d' <i>A. javanensis</i>	Hart et al., 1969
 <p>Alchornedine 10</p>	Feuilles d' <i>A. floribunda</i>	Kaidu et al., 2014
 <p>Alchornéine 11</p>	Ecorces de tronc d' <i>A. hirtella</i> et <i>A. floribunda</i>	Khuong-Huu et al., 1972
 <p>Alchornéinone 12</p>	Feuilles d' <i>A. floribunda</i>	Khuong-Huu et al., 1972
 <p>Alchornidine 13</p>	Écorces et feuilles d' <i>A. javanensis</i>	Hart et al., 1969
 <p>Alchornine 14</p>	Écorces et feuilles d' <i>A. javanensis</i>	

Tableau 2. Quelques alcaloïdes isolés du genre *Alchornea* (suite).

Structures et noms	Sources	Références
 <p>Isoalchornéine 15</p>	Feuilles et écorces de racines d' <i>A. floribunda</i>	Khuong-Huu et al., 1972
 <p>N1,N2-di-isopenténylguanidine 16</p>	Écorces d' <i>A. javanensis</i> Feuilles d' <i>A. glandulosa</i> , <i>A. floribunda</i>	Hart et al., 1970; Kaidu et al., 2014; Lopes et al., 2009
 <p>N1,N2,N3-triisopenténylguanidine 17</p>	Feuilles et écorces d' <i>A. javanensis</i> Feuilles d' <i>A. cordifolia</i>	Hart et al., 1970; Lamikanra et al., 1990; Mavar-Manga et al., 2007
 <p>Pterogynine 18</p>	Écorces de <i>A. javanensis</i> ; Feuilles de <i>A. glandulosa</i> ; <i>A. floribunda</i>	Hart et al., 1970 Kaidu et al., 2014
 <p>Yohimbine 19</p>	Racines d' <i>A. cordifolia</i>	Correia et al., 1962

I.3.3. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques se caractérisent pour la plupart par la présence d'une ou de plusieurs unités phénolique(s) (C₆H₅O-) dans leurs structures. Ils représentent la grande majorité des composés isolés du genre *Alchornea*, notamment l'acide gallique (**20** : R = H) (Huang et al., 2014; Urrea-Bulla et al., 2004; Cui et Tan, 2004; Braca et al., 2002; Lamikanra et al., 1990) qui est le plus isolé de plusieurs espèces ainsi que ses dérivés. On peut ranger les composés phénoliques du genre *Alchornea* en trois sous-classes de métabolites à savoir les acides phénoliques **20-35**, les tanins **36-38** et les flavonoïdes **39-51**.



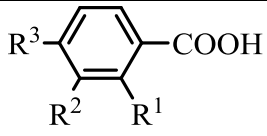
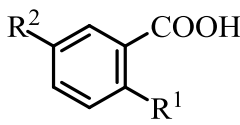
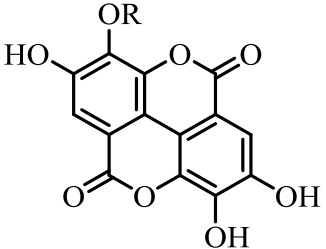
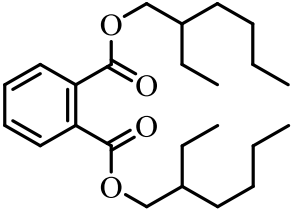
I.3.3.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques isolés des plantes du genre *Alchornea* sont présentés dans le [tableau 3](#) suivant.

Tableau 3. Quelques acides phénoliques isolés du genre *Alchornea*.

Structures et noms	Sources	Références
R = H : Acide gallique <u>20</u>	Feuilles de <i>A. glandulosa</i> ; <i>A. cordifolia</i> ; <i>A. triplinervia</i> ; <i>A. trewioides</i> et écorces d' <i>A. davidii</i>	Lamikanra et al., 1990; Urrea-Bulla et al., 2004; Braca et al., 2002; Cui et Tan, 2004; Huang et al., 2014
R = Me : Gallate de méthyle <u>21</u>	Feuilles d' <i>A. triplinervia</i> ; <i>A. trewioides</i> ; Écorces d' <i>A. davidii</i> Tiges d' <i>A. cordifolia</i>	Braca et al., 2002; Cui, Tan, 2004; Huang et al., 2014 Noundou et al., 2016
R = Et : Gallate d'éthyle <u>22</u>	Feuilles d' <i>A. glandulosa</i>	Urrea-Bulla et al., 2004
R = Glc : β -D-glucogallin <u>23</u>	Feuilles d' <i>A. triplinervia</i>	Braca et al., 2002
<p>Acide <i>trans-p</i>-coumarique <u>24</u></p>	Feuilles d' <i>A. trewioides</i>	Huang et al., 2014
<p>Acide <i>cis-p</i>-coumarique <u>25</u></p>		
<p>R= H : Acide caféique <u>26</u> R= Me : Méthyl ester d'acide caféique <u>27</u></p>		

Tableau 3. Quelques acides phénoliques isolés du genre *Alchornea* (suite).

Structures et noms	Sources	Références
 <p> $R^1 = OH, R^2 = R^3 = H$: Acide salicylique 28 $R^1 = R^2 = H, R^3 = OH$: Acide <i>p</i>-hydroxybenzoïque 29 $R^1 = H, R^2 = R^3 = OH$: Acide protocatéchique 30 </p>	Feuilles d' <i>A. trewioides</i> ; Feuilles d' <i>A. cordifolia</i>	Huang et <i>al.</i> , 2014; Lamikanra et <i>al.</i> , 1990
 <p> $R^1 = NH_2, R^2 = H$: Acide anthranilique 31 $R^1 = R^2 = OH$: Acide 2,5-dihydroxybenzoïque 32 </p>	Racines d' <i>A. cordifolia</i>	Correia et <i>al.</i> , 1962
 <p> $R = H$: Acide ellagique 33 $R = Me$: Acide 3-<i>O</i>-méthylellagique 34 </p>	Écorces d' <i>A. laxiflora</i>	Sandjo et <i>al.</i> , 2011
 <p>Phtalate de bis(2-éthylhexyle) 35</p>	Feuilles et racines d' <i>A. cordifolia</i>	Mavar-Manga et <i>al.</i> , 2008

I.3.3.2. Les tanins

Les tanins isolés des plantes du genre *Alchornea* sont présentés dans le [tableau 4](#) suivant.

Tableau 4. Quelques tanins isolés du genre *Alchornea*.

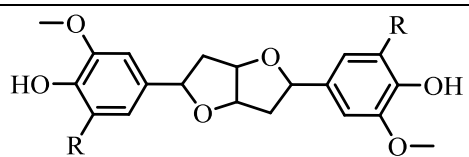
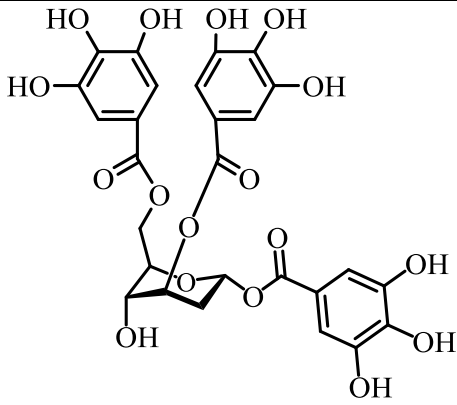
Structures et noms	Sources	Références
 <p> $R = OMe$: (+)-Syringaresinol 36 $R = OMe$: Pinoresinol 37 </p>	Ecorces d' <i>A. davidii</i>	Cui et Tan, 2004

Tableau 3. Quelques tanins isolés du genre *Alchornea* (suite).

Structures et noms	Sources	Références
 <p>Isocorilagin 38</p>	Feuilles d' <i>A. triplinervia</i>	Braca et al., 2002

I.3.3.3. Les flavonoïdes

Le [tableau 5](#) présente quelques flavonoïdes isolés des plantes du genre *Alchornea*.

Tableau 5. Quelques flavonoïdes isolés du genre *Alchornea*.

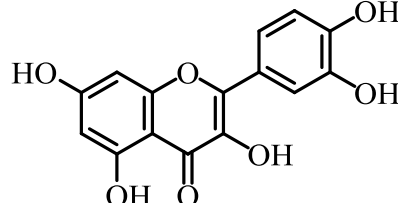
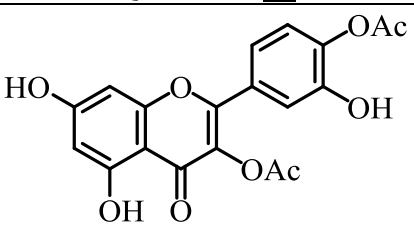
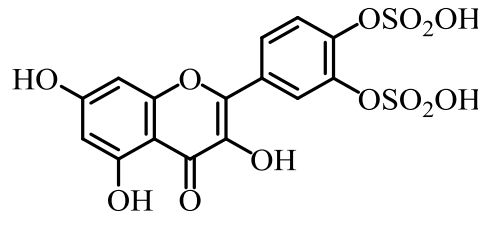
Structures et noms	Sources	Références
 <p>Quercétine 39</p>	Feuilles d' <i>A. cordifolia</i> , d' <i>A. glandulosa</i> et d' <i>A. latifolia</i>	Lamikanra et al., 1990; Urrea-Bulla et al, 2004; Ogundipe et al., 2001.
 <p>Quercetin-3,4'-diacétate 40</p>	Feuilles d' <i>A. latifolia</i>	Ogundipe et al., 2001
 <p>Quercetin-3',4'-disulphate 41</p>	Feuilles d' <i>A. latifolia</i>	Ogundipe et al., 2001

Tableau 5. Quelques flavonoïdes isolés du genre *Alchornea* (suite)

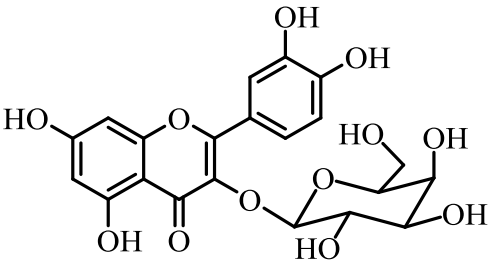
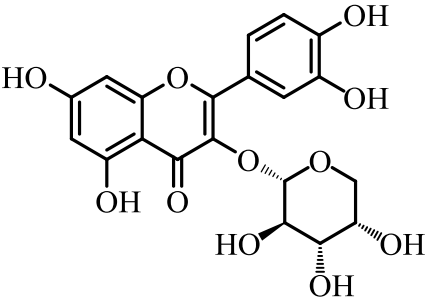
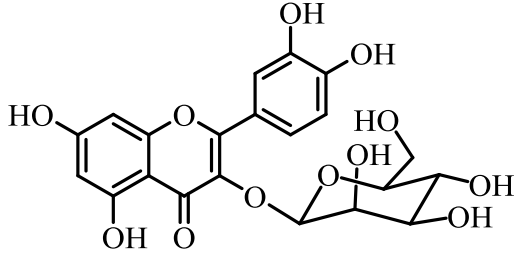
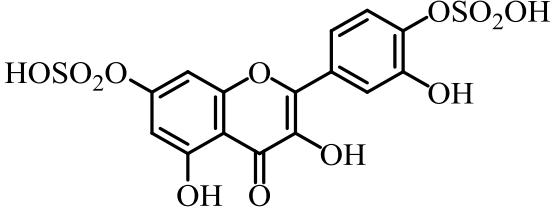
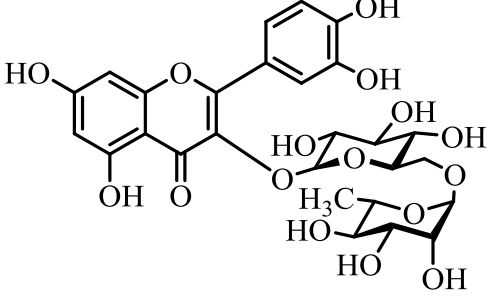
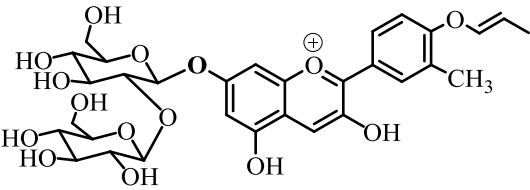
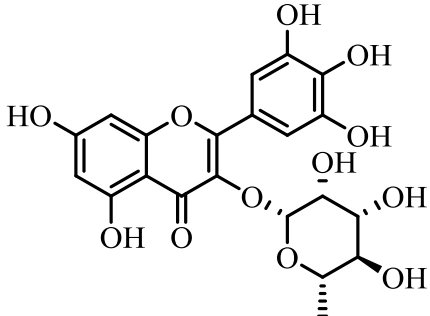
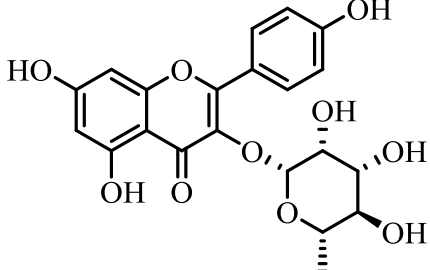
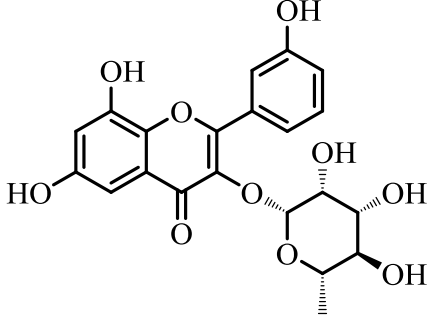
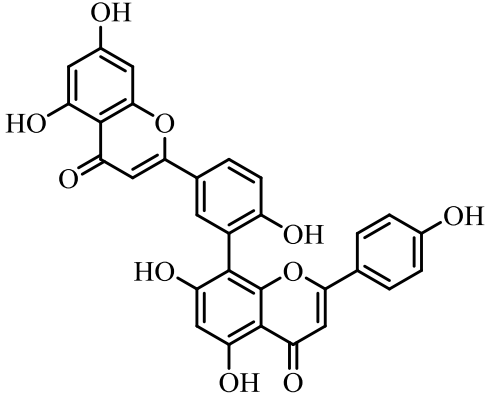
Structures et noms	Sources	Références
 <p>Hypérine 42</p>	<p>Plante entière d'<i>A. cordifolia</i>; Feuilles d'<i>A. cordifolia</i></p>	<p>Ogunbamila et <i>al.</i>, 1990; Mavar-Manga et <i>al.</i>, 2004</p>
 <p>Guaijavérine 43</p>	<p>Plante entière d'<i>A. cordifolia</i> Feuilles d'<i>A. glandulosa</i></p>	<p>Ogunbamila et <i>al.</i>, 1990 Urrea-Bulla et <i>al.</i>, 2004</p>
 <p>Quercitrine 44</p>	<p>Feuilles d'<i>A. cordifolia</i></p>	<p>Mavar-Manga et <i>al.</i>, 2004</p>
 <p>Quercetin-7,4'-disulphate 45</p>	<p>Feuilles d'<i>A. latifolia</i> Feuilles d'<i>A. cordifolia</i></p>	<p>Ogundipe et <i>al.</i>, 2001</p>
 <p>Rutin 46</p>	<p>Feuilles d'<i>A. latifolia</i> Feuilles d'<i>A. cordifolia</i></p>	<p>Ogundipe et <i>al.</i>, 2001</p>

Tableau 5. Quelques flavonoïdes isolés du genre *Alchornea* (suite).

Structures et noms	Sources	Références
 <p>diglucoside de propénoxy pélargonidine 47</p>	<p>Feuilles d'<i>A. cordifolia</i></p>	<p>Okwu et al., 2010</p>
 <p>Myricetin-3-<i>O</i>-α-L-rhamnoside 48</p>	<p>Feuilles d'<i>A. glandulosa</i></p>	<p>Urrea-Bulla et al., 2004</p>
 <p>Kaempférol-3-<i>O</i>-α-L-rhamnoside 49</p>		<p>Urrea-Bulla et al., 2004</p>
 <p>3,6,8,3'-tetrahydroxyflavone-3-<i>O</i>-α-L-rhamnoside 50</p>	<p>Feuilles d'<i>A. floribunda</i></p>	<p>Okoye et Osadebe, 2010</p>
 <p>Amentoflavone 51</p>	<p>Feuilles d'<i>A. triplinervia</i></p>	<p>Braca et al., 2002</p>

I.3.4. Les triterpénoïdes

Les triterpénoïdes représentent une des classes de composés presque toujours isolés des plantes et se divisent en plusieurs classes de métabolites secondaires ayant le squalène ou son dérivé 2,3-*S*-époxy-squalène **52** comme précurseurs biosynthétiques (Dewick, 2002). Le squalène lui-même provient d'une série de réactions (Schéma 2) faisant intervenir les unités isopréniques formées par les organismes vivants par la voie mevalonate avec l'acide mevalonique comme composé de départ (Santelli, 2012).

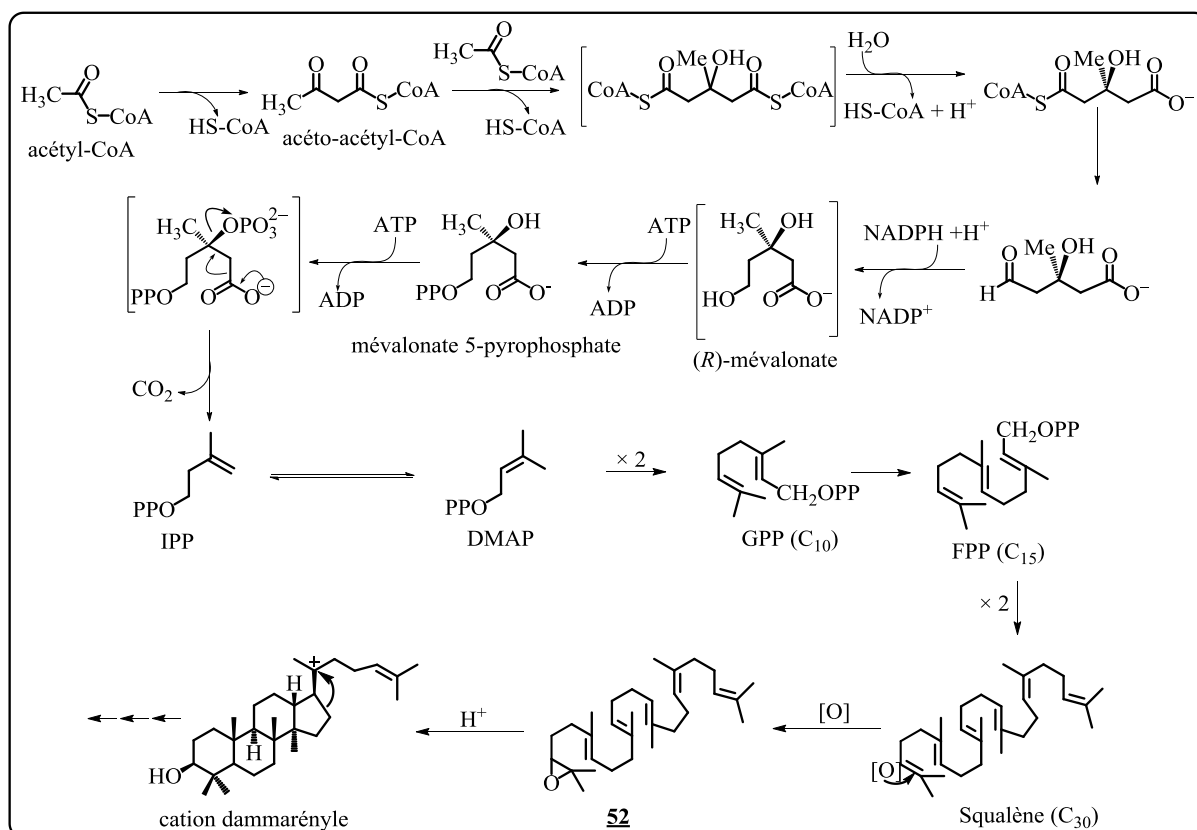


Schéma 2. Formation de l'IPP, du DMAP et du squalène (précurseur des triterpènes).

Les triterpènes de type friedélane, ursane et taraxane, représentent le plus grand nombre de triterpénoïdes isolés du genre *Alchornea* (voir Tableau 6).

Tableau 6. Quelques triterpénoïdes isolés du genre *Alchornea*.

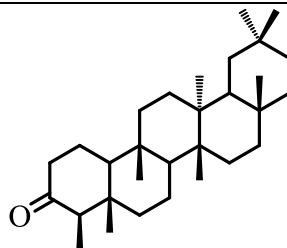
Structures et noms	Sources	Références
 <p>Friedéline 53</p>	Feuilles d' <i>A. latifolia</i>	Setzer et al., 2000

Tableau 6. Quelques triterpénoïdes isolés du genre *Alchornea* (suite)

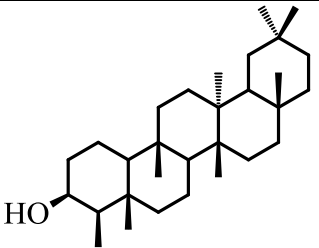
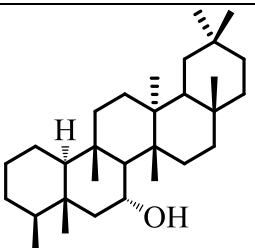
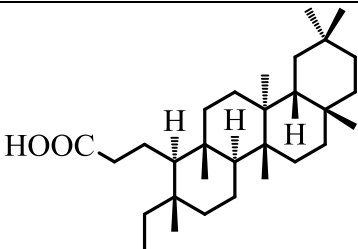
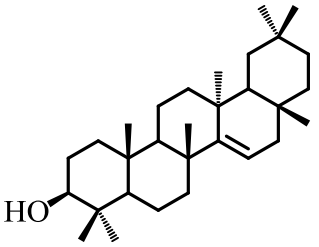
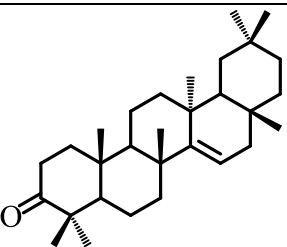
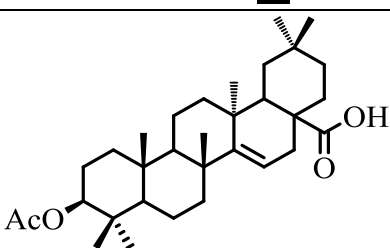
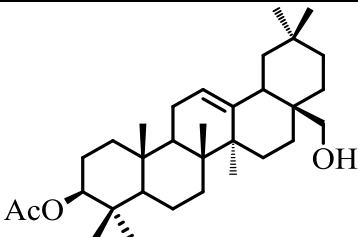
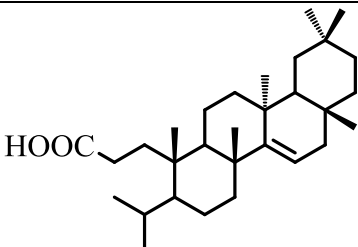
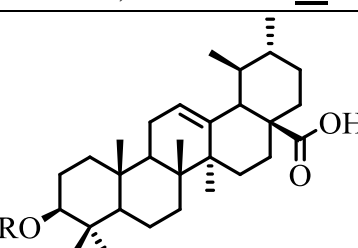
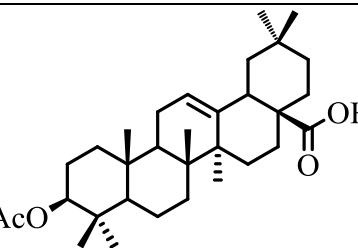
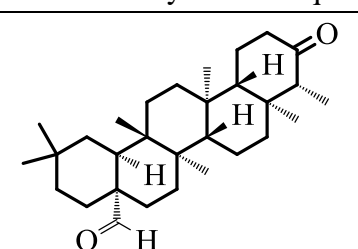
Structures et noms	Sources	Références
 <p>Épifriedélinol 54</p>	Feuilles d' <i>A. latifolia</i>	Setzer et <i>al.</i> , 2000
 <p>Pentatronol 55</p>	Feuilles d' <i>A. sidifolia</i>	Barbo et <i>al.</i> , 2002
 <p><i>seco</i>-3,4-friedelin 56</p>		
 <p>Taraxerol 57</p>	Feuilles d' <i>A. latifolia</i>	Setzer et <i>al.</i> , 2000
 <p>Taraxerone 58</p>		
 <p>Acide 3-<i>O</i>-acétyl-aleuritolique 59</p>	Tiges d' <i>A. cordifolia</i>	Noundou et <i>al.</i> , 2016

Tableau 6. Quelques triterpénoïdes isolés du genre *Alchornea* (suite)

 <p>Acide 3-<i>O</i>-acétyl-érythrodiol 60</p>	Tiges d' <i>A. cordifolia</i>	Noundou et <i>al.</i> , 2016
 <p><i>seco</i>-3,4-taraxerone 61</p>	Feuilles d' <i>A. latifolia</i>	Setzer et <i>al.</i> , 2000
 <p>R= H : Acide ursolique 62 R=Ac:Acide 3-<i>O</i>-acétyl-ursolique 63</p>	Écorces d' <i>A. laxiflora</i>	Sandjo et <i>al.</i> , 2011
 <p>Acide 3-<i>O</i>-acétyl-oléanolique 64</p>		
 <p>Friedélan-3-one-28-al 65</p>	Tiges d' <i>A. cordifolia</i>	Noundou et <i>al.</i> , 2016

I.3.5. Les stéroïdes

Les stéroïdes constituent le groupe de métabolites secondaires le plus prédominant dans les plantes. Ils regroupent les composés tels que les acides biliaires, les hormones sexuelles, les glucosides cardiaques, les amines stéroïdiennes, etc. Ils dérivent du même

précurseur que les triterpènes et sont considérés comme des triterpènes tétracycliques qui ont perdu au moins trois groupes méthyles dont deux méthyles en C-4 du cycle A et le méthyle C-14 adjacent aux cycles C et D (Schéma 3) (Bruneton, 1999).

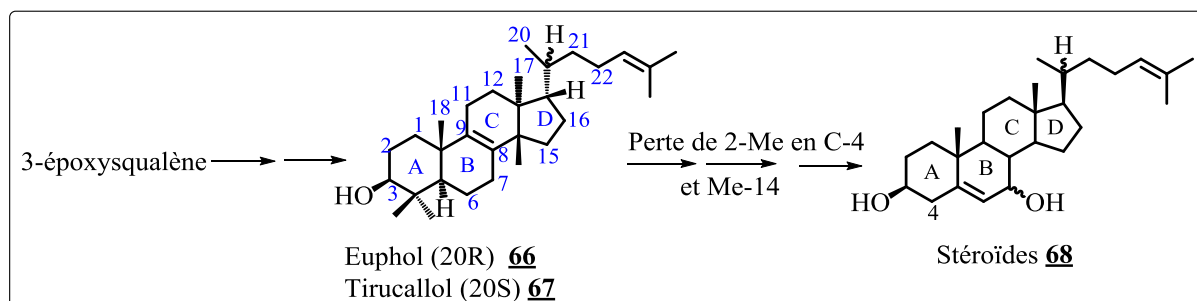


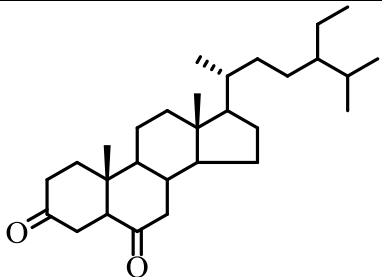
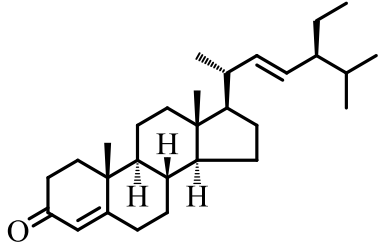
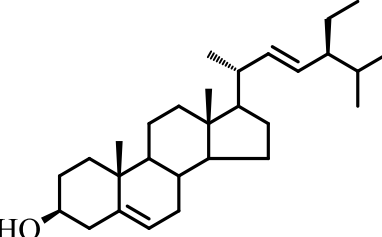
Schéma 3. Formation des stéroïdes.

Les investigations chimiques sur le genre *Alchornea* ont conduit à l'isolement de quelques stéroïdes qui sont présentés dans le Tableau 7.

Tableau 7. Quelques stéroïdes isolés du genre *Alchornea*.

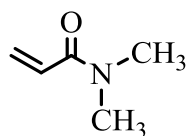
Structures et noms	Sources	Références
<p>R = H : β-sitostérol <u>69</u> R = Glc : Daucostérol <u>70</u></p>	<p>Feuilles et écorces des racines d'<i>A.</i> <i>cordifolia</i> Écorces d'<i>A.</i> <i>laxiflora</i></p>	<p>Mavar-Manga <i>et al.</i>, 2008 Sandjo <i>et al.</i>, 2011</p>
<p>3β-hydroxyl-5α-stigmastane-24-ène <u>71</u></p>	<p>Feuilles d'<i>A.</i> <i>floribunda</i></p>	<p>Okoye <i>et al.</i>, 2010</p>
<p>5α-stigmastane-23-ène-3,6-dione <u>72</u></p>	<p>Feuilles d'<i>A.</i> <i>floribunda</i></p>	<p>Okoye <i>et al.</i>, 2010</p>

Tableau 7. Quelques stéroïdes isolés du genre *Alchornea* (suite).

Structures et noms	Sources	Références
 <p>5α-stigmastane-3,6-dione 73</p>	Feuilles d' <i>A. floribunda</i>	Okoye et al., 2010
 <p>Stigmasta-4,22-dien-3-one 74</p>	Tiges d' <i>A. cordifolia</i>	Noundou et al., 2016
 <p>Stigmastérol 75</p>		

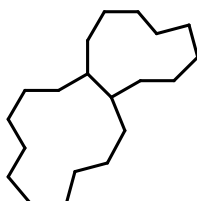
I.3.6. Les amides

Les travaux chimiques sur les écorces et feuilles d'*A. javanensis* ont permis d'isoler une amide à savoir la 2,2-diméthylacrylamide **76** (Hart, 1970).

**76**

I.3.7. Les hydrocarbures

Kone (2018) a rapporté l'isolement d'un hydrocarbure bicyclique à savoir le (*E*)-bicyclo[10.8.0]eicosane **77** des feuilles d'*A. cordifolia*.

**77**

I.4. TRAVAUX BIOLOGIQUES ANTÉRIEURS SUR LES PLANTES DU GENRE *ALCHORNEA*

En tenant compte de plusieurs usages des plantes du genre *Alchornea* en médecine traditionnelle, les extraits de différentes espèces de ces plantes ont fait l'objet de plusieurs études d'activités biologiques comme le montre le [tableau 8](#) suivant.

Tableau 8. Activités biologiques des extraits de différentes espèces du genre *Alchornea*.

Espèces et/ou organes	Activité biologique	Référence
<i>A. cordifolia</i>	Antibactérienne propriétés relaxantes des muscles lisses	Ogunlana et Ramstad, 1975; Lamikanra et al., 1990
<i>A. floribunda</i>	Antibactérienne	Siwe et al., 2016
Feuilles d' <i>A. laxiflora</i> ; <i>A. floribunda</i> ; <i>A. cordifolia</i>	anti-inflammatoire	Ogundipe et al., 2001; Okoye et al., 2011, 2010; Mavar-Manga et al., 2008, 2004
<i>A. laxiflora</i>	Cytotoxique	Setzer et al., 2000
Feuilles d' <i>A. cordifolia</i>	Immunomodulatrice	Kouakou et al., 2013
<i>A. cordifolia</i>	Anti-Trypanosomiale	Adewunmi et al., 2001
<i>A. sidifolia</i>	Antifongique	Fausto et al., 2001
<i>A. cordifolia</i>	Antiplasmodiale	Mustopha et al., 2000
Écorces des racines et feuilles d' <i>A. cordifolia</i>	Activité spasmolytique	Tona et al., 1999; Tona et al., 2000
Feuilles d' <i>A. cordifolia</i>	hépatoprotectrice	Osadebe et al., 2012
Feuilles d' <i>A. cordifolia</i>	Activité reproductive	Ajibade et olayemi, 2015
<i>A. cordifolia</i>	antivirale	Ayisi et Nyadedzor, 2003

La large gamme d'activités biologiques d'*A. cordifolia* a déterminé les chimistes et les biochimistes à la recherche des principes actifs des extraits. Ces principes ont plus ou moins confirmé les activités biologiques signalées. Ainsi, le [tableau 9](#) suivant donne les activités biologiques des composés isolés d'*A. cordifolia*.

Tableau 9. Activités biologiques des composés déjà isolés d'*A. cordifolia*.

N° composé	Organes	Activité biologique	Référence
<u>6</u>	Feuilles	Antibactérien	Kone, 2018
<u>8</u>	Feuilles	Antibactérien	Kone, 2018
<u>16</u>	Feuilles et racines	Antiinflammatoire, cytotoxique	Mavar-manga et <i>al.</i> , 2008
<u>17</u>	Feuilles	Antibactérien	Lamikanra et <i>al.</i> , 1990
<u>20</u>	Plante entière, feuille	Relaxation musculaire lisse, antibactérien	Ogungbamila et <i>al.</i> , 1990, Lamikanra et <i>al.</i> , 1990
<u>21</u>	Tiges	Antibactérien	Noundou et <i>al.</i> , 2016
<u>30</u>	Feuilles	Antibactérien	Lamikanra et <i>al.</i> , 1990
<u>31</u>	Plante entière	Relaxation musculaire lisse	Ogungbamila et <i>al.</i> , 1990
<u>35</u>	Feuilles et racines	Antiinflammatoire	Mavar-manga et <i>al.</i> , 2008
<u>42</u>	Plante entière	Relaxation musculaire lisse	Ogungbamila et <i>al.</i> , 1990
<u>44</u>	Feuilles	Antiinflammatoire	Mavar-manga et <i>al.</i> , 2004
<u>53</u>	Tiges	Antibactérien	Noundou et <i>al.</i> , 2016
<u>60</u>	Tiges	Antibactérien	Noundou et <i>al.</i> , 2016
<u>65</u>	Tiges	Antibactérien	Noundou et <i>al.</i> , 2016
<u>69</u>	Feuilles et racines	Antiinflammatoire	Mavar-manga et <i>al.</i> , 2008
<u>70</u>	Feuilles et racines	Antiinflammatoire	Mavar-manga et <i>al.</i> , 2008
<u>72</u>	Tiges	Antibactérien	Noundou et <i>al.</i> , 2016
<u>77</u>	Tiges	Antibactérien	Noundou et <i>al.</i> , 2016

I.5. MÉTHODES ANALYTIQUES DE DÉTECTION DES COMPOSÉS

Il existe de nombreuses méthodes de détection telles que :

- La chromatographie sur couche mince (CCM),
- La spectrométrie de masse (SM),
- La chromatographie liquide haute performance (HPLC) et la LC-MS,
- La résonance magnétique nucléaire (RMN) qui permet la détection des atomes de H, C, P, F, et s'adapte en particulier aux substances difficilement extractibles voire non extractibles de leur support,
- L'ultraviolet (UV),
- L'infrarouge (IR).

Cependant, la CCM, la SM, la HPLC et la LC-MS sont des méthodes de choix pour l'identification et la quantification des substances.

I.5.1. La chromatographie sur couche mince (CCM)

Rappelons d'abord que la chromatographie est une technique permettant de séparer et d'analyser les constituants d'un mélange en le faisant circuler à travers un milieu fixe inerte (adsorbant) à l'aide d'un solvant mobile (éluant) qui l'entraîne. Chaque constituant adopte une vitesse de migration qui lui est propre en fonction de sa solubilité dans la phase mobile et de son affinité pour la phase fixe qui tend à le retenir.

Les méthodes chromatographiques sont largement utilisées dans tous les domaines de l'analyse chimique. Leur souplesse d'utilisation et la diversité de leurs applications en font des techniques de choix pour les analyses délicates, notamment pour ce qui concerne la caractérisation de traces de composés organiques et minéraux.

La chromatographie sur couche mince est l'une des formes les plus simples et les plus anciennes de la chromatographie, utilisant une mince phase stationnaire et une phase mobile liquide. Cette méthode chromatographique est principalement utilisée pour des analyses qualitatives. En outre, elle est aussi pour la détection de la falsification des documents; l'analyse des encres et des colorants; la recherche de composés toxiques dans les aliments et les boissons; la recherche de stupéfiants et l'analyse des plantes.

I.5.2. La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse (SM) reste la méthode de choix pour l'identification et la quantification des substances chimiques.

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui peut non seulement être exploitée en tant que détecteur quantitatif mais également en tant que méthode d'identification structurale précise des analytes. Elle est fondée sur la séparation et la détection d'ions formés dans une source d'ionisation ou dans une chambre de collision. Ces ions proviennent de la molécule à analyser. Dans le cas de méthodes d'ionisation dites « douces », l'ion moléculaire (ou pseudomoléculaire) formé peut être consécutif à l'addition d'un ion (H^+ par exemple) ou à la soustraction d'un électron à la molécule. Dans le cas de méthodes d'ionisation moins douces (ou dans une chambre de collision), les ions pseudomoléculaires (ou moléculaires) se fragmentent pour donner des ions fils en suivant des règles de fragmentation connues et caractéristiques des structures des molécules à analyser. Il est donc possible, avec cette méthode, d'obtenir des informations structurales.

I.5.3. La chromatographie en phase liquide (HPLC) et la LC-MS

La chromatographie liquide en haute performance (HPLC) est une méthode de séparation et d'identification des composés. Elle est largement utilisée dans les sciences analytiques mais les experts des laboratoires d'analyses plébiscitent surtout la LC-MS qui combine séparation, identification et quantification des molécules telles que les substances toxiques, les explosifs, les stupéfiants, les substances médicamenteuses, les toxines végétales, animales et bactériennes...

La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (en anglais *Liquid chromatography-Mass spectrometry* ou LC-MS) est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase liquide et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances.

Cette technique permet de séparer des mélanges complexes avec une excellente résolution et de caractériser directement les composés du mélange en les quantifiant sélectivement et spécifiquement, avec une préparation simplifiée de l'échantillon.

L'analyse d'un extrait à l'aide de la LC-MS donne lieu à un spectre comportant les temps de rétention des différents constituants du mélange. Plus le temps de rétention est bas, plus le composé est polaire et vice versa (cette proposition est valable juste pour les phases inversées). De manière générale, les spectromètres de masse liés à cette technique peuvent détecter un grand nombre de composés simultanément même s'ils sont co-élus. La sélectivité est gagnée par identification et quantification de la masse molaire de chaque composé du mélange.

En LC-MS, on utilise généralement des colonnes de très faible dimension (300 à 75 µm de diamètre) contenant un adsorbant greffé en C18. Lors de l'élution, la vitesse d'écoulement avoisine 4 mL/min vers l'extrémité inférieure de la colonne. Lorsque le produit sort de la colonne, une partie est dirigée vers le spectromètre UV et l'autre vers le spectromètre de masse. Ce partage affecte la sensibilité du spectromètre UV ([Lindsay, 1992](#)).

Dans la pratique, la LC-MS est utilisée pour la détermination de la masse moléculaire des composés purs et celle des différents constituants d'un mélange. Elle est très appliquée pour vérifier la pureté des composés en chimie organique. C'est une méthode de choix dans l'étude du métabolisme des composés organiques en général et des médicaments en particulier à cause de sa sensibilité et de sa spécificité. Elle est largement utilisée dans l'étude *in vivo* et *in vitro* du métabolisme des médicaments, l'analyse et l'identification des impuretés et la dégradation des produits en pharmacie, l'analyse des impuretés chirales dans les

substances médicamenteuses et enfin l'isolement et la caractérisation des potentielles substances médicamenteuses à partir des sources naturelles ou synthétiques.

L'utilisation de cette technique, compte tenu de ce qui ressort de sa description, pourrait être un avantage important dans l'étude préliminaire des extraits des plantes.

I.5.4. Masses des composés déjà isolés du genre *Alchornea*

Avant de procéder à l'analyse LC-MS pour l'isolement des nouveaux dérivés à partir d'une plante, il est primordial de recenser toutes les masses de composés déjà décrits dans la littérature. Ce recensement peut être facilité par un moteur de recherche rapide comme le "Sci-Finder". Ainsi le [tableau 10](#) suivant donne les masses théoriques des composés déjà isolés des plantes du genre *Alchornea*.

Tableau 10. Masses théoriques des composés déjà isolés du genre *Alchornea*.

N° du composé et formule brute	m/z de l'ion [M+H] ⁺	Sources	Références
4 : C ₁₇ H ₃₁ O ₇	315,2166	<i>Alchornea</i>	Sandjo et al., 2011
5 : C ₅₈ H ₁₁₆ O ₅ N	906,8848	<i>laxiflora</i>	
6 : C ₁₆ H ₃₁ O ₂	255,2319	<i>A. cordifolia</i>	Kone, 2018; Kleiman et al., 1977
7 : C ₂₀ H ₃₇ O ₃	325,2737		
8 : C ₁₈ H ₃₇ O	269,2839		
9 : CH ₆ N ₃	60,0556	<i>A. javanensis</i>	Hart et al., 1969
10 : C ₁₁ H ₂₀ N ₃ O	210,1601	<i>A. floribunda</i>	Kaidu et al., 2014
11 : C ₁₂ H ₂₀ N ₃ O	222,1601	<i>A. hirtella</i> ; <i>A. floribunda</i>	Khuong-Huu et al., 1972
12 : C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃	241,1547	<i>A. floribunda</i>	Khuong-Huu et al., 1972
13 : C ₁₆ H ₂₄ N ₃ O ₂	290,1863	<i>A. javanensis</i>	Hart et al., 1969
14 : C ₁₁ H ₁₈ N ₃ O	208,1444	<i>A. javanensis</i>	Hart et al., 1969
15 : C ₁₃ H ₂₃ N ₃ O	118,5915	<i>A. floribunda</i>	Khuong-Huu et al., 1972
16 et 18 : C ₁₁ H ₂₂ N ₃	196,1808	<i>A. javanensis</i> ; <i>A. glandulosa</i> ; <i>A. floribunda</i>	Hart et al., 1970; Kaidu et al., 2014; Lopes et al., 2009
17 : C ₁₆ H ₃₀ N ₃	264,2434	<i>A. javanensis</i> ; <i>A. cordifolia</i>	Hart et al., 1970; Lamikanra et al., 1990; Mavar-Manga et al., 2007
19 : C ₂₁ H ₂₇ N ₂ O ₂	339,2067	<i>A. cordifolia</i>	Correia et al., 1962
20 : C ₇ H ₇ O ₅	171,0288	<i>A. glandulosa</i> ; <i>A. cordifolia</i> ; <i>A. triplinervia</i> ; <i>A. trewioides</i> ; <i>A. davidii</i>	Lamikanra et al., 1990; Urrea-Bulla et al., 2004; Braca et al., 2002; Cui et Tan, 2004; Huang et al., 2014

Tableau 10. Masses théoriques des composés déjà isolés du genre *Alchornea* (suite).

N° du composé et formule brute	m/z de l'ion [M+H] ⁺	Sources	Références
21 : C ₉ H ₁₁ O ₅	185,0444	<i>A. triplinervia</i> ; <i>A. trewioides</i> ; <i>A. davidii</i> <i>A. cordifolia</i>	Braca et al., 2002; Cui, Tan, 2004; Huang et al., 2014 Noundou et al., 2016
22 : C ₉ H ₁₁ O ₅	199,0601	<i>A. glandulosa</i>	Urrea-Bulla et al., 2004
23 : C ₁₃ H ₁₇ O ₁₀	333,0816	<i>A. triplinervia</i>	Braca et al., 2002
24 et 25 : C ₉ H ₉ O ₃	165,0546	<i>A. trewioides</i>	Huang et al., 2014
26 : C ₉ H ₉ O ₄	181,0496		
27 : C ₁₀ H ₁₁ O ₄	195,0652		
28 ; 29 et 30 : C ₇ H ₇ O ₃	139,0390	<i>A. trewioides</i> ; <i>A. cordifolia</i>	Huang et al., 2014; Lamikanra et al., 1990
31 : C ₇ H ₈ NO ₂	138,0550	<i>A. cordifolia</i>	Correia et al., 1962
32 : C ₇ H ₇ O ₄	155,0339		
33 : C ₁₄ H ₇ O ₈	303,0135	<i>A. laxiflora</i>	Sandjo et al., 2011
34 : C ₁₅ H ₉ O ₈	317,0292		
35 : C ₂₄ H ₃₉ O ₄	391,2843	<i>A. cordifolia</i>	Mavar-Manga et al., 2008
36 et 37 : C ₂₂ H ₂₇ O ₈	419,1700	<i>A. davidii</i>	Cui et Tan, 2004
38 : C ₂₇ H ₂₅ O ₁₇	621,1086	<i>A. triplinervia</i>	Braca et al., 2002
39 : C ₁₅ H ₁₁ O ₇	303,0499	<i>A. cordifolia</i> ; <i>A. glandulosa</i> ; <i>A. latifolia</i>	Lamikanra et al., 1990; Urrea-Bulla et al., 2004; Ogundipe et al., 2001.
40 : C ₁₉ H ₁₅ O ₉	387,0711	<i>A. latifolia</i>	Ogundipe et al., 2001
41 : C ₁₅ H ₁₁ O ₁₃ S ₂	462,9636	<i>A. latifolia</i>	Ogundipe et al., 2001
42 et 48 : C ₂₁ H ₂₁ O ₁₂	465,1028	<i>A. cordifolia</i> ; <i>A. cordifolia</i>	Ogungbamila et al., 1990; Mavar-Manga et al., 2004
43 : C ₂₀ H ₁₉ O ₁₁	435,0922	<i>A. cordifolia</i> <i>A. glandulosa</i>	Ogungbamila et al., 1990 Urrea-Bulla et al., 2004
44 : C ₂₁ H ₂₁ O ₁₂	465,1028	<i>A. cordifolia</i>	Mavar-Manga et al., 2004
45 : C ₁₅ H ₁₁ O ₁₃ S ₂	462,9636	<i>A. latifolia</i>	Ogundipe et al., 2001
46 : C ₂₇ H ₃₁ O ₁₆	611,1607	<i>A. cordifolia</i>	
47 : C ₃₁ H ₃₈ O ₁₅	650,2205	<i>A. cordifolia</i>	Okwu et al., 2010
49 et 50 : C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀	433,1129	<i>A. glandulosa</i>	Urrea-Bulla et al., 2004
51 : C ₃₀ H ₁₉ O ₁₀	539,0973	<i>A. triplinervia</i>	Braca et al., 2002
53 et 57 : C ₃₀ H ₅₁ O	427,3934	<i>A. latifolia</i>	Setzer et al., 2000
54 et 55 : C ₃₀ H ₅₃ O	429,4091	<i>A. latifolia</i> ; <i>A. sidifolia</i>	Setzer et al., 2000; Barbo et al., 2002
56 : C ₃₀ H ₅₃ O ₂	455,4040	<i>A. latifolia</i>	Setzer et al., 2000
58 : C ₃₀ H ₄₉ O	425,3778	<i>A. latifolia</i>	Setzer et al., 2000
59 , 63 et 64 : C ₃₂ H ₅₁ O ₄	499,3782	<i>A. cordifolia</i>	Noundou et al., 2016
60 : C ₃₂ H ₅₃ O ₃	485,3989		

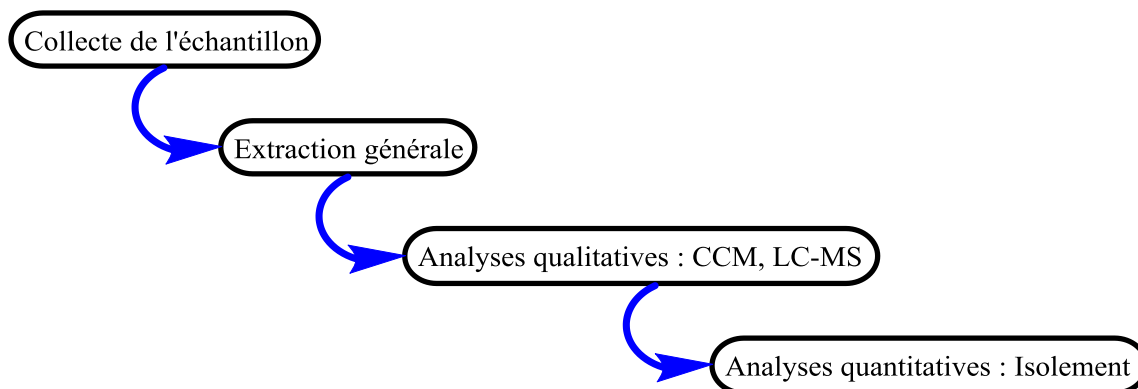
Tableau 10. Masses théoriques des composés déjà isolés du genre *Alchornea* (suite).

N° du composé et formule brute	m/z de l'ion $[M+H]^+$	Sources	Références
<u>61</u> : C ₃₀ H ₅₁ O ₂	443,3884	<i>A. latifolia</i>	Setzer et al., 2000
<u>62</u> : C ₃₀ H ₄₉ O ₃	457,3676	<i>A. laxiflora</i>	Sandjo et al., 2011
<u>65</u> : C ₃₀ H ₄₉ O ₂	441,3727	<i>A. cordifolia</i>	Noundou et al., 2016
<u>69</u> et <u>71</u> : C ₂₉ H ₅₁ O	415,3934	<i>A. cordifolia</i>	Mavar-Manga et al., 2008
<u>70</u> : C ₃₅ H ₆₁ O ₆	577,4463	<i>A. laxiflora</i>	Sandjo et al., 2011
<u>72</u> : C ₂₉ H ₄₇ O ₂	427,3571	<i>A. floribunda</i>	Okoye et al., 2010
<u>73</u> : C ₂₉ H ₄₉ O ₂	429,3727		
<u>74</u> : C ₂₉ H ₄₇ O	411,3621	<i>A. cordifolia</i>	Noundou et al., 2016
<u>75</u> : C ₂₉ H ₄₉ O	413,3778		
<u>76</u> : C ₅ H ₁₀ NO	100,0757	<i>A. javanensis</i>	Hart, 1970

I.5.5. Méthodologie et techniques d'études chimiques des matières végétales

I.5.5.1. Processus général

Dans la grande majorité d'analyses, la liste des substances à rechercher n'est pas connue, ce qui complique leur quantification. Il va donc être nécessaire d'effectuer une recherche "générale" pour retrouver le plus de substances chimiques possibles. La stratégie analytique appliquée est la suivante (Fig. 2).

**Figure 2.** Méthodologie analytique.

Pour isoler par *LC-MS*, on procède comme suit :

- ▶ Se servir du moteur de recherche "Sci-Finder" pour recenser de manière exhaustive les composés isolés de la plante (espèce) et du genre;
- ▶ Comparer les masses moléculaires calculées de ces composés avec celles du profil *LC-MS* de l'extrait de la plante considérée;
- ▶ S'intéresser aux masses non encore décrites afin de passer à leur isolement.

I.5.5.2. L'extraction

La phase d'extraction (encore appelée phase de purification) est extrêmement importante lors de la recherche de nombreux produits (médicaments ou toxiques) dans une grande variété des plantes. En général, le type d'extraction utilisé ici est l'extraction liquide-solide dont le principe est donné Figure 3. Pour extraire les principes actifs, le procédé est basé sur l'affinité qu'a un solvant organique avec le produit à extraire et également sur les conditions opératoires (extraction à froid ou à chaud).

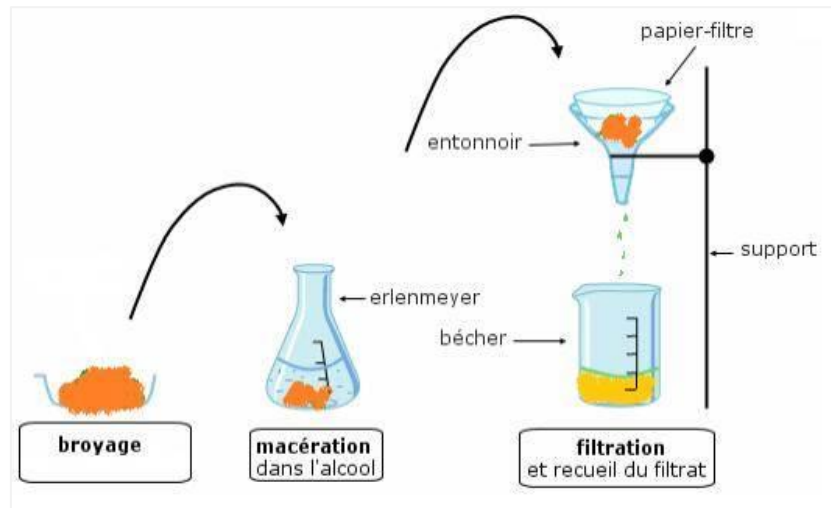


Figure 3. Principe d'extraction solide-liquide à partir d'une matière végétale

I.5.5.3. L'analyse par criblage chimique

L'extrait obtenu contient toujours divers produits. Cet extrait peut être fractionné par des techniques chromatographiques. Par la suite, les fractions peuvent être soumises à l'analyse LC-MS pour une comparaison des masses obtenues avec celles décrites dans la littérature, à un test spécifique aux différentes classes de composés ou à un essai biologique en fonction des classes de composés de l'extrait étudié.

Généralement, dans l'étude des plantes, les composés purs obtenus subissent des analyses biologiques afin de montrer une corrélation entre "structure et propriété biologique".

I.6. GÉNÉRALITÉS SUR LES ACTIVITÉS ANTIMICROBIENNES

I.6.1. Définition des bactéries et quelques caractéristiques

Les bactéries sont des organismes vivants microscopiques et procaryotes présents dans tous les milieux. Elles peuvent être classées en deux grands groupes en fonction de la nature de leur paroi : les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif.

I.6.1.a) Les bactéries à Gram positif

Lorsqu'une bactérie à paroi fine peut réagir positivement à la coloration de Gram, elle est dite bactérie Gram positif. Les bactéries à Gram positif sont mises en évidence par une technique de coloration appelée coloration de Gram. Elles apparaissent mauves au microscope. La technique de coloration repose sur les caractéristiques membranaires et de paroi de la bactérie. La coloration au Gram est un facteur déterminant dans la taxonomie bactérienne.

Exemples des bactéries Gram-positif: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*,...

I.6.1.b) Les bactéries à Gram négatif

Les bactéries à paroi épaisse réagissent négativement et sont dites bactéries Gram négatif. Elles sont mises en évidence par une méthode similaire à celle des bactéries à Gram positif et elles apparaissent roses au microscope.

Exemples des bactéries Gram-négatif : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Citrobacter braakii*, *Gonococcus sp*, *Chlamydia trachomatis*, *Proteus mirabilis*,...

I.6.2. Caractérisation des bactéries par la coloration de Gram

Dans la coloration de Gram, les bactéries sont d'abord colorées par du violet de gentiane, puis elles sont traitées par la liqueur de Gram. Après lavage à l'éthanol, les bactéries qui retiennent la coloration bleu-foncée du violet de gentiane sont des bactéries Gram positif et celles qui ne retiennent aucune coloration sont appelées bactéries Gram négatif (Kusari, 2013).

I.6.3. Méthodes d'évaluation d'une activité antimicrobienne

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne :

- La méthode de Stokes, E-test,
- La méthode de diffusion par puits,
- La méthode de diffusion par disque.

Nous allons décrire ici la méthode de diffusion par disque qui est celle que nous avons utilisée (voir partie expérimentale).

CHAPITRE II : RÉSULTATS ET DISCUSSION

II.1. Étude chimique des fruits d'*A. cordifolia*

II.1.1. Collection, extraction du matériel végétal

Les fruits mûrs d'*Alchornea cordifolia* ont été récoltés à Bangangté (Région de l'Ouest du Cameroun) en mai 2014 et ont été identifiés par M. Victor NANA, botaniste à l'Herbier National du Cameroun à Yaoundé. Le matériel végétal a été séché et broyé. La poudre obtenue (2,8 kg) a été extraite par macération avec le mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (1:1, v/v). Après macération, le filtrat obtenu a été évaporé sous pression réduite et a donné 175 g d'extrait brut.

II.1.2. Évaluation de l'extrait brut par LC-MS

Une quantité d'extrait brut (1 mg) a été soumise à l'analyse LC-MS (colonne 2.1×50 mm, 1.7 μm , C18; vitesse d'écoulement 3 & 4 mL/min; pressions initiale & finale: 47 & 64 psi, T = 27 °C). Le résultat de cette analyse (Fig. 4) a permis de détecter quelques masses qui pourraient correspondre à des composés déjà rapportés dans la littérature et d'autres ne correspondant à aucun composé déjà décrit de la plante (Tableau 11). Le recensement des masses de ces composés a été facilité par un moteur de recherche rapide, en l'occurrence le "Sci-Finder".

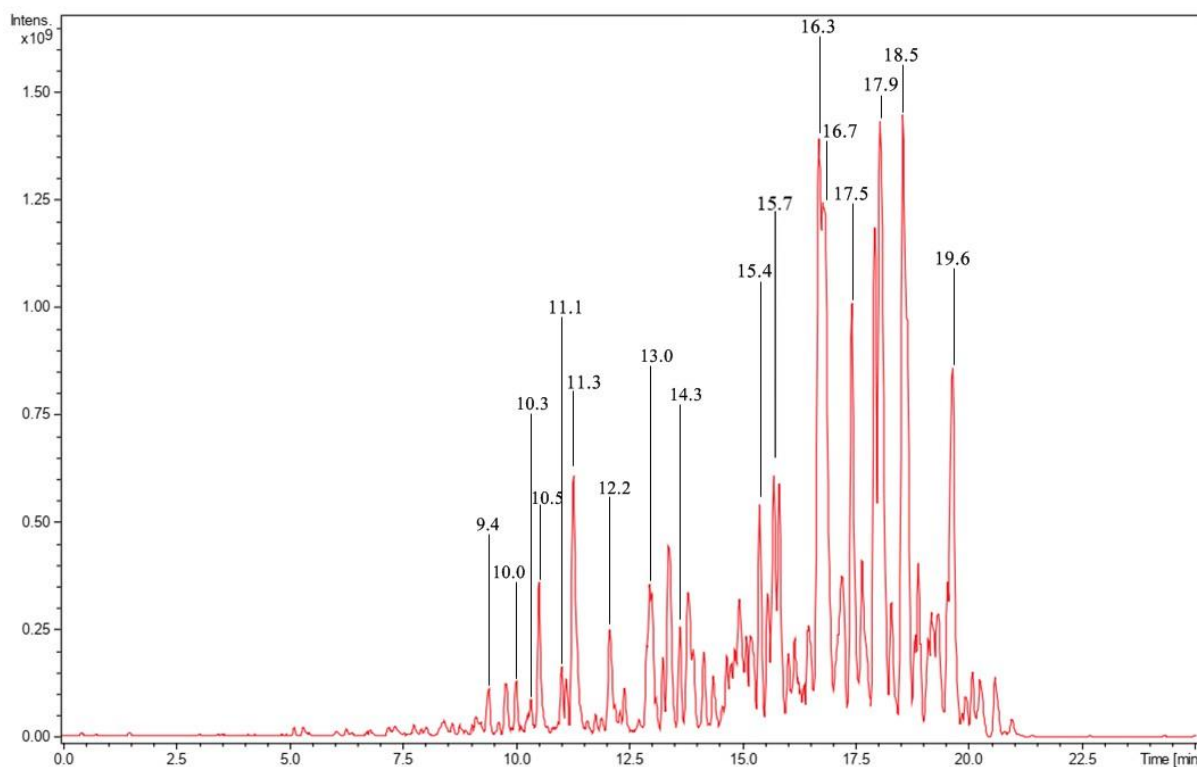


Figure 4. Profil chromatographique de l'extrait brut (pressions : 47 & 64 psi, T = 27 °C).

Tableau 11. Résultats d'analyse LC-MS de l'extrait brut.

Temps de rétention (min)	Masse expérimentale [M+H] ⁺	Masse théorique [M+H] ⁺	Formule brute	Observation et structure probable
9,4	611,1610	611,1607	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	MDP, <u>46</u>
10,0	435,0934	435,0922	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	MDP, <u>43</u>
10,5	449,1088	449,1078	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	MNDP
11,1	705,5661	705,5664	C ₄₃ H ₇₆ O ₇	MNDP
11,3	264,2440	264,2434	C ₁₆ H ₂₉ N ₃	MDP, <u>17</u>
12,2	303,0494	303,0499	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	MDP, <u>39</u>
13,0	433,1128	433,1129	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀	MDP, <u>49</u> et <u>50</u>
14,3	429,4092	429,4091	C ₂₉ H ₅₀ O	MDP, <u>54</u> et <u>55</u>
15,4	171,0210	171,0288	C ₇ H ₆ O ₅	MDP, <u>20</u>
15,7	185,0450	185,0444	C ₈ H ₈ O ₅	MNDP, <u>21</u>
16,3	155,0363	155,0339	C ₇ H ₆ O ₄	MDP, <u>32</u>
16,7	175,0607	175,0601	C ₇ H ₁₀ O ₅	MNDP
17,5	577,4479	577,4463	C ₃₅ H ₆₀ O ₆	MDP, <u>70</u>
17,9	343,2848	343,2843	C ₂₀ H ₃₈ O ₄	MNDP
18,5	325,2743	325,2737	C ₂₀ H ₃₆ O ₃	MDP, <u>7</u>
19,6	499,4726	499,4721	C ₃₁ H ₆₂ O ₄	MNDP

MDP= Masse décrite de la plante, MNDP= Masse non encore décrite de la plante.

II.1.3. Fractionnement de l'extrait brut

Une partie de l'extrait brut (170 g) a été soumise à la chromatographie "flash" sur gel de silice et éluée avec le mélange de *n*-Hex/AcOEt dans l'ordre de polarité croissante. 99 fractions d'environ 150 mL chacune ont été obtenues et regroupées sur la base de la CCM analytique en quatre séries indexées de **I** à **IV**.

II.1.4. Étude et évaluation des fractions de l'extrait brut par la technique LC-MS

Les quatre séries indexées de **I** à **IV** obtenues de la chromatographie "flash" ont été analysées par la technique LC-MS en phase inverse.

II.1.4.a) Séries **I** et **II**

L'analyse LC-MS des séries **I** et **II** a conduit à des résultats qui indiquent que la série **I** est très complexe (acide gras en majorité) et la série **II** comportent des masses correspondant aux composés non encore décrits de la plante ([Tableau 12](#)). Il s'agit des masses des composés

aux temps de rétention à 11,1 et 13,0 min (Fig. 5) de masses m/z 705,5664 et 343,2813, respectivement.

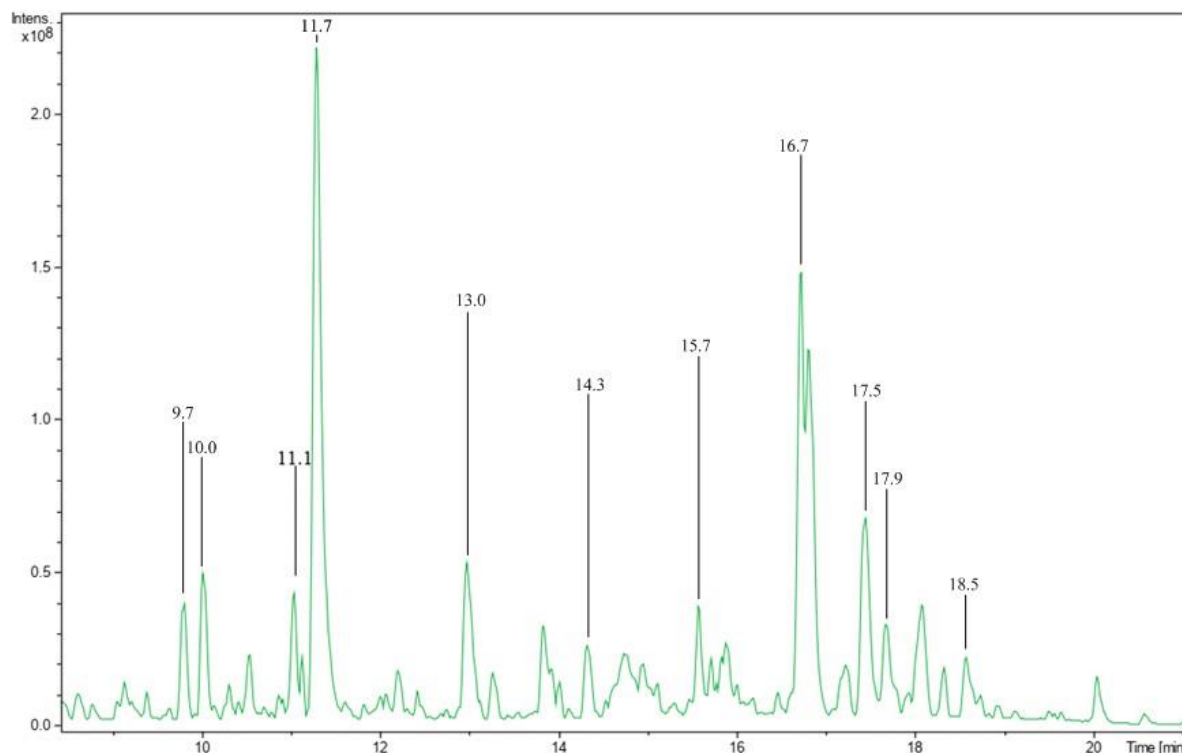


Figure 5. Profil chromatographique de la série II (pressions : 47 & 64 psi, T = 27 °C).

Tableau 12. Résultats d'analyse LC-MS de la série II.

Temps de rétention (min)	Masse expérimentale $[M+H]^+$	Masse théorique $[M+H]^+$	Formule brute	Observation et structure probable
9,7	611,1610	611,1607	$C_{27}H_{30}O_{16}$	MDP, 46
10,0	435,0934	435,0922	$C_{20}H_{18}O_{11}$	MDP, 43
11,1	705,5661	705,5664	$C_{43}H_{76}O_7$	MNDP
11,7	303,0494	303,0499	$C_{15}H_{10}O_7$	MDP, 32
13,0	343,2848	343,2813	$C_{20}H_{38}O_4$	MNDP
14,3	415,3955	415,3934	$C_{29}H_{50}O$	MDP, 55
15,7	325,2743	325,2737	$C_{20}H_{36}O_3$	MDP, 7
16,7	175,0607	175,0601	$C_7H_{10}O_5$	MNDP
17,5	577,4479	577,4463	$C_{35}H_{60}O_6$	MDP, 70
17,9	343,2848	343,2843	$C_{20}H_{38}O_4$	MNDP
18,5	325,2743	325,2737	$C_{20}H_{36}O_3$	MDP, 7

MDP= masse décrite de la plante, MNDP= masse non encore décrite de la plante

II.1.4.b) Série III

La série **III** a également été soumise à l'analyse LC-MS et l'on a pu détecter des composés non encore décrits de la plante (**Tableau 13**) et correspondant aux temps de rétention à 15,7 et 19,9 min (**Fig. 6**) de masses m/z 185,0450 et 499,4726, respectivement.

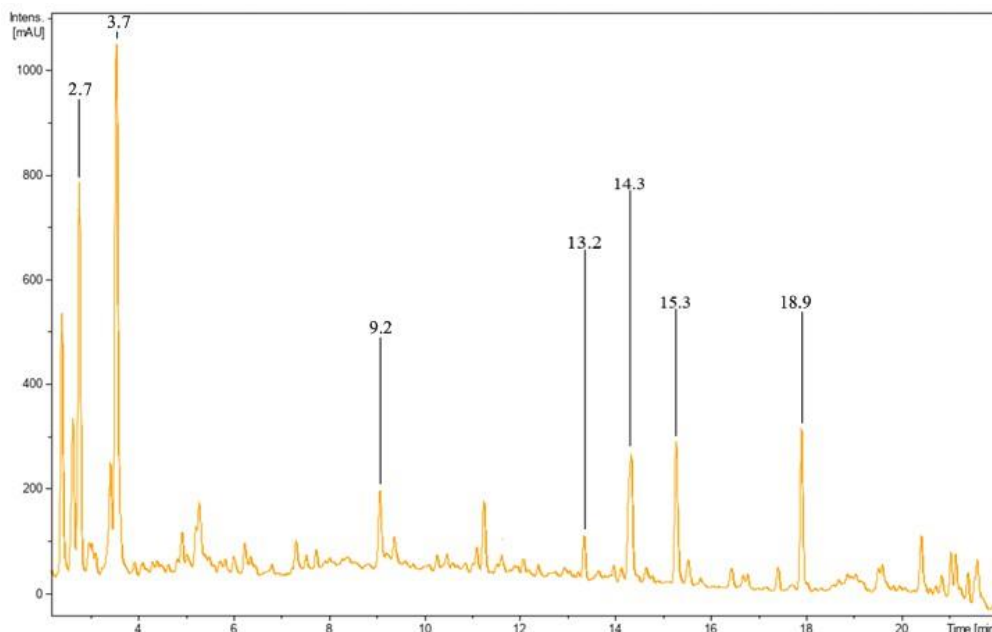


Figure 6. Profil chromatographique de la série III.

Tableau 13. Résultats d'analyse LC-MS de la série III.

Temps de rétention (min)	Masse expérimentale [M+H] ⁺	Masse théorique [M+H] ⁺	Formule brute	Observation et structure probable
2,7	241,1550	241,1547	C ₁₂ H ₂₀ N ₂ O ₃	MDP, <u>12</u>
3,7	222,1609	222,1601	C ₁₂ H ₁₉ N ₃ O	MDP, <u>11</u>
9,2	611,1610	611,1607	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	MDP, <u>46</u>
13,2	433,1128	433,1129	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀	MDP, <u>49</u> et <u>50</u>
14,3	429,4092	429,4091	C ₂₉ H ₅₀ O	MDP, <u>54</u> et <u>55</u>
15,3	185,0450	185,0444	C ₈ H ₈ O ₅	MNDP, <u>21</u>
18,9	499,4726	499,4721	C ₃₁ H ₆₂ O ₄	MNDP

MDP= masse décrite de la plante, MNDP= masse non encore décrite de la plante

II.1.4.c) Série IV

L'analyse LC-MS de la série **IV** a permis de détecter des composés non encore décrits de la plante (**Fig. 7**) et correspondant aux temps de rétention à 10,5; 15,4 et 16,7 min de masses m/z 449,1088, 171,0210 et 175,0607 respectivement (**Tableau 14**).

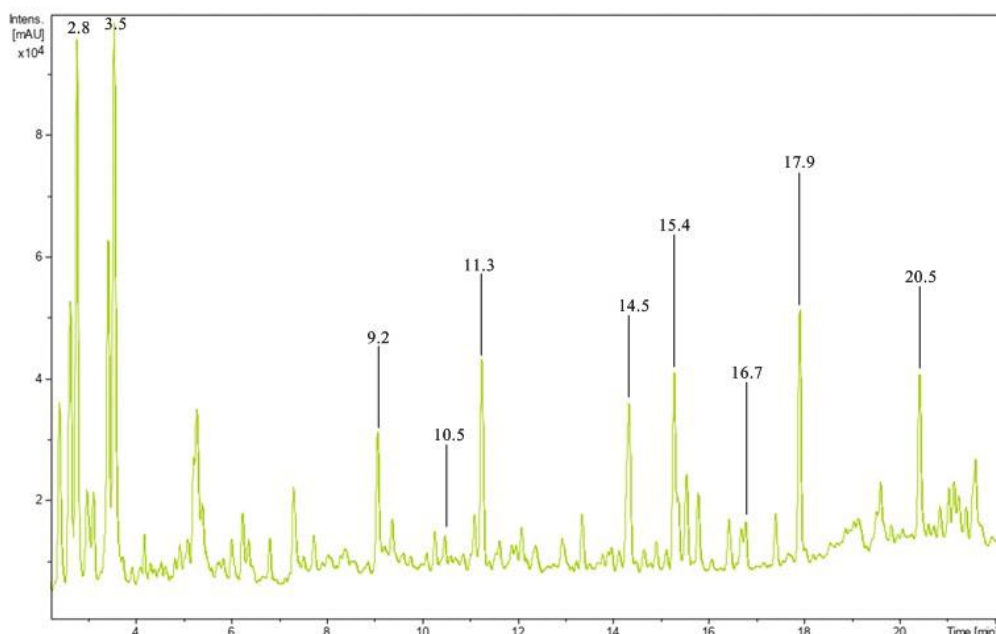


Figure 7. Profil chromatographique de la série IV.

Tableau 14. Résultats d'analyse LC-MS de la série IV.

Temps de Rétention (min)	Masse expérimentale [M+H] ⁺	Masse théorique [M+H] ⁺	Formule brute	Observation et structure probable
2,8	621,1096	621,1086	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₇	MDP, <u>38</u>
3,5	539,0960	539,0973	C ₃₀ H ₁₈ O ₁₀	MDP, <u>51</u>
9,2	611,1610	611,1607	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	MDP, <u>46</u>
10,5	449,1088	449,1078	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	MNDP
11,3	387,0700	387,0711	C ₁₉ H ₁₄ O ₉	MDP, <u>40</u>
14,5	317,0200	317,0292	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	MDP, <u>34</u>
15,4	171,0210	171,0288	C ₇ H ₆ O ₅	MDP, <u>20</u>
16,7	175,0607	175,0601	C ₇ H ₁₀ O ₅	MNDP
17,9	427,3940	427,3934	C ₃₀ H ₅₀ O	MDP, <u>53</u> et <u>57</u>
20,5	429,4099	429,4091	C ₃₀ H ₅₂ O	MDP, <u>54</u> et <u>55</u>

MDP= masse décrite de la plante, MNDP= masse non encore décrite de la plante

II.1.5. Isolement des composés des fruits d'*A. cordifolia*

Les séries **II** à **IV** ont été soumises à une série de purifications par chromatographie sur colonne au gel de silice qui ont conduit à l'isolement de 17 composés parmi lesquels deux (02) dérivés nouveaux, onze (11) décrits pour la première fois de la plante et quatre (04) précédemment isolés de la plante, en plus du mélange de β -sitostérol et de stigmastérol.

Le schéma 4 ci-après présente le protocole d'extraction et d'isolement de ces composés.

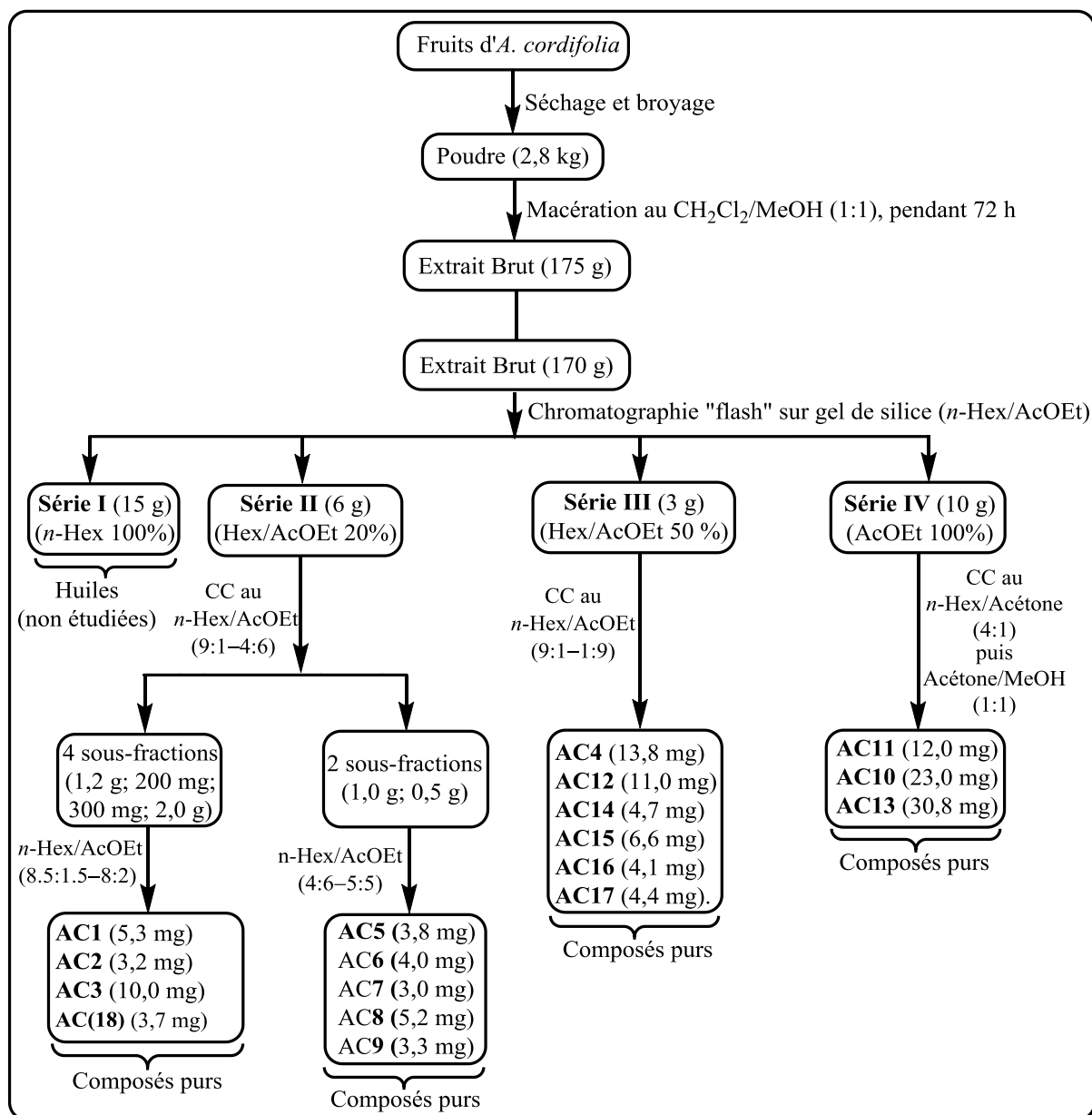


Schéma 4. Protocole d'extraction et d'isolement des composés des fruits mûrs d'*A. cordifolia*.

II.1.6. Étude structurale des composés isolés

Les dix-sept (17) métabolites secondaires isolés des fruits mûrs d'*A. cordifolia* appartiennent à différentes familles de composés telles que les acides gras (09), les composés shikimates (03), les triterpènes (04), un (01) flavonoïde en plus du mélange de stérols.

II.1.6.1. Les acides gras

II.1.6.1.a) Éluclidation structurale du composé AC1

Le composé AC1 a été isolé sous forme de solides blancs et est optiquement actif avec un pouvoir rotatoire de $[\alpha]_D^{20} = +4,54$ ($c = 1,10$; CHCl_3). Sa formule brute $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_4$ a été déduite de son spectre de masse ESI à haute résolution en mode positif qui montre le pic de l'ion pseudomoléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 343,2869 (calc. pour $\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{O}_4$: 343,2843) (Fig. 8); ce qui correspond à deux degrés d'insaturations.

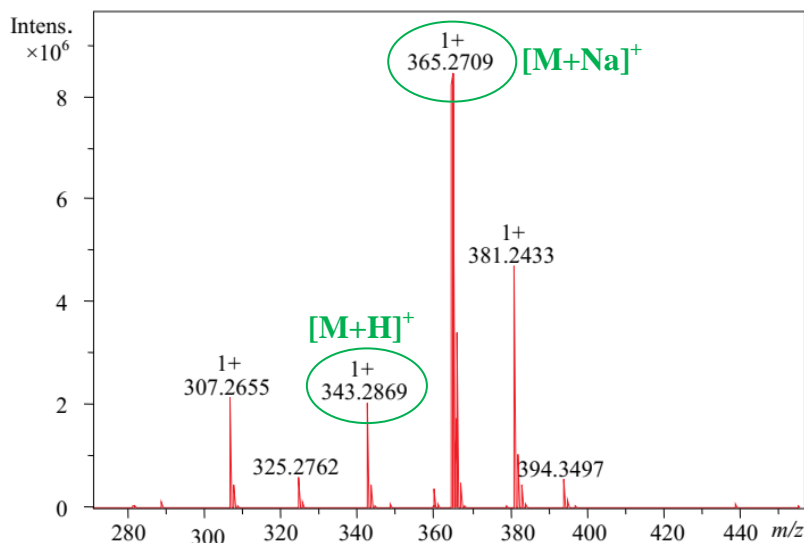


Figure 8. Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé AC1.

Le spectre IR (Fig. 9) du composé AC1 présente des bandes d'absorption de valence à ν_{max} 3679 cm^{-1} (OH libre) et 1697 cm^{-1} (C=O de l'acide).

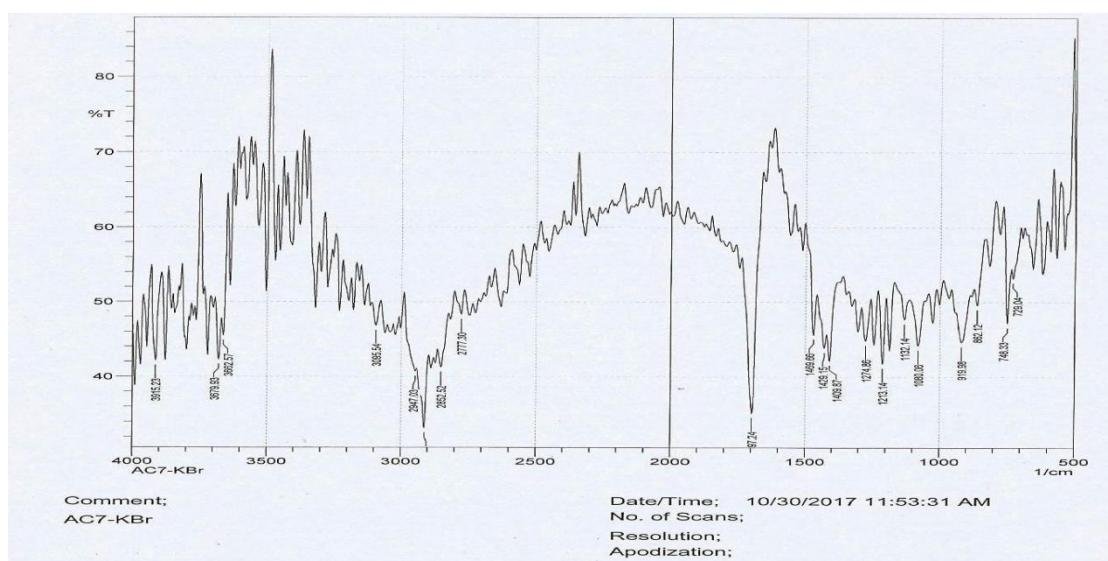


Figure 9. Spectre IR du composé AC1.

Son spectre de RMN ^1H (Fig. 10) montre des signaux caractéristiques d'un méthyle terminal à δ_{H} 0,84 (3H, t, 6,8) et d'une longue chaîne de protons méthyléniques entre δ_{H} 1,23–1,98; ce qui suggère qu'il s'agit d'un dérivé d'acide alchornoïque (Asilbekova *et al.*, 1987).

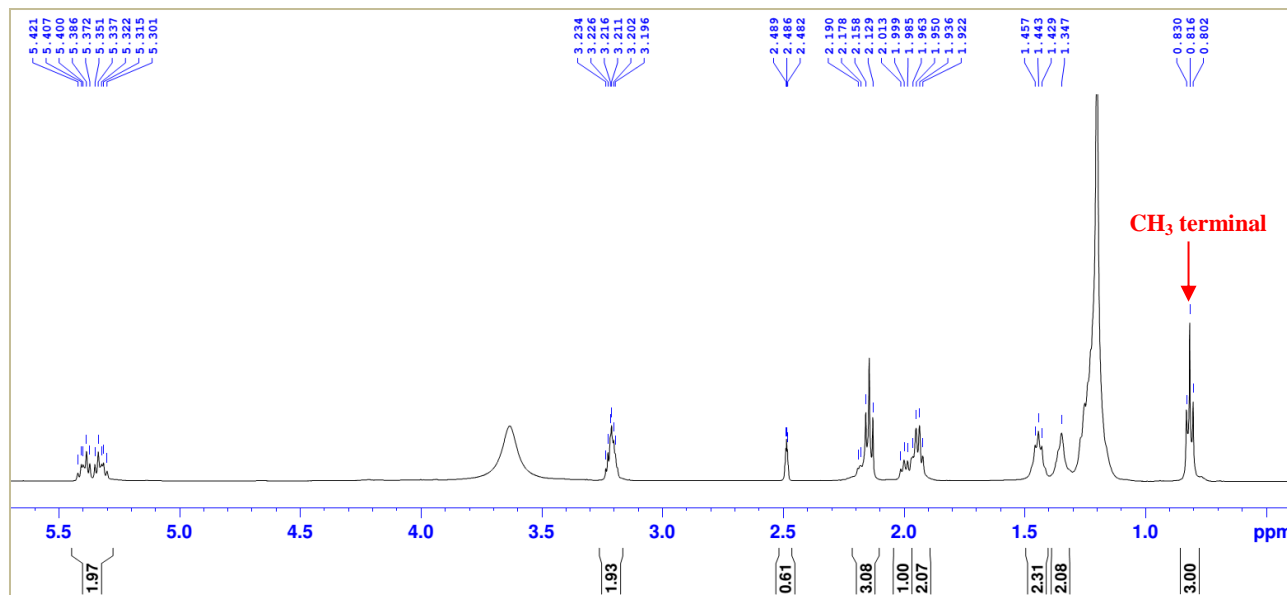


Figure 10. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) du composé AC1.

Sur son spectre de RMN ^{13}C (Fig. 11), en combinaison avec le spectre HSQC, on note la présence de 20 signaux de carbone qui ont été répartis en 1 méthyle, 14 méthylènes, 4 méthines et 1 carbone quaternaire. Ces signaux correspondent à un carbonyle acide (δ_{C} 175,3); deux carbones oléfiniques (δ_{C} 131,2 et 127,7); deux carbones de méthines sp^3 oxygénés (δ_{C} 74,0 et 73,2) et à un méthyle terminal (δ_{C} 14,7).

La nature d'acide gras attribuée au composé AC1 a été confirmée par la présence d'un amas de groupes méthyléniques entre δ_{C} 29,4–29,7. Ses spectres de RMN ^1H et ^{13}C montrent également la présence de signaux de deux protons et carbones d'oxyméthines à $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,25/74,0 et 3,23/73,2; et de deux protons et carbones oléfiniques à $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 5,36/131,2 et 5,41/127,7. De plus, sur ce spectre de RMN ^1H , on note dans la région de champs forts la présence de trois signaux de protons à δ_{H} 2,17, 2,20 et 2,03 attribuables aux deux méthylènes (H-2 et H-13) adjacents aux carbones du carbonyle (C-1) et de l'oxyméthine (C-14), respectivement.

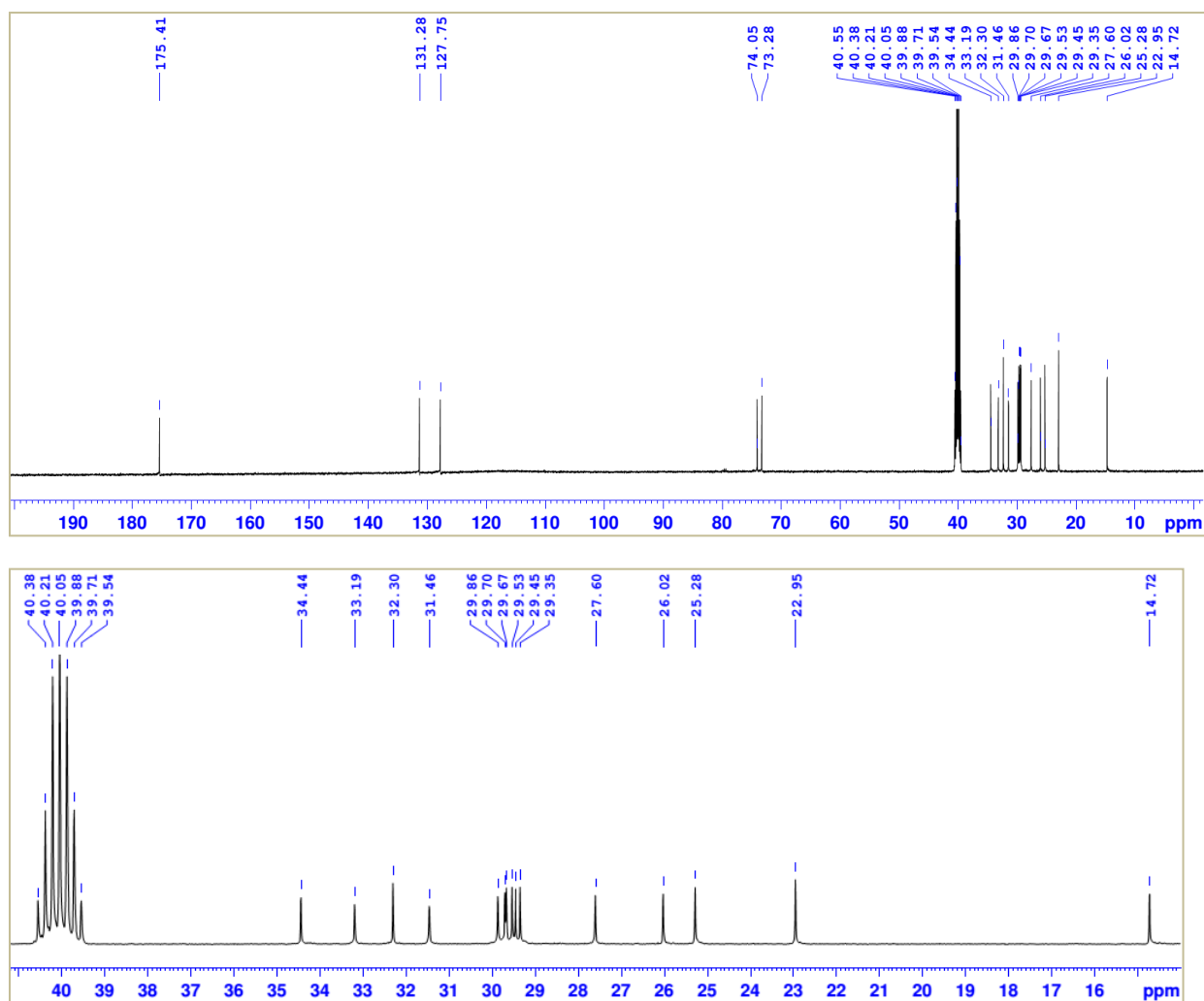


Figure 11. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) du composé **AC1**.

Les déplacements chimiques des carbones et protons du composé **AC1** ont été complètement assignés ([Tableau 13](#)) grâce aux analyses complètes des spectres de HMBC, HSQC ([Fig. 13](#)) et COSY ([Fig. 14](#)). Sur son spectre HMBC ([Fig. 12](#)), on observe des taches de corrélation dont certaines sont présentées sur le schéma 4 entre :

- le proton à δ_{H} 2,17 (H-2) et les carbones à δ_{C} 175,3 (C-1) et 29,3 (C-4);
- le proton à δ_{H} 2,03 (H-13) et les carbones à δ_{C} 74,0 (C-14), 73,2 (C-15), 127,7 (C-12) et 131,2 (C-11);
- le proton à δ_{H} 1,98 (H-10) et les carbones à δ_{C} 131,2 (C-11), 127,7 (C-12) et 29,8 (C-9);
- le proton à δ_{H} 1,47 (H-3) et les carbones à δ_{C} 29,4 (C-5) et 175,3 (C-1);
- le proton à δ_{H} 1,27 (H-17) et les carbones à δ_{C} 32,3 (C-18) et 73,2 (C-15);
- le proton du méthyle à δ_{H} 0,84 (H-20) et les carbones à δ_{C} 22,9 (C-19) et 32,3 (C-18).

Par ailleurs, quelques corrélations dont les taches sont observées sur le spectre COSY de ce composé sont également présentées sur le [schéma 5](#).

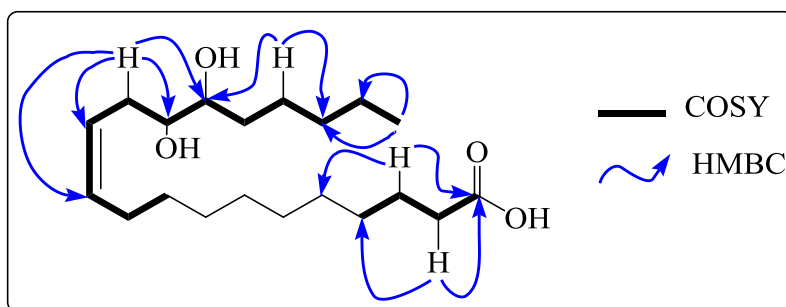


Schéma 5. Quelques corrélations HMBC et COSY du composé AC1.

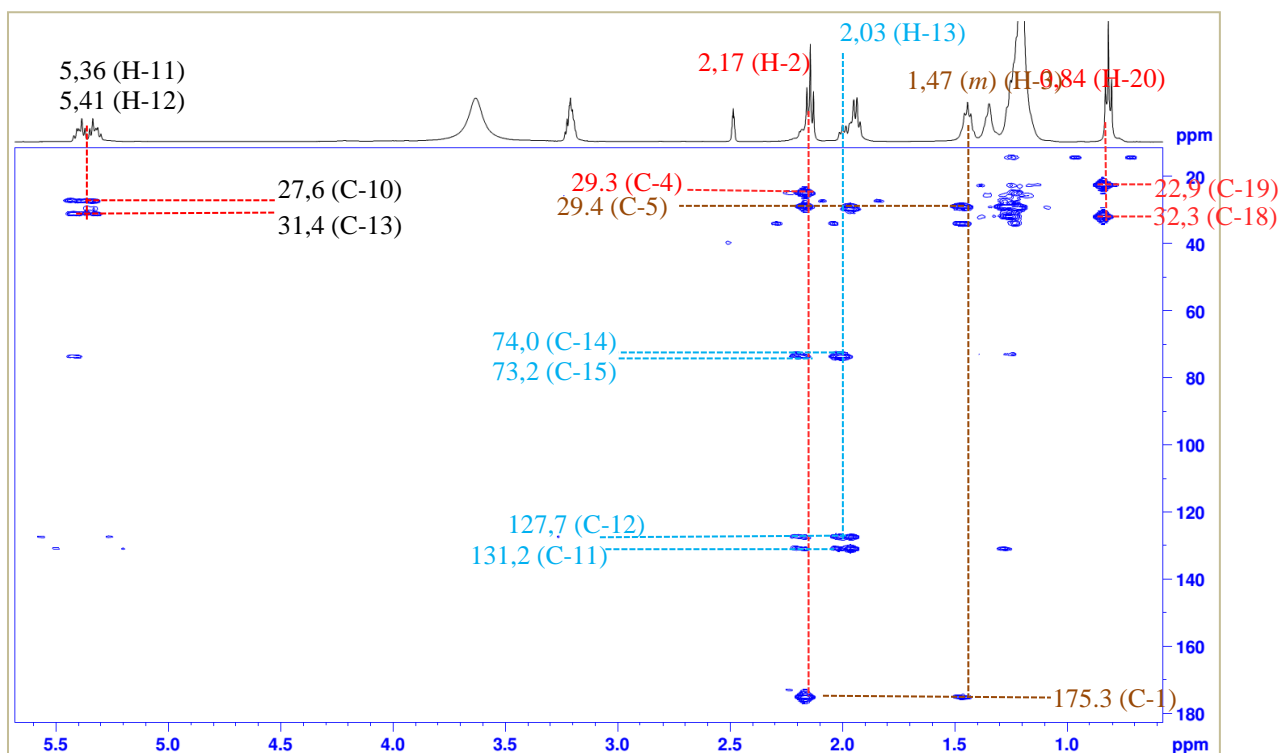


Figure 12. Spectre HMBC du composé AC1.

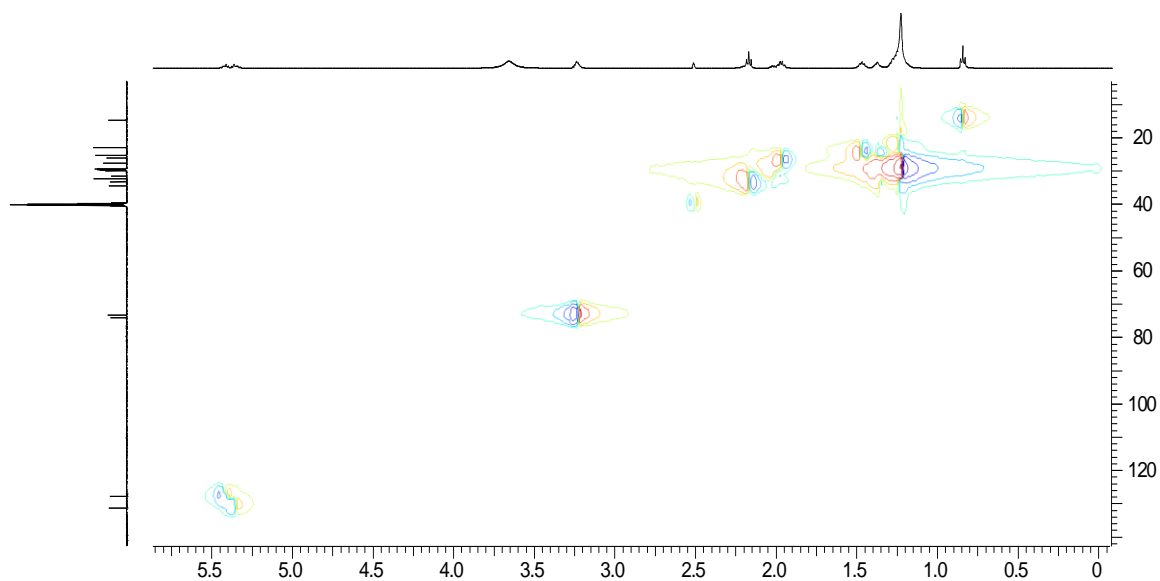


Figure 13. Spectre HSQC du composé AC1.

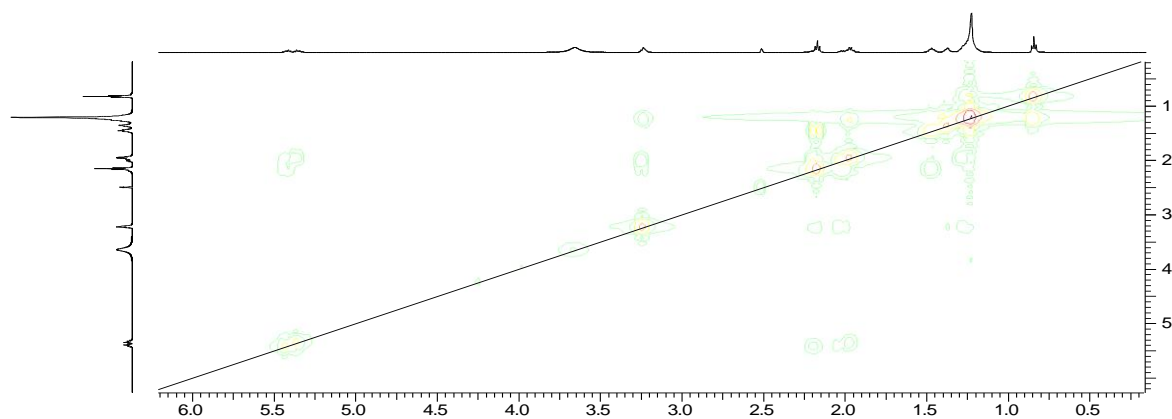


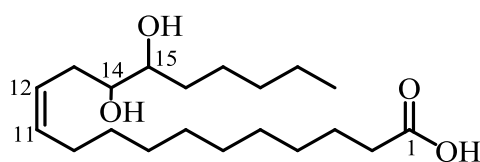
Figure 14. Spectre ^1H - ^1H COSY du composé AC1.

En plus, la géométrie de la double liaison entre les carbones C_{11} – C_{12} s'est révélée être *Z* sur la base de la valeur de la constante de couplage entre les protons oléfiniques H-11 et H-12 ($J = 6,8$ Hz) et les déplacements chimiques de carbones (δ_{C} 27,6 et 31,4) attribuables aux carbones allyliques. Il est important de noter que les déplacements chimiques correspondant aux carbones allyliques pour une configuration *E* sont généralement de l'ordre de δ_{C} 33,0 (Simo *et al.*, 2008). La présence de ce groupement allylique a été confirmée sur le spectre de RMN ^1H par les déplacements chimiques des protons apparaissant à δ_{H} 1,98; 2,03 et 2,20 (Rezanka, 2002).

Tableau 15. Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) du composé **AC1**.

Position	^1H (400 MHz)	^{13}C (100 MHz)
	δ_{H} (m, J in Hz)	δ_{C}
1	–	175,3
2	2,17 (t, 7,2)	34,4
3	1,47 (m)	25,2
4	1,23 (brs)	29,3
5–8	1,23 (brs)	29,4–29,7
9	1,29 (brs)	29,8
10	1,98 (m)	27,6
11	5,36 (dt, 7,2, 10,4)	131,2
12	5,41 (ddd, 6,8, 7,2, 10,4)	127,7
13	2,03 (ddd, 6,4, 6,8, 14,1)	31,4
	2,20 (ddd, 6,1, 7,2, 14,1)	
14	3,25 (m)	74,0
15	3,23 (m)	73,2
16	1,37 (m)	33,1
17	1,27 (m)	26,0
18	1,25 (m)	32,3
19	1,28 (m)	22,9
20	0,84 (t, 6,8)	14,7

La structure du composé **AC1** a été complètement assignée (Tableau 13) par comparaison aux données spectrales de ses homologues décrits dans la littérature (Kleiman et al., 1997). Ainsi, la structure de **AC1** est celle de l'acide (Z)-14,15-dihydroxyicos-11-énoïque que nous avons nommé trivialement acide deépoxyalchornoïque **78**, qui est un dérivé nouveau.

**78**

II.1.6.1.b) Élucloration structurale du composé **AC2**

Le composé **AC2** a été obtenu sous forme de solides blancs et est optiquement actif avec un pouvoir rotatoire de $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +4,48$ ($c = 4.68$, CHCl_3).

Sa formule brute $\text{C}_{43}\text{H}_{76}\text{O}_7$ a été déduite de son spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif (Fig. 15) qui montre le pic de l'ion pseudomoléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 705,5661 (calc. pour $\text{C}_{43}\text{H}_{77}\text{O}_4$: 705,5664); ce qui correspond à six degrés d'insaturations.

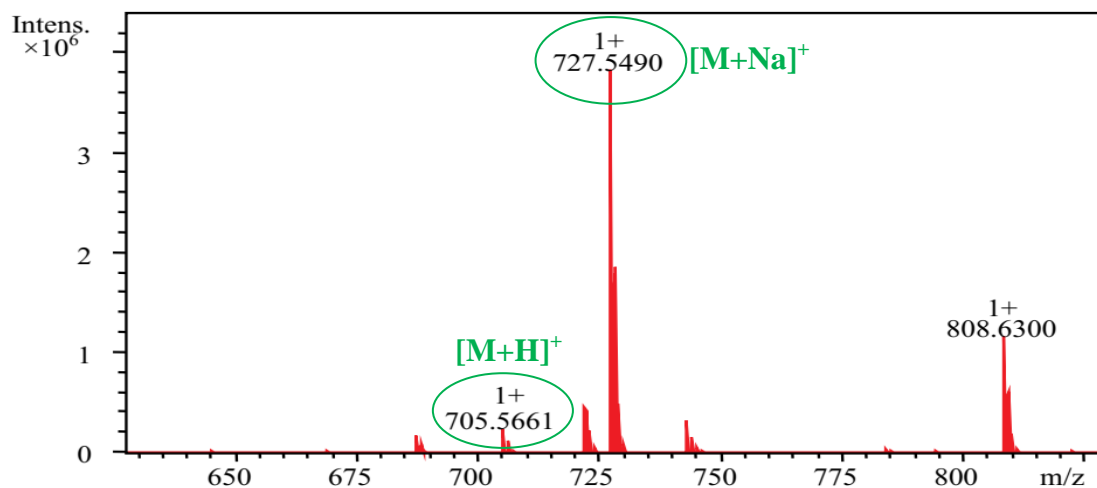


Figure 15. Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé AC2.

Son spectre IR (Fig. 16) montre des bandes d'absorption de valence à ν_{\max} 3657 cm^{-1} (OH libre), 1728 et 1706 cm^{-1} (C=O de l'ester), 711 cm^{-1} (C=C).

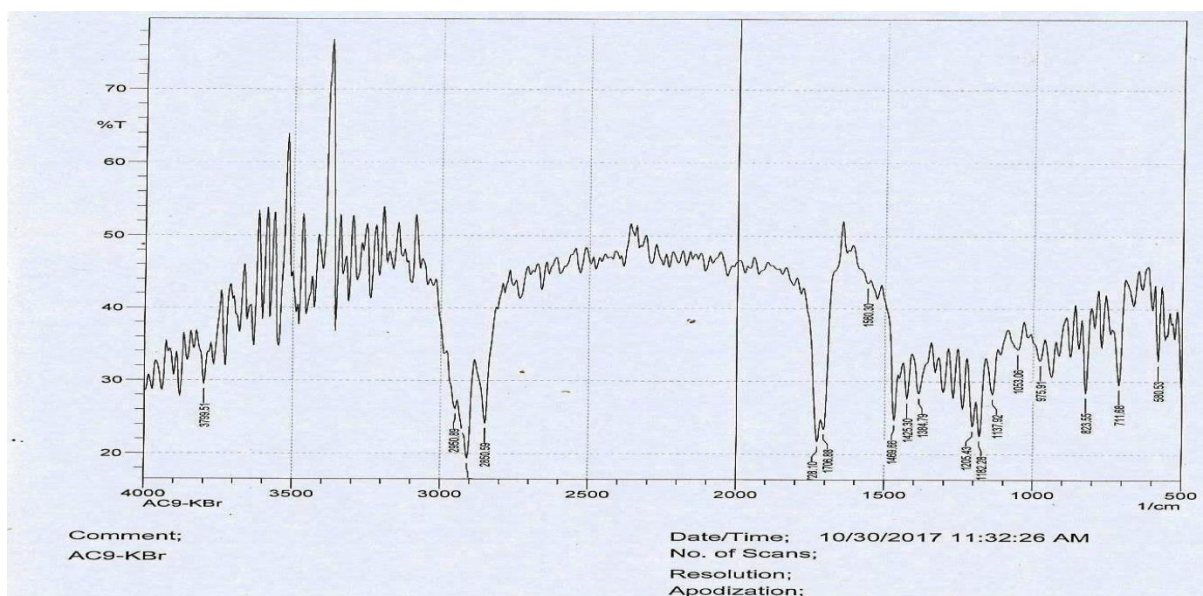


Figure 16. Spectre IR du composé AC2.

L'interprétation des spectres de RMN ^1H (Fig. 17) et ^{13}C (Fig. 18) du composé AC2 indique la présence d'un méthyle, quinze méthylènes, cinq méthines et d'un carbone quaternaire. Sur son spectre de RMN ^{13}C (Fig. 18), en combinaison avec le spectre HSQC (Fig. 21), on observe le signal d'un carbonyle d'ester à δ_{C} 173,8; deux carbones oléfiniques à $\delta_{\text{C/H}}$ 132,6/5,53 (C-11) et 123,8/5,41 (C-12); deux carbones d'oxyméthines d'un groupement époxyde à $\delta_{\text{C/H}}$ 57,2/2,93 (C-15) et 56,5/2,93 (C-14); un carbone d'un méthyle terminal à $\delta_{\text{C/H}}$ 13,9 (C-20) et quatorze carbones acycliques apparaissant entre δ_{C} 34,0–22,5 ppm. Ces observations indiquent clairement que le squelette du composé AC2 est celui d'un acide

alchornoïque. En plus, le spectre de RMN ^{13}C montre les résonances d'un oxyméthine et d'un oxyméthylène à $\delta_{\text{C/H}}$ 68,3/4.09 et 65,0/4.19, respectivement.

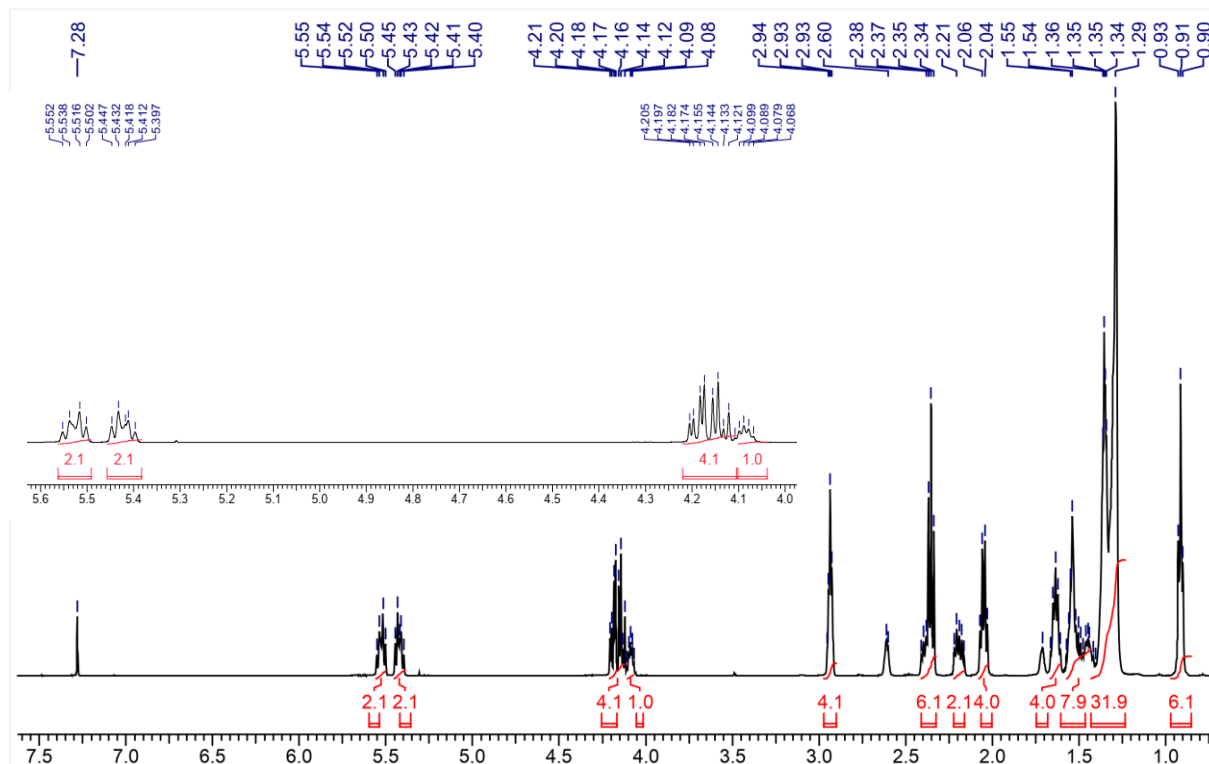
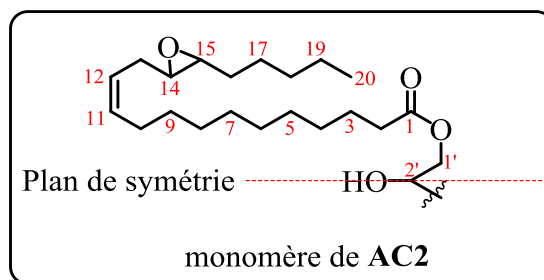


Figure 17. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé **AC2**.

Le spectre de RMN ^{13}C montre seulement 22 signaux de carbones au lieu de 43; ceci a permis de conclure que le composé **AC2** est un dimère de l'acide alchornoïque dont l'unité monomérique est la sous-structure suivante.



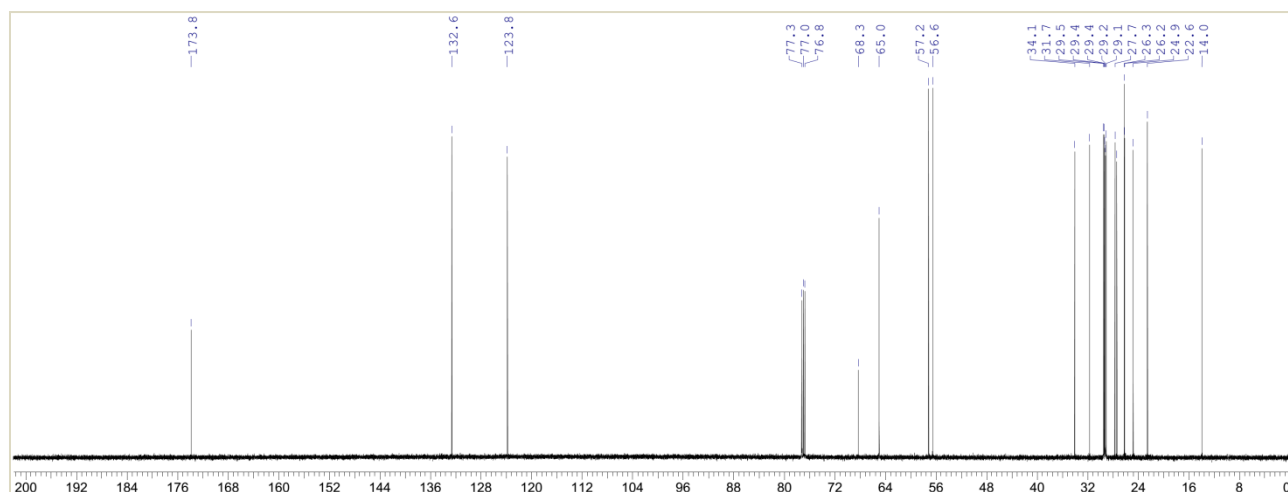


Figure 18. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) du composé **AC2**.

Sur le spectre COSY (Fig. 19) du composé **AC2**, on observe des taches de corrélations entre les protons correspondants à δ_{H} 4,09 (H-2'), 4,14 et 4,19 (H-1').

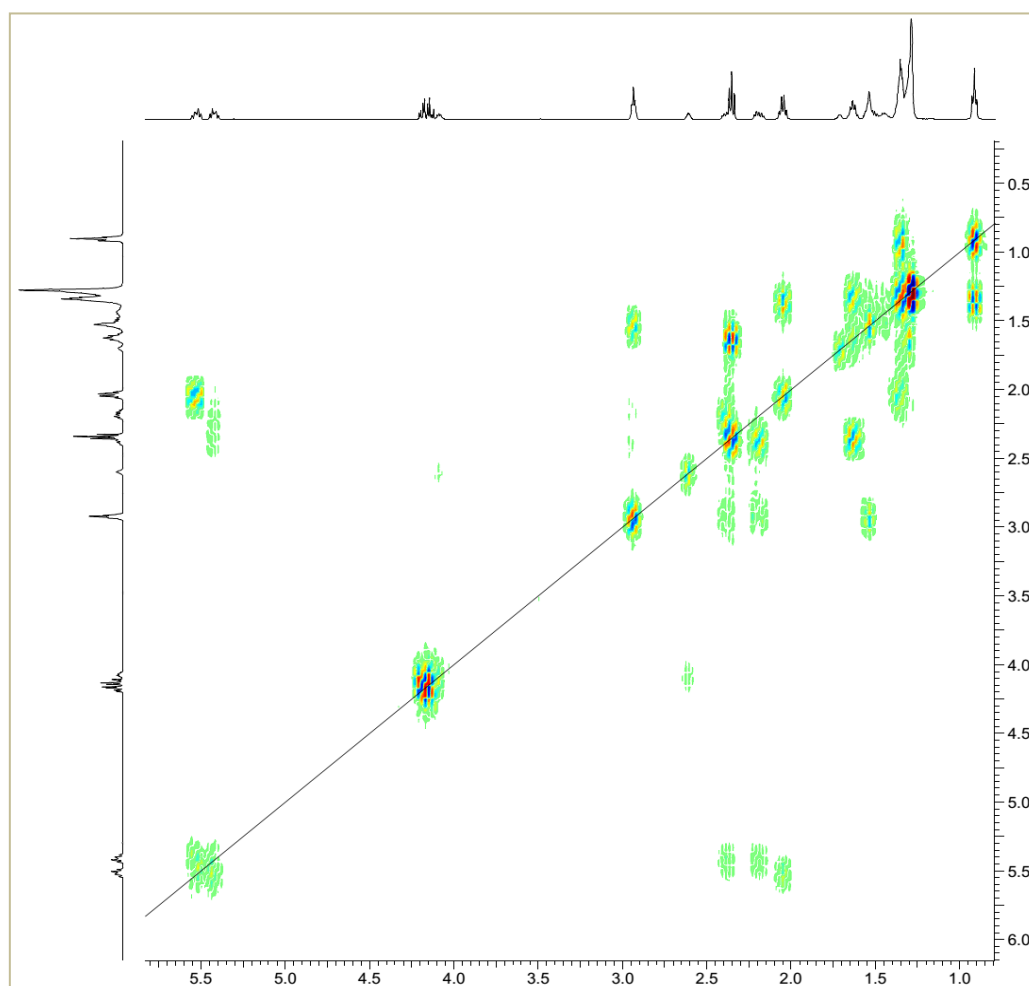


Figure 19. Spectre COSY du composé **AC2**.

Son spectre HMBC (Fig. 20) a permis de relever les corrélations entre les protons diastéréotopiques à δ_H 4,14 et 4,19 (H-1') avec le carbonyle de l'ester à δ_C 173,8 (C-1). Ces informations ont permis de conclure que deux unités d'acide alchornoïque se sont condensées avec le glycérol de manière symétrique en positions 1,3. Quelques corrélations HMBC et COSY de AC2 sont présentées sur le schéma 6.

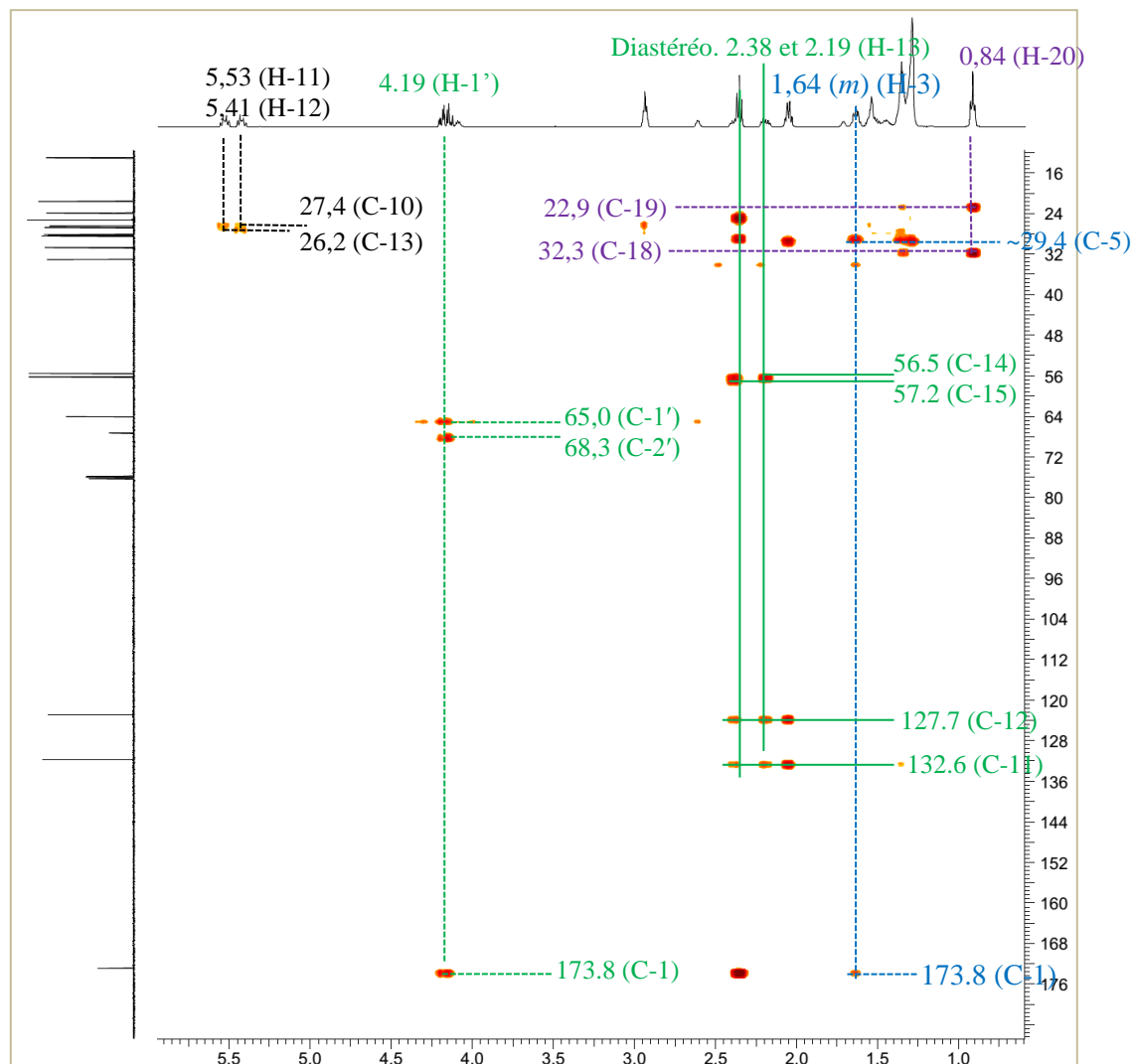


Figure 20. Spectre HMBC du composé AC2.

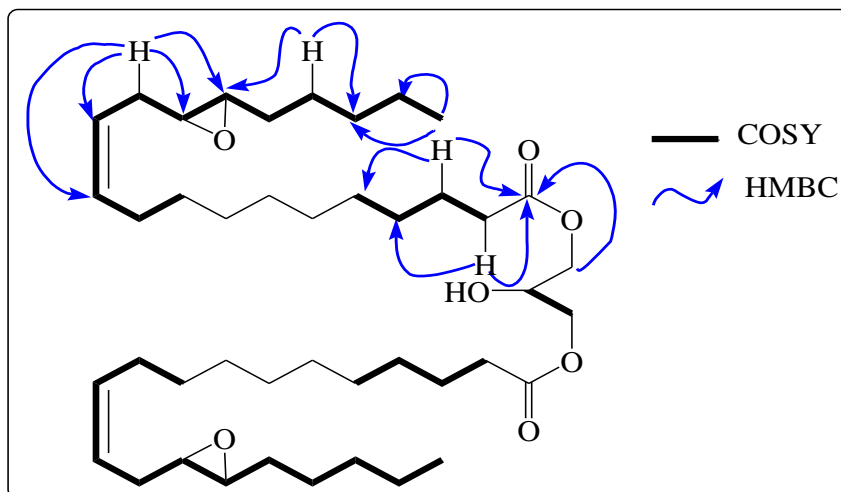


Schéma 6. Quelques corrélations HMBC et COSY du composé AC2.

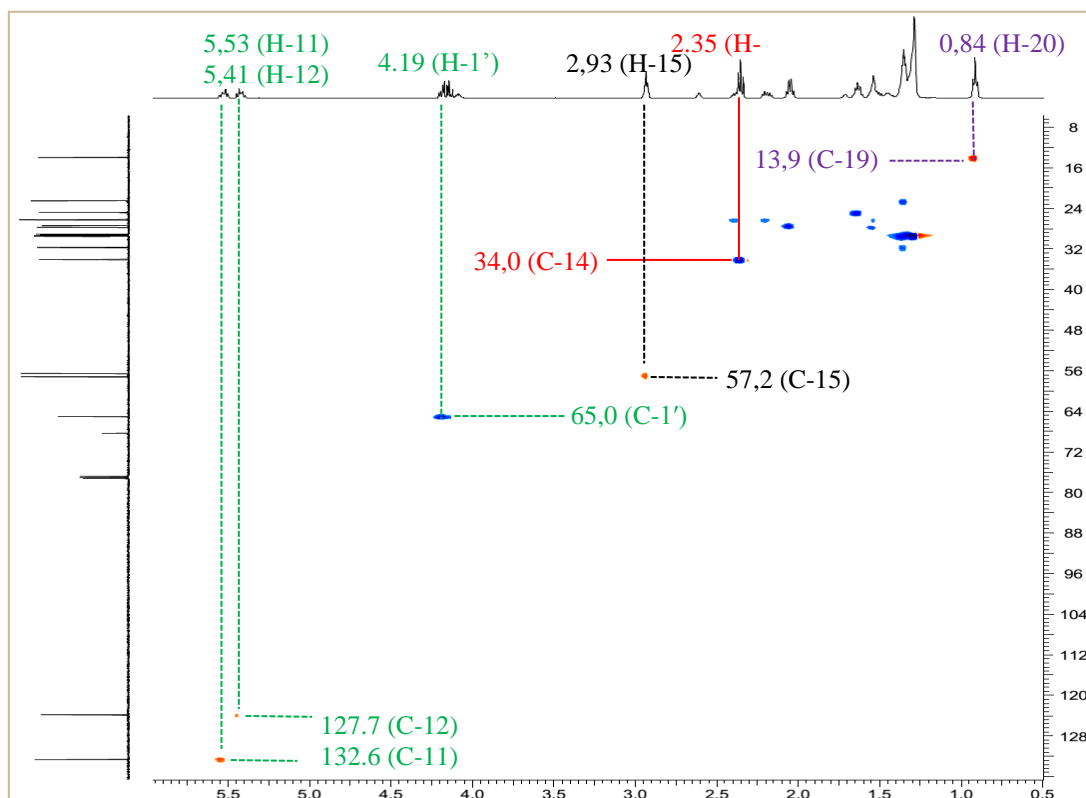
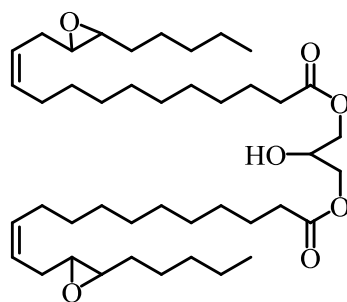


Figure 21. Spectre HSQC du composé AC2.

L'ensemble des informations ci-dessus a permis d'assigner complètement le composé AC2 dont la structure est celle du (11Z,11'Z)-bis[13-(3-pentyloxiran-2-yl)tridéc-11-énoate] de 2-hydroxypropane-1,3-diyle **79** (Tableau 14) auquel le nom de bisalchornoate de glycérol a été attribué, qui est un dérivé décrit pour la première fois.

**79****Tableau 16.** Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) du composé AC2.

Position	^1H δ_{H} (m, J in Hz)	^{13}C δ_{C}
1	–	173,8
2	2,35 (t, 7,5)	34,0
3	1,64 (m)	24,8
4	1,35 (brs)	29,2
5–8	1,29 (brs)	29,1–29,4
9	1,29 (brs)	29,3
10	2,05 (m)	27,4
11	5,53 (dt, 7,2, 10,5)	132,6
12	5,41 (ddd, 7,0, 7,2, 10,5)	127,7
13	2,19 (ddd, 6,5, 7,0, 14,7) 2,38 (ddd, 6,2, 7,2, 14,7)	26,2
14	2,93 (m)	56,5
15	2,93 (m)	57,2
16	1,54 (m)	27,7
17	1,27 (m) 1,54 (m)	26,2
18	1,25 (m)	31,7
19	1,28 (m)	22,5
20	0,84 (t, 6,8)	13,9
1'	4,19 (dd, 4,3, 11,4) 4,14 (dd, 5,7, 11,4)	65,0
2'	4,09 (dd, 4,3, 5,7)	68,3

II.1.6.1.c) Identification du composé AC3

Le composé AC3 a été obtenu sous forme de solides blancs et est optiquement actif avec un pouvoir rotatoire de $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +4,48$ ($c = 4,6$; CHCl_3). Sa formule brute $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_3$ a été déduite de son spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif (Fig. 22) qui montre le pic de l'ion pseudomoléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 325,2743 (calc. pour $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{O}_3$: 325,2737); ce qui correspond à trois degrés d'insaturations.

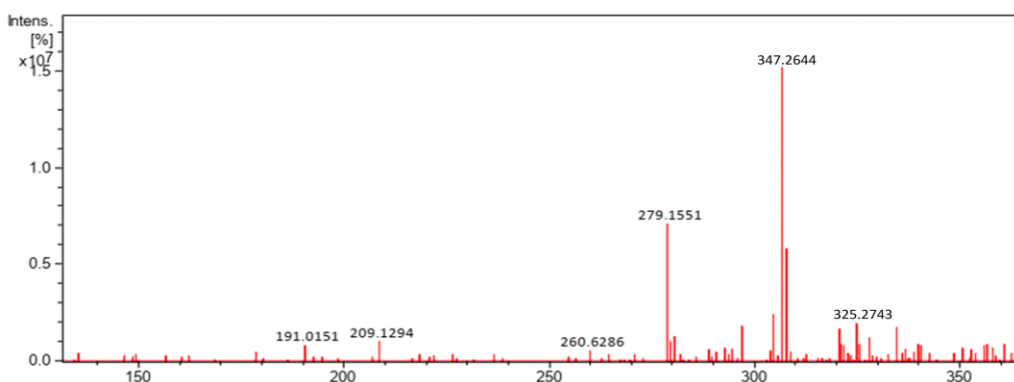


Figure 22. Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé **AC3**.

Ces données spectrales du composé **AC3** présentent des similitudes avec celles du composé **78**. Par conséquent, la structure de **AC3** est déduite de celle du composé **78**. En l'occurrence, la masse moléculaire de **78** (m/z 342) a une différence de 18 par rapport à celle de **AC3** (m/z 324), ce qui a permis de suggérer la perte d'une molécule d'eau.

Le spectre de RMN ^1H de **AC3** (Fig. 23) montre également des signaux caractéristiques d'un méthyle terminal à δ_{H} 0,87 (3H, *t*, 8,5) et d'une longue chaîne de protons méthyléniques à δ_{H} 1,40–1,59. En plus, ce spectre présente les signaux de deux protons d'oxyméthines à δ_{H} 3,39 et 3,37, et de deux protons éthyléniques à δ_{H} 5,41 et 5,33.

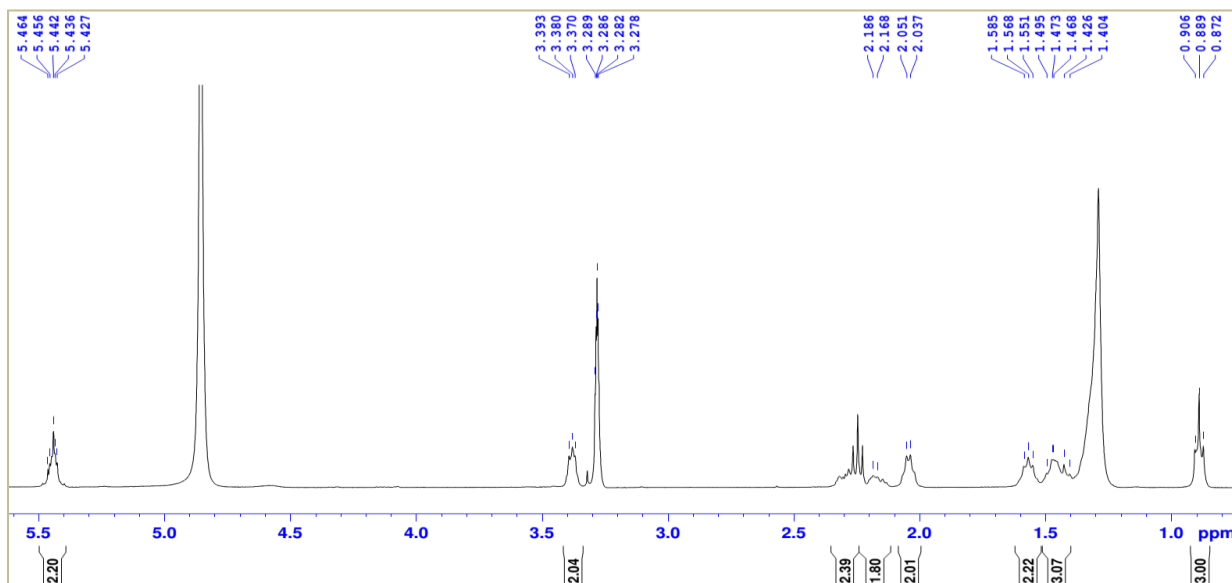


Figure 23. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) du composé **AC3**.

La perte de la molécule d'eau à partir de **78** a permis de déduire que **AC3** a un groupement époxyde en position 14 et 15. De plus, sur son spectre de RMN ^{13}C (Fig. 24), on note aussi la présence de 20 signaux de carbone qui ont été répartis en 1 méthyle, 14 méthylènes, 4 méthines et 1 carbone quaternaire. Ces signaux correspondent à un carbonyle acide (δ_{C} 173,8); deux carbones oléfiniques (δ_{C} 132,6 et 123,8); deux carbones de méthines sp^3 oxygénés (δ_{C} 57,2 et 56,5) et à un méthyle terminal (δ_{C} 14,7).

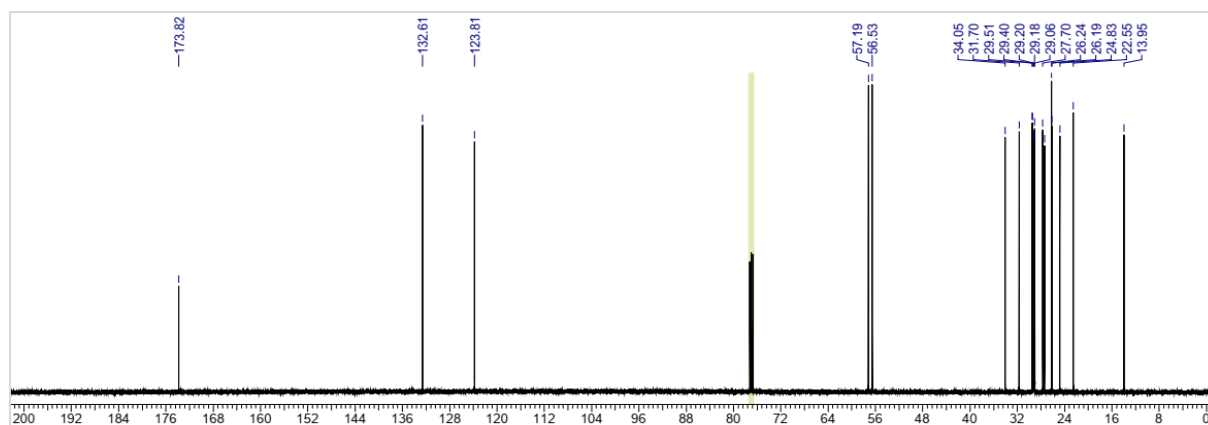
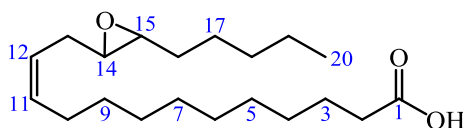


Figure 24. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) du composé **AC3**.

Ces données spectrales (Tableau 17), par comparaison avec celles de la littérature, ont permis de conclure que la structure du composé **AC3** est celle de l'acide alchornoïque **7** (Kleiman *et al.*, 1977).



7

Tableau 17. Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) du composé **AC3**.

Position	^1H (DMSO-d_6)	^{13}C (CDCl_3)
	δ_{H} (m, J in Hz)	δ_{C}
1	–	173,8
2	2,35 (t, 7,5)	34,0
3	1,64 (m)	24,8
4	1,30 (brs)	29,2
5–8	1,30 (brs)	29,1–29,4
9	1,40 (brs)	29,3
10	2,05 (m)	27,4
11	5,43 (dt, 7,2, 10,5)	132,6
12	5,46 (ddd, 7,0, 7,2, 10,5)	123,8
13	3,19 (ddd, 6,5, 7,0, 14,7)	26,2
	2,38 (ddd, 6,2, 7,2, 14,7)	
14	3,38 (m)	56,5
15	3,28 (m)	57,2
16	1,59 (m)	27,7
17	1,27 (m)	26,2
	1,59 (m)	
18	1,25 (m)	31,7
19	1,28 (m)	22,5
20	0,84 (t, 6,8)	13,9

II.1.6.1.d) Identification du composé composé

Le composé AC4 a été isolé sous forme de solides blancs par CCM préparative au mélange *n*-Hex/AcOEt (9:1). Sa formule brute $C_{31}H_{62}O_4$ a été déduite de son spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif (Fig. 25) qui montre le pic de l'ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à m/z 499,4721 (calc. pour $C_{31}H_{63}O_4$: 499,4726); ce qui correspond à un degré d'insaturation.

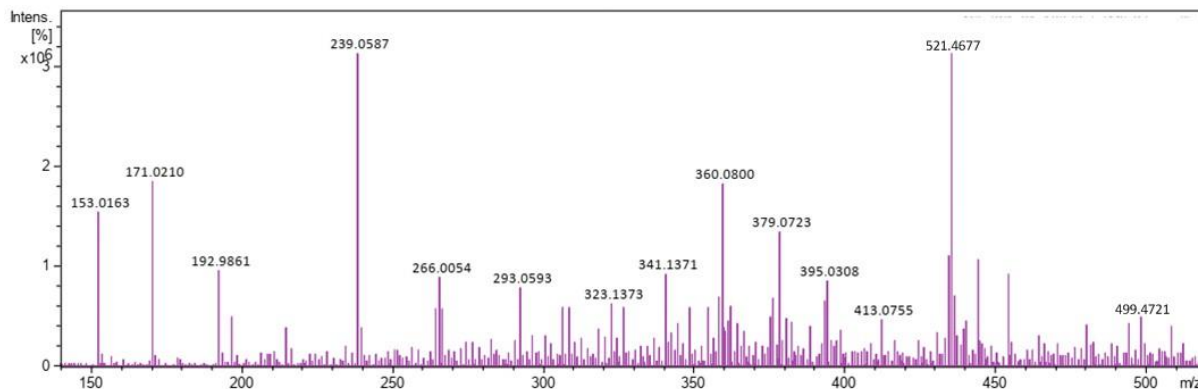


Figure 25. Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé AC4.

L'analyse de ses spectres de RMN 1H (Fig. 26) et ^{13}C (Fig. 27) en combinaison avec le spectre DEPT 135 (Fig. 28) a permis de ressortir un méthyle terminal à δ_C 14,0 ppm; 28 méthylènes parmi lesquels deux oxyméthylènes à δ_C 65,1 et 63,0; un oxyméthine à δ_C 70,0 (C-2') et un carbone quaternaire à δ_C 174,3 ppm (C-1); qui est celui du carbonyle caractéristique de l'ester. On observe également des signaux caractéristiques du méthyle terminal apparaissant à δ_H 0,82 (3H, *t*, 7,0) sur le spectre de RMN 1H (Fig. 26) et ceux d'une longue chaîne de protons méthyléniques qui apparaissent à δ_H 1,30–1,66 ppm.

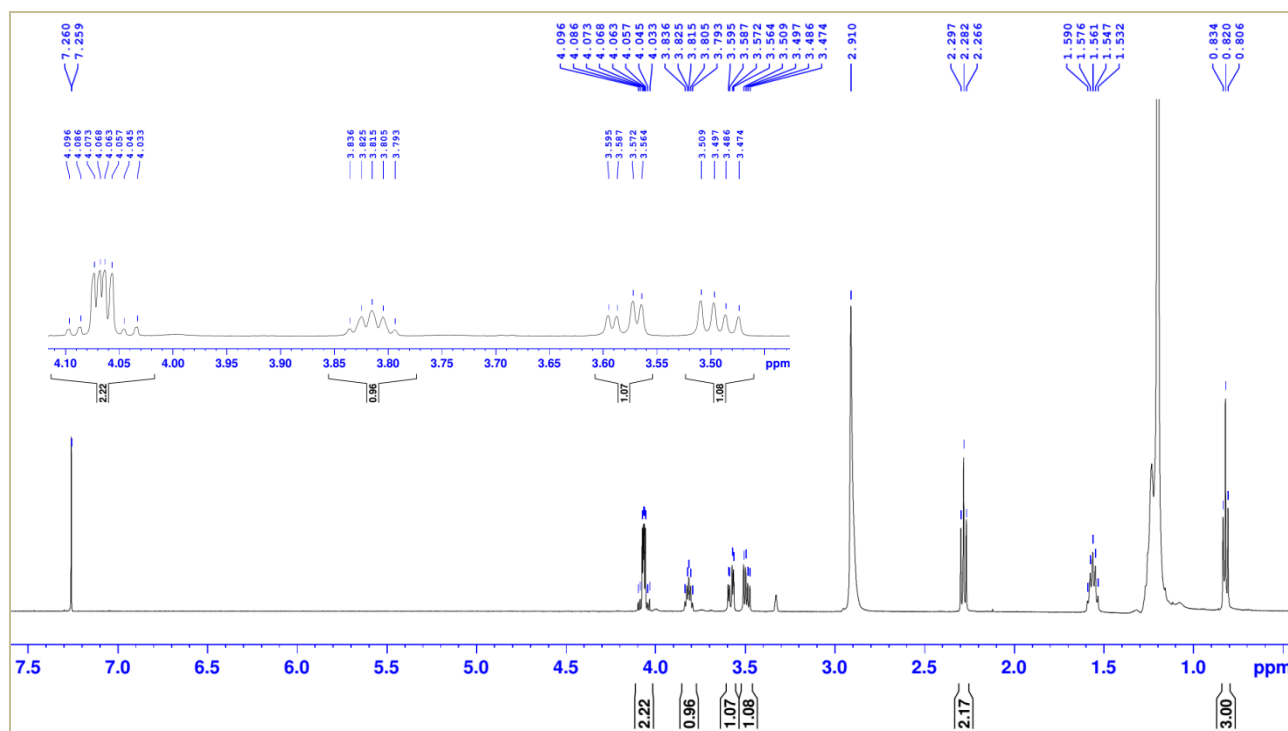


Figure 26. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) du composé AC4.

Les vingt-six autres signaux des méthylènes sur le spectre de RMN ^{13}C (Fig. 27) apparaissent à δ_{C} 49,5–22,6 ppm.

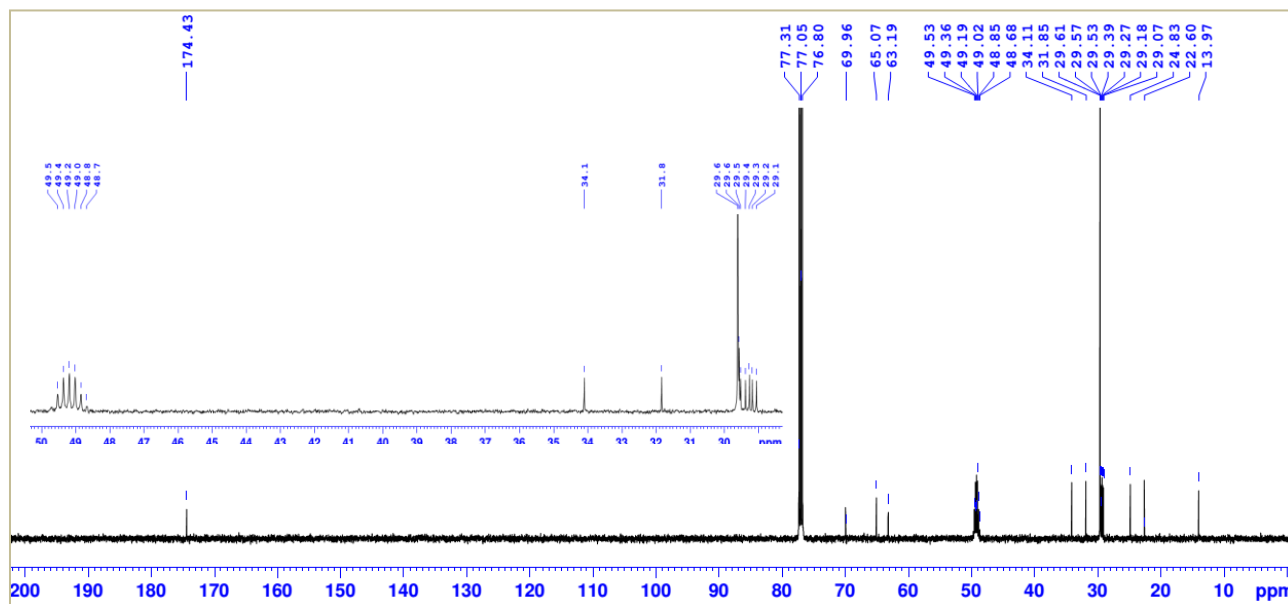


Figure 27. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) du composé AC4.

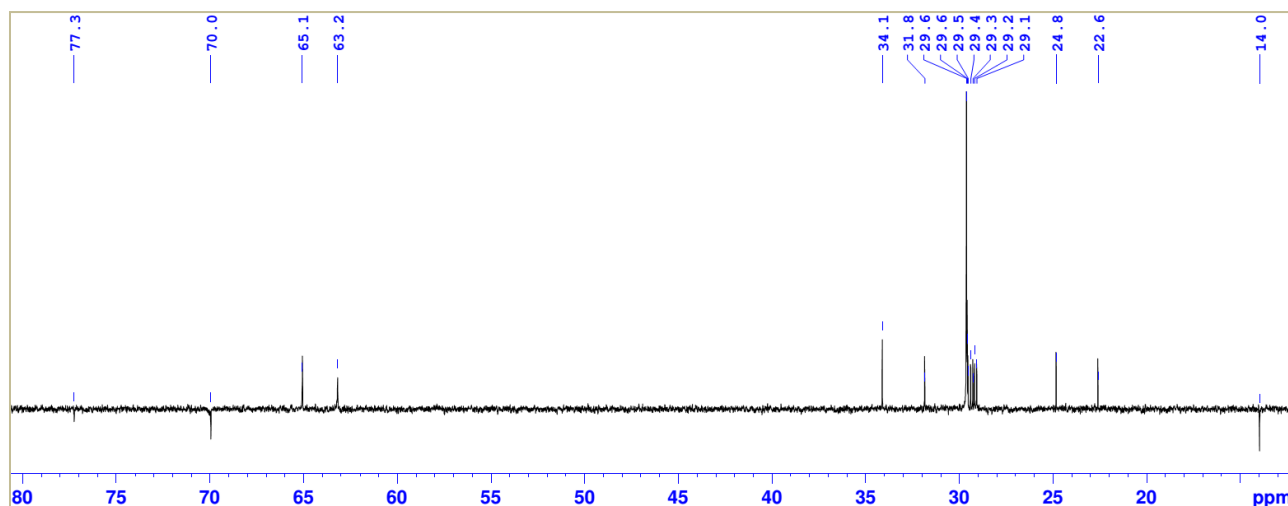


Figure 28. Spectre DEPT 135 (125 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) du composé **AC4**.

Le spectre HMBC du composé **AC4** (Fig. 29) en combinaison avec le spectre HSQC présente des tâches de corrélation entre le proton à $\delta_{\text{H/C}}$ 4,10/65,1 (H-1') avec le carbonyle de l'ester δ_{C} 174,4 (C-1), le carbone de l'hydroxyméthine à δ_{C} 70,0 (C-2') et le carbone de l'hydroxyméthylène à δ_{C} 63,2 (C-3'). On observe également des taches de corrélation entre le proton à δ_{H} 2,28 (t, 7,5 Hz, H-2) avec le carbonyle C-1, les carbones des méthylènes à δ_{C} 29,0 (C-4) et 24,6 (C-3). De plus, le signal du méthyle terminal à δ_{H} 0,82 ppm (H-28) présente des taches de corrélation HMBC avec les carbones à δ_{C} 31,8 et 22,6 ppm.

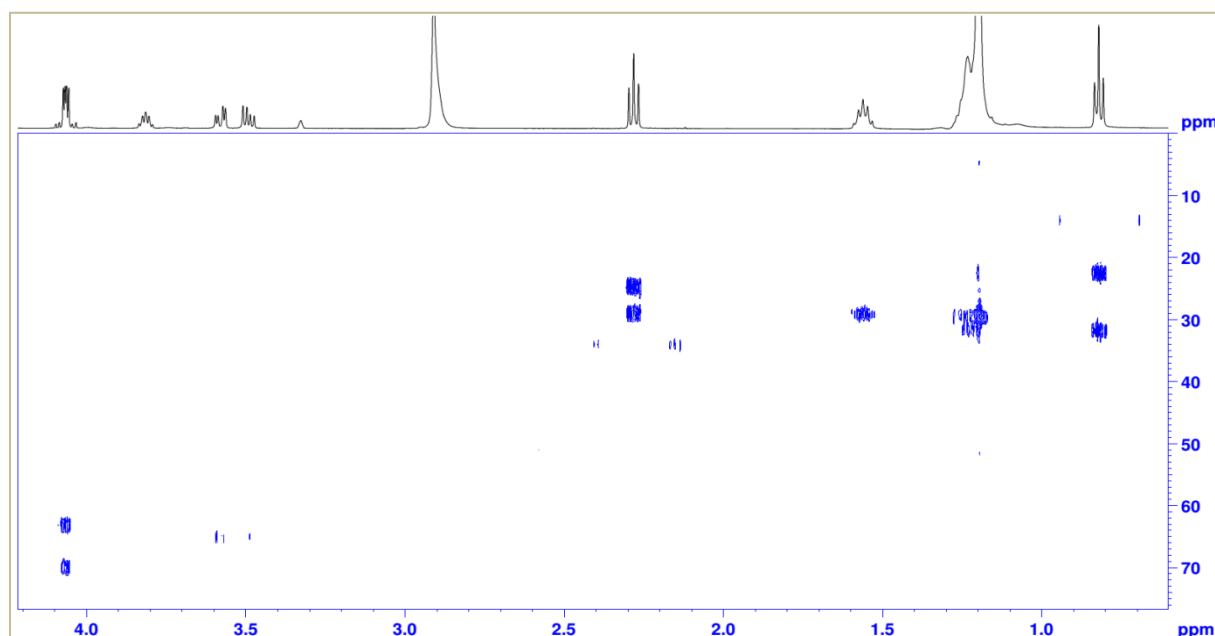


Figure 29. Spectre HMBC du composé **AC4**.

Sur le spectre COSY du composé **AC4** (Fig. 30), on observe des taches de corrélation entre les protons à δ_{H} 4,05 (H-2') et 3,81 (H-1') d'une part, puis d'autre part entre les protons

à δ_H 3,81 avec les protons à 3,58 et 3,50 (H-3'). De plus, le spectre COSY présente des taches de corrélation entre les protons à δ_H 2,28 (H-2) et les protons méthyléniques à δ_H 1,53 (H-3).

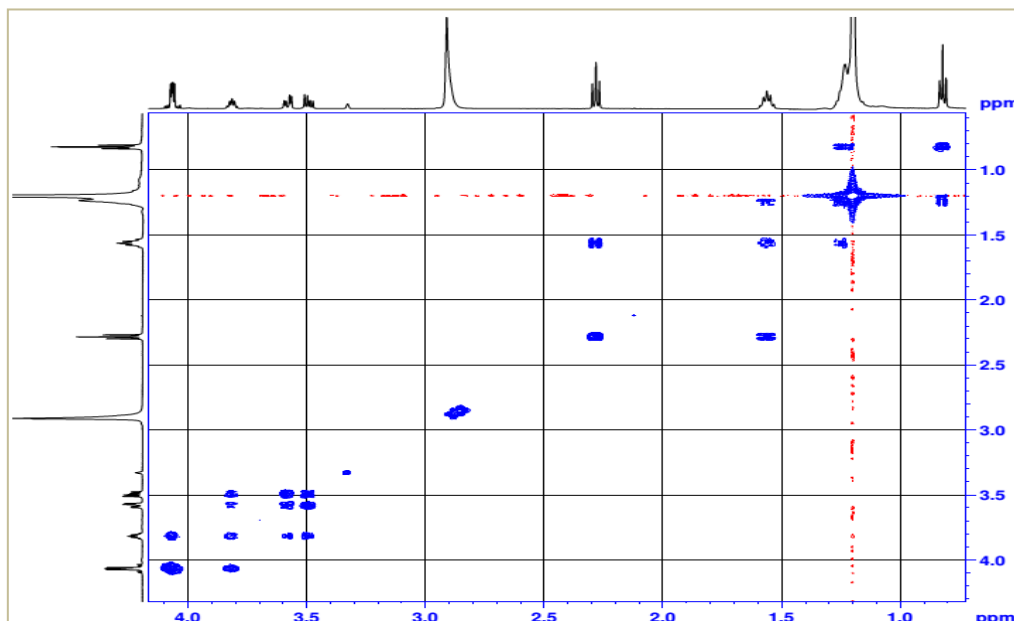
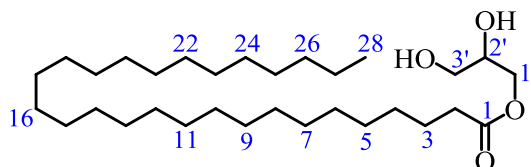


Figure 30. Spectre COSY du composé **AC4**.

Ces informations combinées à celles décrites dans la littérature ont permis d'attribuer au composé **AC4** le nom d'octacosanoate de 2,3-dihydroxypropyle **80** (Kuigoua *et al.*, 2010).



80

Tableau 18. Données de RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3 + CD_3OD$) de **AC4**.

Position	1H	^{13}C
	δ_H (m, J in Hz)	δ_C
1	–	173,2
2	2,32 (t, 7,5)	34,1
3	1,66 (m)	25,4
4	1,33 (brs)	29,1
5–27	1,26–1,30 (m)	29,3–29,6
28	0,88 (t, 6,8)	14,2
1'	4,34 (dd, 7,0, 7,2)	65,2
	4,09 (dd, 7,0, 7,2)	
2'	4,20 (dd, 7,0, 7,2)	70,8
3'	3,59 (dd, 7,0, 10,5)	63,8
	3,53 (dd, 7,0, 10,5)	

II.1.6.1.e) Identification du composé AC5

AC5 a été obtenu sous forme de solides blancs dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 50%. Il est soluble dans le chlorure de méthylène. Sa formule brute $C_{24}H_{48}O$ (calc. pour m/z 352,3705) a été déduite de son spectre de masse à impact électronique (Fig. 31), qui montre le pic de l'ion moléculaire $[M]^+$ à m/z 352,3780. Son spectre de RMN 1H (Fig. 32) montre des signaux d'un triplet à δ_H 3,64 (2H, *t*, 7,5 Hz, H-1); les pics à δ_H 1,64 (2H, *d*, 7,2 Hz, H-3) tous deux correspondant à $-CH_2CH_2-$; une bande de pics autour de δ_H 1,26 (40H, *s*) correspondant $-(CH_2)_{21}-$ et le signal à δ_H 0,88 (3H, *t*, 7,5 Hz) caractéristique du méthyle terminal $-CH_3$.

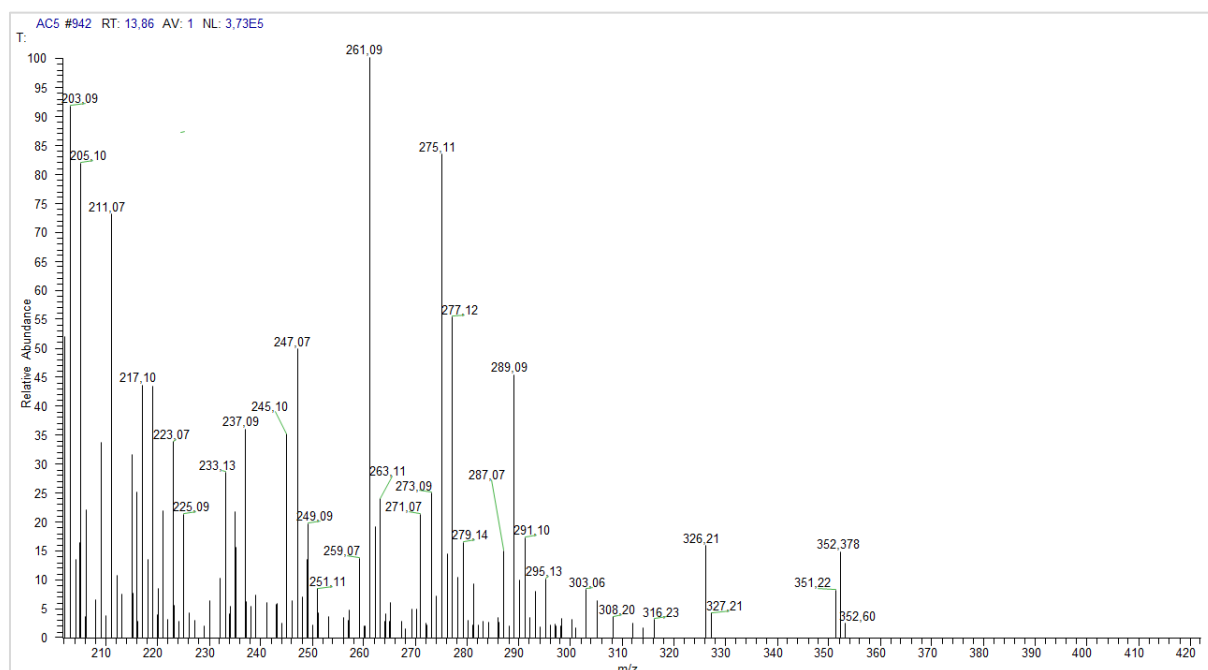


Figure 31. Spectre de masse impact électronique du composé AC5.

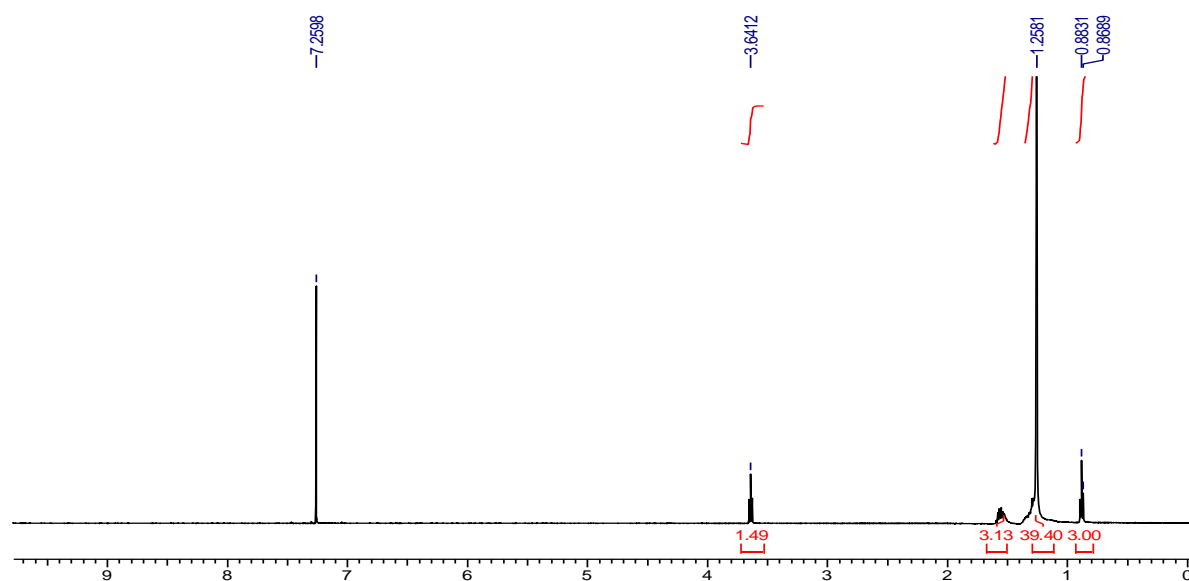
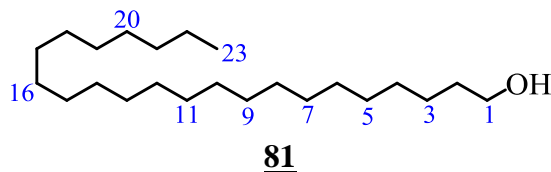


Figure 32. Spectre de RMN 1H du composé AC5.

Sur la base de ces données ainsi que celles rapportées dans la littérature (Kim *et al.*, 1997; Khan *et al.*, 2015), les familles de protons dans la structure du composé **AC5** ont été complètement assignées (voir partie expérimentale); et il a été identifié au 1-tricosanol **81** (Kha *et al.*, 2002; Sultana *et al.*, 2017; Singla *et al.*, 2018).



II.1.6.1.f) Identification du composé AC6

AC6 a été obtenu sous forme de solides blancs dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 50%. Il est soluble dans le chlorure de méthylène. Son spectre de RMN ^1H (Fig. 33) présente de grandes similitudes avec celui de **AC5**. Ainsi, l'on observe aussi des signaux d'un triplet à δ_{H} 3,64 (2H, *t*, 6,5 Hz) attribuables au proton de l'oxyméthylène $-\text{CH}_2\text{OH}$. On y observe également une bande de pics à δ_{H} 1,26–1,32 (52H, *s*) attribuable aux protons méthyléniques dans une longue chaîne $-(\text{CH}_2)_{26}-$; un autre pic des protons de méthylènes aliphatiques à δ_{H} 1,55 (4H, *m*) correspondant à $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, et le signal à δ_{H} 0,88 (3H, *t*, 7,0 Hz) indiquant la présence des protons d'un méthyle terminal $-\text{CH}_3$. L'ensemble de toutes ces informations, combinées aux données du spectre de masse à impact électronique (Fig. 34) montrant le pic de l'ion moléculaire $[\text{M}]^{+\bullet}$ à m/z 438,41, ont permis d'attribuer au composé **AC6** la formule brute $\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{O}$ (calc. pour m/z 438,4801), ne renfermant aucune insaturation.

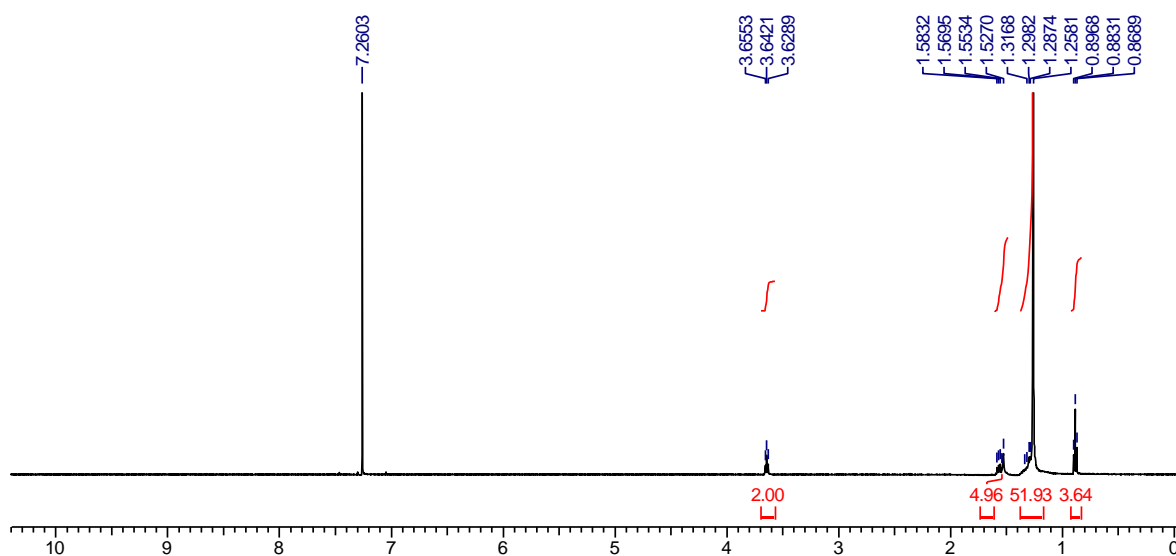


Figure 33. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé **AC6**.

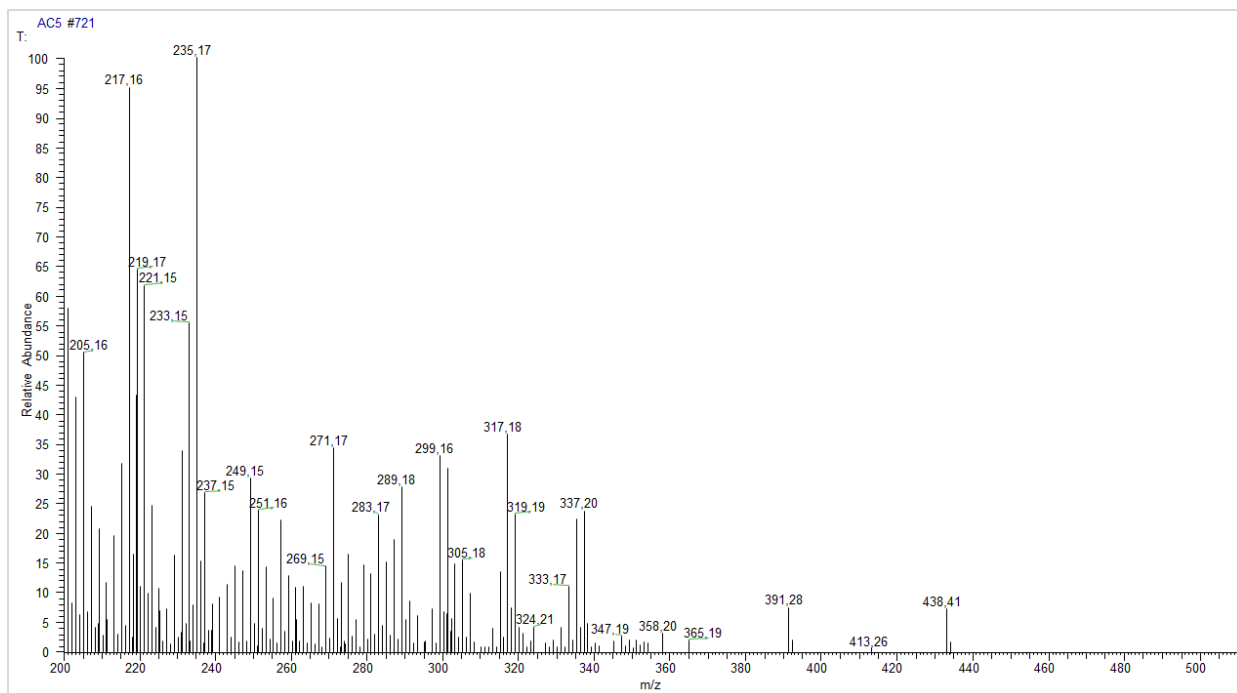
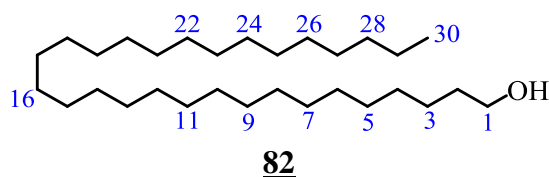


Figure 34. Spectre de masse impact électronique du composé **AC6**.

Ces données, comparées à celles de la littérature (Kim *et al.*, 1997; Khan *et al.*, 2015), indiquent que le composé **AC6** est le 1-triacontanol **82**.



II.1.6.1.g) Identification du composé **AC7**

AC7 a été obtenu sous forme de solides blancs dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 60%. Il est soluble dans le chlorure de méthylène. Sa formule brute $C_{26}H_{52}O_2$ (calc. pour m/z 396,3967), renfermant une insaturation, a été déduite de son spectre de RMN 1H (Fig. 35), qui montre le signal d'un triplet à δ_H 2,34 (2H, *t*, 7,5 Hz, H-2); les pics à δ_H 1,64 (1H, *d*, 7,2 Hz, H-3a) et 1,61 (1H, *d*, 7,2 Hz, H-3b); une bande de pics à δ_H 1,26–1,32 (44H, *s*) correspondant $-(CH_2)_{23}-$ et le signal à δ_H 0,88 (3H, *t*, 7,5 Hz, H-26) caractéristique du méthyle terminal.

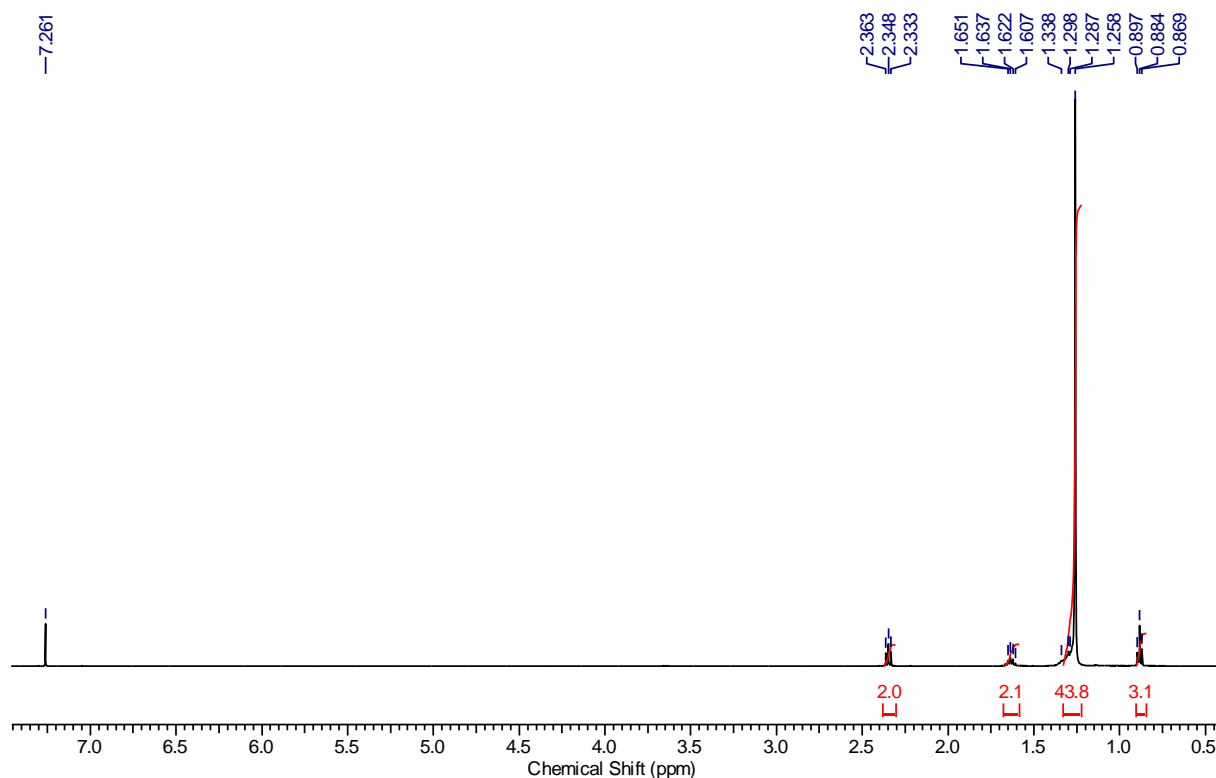
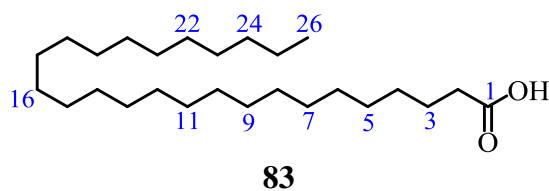


Figure 35. Spectre de RMN ^1H (CDCl_3) du composé **AC7**.

Sur la base de ces données ainsi que celles rapportées dans la littérature ([Kim et al., 1997](#); [Khan et al., 2015](#)), la structure du composé **AC7** a été complètement assignée et identifiée à l'acide *n*-hexacosanoïque **83** ([Tsuji et al., 1981](#); [Srinivasan et al., 2011](#)), un acide gras encore connu sous le nom d'acide cérotique ([Yamamoto et al., 2015](#)).



II.1.6.1.h) Identification du composé **AC8**

AC8 a été obtenu sous forme de solides blancs dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 60%. Il est soluble dans le chlorure de méthylène. Le spectre de RMN ^1H de **AC8** ([Fig. 36](#)) présente de grandes similitudes avec celui de **AC7**. Ainsi, l'on observe également un triplet à δ_{H} 2,34 (2H, *t*, 7,5 Hz) dû aux protons du méthylène lié au carbonyle ($-\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$); les pics à δ_{H} 1,64 (1H, *dd*, 6,8 et 7,2 Hz, H-3a) et 1,61 (1H, *dd*, 6,8 et 7,2 Hz, H-3b) apparaissant comme une famille de protons doublet de doublets, attribué à H-3a et H-3b ($-\text{CH}_2-$), respectivement. On y observe également une bande de pics à δ_{H} 1,26–1,32 (48H, *s*) attribuables aux protons méthyléniques dans une longue chaîne $-(\text{CH}_2)_{24}-$; et le signal à δ_{H} 0,88 (3H, *t*, 7,5 Hz)

indiquant la présence des protons d'un méthyle terminal. Ces données ont permis d'attribuer à **AC8** la formule brute $C_{28}H_{56}O_2$ ne renfermant qu'une insaturation.

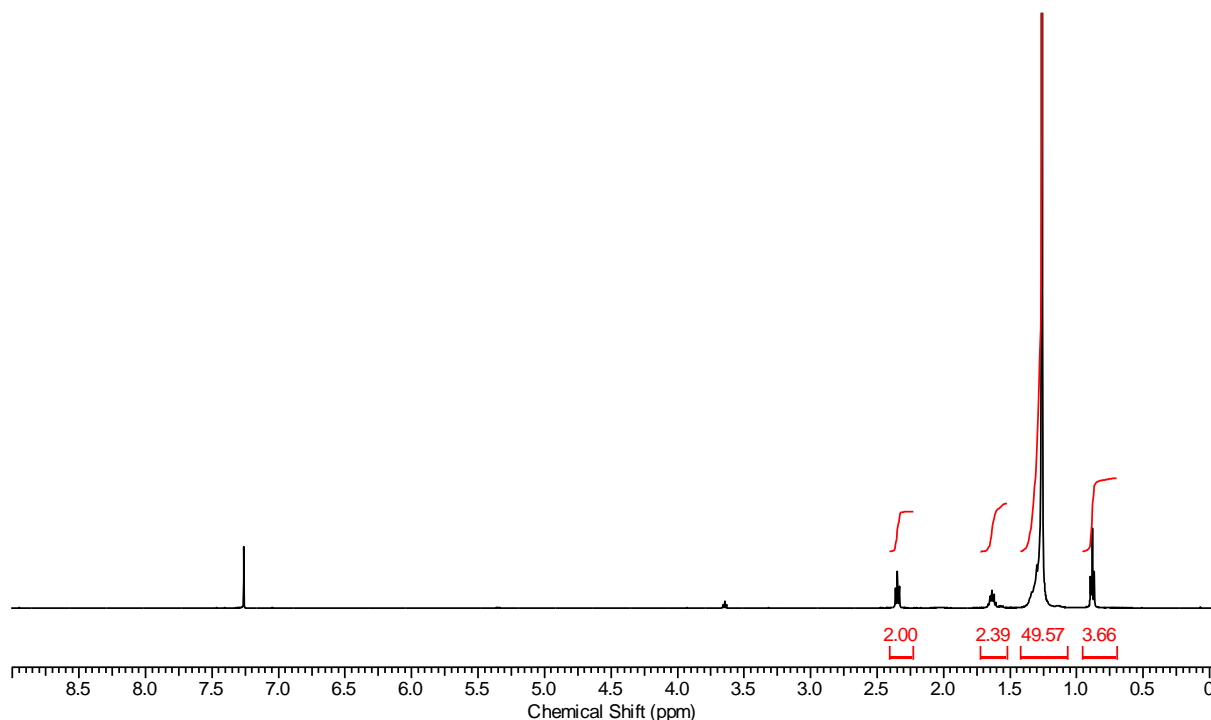
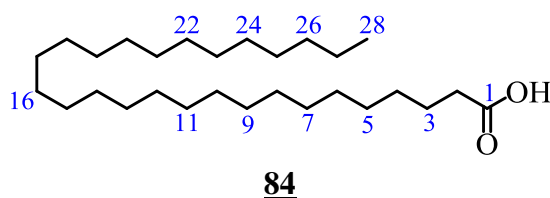


Figure 36. Spectre de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) du composé **AC8**.

Sur la base de ces données ainsi que celles rapportées dans la littérature (Kim *et al.*, 1997; Khan *et al.*, 2015), la structure du composé **AC8** a été identifiée comme étant celle de l'acide octacosanoïque **84** (Menendez *et al.*, 2005; Khan *et al.*, 2011).



II.1.6.1.i) Identification du composé **AC9**

AC9 a été obtenu sous forme de solides blancs dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 60%. Il est soluble dans le chlorure de méthylène. Sa formule brute $C_{32}H_{64}O_2$ renfermant une insaturation a été déduite de son spectre de RMN 1H (Fig. 37) qui présente de grandes similitudes avec celui de **AC8**. Ainsi, l'on observe également un triplet à δ_H 2,34 (2H, *t*, 7,5 Hz, H-2) correspondant à $-CH_2-COOH$; les pics à δ_H 1,63 (1H, *d*, 7,20 Hz, H-3a) et 1,61 (1H, *d*, 7,2 Hz, H-3b); une bande de pics à δ_H 1,26–1,33 (56H, *s*) correspondant $-(CH_2)_{28}-$ et le signal à δ_H 0,88 (3H, *t*, 7,5 Hz, H-32) caractéristique du méthyle terminal.

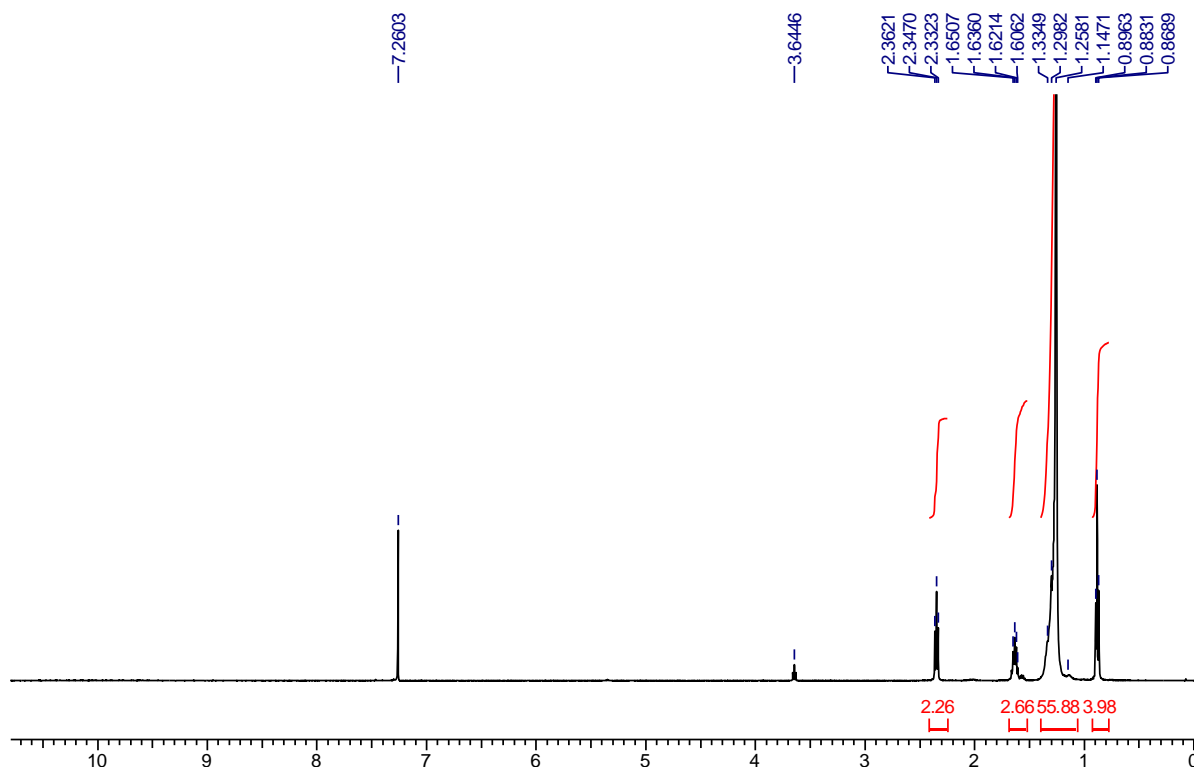
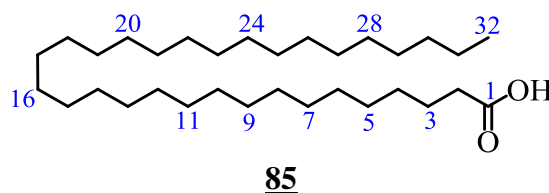


Figure 37. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé **AC9**.

La comparaison de ces données spectrales avec celles décrites dans la littérature a permis d'attribuer à **AC9** la structure de l'acide dotriacontanoïque **85** (Gupta *et al.*, 2013; Mir *et al.*, 2017).



II.1.6.2. Les composés phénoliques

II.1.6.2.a) Identification du composé **AC10**

Le composé **AC10** se présente sous forme de poudre blanche et a été obtenu dans le mélange *n*-Hex/Acétone 20%. Sa formule brute $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5$ a été déduite de son spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif (Fig. 38) qui montre le pic de l'ion pseudomoléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 175,0601 (calc. pour $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_5$:175,0607); ce qui correspond à trois degrés d'insaturations.

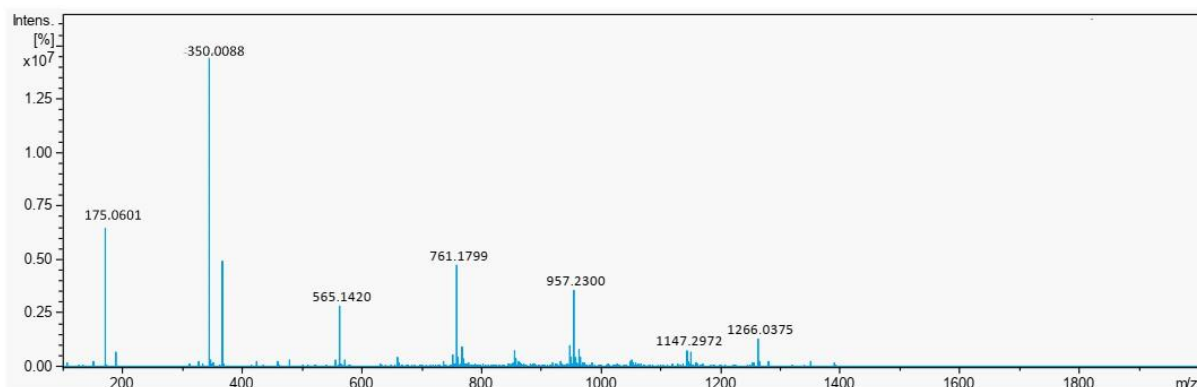


Figure 38. Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé **AC10**.

Les spectres de RMN ^1H (Fig. 39) et HSQC (Fig. 42) indiquent :

- un singlet d'un proton à $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ (3,81/66,2) attribuable à un hydroxyméthine;
- deux hydroxyméthines à $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ (3,54/71,0) et $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ (3,84/67,5) apparaissant sous forme de multiplet chacun;
- un singlet d'un proton à $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ (6,58/139,5) correspondant à un proton oléfinique;
- des signaux de deux doublets de doublets d'un proton chacun respectivement à $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,01 et 2,04 (δ_{C} 30,6) attribuables aux protons diastéréotopiques d'un groupe méthylène.

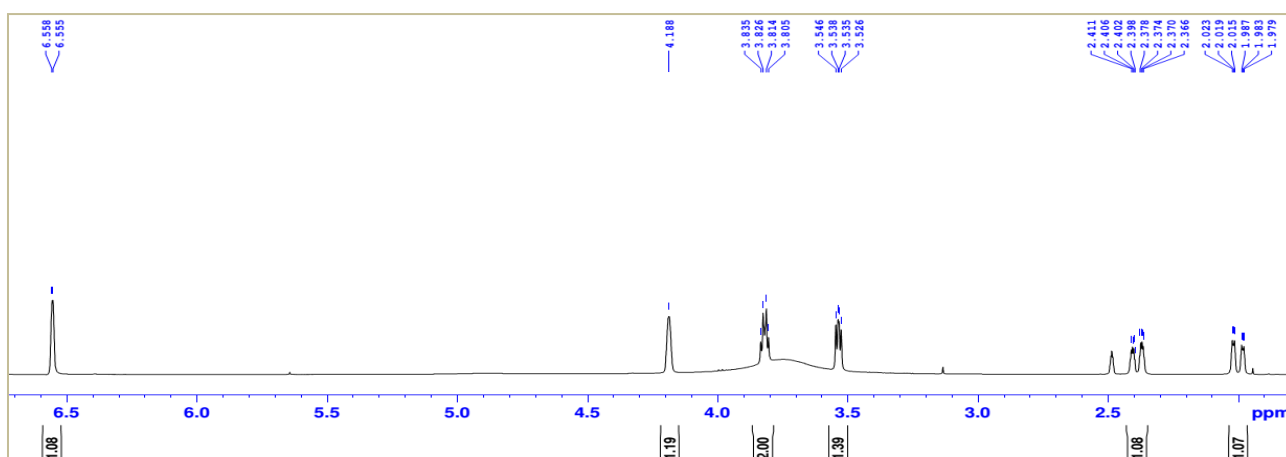


Figure 39. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) du composé **AC10**.

Le spectre de RMN ^{13}C à 125 MHz dans le DMSO- d_6 (Fig. 40) fait ressortir 7 signaux de carbones répartis comme suit :

- Quatre signaux de carbone sp^3 à savoir celui d'un méthylène à δ_{C} 30,6 et ceux de trois hydroxyméthines à δ_{C} 66,2, 67,5, 71,0.
- Trois signaux de carbone sp^2 dont deux sont oléfiniques à δ_{C} 139,6 et 129,2 et un est celui d'un carbonyle des acides à δ_{C} 168,8.

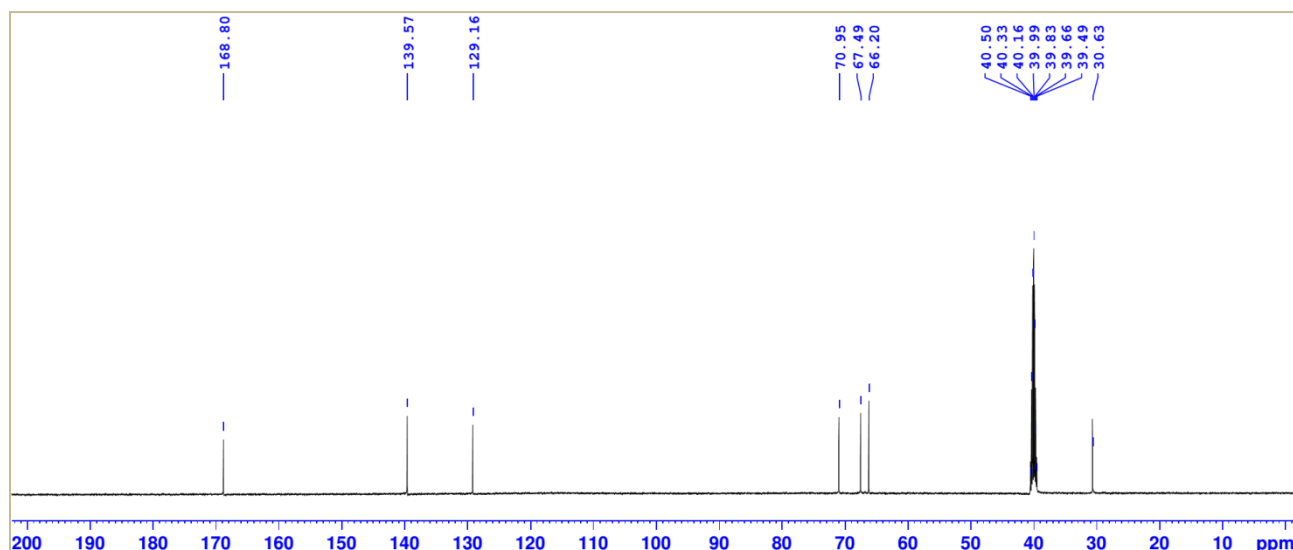


Figure 40. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) du composé AC10.

Par ailleurs, le spectre HMBC (Fig. 41) montre d'importantes corrélations (Schéma 7) consignées dans le [tableau 19](#) suivant.

Tableau 19. Quelques corrélations HMBC du composé AC10.

δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (ppm) en HMBC
2,01 et 2,40	30,6 (C-6)	168,8; 139,6; 129,2; 71,0; 67,5
3,84	67,5 (C-5)	129,3; 70,9; 66,2
3,54	30,6 (C-5)	139,6; 66,1; 30,6
3,81	66,2	139,6; 129,3

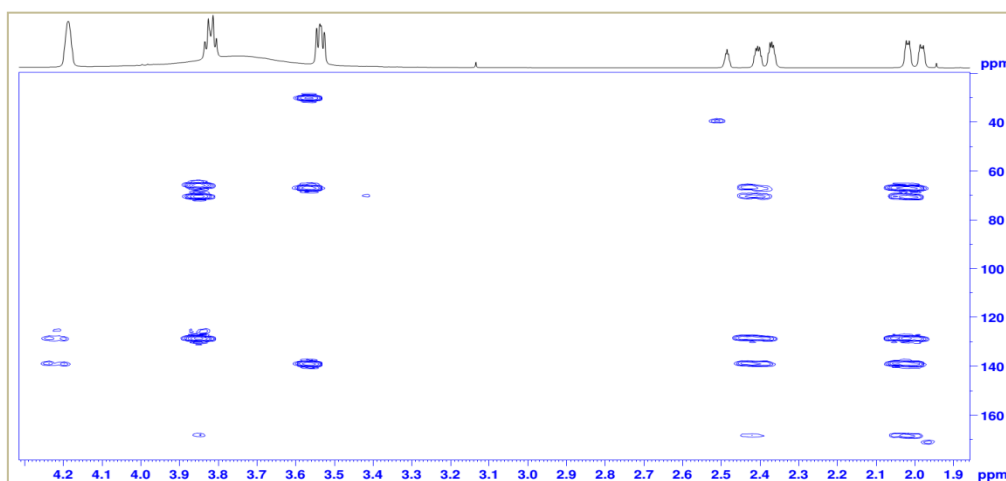


Figure 41. Spectre HMBC du composé AC10.

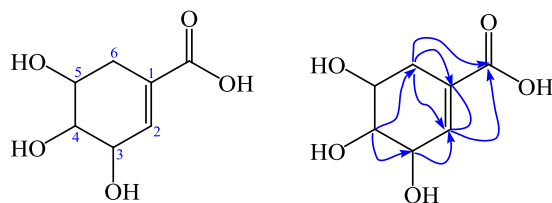
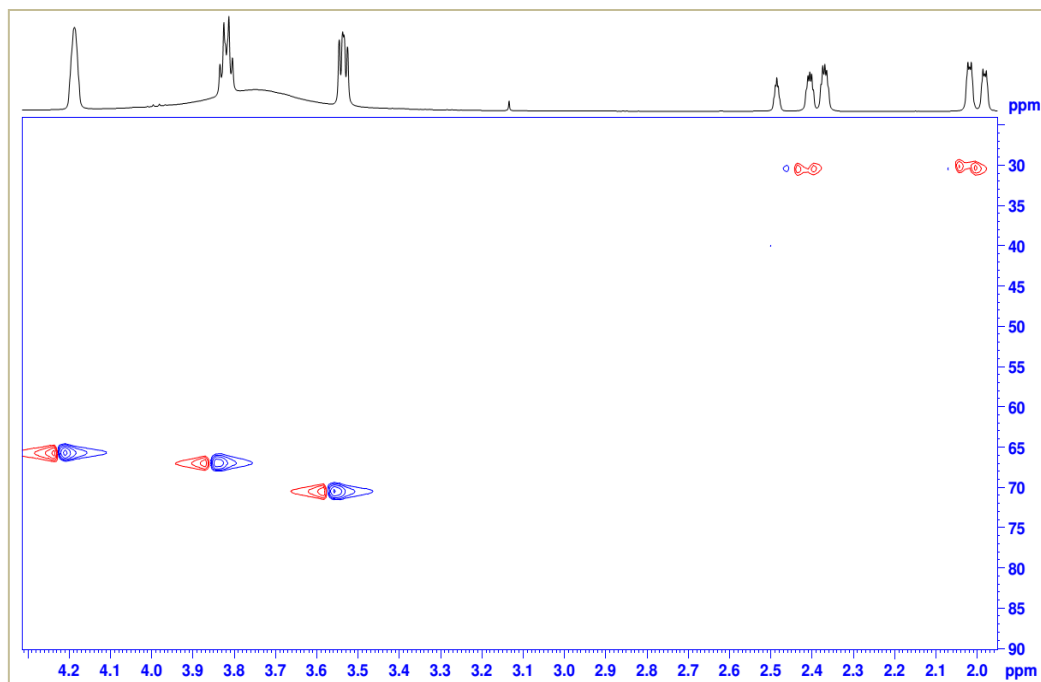


Schéma 7. Quelques corrélations HMBC du composé AC10.

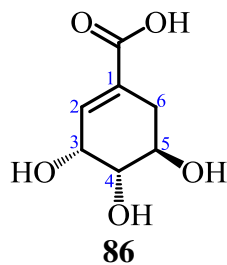
Figure 42. Spectre HSQC (DMSO-d₆) du composé AC10.

Le [tableau 20](#) ci-dessous présente les données spectrales du composé AC10 comparées à celles de la littérature.

Tableau 20. Données de RMN ¹H (500 MHz) et ¹³C (125 MHz, DMSO-d₆) du composé AC10.

Position	¹ H	¹³ C
	δ_H (m, J in Hz)	δ_C
1	–	139,5
2	6,58 (d, 1,5)	129,1
3	3,81 (d, 4,5)	66,1
4	3,54 (q, 4,5)	70,9
5	3,84 (d, 4,5)	67,5
6	2,40 (dd, 10,5, 4,5) 2,03 (dd, 10,0, 2,0)	30,6
7	–	168,8

Toutes ces informations combinées à celles décrites dans la littérature (Bi *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2012) ont permis d'assigner complètement la structure du composé **AC10** (Tableau 18) dont le nom est l'acide 3,4,5-trihydroxycyclohex-1-ène carboxylique connu sous le nom d'acide shikimique **86**.



II.1.6.2.b) Identification du composé AC10-Ac

Le composé AC10-Ac se présente sous forme de poudre blanche et a été obtenu par réaction d'acétylation du composé **AC10** (**86**). Sa formule brute $C_{13}H_{16}O_8$ a été déduite de son spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif (Fig. 43) qui montre le pic de l'ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à m/z 301,0922 (calc. pour $C_{13}H_{17}O_8$: 301,0918); ce qui correspond à six degrés d'insaturations. Cette masse diffère du composé **AC10** par 126 unités; ce qui a permis de conjecturer que la structure du composé **87** est obtenue en substituant les atomes d'hydrogène par trois groupements acétyles (soit $43 \times 3 - 3 = 126$).

Le schéma réactionnel de cette transformation est le suivant :

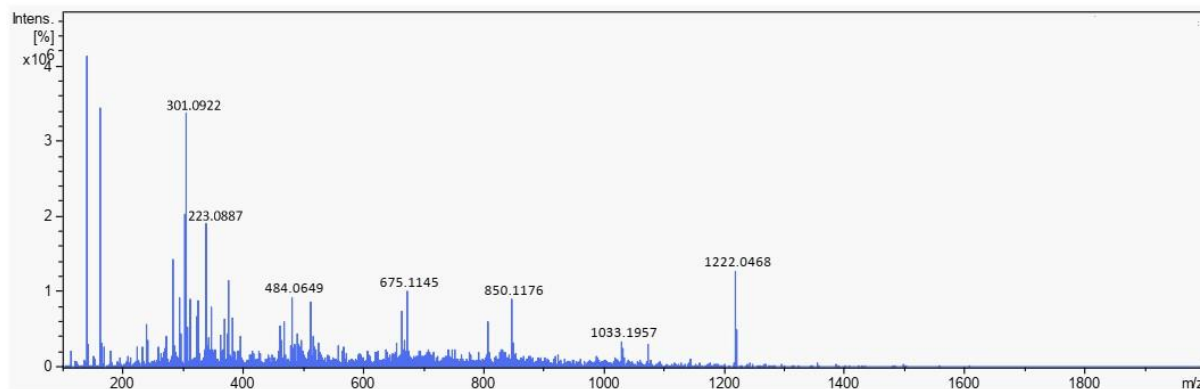
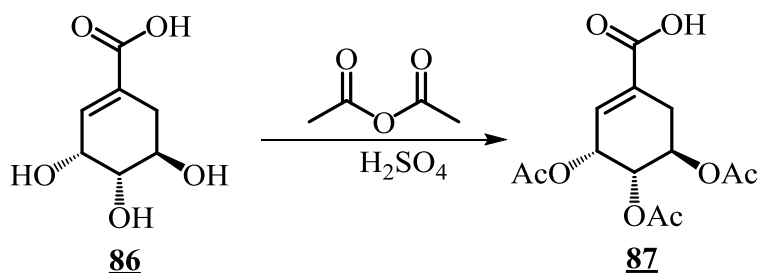


Figure 43. Spectre de masse à haute résolution (+) ESI du composé **AC10-Ac**.

Le spectre de RMN ^1H du composé AC10-Ac (Fig. 44) présente des similitudes avec celui du composé **AC10**. Ainsi, l'on peut observer des pics tels que :

- un singlet d'un proton à δ_{H} 6,87 correspondant à un proton oléfinique;
- un singlet d'un proton à δ_{H} 5,76 attribuable à un hydroxyméthine;
- deux hydroxyméthines à δ_{H} 5,31 et 5,27 apparaissant sous forme de multiplet chacun;
- des signaux de deux doublets de doublets d'un proton chacun, respectivement à δ_{H} 2,90 et 2,44 attribuables aux protons diastéréotopiques d'un groupe méthylène;
- trois signaux de trois protons chacun, apparaissant à δ_{H} 2,03, 2,08 et 2,06 ppm, respectivement et attribuables aux méthyles des groupes acétyles.

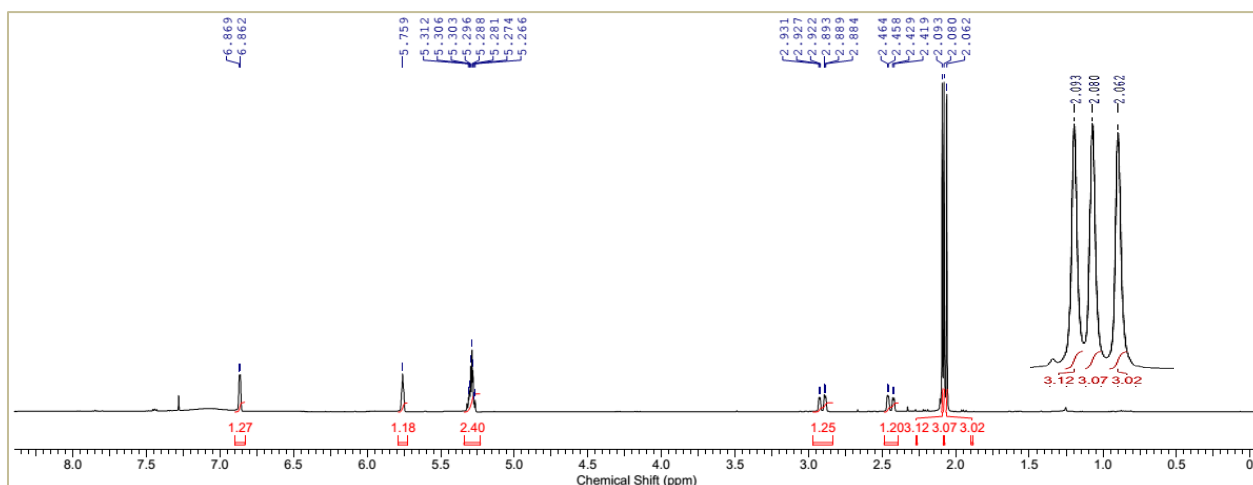
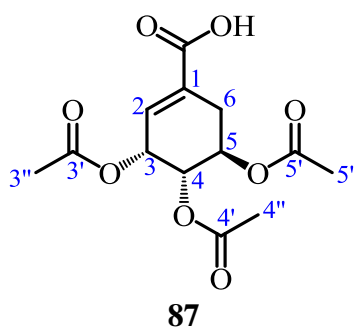


Figure 44. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) du composé **AC10-Ac**.

Tous les protons et carbones de l'acide triacétylshikimique ont été complètement assignés comme le montre le [tableau 21](#).

Ces données ont permis d'attribuer au composé AC10-Ac la formule brute $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_8$, renfermant six degrés d'insaturations. La comparaison de toutes ces données à celles décrites dans la littérature ([Carbain, 2009](#)) ont permis d'assigner tous les protons de ce composé ([Tableau 21](#)), identifié comme étant l'acide triacétylshikimique **87**, un dérivé d'acide shikimique **86**.



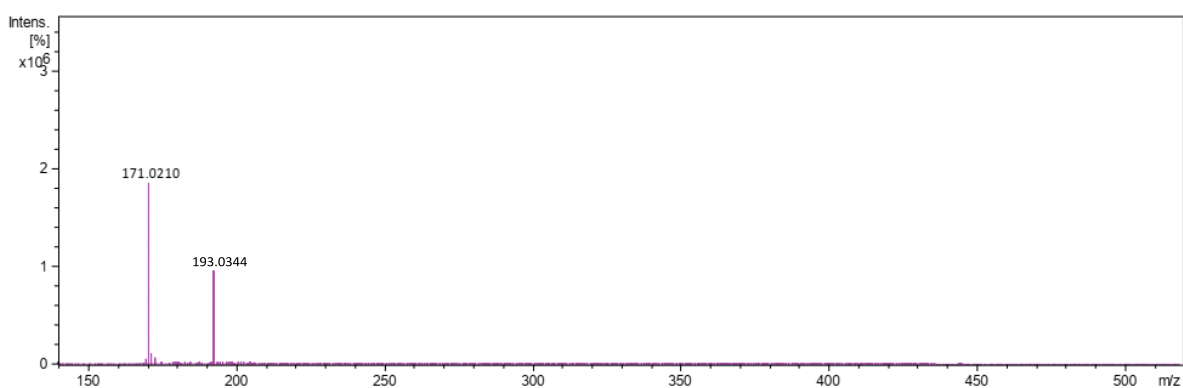
87

Tableau 21. Données de RMN ^1H (500 MHz) du composé **AC10-Ac** dans le DMSO- d_6 .

Position	δ_{H} (m , J in Hz)
1	–
2	6,87 (d , 1,5)
3	5,31 (d , 4,5)
4	5,76 (q , 4,5)
5	5,27 (d , 4,5)
6	2,90 (dd , 2,0; 1,5) 2,44 (dd , 2,0; 4,5)
1'	–
3'	–
3''	2,03 (s)
4'	–
4''	2,06 (s)
5'	–
5''	2,08 (s)

II.1.5.2.c) Identification du composé AC11

Le composé **AC11** se présente sous forme de poudre blanche et a été obtenu dans le mélange *n*-Hex/Acétone 20%. Sa formule brute $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ a été déduite de son spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif (Fig. 45) qui montre le pic de l'ion pseudomoléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 171,0210 (calc. pour $\text{C}_7\text{H}_7\text{O}_5$: 171,0288), renfermant cinq degrés d'insaturations.

**Figure 45.** Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé **AC11**.

Le spectre de RMN ^1H à 500 MHz (Fig. 45) dans le DMSO- d_6 indique la présence de deux protons aromatiques résonnant à δ_{H} 6,90 ppm attribuables aux protons H-2/6 de l'acide gallique.

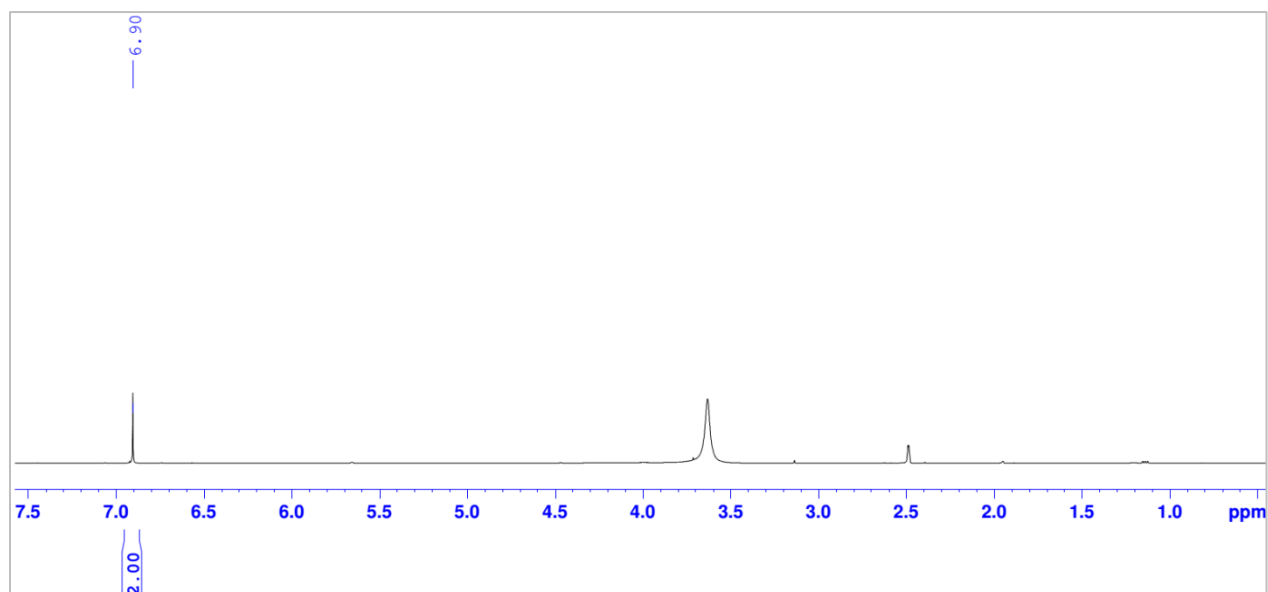


Figure 46. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) du composé **AC11**.

Sur son spectre de RMN ^{13}C (Fig. 46), on observe 5 pics à δ_{C} 168,3 (COOH), 146,0 (C-3/5), 138,7 (C-4), 121,2 (C-1) et 109,5 (C-2/6).

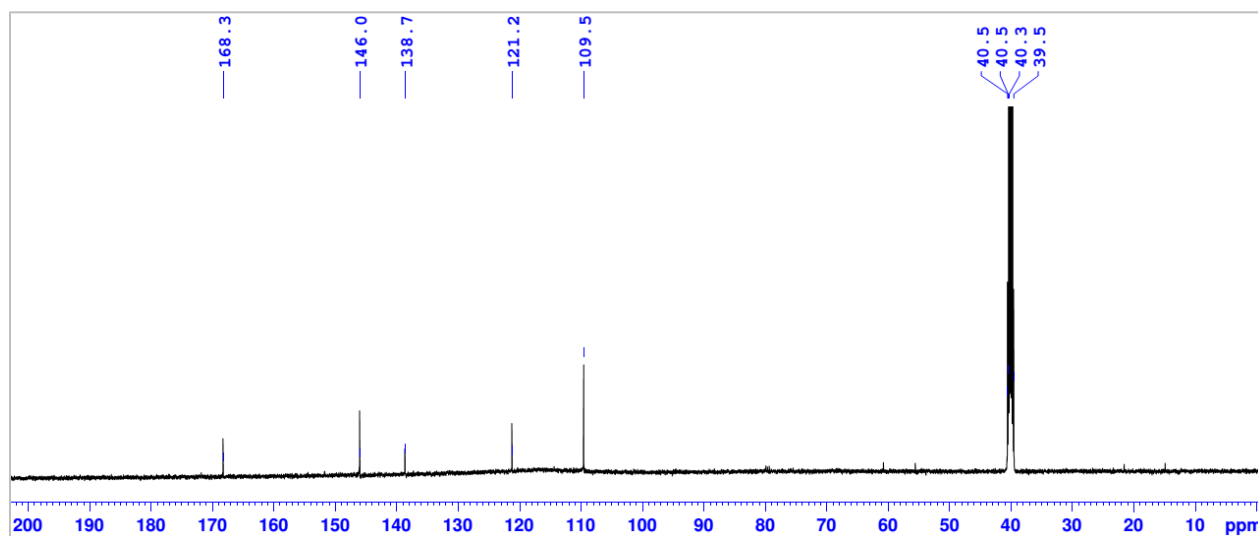


Figure 47. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) du composé **AC11**.

L'analyse de toutes ces informations combinées à celles de la littérature (Ogunbamila and Samuelsson, 1990) a permis d'assigner complètement la structure du composé **AC11** (Tableau 22), identifié comme étant l'acide gallique **20**.

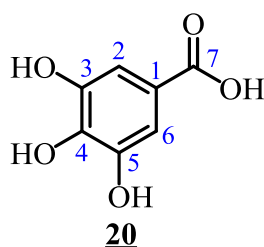
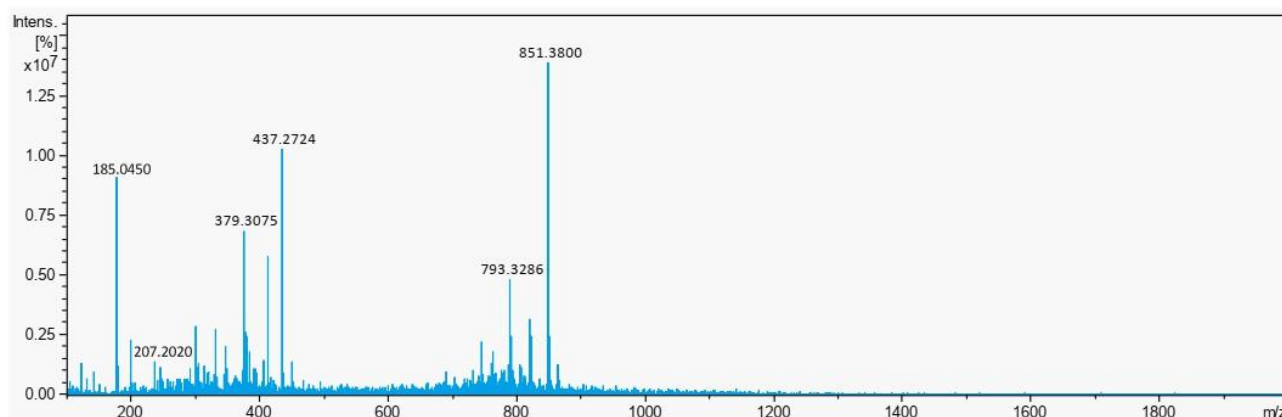


Tableau 22. Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) du composé **AC11**.

no.	^1H	^{13}C
	δ_{H} (<i>m</i> , <i>J</i> in Hz)	δ_{C}
1	–	121,2
2	6,90 (<i>s</i>)	109,5
3	–	146,0
4	–	138,7
5	–	146,0
6	6,90 (<i>s</i>)	109,5
7	–	168,3

II.1.6.2.d) Identification du composé **AC12**

Le composé **AC12** se présente sous forme de poudre blanche. Sa formule brute $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$ a été déduite de son spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif (Fig. 48) qui montre le pic de l'ion pseudomoléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 185,0450 (calc. pour $\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_5$: 185,0444), renfermant cinq degrés d'insaturations.

**Figure 48.** Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé **AC12**.

Le spectre de RMN ^1H à 500 MHz (Fig. 49) dans le DMSO- d_6 indique la présence de deux protons aromatiques résonnant à δ_{H} 7,04 ppm attribuables aux protons H-2/6. On observe une similitude entre les spectres RMN ^1H des composés **AC11** et **AC12**. De plus, la masse moléculaire du composé **AC11** (m/z 170) diffère de celle de **AC12** (m/z 184) de 14 unités; ce qui a permis de suggérer, à partir de **AC11**, la substitution d'un hydrogène H par un groupe $-\text{CH}_3$ (m/z 15). La structure du composé **AC12** est alors celle d'un dérivé de l'acide gallique (**AC11**). Sur son spectre de RMN ^1H , les protons du groupement méthoxyne apparaissent à δ_{H} 3,81 ppm.

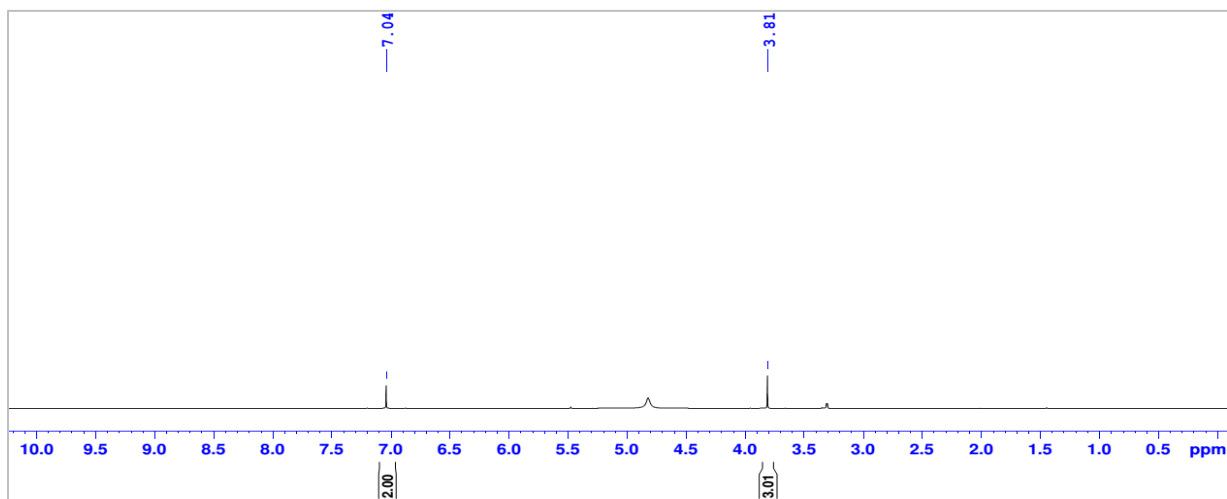


Figure 49. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) du composé **AC12**.

Sur le spectre HMBC de AC12 (Fig. 50), l'on a pu relever les taches correspondant à δ_{C} 167,8 (COOH), 145,0 (C-3/5), 138,8 (C-4), 120,1 (C-1) et 108,5 (C-2/6) par déduction aux carbones du composé 67. L'on y observe par ailleurs les taches de corrélation entre l'unique proton aromatique à δ_{H} 7,04 ppm et les carbones à 167,8 (carbonyle d'ester), C-3/5, C-4, C-1 et C-2/6.

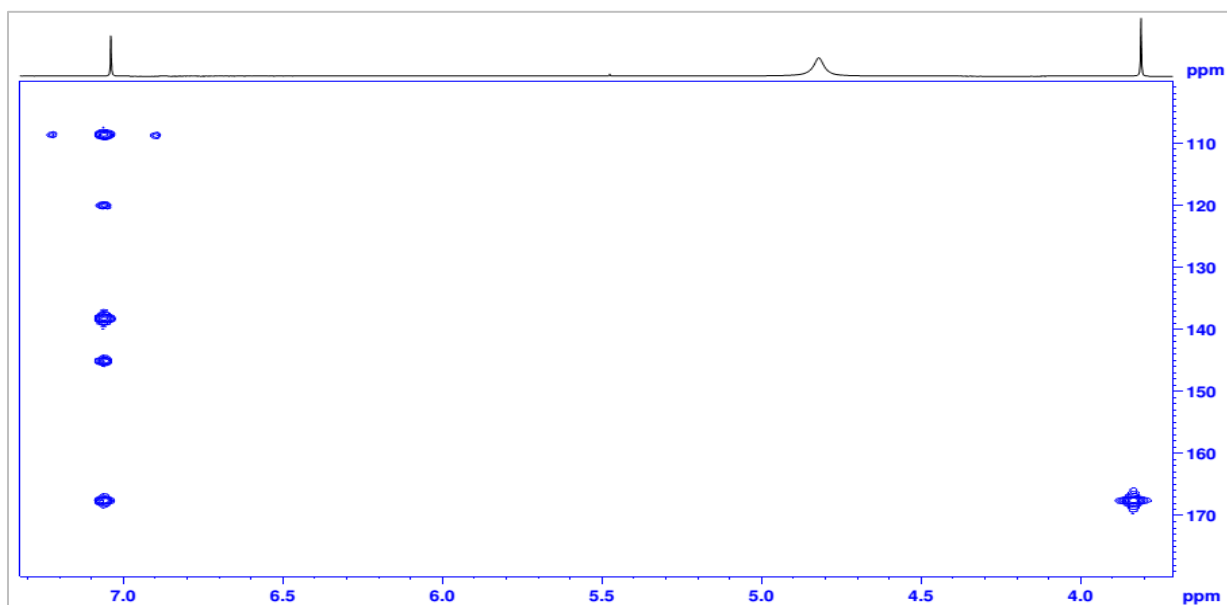


Figure 50. Spectre HMBC du composé **AC12**.

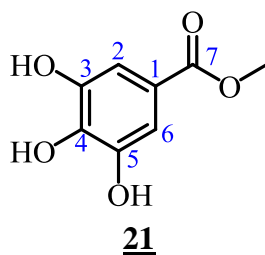
Tous les protons et carbones du composé **AC12** ont été complètement assignés comme le montre le [tableau 23](#) suivant.

Tableau 23. Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) du composé **AC12**.

no. C & H	^1H	^{13}C
	δ_{H} (m, J in Hz)	δ_{C}^*
1	–	120,1
2	7,04 (s)	108,5
3	–	145,0
4	–	138,8
5	–	145,0
6	7,04 (s)	108,5
7	–	167,8
7-OCH ₃	3,81 (s)	60,7

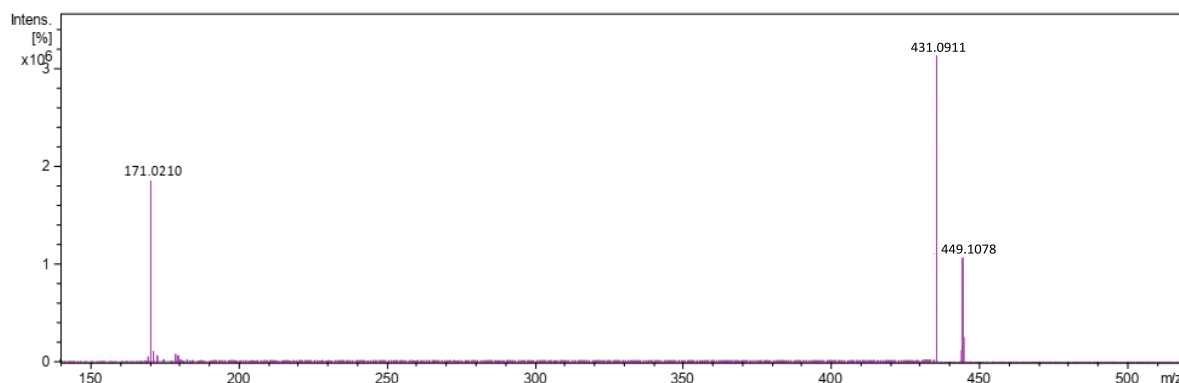
*Les valeurs approximatives de déplacements chimiques (δ_{C}) du carbone ont été lues sur les spectres HMBC et HSQC car le spectre de RMN ^{13}C n'a pas été enregistré.

En comparant toutes ces données spectrales (Tableau 23) à celles décrites dans la littérature (Na *et al.*, 2006), on a pu attribuer au composé **AC12** la structure suivante, qui est celle du gallate de méthyle **21**.



II.1.6.2.e) Identification du composé AC13

Le composé **AC13** se présente sous forme de poudre blanche. Sa formule brute $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$ a été déduite de son spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif (Fig. 51) qui montre le pic de l'ion pseudomoléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 449,1088 (calc. pour $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_{11}$: 449,1078).

**Figure 51.** Spectre de masse à haute résolution ESI en mode positif du composé **AC13**.

Le spectre de RMN ^1H du composé **AC13** (Fig. 52) montre les signaux d'un système AA'BB' à δ_{H} 7,17 et 7,14 (d , 6,0 Hz), attribuables aux protons H-2'/6', H-3'/5' du cycle aromatique para-substitué. On observe également la présence d'un système de spin AB à δ_{H} 6,38 et 6,20 (d , 3,0 Hz) attribuables aux protons H-6 et H-8, respectivement (Rice-Evans, 1996). Le signal du proton anomérique du galactose à δ_{H} 5,12 montre un doublet avec une constante de couplage $J = 1,5$ Hz, indiquant une configuration- α (Soro et al., 2012).

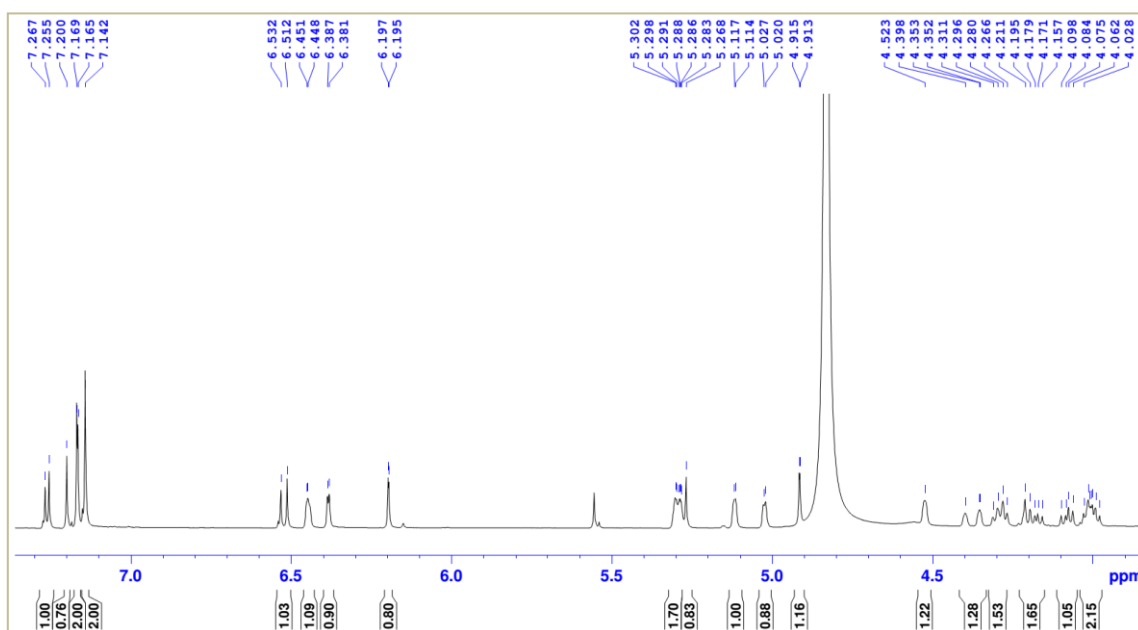


Figure 52. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) du composé **AC13**.

La position du galactoside a aussi été confirmée sur le spectre HMBC (Fig. 53) où l'on observe la corrélation entre le proton à δ_{H} 5, 12 (H-1'') et le carbone à δ_{C} 135,2 (C-3).

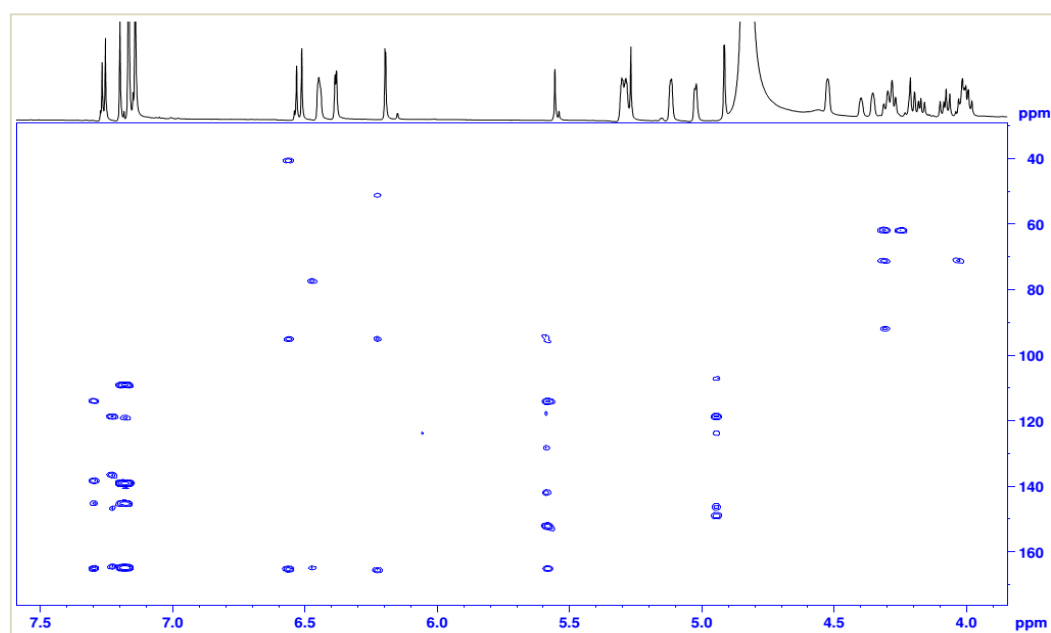


Figure 53. Spectre HMBC du composé **AC13**.

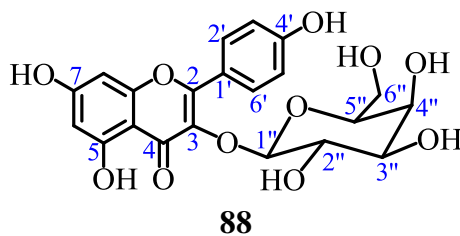
Tous les protons du composé **AC13** ont été complètement assignés comme le montre le [tableau 24](#) suivant.

Tableau 24. Données de RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) du composé **AC13**.

no.	^1H	$^{13}\text{C}^*$
	δ_{H} (m, J in Hz)	δ_{H} (m, J in Hz)
2	–	156,4
3	–	135,2
4	–	178,2
4a	–	104,5
5	–	161,8
6	6,38 (d, 3,0)	98,3
7	–	166,4
8	6,20 (d, 3,0)	97,2
8a	–	155,3
1'	–	122,9
2'	7,17 (d, 6,0)	129,2
3'	7,14 (d, 6,0)	115,8
4'	–	158,6
5'	7,14 (d, 6,0)	115,8
6'	7,17 (d, 6,0)	129,2
1''	5,12 (d, 7,5)	104,9
2''	5,30 (dd, 3,5 et 12,0)	71,3–73,0
3''	5,28 (dd, 3,5 et 12,0)	71,3–73,0
4''	4,52 (brd)	71,3–73,0
5''	4,27 (t, 3,5)	71,3–73,0
6''	4,06 (m)	62,1

*Les valeurs approximatives de déplacements chimiques (δ_{C}) du carbone ont été lues sur le spectre HMBC car le spectre de RMN ^{13}C n'a pas été enregistré.

En comparant toutes ces données spectrales ([Tableau 24](#)) à celles décrites dans la littérature ([Ek et al., 2006](#)), on a pu attribuer au composé **AC13** la structure suivante, qui est celle du kaempférol-3-*O*-galactopyranoside **88**.



II.1.6.3. Les triterpènes

II.1.6.3.a) Identification du composé **AC14**

AC14 a été obtenu sous forme de solides blancs dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 15%. Il est soluble dans le chlorure de méthylène et répond positivement au test de Liebermann-Burchard caractéristique des triterpènes.

Le spectre de RMN ^1H de **AC14** (Fig. 54) indique la présence de six familles de 3-protons singulets à δ_{H} 1,06, 0,97, 0,95, 0,85, 0,79, et 0,76. On observe également un singulet de trois protons résonnant à 1,69 ppm et attribuable aux protons liés au carbone vinylique de lupéol (Abdullahi et al., 2013). En plus, le spectre de RMN ^1H de **AC14** révèle la présence d'un proton à δ_{H} 3,18 (1H, *dd*, 4,8 et 5,6 Hz, H-3 α) attribuable au proton géminé H-3 α des triterpènes hydroxylés en C-3 (Kouam, 2000) et aussi la présence des signaux d'un système de spin *AB* constitué de deux protons diastéréotopiques d'un méthylène oléfinique à δ_{H} 4,69 et 4,57 (2H, *d*, 2,0 Hz, H-29).

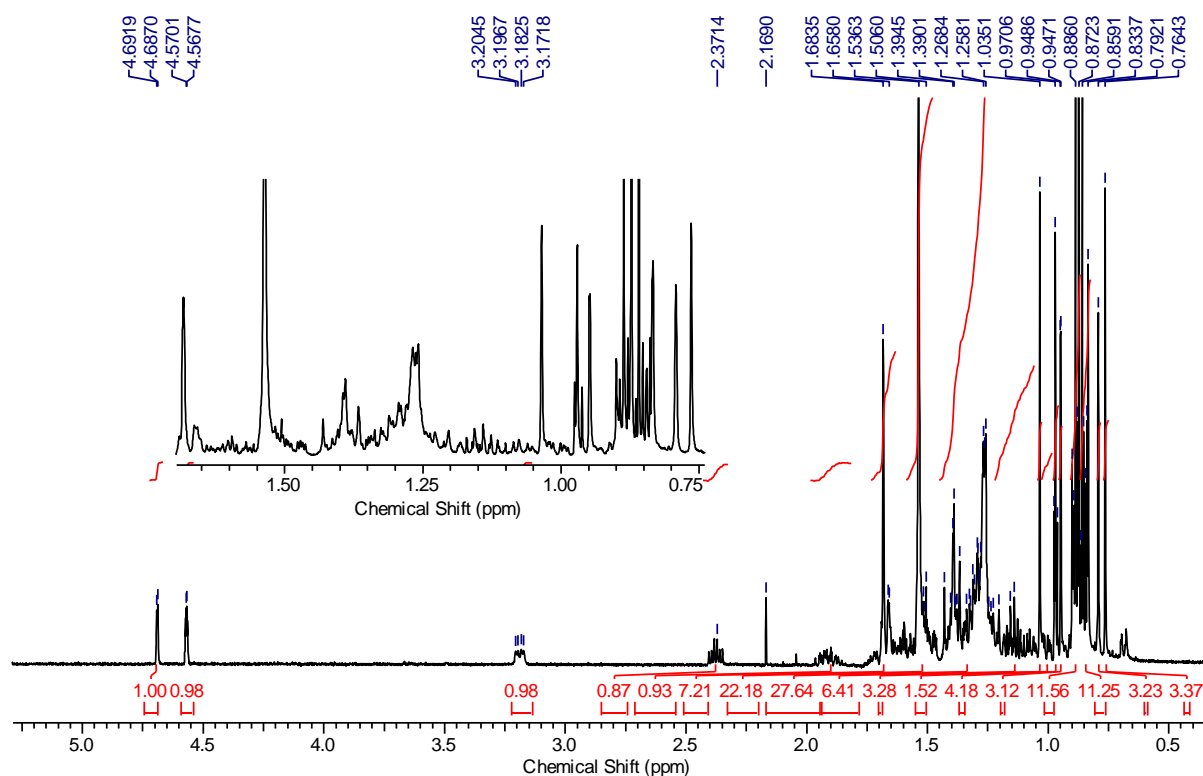


Figure 54. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé **AC14**.

La structure chimique du lupéol de formule brute $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ correspondant à 6 degrés d'insaturations, attribuée au composé **AC14**, a été confirmée grâce au spectre de RMN ^{13}C (Fig. 55), qui montre les signaux caractéristiques d'un dérivé triterpénique de la série des lupanes à δ_{H} 151,0 (C=C), 109,3 ($\text{CH}_2=\text{C}$), ensemble avec sept signaux de carbones des groupes méthyles à δ_{H} 28,0; 18,3; 16,1; 16,0; 15,4; 14,1 et 11,4 (Mahato et Kundu, 1994).

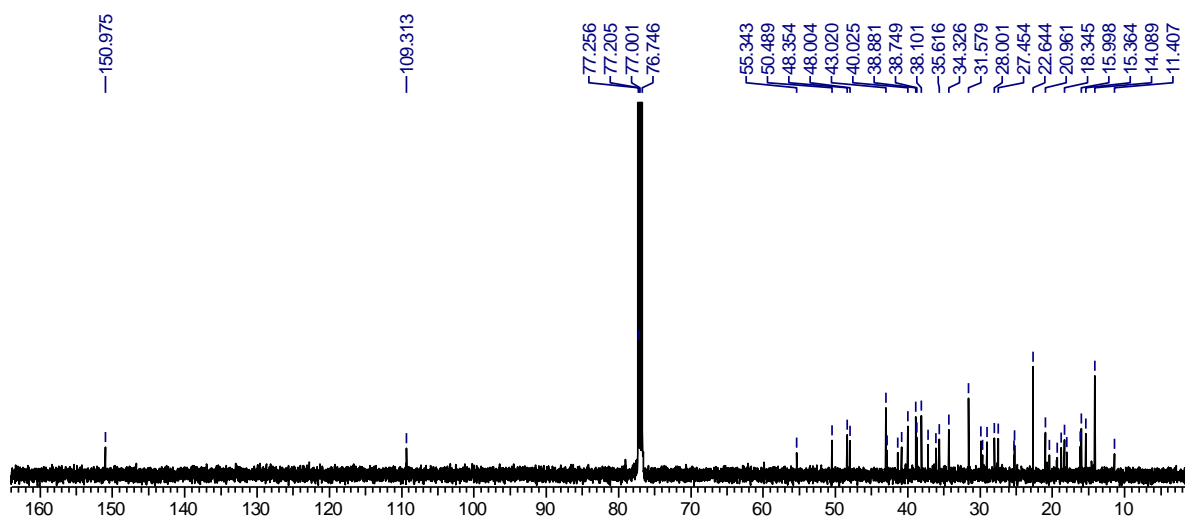
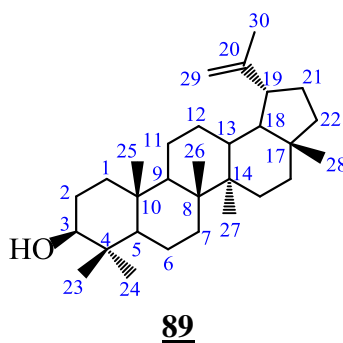


Figure 55. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) du composé **AC14**.

Les données complètes de RMN ^1H et ^{13}C du composé **AC14** sont présentées dans le [tableau 25](#).

La comparaison des données de RMN ^1H et ^{13}C de **AC14** avec celles décrites dans la littérature ont permis de lui attribuer la structure du lupéol **89**, dérivé d'un triterpénoïde ([Jia et Min, 2007](#); [Abdullahi et al., 2013](#)).



II.1.6.3.c) Identification du composé **AC15**

AC15 a été obtenu sous forme de solides blancs dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 25%. Il est soluble dans le chlorure de méthylène et répond aussi positivement au test de Liebermann-Burchard caractéristique des triterpènes. Le spectre de RMN ^1H du composé **AC15** ([Fig. 56](#)) indique la présence de six singulets de 3 protons chacun à δ_{H} 1,63, 1,31, 0,92, 0,85, 0,75, et 0,64. En plus, ce spectre présente un doublet d'un proton à δ_{H} 4,25 (1H, *d*, 5,2 Hz, H-3) et les signaux d'un système de spin *AB* constitué de deux protons méthyléniques, oléfiniques et diastéréotopiques à δ_{H} 4,69 et 4,67 (2H, *d*, 2,0 Hz, H-29).

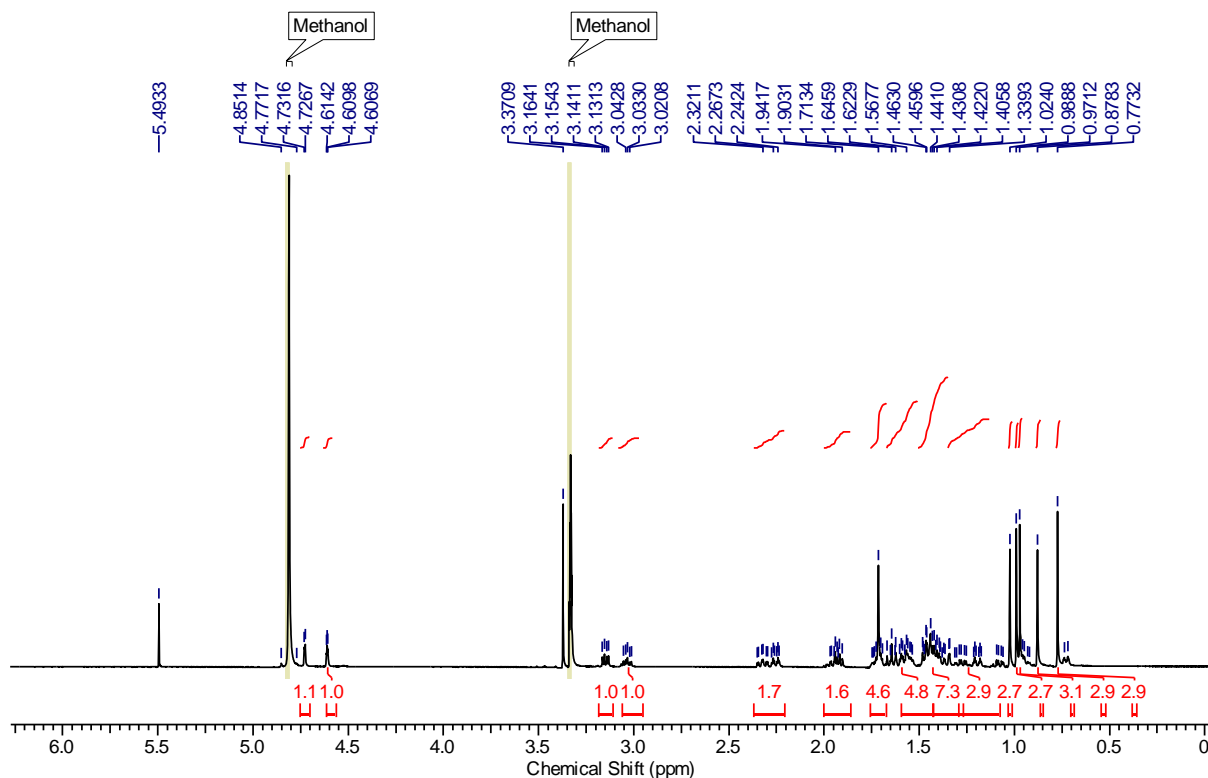


Figure 56. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) du composé **AC15**.

La structure chimique de l'acide bétulinique $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$, attribuée au composé **AC15** a été confirmée par son spectre de RMN ^{13}C (Fig. 57), qui montre les signaux caractéristiques d'un dérivé de triterpène de la série des lupanes à δ_{H} 178,6 (C=O du groupe acide), 150,6 (C=C), 108,8 ($\text{CH}_2=\text{C}$), en plus des six signaux de carbones méthyléniques à δ_{H} 28,1, 18,9, 15,9, 15,4, 15,3 et 13,8 (Mahato et Kundu, 1994).

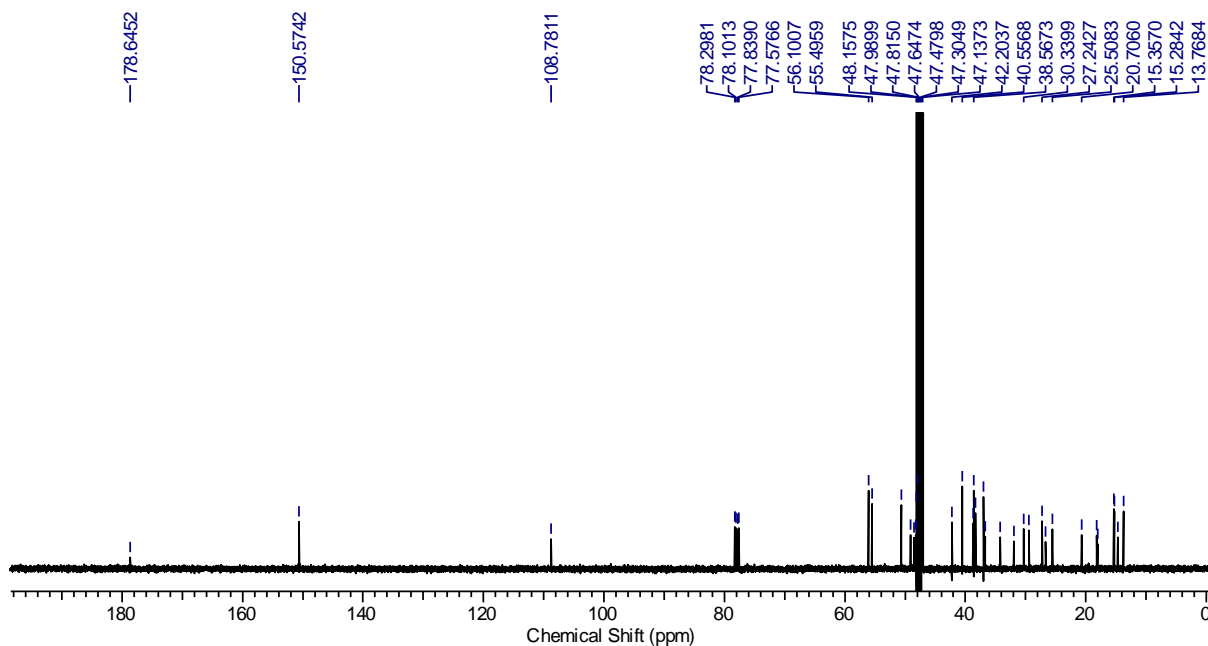


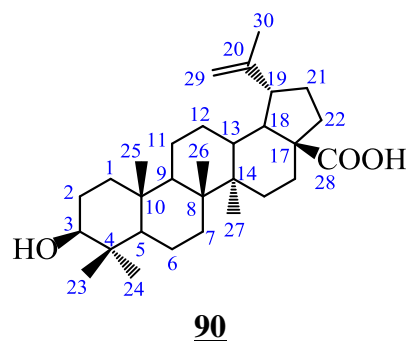
Figure 57. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) du composé **AC15**.

Le [tableau 25](#) suivant donne l'assignement des protons du composé **AC15**.

Tableau 25. Données de RMN ^1H et ^{13}C (500 & 125 MHz) des composés **AC14** (CDCl_3) et **AC15** (CD_3OD) comparées aux données de la littérature ([Abdullahi et al., 2013](#); [Satiraphan et al., 2012](#), resp.).

no.	Composé AC14		Litt.	Composé AC15		Litt.
	δ_{H} (<i>m</i> , <i>J</i> en Hz)	δ_{C}	δ_{C}	δ_{H} (<i>m</i> , <i>J</i> en Hz)	δ_{C}	δ_{C}
1	1,52 (<i>d</i> , 3,2)	38,7	38.7	1,56 (<i>d</i> , 3,2)	38,2	38.7
2	1,43 (<i>sl</i>)	27,5	27.4	1,42 (<i>sl</i>)	27,1	27.4
3	3,18 (<i>d</i> , 5,2)	79,0	79.0	4,25 (<i>d</i> , 5,2)	76,7	79.0
4	–	38,9	38.9	–	38,9	38.8
5	0,84 (<i>m</i>)	55,3	55.5	0,62 (<i>m</i>)	54,4	55.3
6	1,43 (<i>m</i>) et 1,31 (<i>m</i>)	19,3	18.5	1,43 (<i>m</i>) et 1,31 (<i>m</i>)	17,9	18.3
7	1,32 (<i>m</i>)	34,3	34.2	1,32 (<i>m</i>)	33,9	34.3
8	–	40,0	40.9	–	40,2	40.7
9	1,23 (<i>t</i> , 12,8)	50,5	50.5	1,24 (<i>t</i> , 12,8)	49,9	50.5
10	–	37,2	37.2	–	37,6	37.2
11	1,37 (<i>sl</i>) et 1,14 (<i>m</i>)	21,0	21.0	1,36 (<i>sl</i>) et 1,13 (<i>m</i>)	20,4	20.8
12	1,66 (<i>d</i> , 12,0) et 0,95 (<i>m</i>)	25,2	25.2	1,60 (<i>d</i> , 12,0) et 0,95 (<i>m</i>)	25,0	25.5
13	1,99 (<i>ddd</i> , 12,8, 11,6, 3,2)	38,1	38.1	2,21 (<i>ddd</i> , 12,8, 11,6, 3,2)	37,5	38.4
14	–	43,0	42.9	–	42,0	42.4
15	1,79 (<i>sl</i>) et 1,29 (<i>m</i>)	27,1	27.1	1,79 (<i>sl</i>) et 1,29 (<i>m</i>)	30,1	30.5
16	2,17 (<i>dl</i> , 2,8) et 1,37 (<i>s</i>)	31,6	35.5	2,10 (<i>dl</i> , 2,8) et 1,37 (<i>s</i>)	31,7	32.1
17	–	43,0	43.0	–	55,4	56.3
18	2,37 (<i>m</i>)	48,4	48.3	2,93 (<i>m</i>)	48,5	49.2
19	1,50 (<i>t</i> , 11,6)	48,0	48.0	1,50 (<i>t</i> , 11,6)	46,6	46.9
20	–	151,0	151.0	–	150,6	150.4
21	1,40 (<i>m</i>) et 1,09 (<i>m</i>)	29,9	29.9	1,40 (<i>m</i>) et 1,09 (<i>m</i>)	29,2	29.7
22	1,78 (<i>m</i>) et 1,41 (<i>m</i>)	35,6	40.0	1,78 (<i>m</i>) et 1,41 (<i>m</i>)	36,3	37.1
23	0,85 (<i>s</i>)	28,0	28.0	0,85 (<i>s</i>)	28,1	28.0
24	0,85 (<i>s</i>)	15,4	15.5	0,85 (<i>s</i>)	15,3	15.4
25	0,76 (<i>s</i>)	16,1	16.1	0,64 (<i>s</i>)	15,4	16.1
26	0,79 (<i>s</i>)	16,0	16.0	0,75 (<i>s</i>)	15,9	16.1
27	0,95 (<i>s</i>)	14,1	14.8	0,92 (<i>s</i>)	13,8	14.7
28	0,97 (<i>s</i>)	18,3	18.0	–	178,6	180.5
29	4,69 (<i>d</i> , 2,0) et 4,57 (<i>sl</i>)	109,3	109.3	4,68 (<i>d</i> , 2,0) et 4,55 (<i>sl</i>)	108,8	109.7
30	1,06 (<i>s</i>)	19,5	19.5	1,63 (<i>s</i>)	18,9	19.4

La comparaison des données de RMN ^1H et ^{13}C du composé **AC15** avec celles décrites dans la littérature a permis d'identifier ce composé comme étant l'acide bétulinique **90** ([Jia et Min, 2007](#); [Satiraphan et al., 2012](#)).



II.1.6.3.b) Identification du composé AC16

AC16 a été obtenu sous forme de solides blancs dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 20%. Il est soluble dans le chlorure de méthylène et répond aussi positivement au test de Liebermann-Burchard caractéristique des triterpènes.

Le spectre de RMN ^1H du composé **AC16** (Fig. 58) montre plusieurs signaux dans la région caractéristique des signaux des protons aliphatiques chevauchant entre δ_{H} 2,36–1,22, des signaux de 3-protons singulets à δ_{H} 1,25, 1,18, 1,05, 1,01, 0,95, 0,89, 0,84 et 0,73 (3H chacun, *s*) correspondant à ceux des méthyles terminaux. Le spectre de RMN ^{13}C (Fig. 59) révèle la présence d'un signal à δ_{C} 213,2 (attribuable au carbone du carbonyle de cétone) et d'autres signaux qui sont caractéristiques des carbones saturés. Ces données sont en accord avec la structure de la friedéline (Abreu *et al.* 2011) de formule brute $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ et correspondant à 6 degrés d'insaturations.

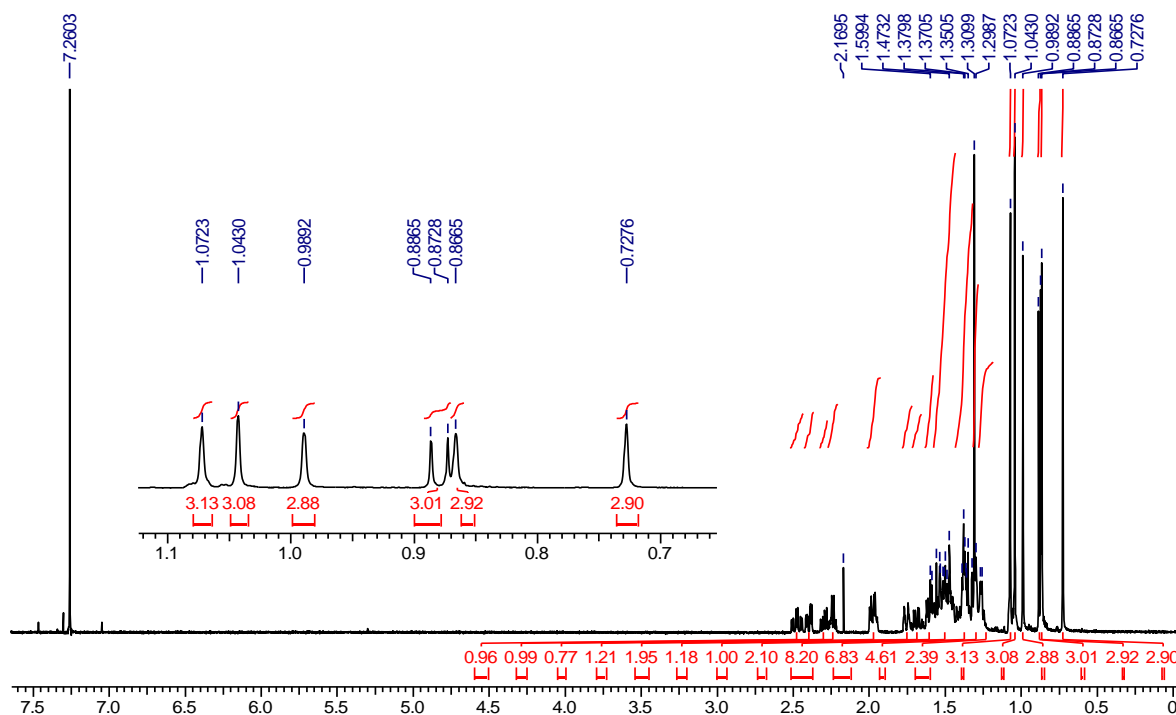


Figure 58. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé **AC16**.

Le spectre de RMN ^{13}C du composé **AC16** (Fig. 59) indique la présence de 30 signaux de carbones (8 méthyles, 11 méthylènes, 5 méthines et 6 carbones quaternaires). Le signal autour de δ_{C} 49,2 ppm correspond au méthine C-4 lié au méthyle (C-23) à δ_{C} 6,8 ppm (Mann et al., 2011). Les autres carbones méthyléniques C-24, C-25, C-26, C-27, C-28, C-29 et C-30 apparaissent à δ_{C} 14,6, 17,9, 20,3, 18,7, 32,0, 35,0 et 31,7 ppm, respectivement. Les carbones quaternaires C-5, C-9, C-13, C-14, C-17 et C-20 résonnent à δ_{C} 45,5, 37,5, 39,5, 38,2, 30,0 et 28,2 ppm. Les signaux à 53,0, 59,5 et 42,5 ppm appartiennent à C-8, C-10 et C-18, respectivement.

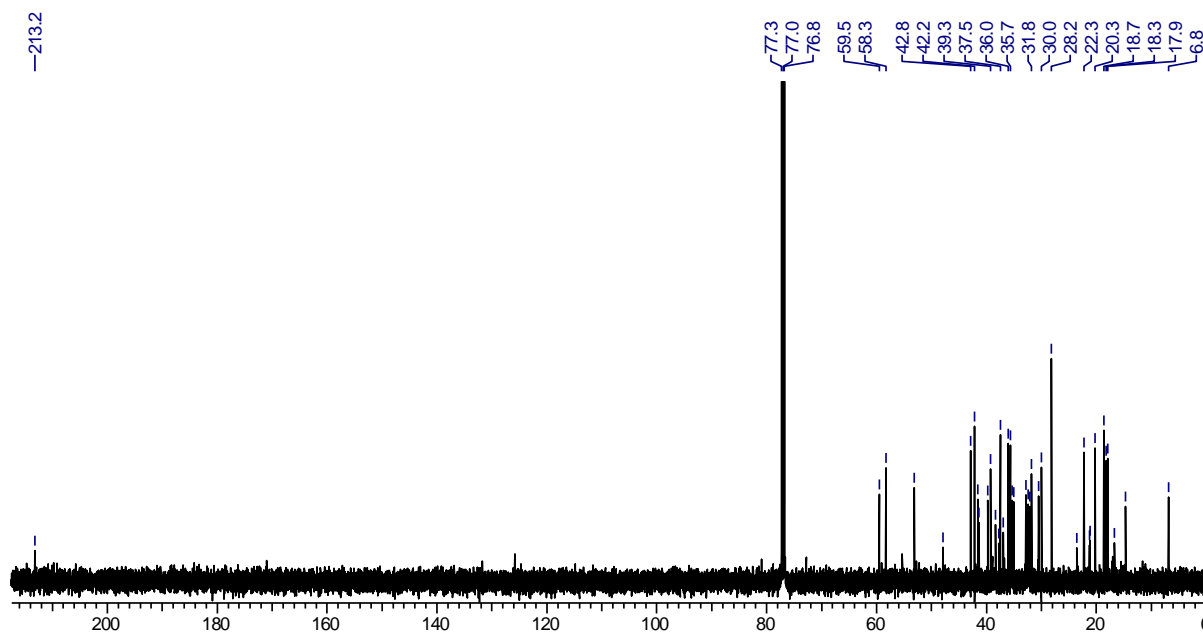


Figure 59. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) du composé **AC16**.

Les données complètes de RMN ^1H et ^{13}C du composé **AC16** sont présentées dans le tableau 26.

La comparaison des données de RMN ^1H et ^{13}C de **AC16** avec celles décrites dans la littérature ont permis de lui attribuer la structure de la friedéline **53** (Mann et al., 2011).

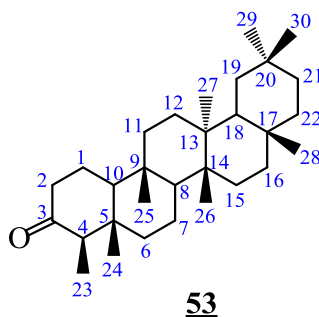


Tableau 26. Données de RMN ^1H et ^{13}C (500 & 125 MHz) des composés **AC16** et **AC17** (CDCl_3) comparées à celles de la littérature (Ragasa *et al.*, 2015; Kannathasan *et al.*, 2015).

no.	Composé AC16		Litt.	Composé AC17		Litt.
	δ_{H} (m, J en Hz)	δ_{C}	δ_{C}	δ_{H} (m, J en Hz)	δ_{C}	δ_{C}
1	1,95 (m) et 1,71 (m)	22,3	22.3	1,56 (d, 3,2)	16,3	15.8
2	2,37 (ddd, 12,8, 11,6, 3,2) 2,27 (ddd, 12,8, 11,6, 3,2)	41,2	41.5	1,42 (sl)	35,3	35.2
3	–	213,2	213.2	3,70 (t, 5,2)	72,6	72.8
4	2,25 (q, 12,8)	58,3	58.2	0,62 (m)	49,8	49.2
5	–	42,2	42.1	–	37,8	37.5
6	1,74 (m) et 1,28 (m)	41,2	41.3	1,43 (m) et 1,31 (m)	41,7	42.8
7	1,49 (m) et 1,36 (m)	18,3	18.2	1,32 (m)	17,5	17.5
8	1,38 (dd, 12,8, 11,6)	53,0	53.1	–	53,2	53.2
9	–	37,5	37.4	–	36,1	36.1
10	1,53 (t, 12,8)	59,8	59.4	1,24 (t, 12,8)	61,4	61.0
11	1,45 et 1,26 (t, 11,6)	35,7	35.6	1,36 (sl) et 1,13 (m)	35,6	35.7
12	1,33 (d, 12,0) et 1,32 (m)	31,8	30.5	1,60 (d, 12,0) et 0,95 (m)	29,3	29.3
13	–	39,7	39.7	1,86 (ddd, 12,8, 11,6, 3,2)	37,5	37.9
14	–	38,2	38.3	–	39,3	39.1
15	1,47 (sl) et 1,27 (m)	32,4	32.4	1,72 (sl) et 1,29 (m)	30,0	30.0
16	1,58 (dl, 2,8) et 1,35 (s)	36,0	36.0	1,55 (dl, 2,8) et 1,37 (s)	35,6	35.6
17	–	30,0	30.0	–	29,6	29.6
18	1,56 (m)	42,8	42.8	1,43 (m)	41,6	42.4
19	1,37 et 1,22 (t, 11,6)	35,3	35.3	1,50 (t, 11,6)	35,3	35.3
20	–	28,2	28.2	–	27,8	27.8
21	1,50 (m) et 1,31 (m)	32,7	32.8	1,40 (m) et 1,09 (m)	32,3	32.3
22	1,51 (m) et 0,95 (m)	39,5	39.2	1,78 (m) et 1,41 (m)	38,9	38.9
23	0,85 (d, 6,8)	6,8	6.8	0,97 (d, 7,0)	11,5	11.4
24	0,73 (s)	14,6	14.6	0,98 (s)	16,3	16.4
25	0,87 (s)	17,9	17.9	0,83 (s)	18,6	18.6
26	1,01 (s)	20,3	20.2	0,91 (s)	20,1	20.1
27	1,05 (s)	18,7	18.7	0,92 (s)	18,2	18.2
28	1,18 (s)	32,0	32.1	0,94 (s)	32,1	32.1
29	1,00 (s)	35,0	35.0	0,93 (s)	35,0	35.0
30	0,94 (s)	31,8	31.8	1,63 (s)	31,8	31.8

II.1.6.3.c) Identification du composé **AC17**

AC17 a été obtenu sous forme de solides blancs dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 20%. Il est soluble dans le chlorure de méthylène et répond aussi positivement au test de Liebermann-Burchard caractéristique des triterpènes.

Son spectre de RMN ^1H (Fig. 60) montre sept singulets de trois protons chacun à δ_{H} 0,86, 0,94, 0,96, 0,99, 1,00, 1,01 et 1,17 attribuables aux méthyles angulaires des triterpènes;

un doublet de trois protons à δ_H 0,93 (d , 7,3 Hz) caractéristiques du méthyle en C-2 de la série des friedélanes; un multiplet à δ_H 3,73, caractéristique du proton H-3, au pied de l'hydroxyle.

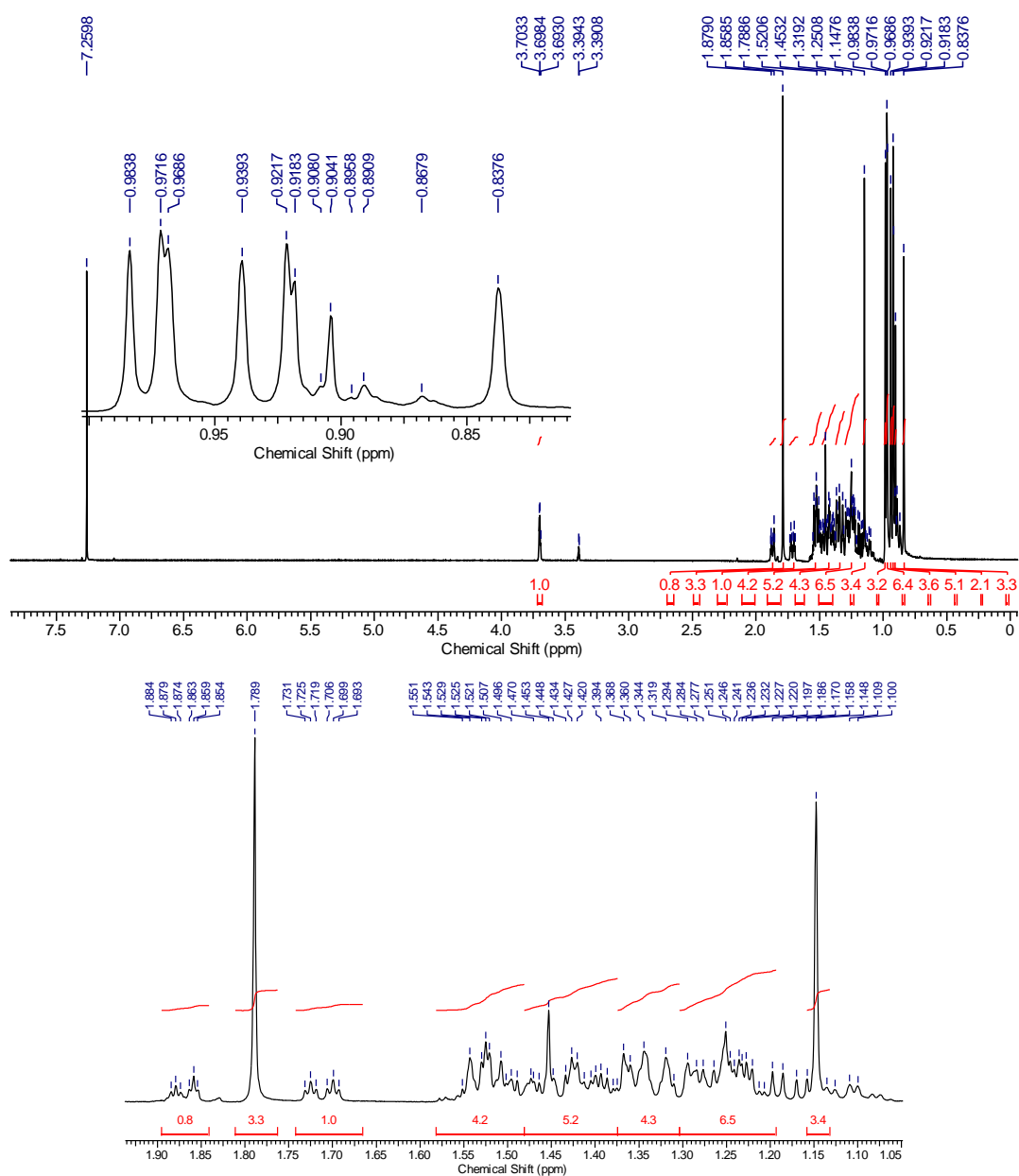


Figure 60. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé AC17.

Le spectre de RMN ^{13}C du composé AC17 (Fig. 61) indique la présence de 30 signaux de carbones (8 méthyles, 11 méthylènes, 5 méthines et 6 carbones quaternaires). Dû à l'électronégativité de l'atome d'oxygène, le carbone C-3 résonne à δ_C 72,6 ppm et le signal autour de δ_C 49,8 ppm correspond au méthine C-4 qui est lié au méthyle (C-23) à δ_C 11,5 ppm. Les autres carbones des méthyles à C-24, C-25, C-26, C-27, C-28, C-29 et C-30 apparaissent à δ_C 16,3, 18,6, 20,1, 18,2, 32,1, 35,0 et 31,8 ppm respectivement. Ces données

sont en parfait accord avec les données de RMN ^{13}C de l'épifriedélinol (Kannathasan et al., 2015).

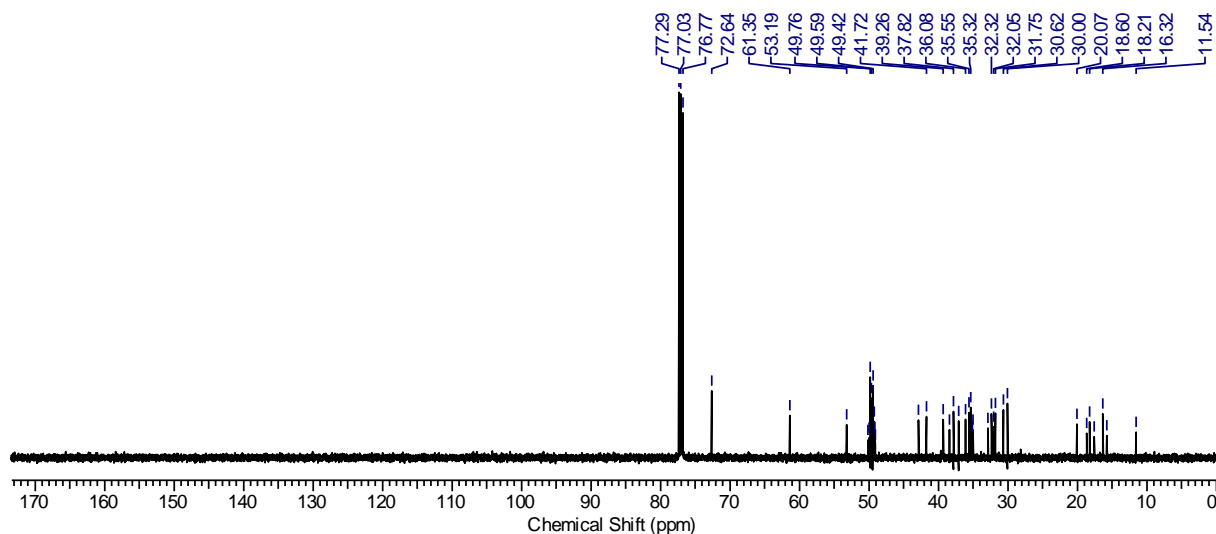
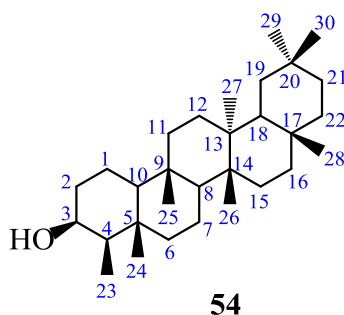


Figure 61. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) du composé AC17.

L'ensemble de toutes ces données spectrales (Tableau 26) et par comparaison avec celles décrites dans la littérature nous a permis d'identifier le composé AC17 comme étant l'épifriedélinol 54.



II.1.6.4. Identification du composé AC18

AC18 a été obtenu sous forme de solides blancs dans le mélange *n*-Hex/EtOAc 15%. Il réagit positivement au test de Liebermann-Burchard; donnant une coloration bleue qui devient rapidement vert-noirâtre, caractéristique des stérols (Luhata et Munkombwe, 2015). L'analyse de ce composé sur une plaque de CCM avec un échantillon authentique présent au laboratoire nous a permis de suggérer qu'il s'agissait d'un mélange de stérols.

Le spectre de RMN ^1H de AC18 (Fig. 62) montre la présence des signaux caractéristiques tels qu'un multiplet de deux protons à δ_{H} 3,53 (2H, *m*), attribuable au proton H-3 de l'oxyméthine du mélange des deux stérols (Luhata and Munkombwe, 2015); un doublet intégrant pour deux protons à δ_{H} 5,34 (2H, *t*, 5,0 Hz), attribuable aux protons H-6 oléfiniques du β -sitostérol $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ et de stigmastérol $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$; deux signaux de protons

oléfiniques à δ_H 5,16 (1H, *dd*, 8,5, 15,0 Hz) et 5,03 (1H, *dd*, 8,5, 15,0 Hz) caractéristiques de H-22 et H-23, respectivement du stigmastérol (Jamal et al., 2009).

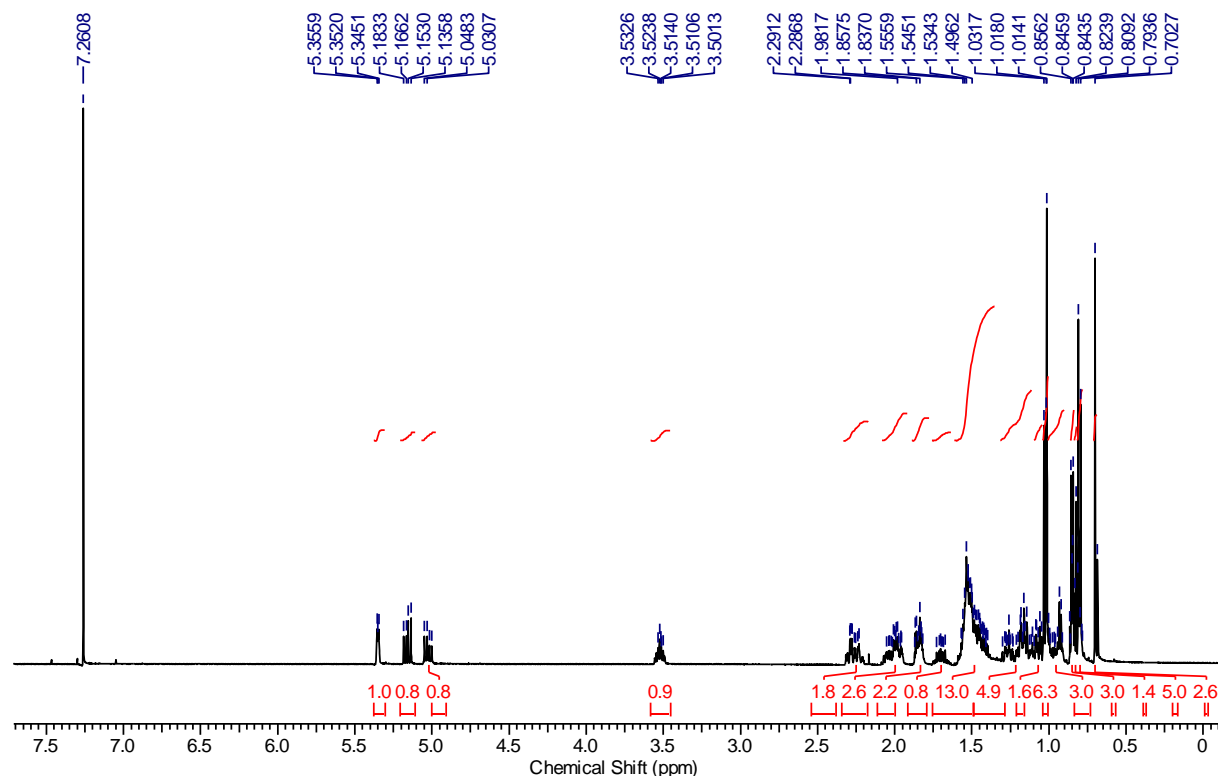


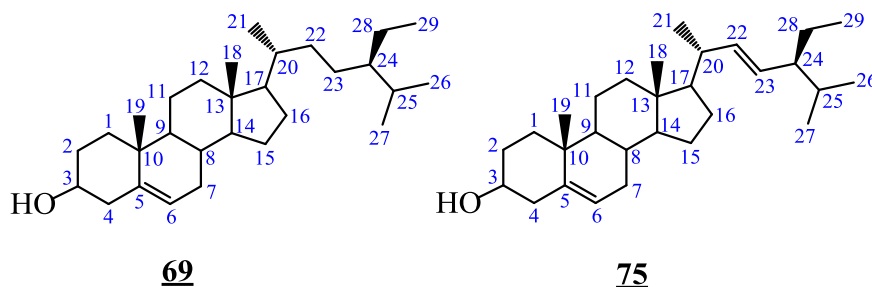
Figure 62. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé **AC18**.

Tableau 27. Données de RMN ^1H (CDCl_3) des signaux caractéristiques du mélange de stérols comparées au β -sitostérol et au stigmastérol (Raju et al., 2012).

H no.	β -sitostérol ^1H (<i>m</i> , J/Hz)	Stigmastérol ^1H (<i>m</i> , J/Hz)	AC18 ^1H (<i>m</i> , J/Hz)
3	3,51 (<i>m</i>)	3,52 (<i>dd</i> , 9,6, 4,8)	3,53 (<i>dd</i> , 9,6, 4,8)
6	5,34 (<i>d</i> , 5,2)	5,34 (<i>d</i> , 5,2)	5,34 (<i>d</i> , 5,2)
18	0,68 (<i>s</i>)	0,68 (<i>s</i>)	0,68 (<i>s</i>)
19	1,0 (<i>s</i>)	1,00 (<i>s</i>)	1,01 (<i>s</i>)
21	0,92 (<i>d</i> , 6,0)	0,92 (<i>d</i> , 6,0)	0,92 (<i>d</i> , 6,0)
22	–	5,16 (<i>dd</i> , 15,0, 8,4)	5,16 (<i>dd</i> , 15,0, 8,4)
23	–	5,03 (<i>dd</i> , 15,0, 8,4)	5,03 (<i>dd</i> , 15,0, 8,4)
26	0,83 (<i>d</i> , 7,2)	0,81 (<i>d</i> , 7,2)	0,82 (<i>d</i> , 7,2)
27	0,79 (<i>d</i> , 7,2)	0,79 (<i>d</i> , 7,2)	0,81 (<i>d</i> , 7,2)
29	0,83 (<i>d</i> , 7,2)	0,85 (<i>d</i> , 8,0)	0,85 (<i>d</i> , 8,0)

La comparaison des données de RMN ^1H de **AC18** avec celles décrites dans la littérature ont permis de confirmer qu'il s'agissait d'un mélange de β -sitostérol **69** et de stigmastérol **75** (Luhata et Munkombwe, 2015).

Les données de RMN ^1H caractéristiques de **AC18** comparées à celles de β -sitostérol et stigmastérol (Raju et al., 2012) sont présentées dans le [tableau 27](#).



II.2. Hypothèse de liens biogénétiques entre les composés isolés

La détermination structurale des métabolites secondaires isolés des fruits d'*A. cordifolia* montre, en dehors des composés **53**, **54**, **89–90**, que ces composés appartiennent principalement aux acides gras (**7**, **78–85**).

Le schéma 8 présente l'hypothèse la plus plausible de la voie biosynthétique de ces composés isolés.

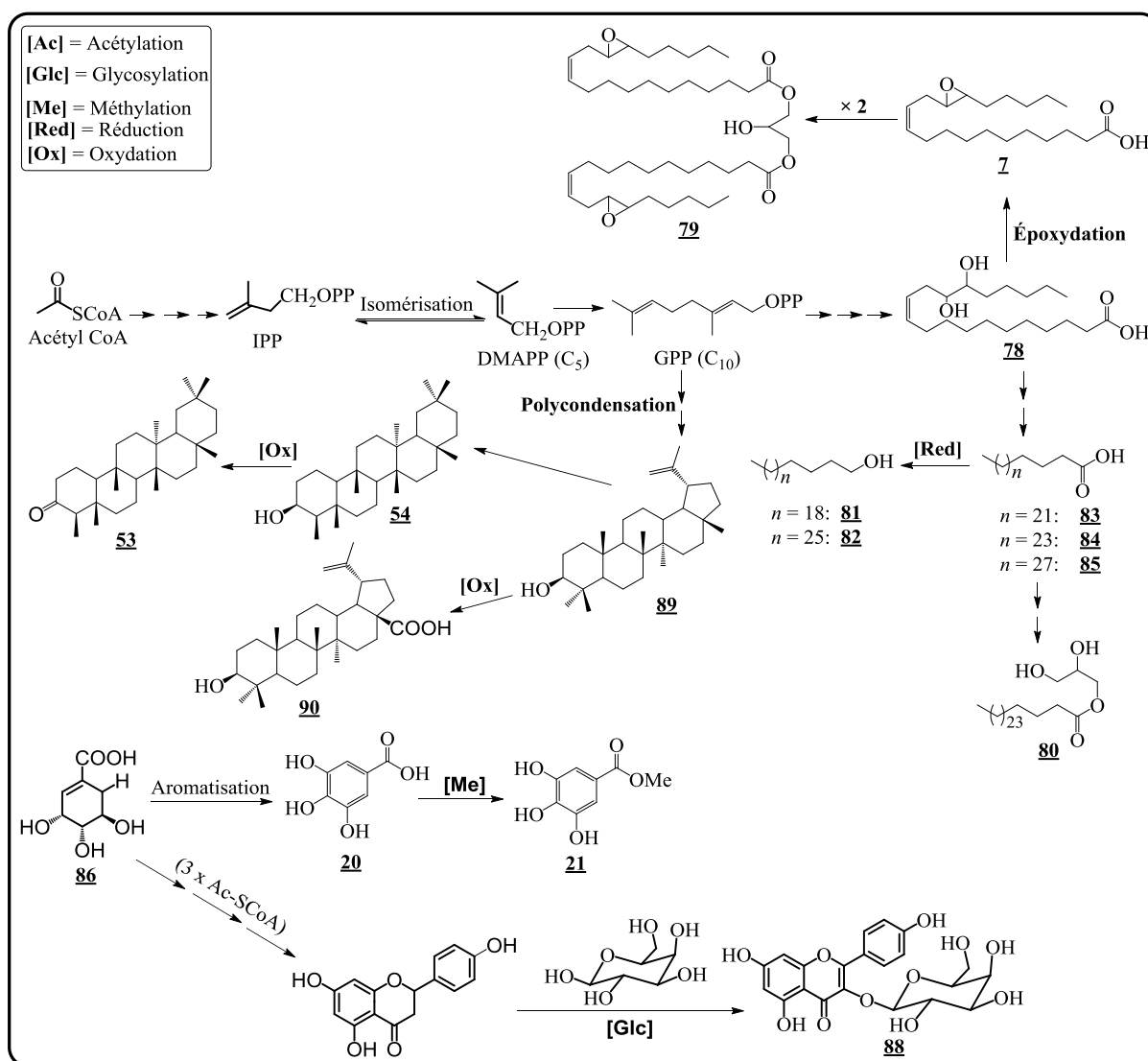


Schéma 8. Liens biogénétiques entre les composés isolés.

Ce schéma montre que tous les acides gras isolés (7, 78–85) et les triterpènes (53–54, 89–90) ont la même voie biosynthétique à savoir celle de l'acétyl Coenzyme A. Par contre, les composés 20, 21 et 88 ont une voie d'acide shikimique 86 alors que l'unique flavonoïde isolé (88) a une voie mixte à savoir celle de l'acide shikimique et de trois unités d'acétyl Coenzyme A.

II.3. Activités antimicrobiennes de quelques composés isolés

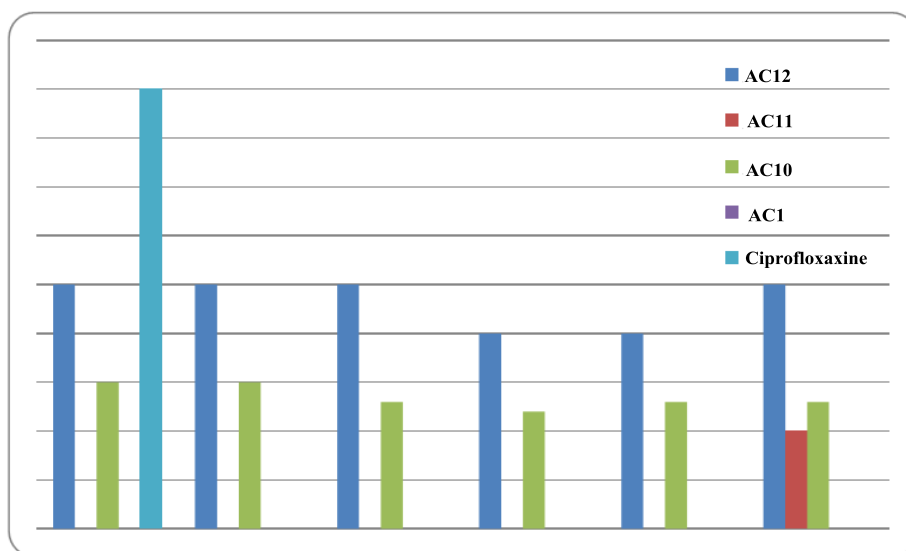


Figure 63. Activité antimicrobienne (diamètre d'inhibition, mm) des composés (20 mg/mL) vis-à-vis de microorganismes.

L'activité antimicrobienne de quatre composés des fruits mûrs d'*A. cordifolia* et antibiotiques de référence vis-à-vis de six microorganismes pathogènes à l'homme a été évaluée par la méthode de diffusion.

Tableau 28. Diamètres d'inhibition des composés 20, 21, 78 et 86.

Composé	Ech ATCC 25922	Ech clinique	Ech ATCC 35218	Kp ATCC 700603	Kp ATCC 13883	Cb Clinique
<u>20</u>	–	–	–	–	–	10
<u>21</u>	25	25	25	20	20	25
<u>78</u>	–	25	–	–	–	20
<u>86</u>	15	15	13	12	13	13
Méthanol (50%)	0	0	0	0	0	0
Ciprofloxacin	45	28	28	22	22	nd

nd = non determine; (–) = inactive.

Les composés 20, 78, 86 et 21 obtenus en quantité suffisante, ont été testés pour leur activité antibactérienne en utilisant un test de diffusion sur gélose et leurs activités ont été comparées à celle de la ciprofloxacin prise comme référence. Le [tableau 28](#) résume les diamètres d'inhibition obtenus. Ces résultats montrent que le gallate de méthyle (21) et l'acide

shikimique (**86**) sont actifs sur toutes les souches microbiennes disponibles (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* et *Citrobacter braakii*), alors que l'acide gallique (**20**) n'est actif que sur *Citrobacter braakii*. Le nouveau composé, l'acide dépoxyalchornoïque (**78**) présente une activité modérée contre *C. braakii* (DZI = 20 mm) et *E. coli* (DZI = 25 mm) (Fig. 64).

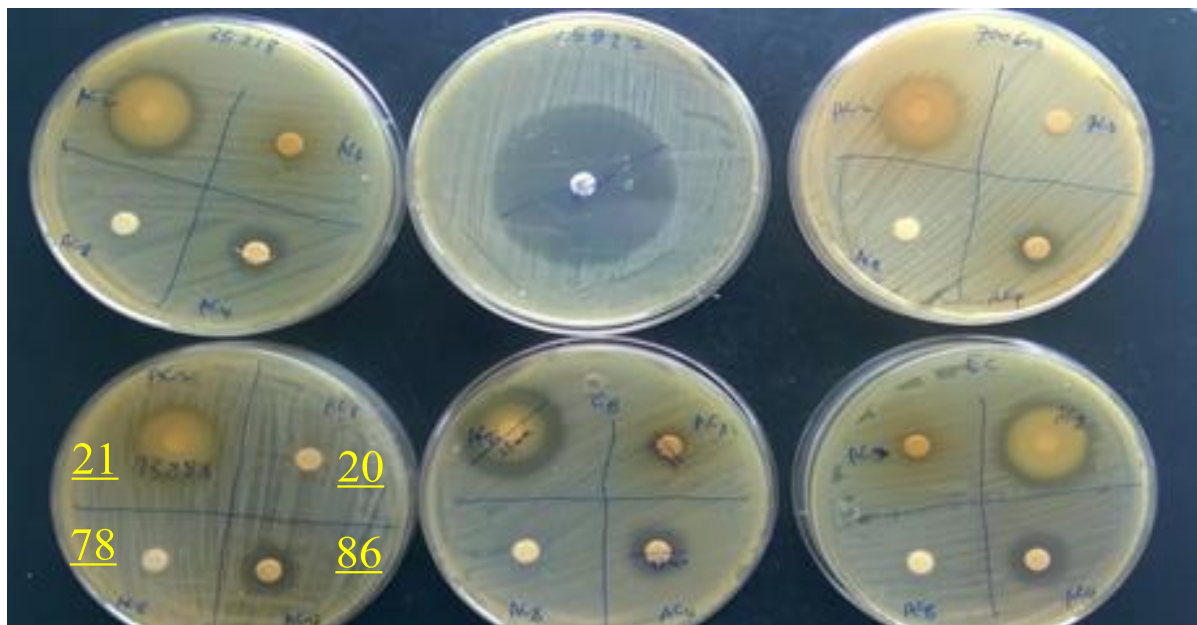


Figure 64. Activité antimicrobienne (diamètres d'inhibition, zone claire en mm) des composés (20 mg/mL) vis-à-vis de microorganismes.

Dans ce test, le composé **21** était le plus actif contre tous les microorganismes testés avec le diamètre de la zone d'inhibition observé entre 20 et 25 mm, suivi des composés **20** et **86** avec leurs diamètres de zone d'inhibition de 10 et 12–15 mm, respectivement. Les acides phénoliques isolés, constitués des composés **20** et **21**, ont présenté une activité intéressante. Ces résultats ont été confirmés par ceux décrits dans la littérature (Cueva *et al.*, 2010, Pone *et al.*, 2016). Visiblement, il semblerait que le groupement méthoxyle présent dans le composé **21** soit responsable de sa différence d'activité significative par rapport au composé **20**. Ainsi, nos résultats sur l'activité antibactérienne de ces composés isolés de *A. cordifolia* ont encore renforcé les précédents résultats sur l'efficacité des composés de cette plante contre les infections microbiennes (Siwe *et al.*, 2016).

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Les travaux chimiques effectués sur les fruits mûrs d'*Alchornea cordifolia* nous ont permis de détecter par la technique de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS), un certain nombre de composés qui, en plus du mélange de β -sitostérol et de stigmastérol, ont été isolés et caractérisés parmi lesquels :

- Neuf (09) acides gras dont deux (02) dérivés nouveaux : l'acide déépoxyalchornoïque et le bisalchornoate de glycérol; six (06) autres isolés pour la première fois de la plante : le 2,3-dihydroxypropyloctacosanoate, le 1-tricosanol, le 1-triacontanol, les acides *n*-hexacosanoïque, *n*-octacosanoïque et dotriacontanoïque et un (01) déjà isolé de la plante à savoir l'acide alchornoïque.

- Trois (03) shikimates : l'acide gallique et le gallate de méthyle précédemment décrits de la plante, l'acide shikimique isolé pour ici pour la première fois de la plante;

- Trois (04) triterpènes dont deux (02) de la série des lupanes : le lupéol et l'acide bétulinique, et deux (02) autres de la série des ursanes : la friedéline et l'épifriedélinol;

- Un (01) flavonoïde : le kaempférol-3-*O*-galactopyranoside;

- Un mélange de stérols : le β -sitostérol et le stigmastérol.

Quatre d'entre eux ont été testés sur six souches bactériennes dont trois d'*Escherichia coli*, deux de *Klebsiella pneumonia*, et une de *Citrobacter braakii*. Le gallate de méthyle, l'acide shikimique et l'acide déépoxyalchornoïque ont montré une inhibition significative sur *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* et *Citrobacter braakii* avec des valeurs de zone d'inhibition allant de 12 à 25 mm pour une concentration de 20 mg/mL.

Au terme de nos travaux sur les fruits mûrs d'*Alchornea cordifolia*, nous envisageons:

- ▶ Mettre en application les méthodes analytiques utilisées en phytochimie pour la détection, l'isolement et la caractérisation des composés de la plante *A. cordifolia* dans les analyses forensiques; notamment pour ce qui concerne la caractérisation des poisons, des drogues et des traces de composés organiques et minéraux dans le cadre d'enquêtes judiciaires.

- ▶ Étendre l'étude sur les plantes stupéfiantes à l'instar du cannabis.

CHAPITRE III : PARTIE EXPÉRIMENTALE

III.1 Appareillage

Les points de fusion ont été pris sur un appareil à points de fusion de type Gallenkamp, modèle MFB.595.010 m.

Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectrophotomètre de type Shimadzu FT-IR.

Les spectres de masse haute résolution ont été obtenus à l'aide d'un spectromètre de type QTOF (Bruker, Allemagne), muni d'une source ESI en mode d'ionisation positive.

Les spectres de RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés à l'aide des appareils Bruker à 500 MHz. Les déplacements chimiques sont exprimés en parties par million (ppm) à partir du tétraméthylsilane (TMS) comme standard (référence) interne.

Les chromatographies sur colonnes ont été réalisées avec du gel de silice de type 60 F₂₅₄ et 100 (Merck, Darmstadt, Allemagne).

Les chromatographies sur couche mince analytique ont été réalisées sur des plaques préfabriquées recouvertes de gel de silice de type 60 F₂₅₄ (Merck, Darmstadt, Allemagne). Les taches (spots) ont été détectées avec la lampe UV (254 et 366 nm) et révélées par pulvérisation de l'acide sulfurique dilué à 50%. Les plaques sont pulvérisées sous la hotte et calcinées à l'étuve à une température d'environ 100 °C.

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sur un polarimètre de type PerkinElmer, modèle 241.

Les spectres HMBC, HMQC, NOESY et COSY ont été enregistrés avec les séquences d'impulsions usuelles.

Les constantes de couplage J sont exprimées en hertz.

Les révélateurs utilisés pour les CCM étaient principalement l'acide sulfurique dilué (50%) et la lampe UV à 254 et 366 nm. Les plaques de CCM ont été pulvérisées sous la hotte à flux laminaire, puis calcinées dans une étuve à 110 °C.

Les spectres de masse à haute résolution ont été obtenus à l'aide d'un spectromètre de type LTQ-Orbitrap Spectrometer (ThermoFisher, Santa Clara, USA). Ce spectromètre était constitué d'un système HPLC (Taufkirchen, Germany), d'une pompe-LC, d'un détecteur de type DAD, d'un système d'injection automatique utilisant une colonne C18 de type Macherey-Nagel (50×3 mm, 1,8 μm) et d'une source HESI-II sous une énergie de 35 eV.

III.2. Matériel végétal

Les fruits mûrs d'*A. cordifolia* ont été récoltés à Bangangté (Région de l'Ouest Cameroun) en mai 2014 et ont été identifiés par M. Victor NANA, botaniste de l'Herbier

National du Cameroun à Yaoundé. L'échantillon de cette plante a été enregistré et conservé à l'Herbier National du Cameroun sous le numéro 40512/HNC.

III.3. Extraction et isolement des composés

Le matériel végétal, séché et transformé en poudre (2,8 kg), a été extrait par macération avec le mélange CH₂Cl₂/MeOH (1:1) pendant 72 h, puis au méthanol pendant 48 h. Les filtrats obtenus ont été concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif et ont donné respectivement 160 et 15 g d'extraits bruts. Ces extraits ont été combinés sur la base d'un CCM analytique pour donner 175 g.

III.3.1. Analyse LC-MS de l'extrait brut

Une masse de 1 mg d'extrait brut est dissoute dans le méthanol et diluée convenablement pour l'analyse LC-MS (pressions : 47 & 64 psi, T = 27 °C). Le but de cette analyse était d'étudier les masses moléculaires des composés contenus dans l'extrait des fruits d'*A. cordifolia*, afin de voir si cette plante produit des composés non encore décrits dans la littérature de cette plante. Malgré la complexité de l'extrait brut comme le montre le chromatogramme (Fig. 4 et Tableau 11), nous avons pu détecter les masses correspondant aux composés non encore décrits de la plante. C'est ainsi que nous avons procédé au fractionnement de l'extrait brut par chromatographie flash sur gel de silice afin de disposer des fractions moins complexes accessibles pour une séparation plus aisée.

III.3.2. Chromatographie flash de l'extrait brut

Une partie de l'extrait brut (170 g) a été soumise à une chromatographie flash sur gel de silice et éluée avec des mélanges de *n*-Hex/AcOEt de polarité croissante (0-100%) pour donner un total de 99 fractions d'environ 150 mL chacune. Ces fractions ont été regroupées sur la base de l'analyse CCM en quatre séries principales : **I** (15 g, *n*-Hex/AcOEt 10:0 et 9.5:0.5), **II** (6 g, *n*-Hex/AcOEt 4:1), **III** (3 g, *n*-Hex/AcOEt 1:1) et **IV** (10 g, AcOEt). Le tableau 29 suivant présente le chromatogramme du dégrossissement de l'extrait brut.

Tableau 29. Chromatogramme de l'extrait brut des fruits mûrs d'*A. cordifolia*.

Fractions	Éluant	Séries	Remarques
1–15	<i>n</i> -Hex 100% et <i>n</i> -Hex/AcOEt (9.5:0.5)	I (15 g)	Mélange d'huile complexe
16–40	<i>n</i> -Hex/AcOEt (8:2–4:6)	II (6 g)	Mélange d'au moins 3 composés
41–60	<i>n</i> -Hex/AcOEt (3:7–1:9)	III (3 g)	Quatre tâches majeures (jaunes)
61–99	AcOEt (100%)	IV (10 g)	Mélange d'au moins 3 composés

III.3.3. Traitement de la fraction I

La fraction **I** (15 g) obtenue avec de l'hexane pur comme éluant, était constitué d'un mélange complexe d'huile et n'a pas été étudiée.

III.3.4. Traitement de la série II

Une masse de 1 mg de la série **II** (6 g) obtenue au mélange *n*-Hex/AcOEt (8:2–4:6, *v/v*), a été soumise à l'analyse LC-MS. Le résultat de cette analyse a permis de détecter la présence plusieurs pics dont deux apparaissaient aux temps de rétention respectifs 11,1 et 13,0 min (Fig. 5). Le couplage de ces deux pics à la spectrométrie de masse correspondait aux composés de masses respectives 705,5689 et 343,2848 non encore décrits dans la littérature.

C'est ainsi que la série **II** (6 g) a été traitée par chromatographie sur gel de silice (0.040–0.063 mm) et éluee par un gradient de *n*-Hex/AcOEt (9:1–4:6, *v/v*) pour donner 73 fractions (**II**_{1–73}) d'environ 100 mL chacune, qui par la suite ont été combinées sur la base de leur profil de CCM analytique. Le [tableau 30](#) suivant montre le chromatogramme de la chromatographie de la série **II**.

Tableau 30. Chromatogramme de la série II (6 g).

Sous-fraction	Éluant	Masse	Observation/Constituants
II _{1–4}	<i>n</i> -Hex/AcOEt (9:1)	1,2 g	Mélange complexe d'huile
II _{5–8}	<i>n</i> -Hex/AcOEt (9:1)	200 mg	II ₅ précipite pour donner les solides blancs de AC1 (5,3 mg)
II _{9–19}	<i>n</i> -Hex/AcOEt (8,5:1,5)	300 mg	II ₁₂ précipite pour donner les solides blancs de AC18 (3,7 mg)
II _{20–35}	<i>n</i> -Hex/AcOEt (8:2)	2,0 g	Mélange de deux composés AC2 et AC3
II _{36–57}	<i>n</i> -Hex/AcOEt (5:5)	1,0 g	Mélange des composés AC5 et AC6
II _{58–73}	<i>n</i> -Hex/AcOEt (4:6)	500 mg	Mélange des composés AC7 , AC8 et AC9

La sous-fraction **II**_{20–35} a été soumise à une autre chromatographie sur gel de silice (60×2,5 cm, 0,040–0,063 mm) et éluee avec le mélange *n*-Hex/AcOEt (8:2) pour donner les solides blancs de **AC2** (3,2 mg) et **AC3** (10,0 mg).

La sous-fraction **II**_{36–57} a été soumise à la chromatographie sur gel de silice (60×2,5 cm, 0,040–0,063 mm) et éluee avec le mélange *n*-Hex/AcOEt (5:5) pour donner les solides blancs de **AC5** (3,8 mg) et **AC6** (4,0 mg).

La sous-fraction II₅₈₋₇₃ a été soumise à la chromatographie sur gel de silice (60×2,5 cm, 0,040–0,063 mm) et éluée avec le mélange *n*-Hex/AcOEt (4:6) pour donner les solides blancs de **AC7** (3,0 mg), **AC8** (5,2 mg) et **AC9** (3,3 mg).

III.3.5. Traitement de la série III

Une masse de 1 mg de la série **III** (19–30 : 3 g) obtenue au mélange *n*-Hex/AcOEt (3:7–1:9, *v/v*), a aussi été soumise à l'analyse LC-MS. Le résultat de cette analyse a montré, en plus d'autres composés, les masses de deux dérivés non encore décrits de la plante (Fig.6 et Tableau 13).

Néanmoins, la série **III** a par la suite été chromatographiée sur gel de silice (0.040–0.063 mm) et éluée au gradient *n*-Hex/AcOEt (8:2–0:10, *v/v*) pour donner 60 fractions (II₁₋₆₀) d'environ 100 mL chacune. Ces fractions ont été combinées sur la base du profil de CCM analytique comme le montre chromatogramme présenté dans le Tableau 31 ci-dessous.

Tableau 31. Chromatogramme de la fraction III (3 g).

Sous-fraction	Éluant	Masse	Observation/Constituants
III ₁₋₁₀	<i>n</i> -Hex/AcOEt (9:1)	200 mg	Mélange d'au moins trois composés dont AC4 et AC12 impurs
III ₁₁₋₁₈	<i>n</i> -Hex/AcOEt (8,5:1,5)	300 mg	III ₂₂ précipite pour donner les solides blancs de AC14 (4,7 mg)
III ₁₉₋₃₂	<i>n</i> -Hex/AcOEt (8:2)	1,0 g	Mélange des composés AC16 et AC17
III ₃₃₋₄₀	<i>n</i> -Hex/AcOEt (7,5:2,5)	400 mg	III ₂₂ précipite pour donner les solides blancs de AC15 (6,6 mg)
III ₄₁₋₅₀	<i>n</i> -Hex/AcOEt (7:3)	300 mg	Trainée
III ₅₁₋₆₀	<i>n</i> -Hex/AcOEt (1:1)	200 mg	Trainée

La sous-fraction III₁₋₁₀ a été purifiée par CCM préparative avec le mélange *n*-Hex/AcOEt (9:1) pour donner les composés **AC4** (13,8 mg) et **AC12** (11,0 mg).

La sous-fraction III₁₉₋₃₂ a été soumise à la chromatographie sur gel de silice (60×2,5 cm, 0,040–0,063 mm) et éluée avec le mélange *n*-Hex/AcOEt (8:2) pour donner les solides blancs de **AC16** (4,1 mg) et **AC17** (4,4 mg).

III.3.6. Traitement de la série IV

De même, une masse de 1 mg de la série **IV** (31–64 : 10 g) obtenue à l'acétate d'éthyle (100%), a aussi été soumise à l'analyse LC-MS. Le résultat de cette analyse a montré des masses des composés non encore décrits de la plante (Fig.7 et Tableau 14).

Néanmoins, la série **IV** a été soumise à une chromatographie sur gel de silice (0.040–0.063 mm) et éluée au mélange *n*-Hex/Acétone (4:1, v/v). Le chromatogramme de cette série est donné dans le **Tableau 32** suivant.

Tableau 32. Chromatogramme de la fraction IV (10 g).

Sous-fraction	Éluant	Masse	Observation/Constituants
IV₁₋₄	<i>n</i> -Hex/Acétone (4:1)	1,1 g	Mélange complexe d'huile
IV₅₋₈	<i>n</i> -Hex/Acétone (4:1)	200 mg	Une tâche majeure relevable à l'UV et l'acide avec précipité de AC11 (12,0 mg) dans IV ₇
IV₉₋₁₉	<i>n</i> -Hex/Acétone (4:1)	300 mg	Une tâche relevable à l'acide avec précipité de AC10 (23,0 mg) dans IV ₁₂
IV₂₀₋₃₂	<i>n</i> -Hex/Acétone (4:1)	2 g	Mélange de deux composés dont AC13
IV₂₂₋₇₀	Acétone/MeOH (1:1)	4,7 g	Traînée

La sous-fraction **IV₂₀₋₃₂** a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice (60×2,5 cm, 0,040–0,063 mm) et éluée avec le mélange *n*-Hex/Acétone (4:1) pour donner principalement **AC13** (30,8 mg).

III.4. Matériel biologique et mode opératoire

Les micro-organismes ont été testés pour leur capacité à développer des croissances dans des boîtes d'agar (dilution sur agar), contenant chacune des papiers-disque imprégnés d'un composé dilué à une concentration précise (diffusion sur disque). Les zones d'inhibition ont été mesurées suivant la méthode de micro-dilution M7-A9 du laboratoire l'institut clinique des normes (CLSI), en utilisant des boîtes du micro-titrés de 96 mm de diamètre, comportant cinq souches de bactéries à savoir, trois d'*Escherichia coli* (ATCC 25922, clinique, ATCC 35218), deux de *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603, ATCC 13883) et une de *Citrobacter braakii* (isolat). Le méthanol a été utilisé pour dissoudre et diluer les composés à tester. Pour ce faire, l'on a procédé comme suit :

- (i) un total de 500 mL de milieu a été préparé en autoclavant 250 mL d'agar de Mueller-Hinton (MHA) et 250 mL du bouillon de Mueller-Hinton (MHB) à 121 °C à et la pression de 15 lbs.
- (ii) Introduire l'agar nutritif dans les boîtes de Pétri stérilisées (diamètre : 90 mm), de sorte que chaque boîte contienne environ 22 mL de milieux avec une profondeur de 4 mm.

(iii) L'inoculum bactérien 108 CFU/mL (turbidité = 0.5 de sulfate de baryum de McFarland) est uniformément imprégné à l'aide du coton-tige stérilisé dans boîtes contenant le milieu MHA.

(iv) Neuf séries de dilutions ont permis de préparer des concentrations de 250 mg/mL pour des échantillons.

(v) Des papiers-disque de 6 mm de diamètre (Whatman, n° 3) ont été imbibés chacun avec 20 mL des différentes dilutions. Les papiers-disque ont été laissés à température ambiante jusqu'à l'évaporation complète de solvant (méthanol) et gardés sous la hotte jusqu'à l'emploi. Ces disques ont été placés à la surface d'agar.

(vi) La ciprofloxacine utilisée comme antibiotique de référence a été dissout dans l'eau doublement distillée et stérilisée aux mêmes concentrations que celles des composés à tester. Les disques de ciprofloxacine (30 mg) et les disques imbibés de 20 mL de méthanol ont servi de contrôle.

(vii) Les boîtes ont été maintenues à 4 °C pour 2 h, puis incubées à 37 °C pour 24 h. Après séchage de ces papiers-disque, ils sont placés à la surface d'agar, qui au préalable a étéensemencée de bactérie. Si après 24 h, on observe une zone claire (appelée zone d'inhibition) autour du disque, alors on conclut que l'échantillon testé inhibe la croissance bactérienne.

(viii) Les résultats sont obtenus en utilisant la formule suivante :

Valeur Inhibition = [diamètre d'inhibition (mm) – diamètre disque (6 mm)]/2. Ces expériences ont été effectuées en triples contrôles.

III.5. Principe de la méthode de diffusion sur disque

La méthode de diffusion par disque est une des méthodes employées pour la détermination des activités antibactériennes des composés d'après la "*Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI*" (Wikler, 2006). Cette méthode est basée sur la capacité d'un échantillon à tester (antibiotique de concentration connue) à inhiber la croissance bactérienne. Expérimentalement, de petites gaufrettes (papiers-disque) contenant des antibiotiques sont placées à la surface des boîtes où les bactéries se développent. Si une bactérie est sensible à l'antibiotique, une zone claire appelée zone d'inhibition (ZOI) est observée autour de la gaufrette indiquant une croissance faible. Dans cette procédure, trois contrôles doivent être déterminés.

III.6. Application

L'activité antibactérienne *in vitro* des composés **AC1 (78)**, **AC11 (20)**, **AC12 (21)** et **AC10 (86)** a été évaluée à l'aide d'un panel de bactéries Gram positives collectées au Centre Pasteur (Yaoundé-Cameroun). Les composés ont été dissouts dans du méthanol à 50% à une concentration allant de 50 à 1000 µg/mL. Le test a été réalisé selon Jorgensen et Turnidge (2007) avec quelques modifications. Des milieux d'agar nutritif (NA) ont été utilisés pour tester les bactéries et les organismes de tests ont été inoculés sur la surface du milieu stérilisé, avec $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (unités formant des colonies) pour les bactéries. Des disques stériles de Wattman n°3 (6,0 mm de diamètre) ont été chargés avec 20 µg/mL de chaque composé, séchés, puis placés sur l'agar de milieu fraîchement inoculé avec les microorganismes de test. Un test de contrôle du solvant a également été effectué. Les boîtes de Pétri ont été conservées au réfrigérateur pendant une heure pour permettre une diffusion homogène de l'agent antimicrobien avant la croissance des microorganismes, et les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 h. L'apparition d'une zone d'inhibition claire autour du disque dans les boîtes de Pétri inoculées est une indication d'activité antimicrobienne et les diamètres des zones claires entourant les disques ont été mesurés.

III.7. Test Analytique : Liebermann-Burchard

Les triterpènes donnent avec le réactif de Liebermann-Burchard composé une coloration rouge brique virant au violet alors qu'avec les stérols, on obtient une coloration bleue puis qui change rapidement au vert.

Protocole : 1 mg de l'échantillon a été dissous dans 1 mL de chloroforme. À partir de la solution obtenue, 1 mL d'anhydride acétique a été ajouté avec 0.5 mL d'acide sulfurique concentré. Les triterpènes donnaient avec ce réactif, une coloration rouge brique qui devenait violette. Par contre les stérols donnaient avec le réactif une coloration bleue qui devenait rapidement verte.

III.8. Caractéristiques spectroscopiques et physico-chimiques des composés

III.8.1. Acide déépoxyalchornoïque

Aspect physique : solides blancs dans *n*-Hex/AcOEt 10%

Point de fusion : 64,5 °C

Formule brute : C₂₀H₃₉O₄

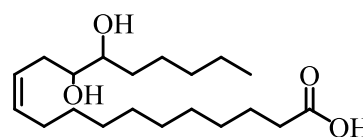
(a) $[\alpha]_D^{20} = + 4,54$ (*c* = 1,10, CHCl₃)

Spectre UV : (PDA) 196, 222 nm

Spectre IR: (KBr): $\nu_{\max} = 3679, 2947, 2912, 2852, 1697, 1469, 1409, 1274, 1132, 1080 \text{ cm}^{-1}$

Spectre de masse : HRESIMS m/z 343,2869 [M+H]⁺ (calc. pour C₂₀H₃₉O₄ : 343,2843)

Données de RMN ¹H et ¹³C (500 et 125 MHz, CDCl₃) : voir [Tableau 15](#).



III.8.2. Bisalchoroate de glycérol

Aspect physique : solides blancs *n*-Hex/AcOEt 20%.

Point de fusion : 66,7 °C

Formule brute : C₄₃H₇₆O₇

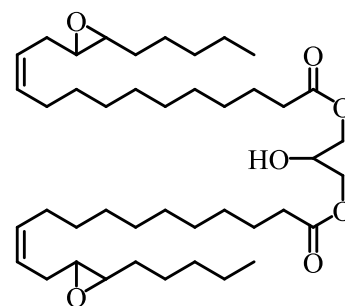
(a) $[\alpha]_D^{20} = + 4,48$ (*c* = 4,68, CHCl₃)

Spectre UV (PDA) : 196, 216 nm.

Spectre IR (KBr): $\nu_{\max} = 3657, 2950, 2908, 2850, 1728, 1706, 1469, 1384, 1205, 1182, 952, 823, 711 \text{ cm}^{-1}$.

Spectre de masse : HRESIMS m/z 705,5661 [M+H]⁺ (calc. pour C₄₃H₇₇O₇ : 705,5664)

Données de RMN ¹H et ¹³C (500 et 125 MHz, CDCl₃) : voir [Tableau 16](#)



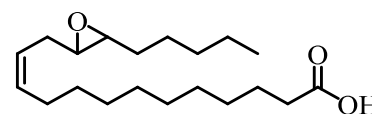
III.8.3. Acide alchornoïque

Aspect physique : solides blancs *n*-Hex/AcOEt 20%.

Formule brute : C₂₀H₃₆O₃

Spectre de masse : HRESIMS m/z 325,2737 (calc. pour C₂₀H₃₇O₃ : 325,2742).

Données de RMN ¹H et ¹³C (500 et 125 MHz, CDCl₃) : voir [Tableau 17](#)

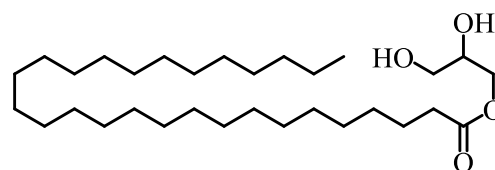


III.8.4. Octacosanoate de 2,3-dihydroxypropyle

Aspect physique : solides blancs dans *n*-Hex/AcOEt 10%.

Formule brute : C₃₁H₆₂O₄

Spectre de masse : HRESIMS m/z 499,4726 [M+H]⁺ (calc. pour C₃₁H₆₃O₄ : 499,4721)



Données de RMN ^1H et ^{13}C (500 et 125 MHz, CDCl_3) : voir [Tableau 18](#)

III.8.5. 1-tricosanol

Aspect physique : solides blancs dans le mélange *n*-

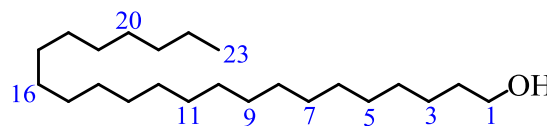
Hex/ CH_2Cl_2 15%.

Point de fusion : 74–76 °C

Formule brute: $\text{C}_{24}\text{H}_{48}\text{O}$ (calc. pour m/z 352,3705).

Données RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 3,64 (CH_2OH , *t*, 7,5, H-1); 2,34 (2H, *t*, 7,5, H-2); 1,64 (1H, *d*, 7,20, H-3a); 1,61 (1H, *d*, 7,20, H-3b); 1,33 (2H, *sl*, H-4); 1,26–1,32 (2H×10, *m*, H-5–H-14); 1,26 (2H, *m*, H-15); 1,26 (2H, *m*, H-16); 1,26 (2H, *m*, H-17); 1,26 (2H, *m*, H-18); 1,26–1,32 (2H×5, *m*, H-19–H-23).

SMIE : $[\text{M}]^{+\bullet}$ à m/z 352,3780.



III.8.6. 1-triacontanol

Aspect physique : solides blancs dans le mélange

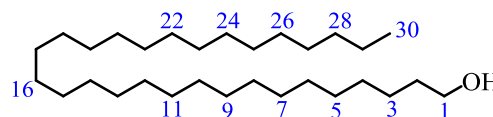
n-Hex/ CH_2Cl_2 15%.

Point de fusion : 87 °C

Formule brute: $\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{O}$ (calc. pour m/z 438,4801).

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 3,64 ($\text{H}_2\text{C-OH}$, *t*, 6,5 Hz, H-1); 1,26–1,32 (2H×26, *sl*, H-4–H-29); 1,55 (2H×2, *m*, H-2 et H-3); 0,88 (3H, *t*, 7,0 Hz, H-30).

SMIE : $[\text{M}]^{+\bullet}$ à m/z 438,41.



III.8.7. Acide *n*-hexacosanoïque

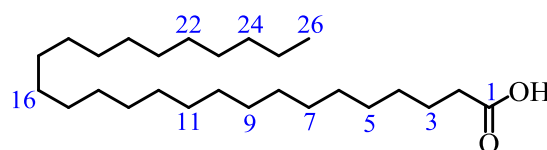
Aspect physique : solides blancs dans le mélange

n-Hex/ CH_2Cl_2 20%.

Point de fusion : 87,7 °C

Formule brute: $\text{C}_{26}\text{H}_{52}\text{O}_2$ (calc. pour m/z 396,3967).

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 2,34 ($\text{H}_2\text{C-COOH}$, *t*, 7,5 Hz, H-2); 1,64 (1H, *d*, 7,2 Hz, H-3a); 1,61 (1H, *d*, 7,2 Hz, H-3b); 1,26–1,32 (2H×22, *sl*, H-4–H-25); 0,88 (3H, *t*, 7,5 Hz, H-26).



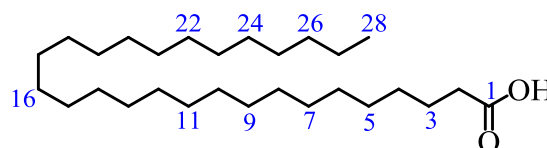
III.8.8. Acide *n*-octacosanoïque

Aspect physique : solides blancs dans le mélange *n*-

Hex/ CH_2Cl_2 20%.

Point de fusion : 87,7 °C

Formule brute: $\text{C}_{28}\text{H}_{56}\text{O}_2$ (calc. pour m/z 424,4280).



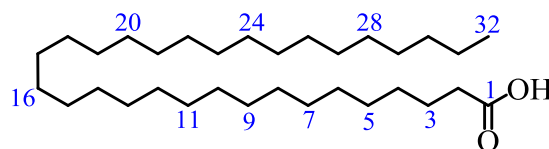
Données RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 2,34 ($\text{H}_2\text{C}-\text{COOH}$, *t*, 7,5 Hz, H-2); 1,64 (1H, *dd*, 6,8 et 7,2 Hz, H-3a); 1,61 (1H, *dd*, 6,8 et 7,2 Hz, H-3b); 1,26–1,32 (2H \times 24, *sl*, H-4–H-27); 0,88 (3H, *t*, 7,5 Hz, H-28).

III.8.9. Acide dotriacontanoïque

Aspect physique : solides blancs dans le mélange *n*-Hex/ CH_2Cl_2 20%.

Point de fusion : 76 °C

Formule brute: $\text{C}_{32}\text{H}_{64}\text{O}_2$ (calc. pour *m/z* 480,4906).



RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) : δ_{H} 2,34 ($\text{H}_2\text{C}-\text{COOH}$, *t*, 7,5 Hz, H-2); 1,63 (1H, *d*, 7,2 Hz, H-3a); 1,61 (1H, *d*, 7,2 Hz, H-3b); 1,26–1,33 (2H \times 28, *sl*, H-4–H-31); 0,88 (3H, *t*, 7,5 Hz, H-32)

III.8.10. Acide shikimique

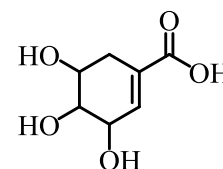
Aspect physique : solides blancs dans *n*-Hex/Acétone 20%

Point de fusion : 185–187 °C

Formule brute : $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5$

Spectre de masse : HRESIMS *m/z* 175,0607 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calc. pour $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_5$: 175,0601)

Données de RMN ^1H et ^{13}C (500 et 125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : voir [Tableau 20](#)



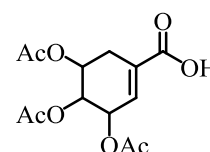
III.8.11. Acide triacétylshikimique

Aspect physique : poudre blanche dans *n*-Hex/Acétone 10%

Formule brute : $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_8$

Spectre de masse : HRESIMS *m/z* 301,0922 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calc. pour $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_8$: 301,0918)

Données de RMN ^1H et ^{13}C (500 et 125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : voir [Tableau 21](#)



III.8.12. Acide gallique

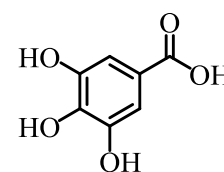
Aspect physique : solides blancs dans *n*-Hex/Acétone 20%

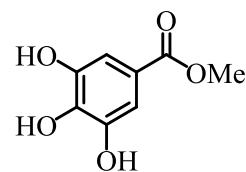
Point de fusion : 210 °C

Formule brute : $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$

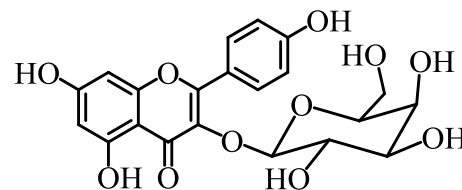
Spectre de masse : HRESIMS *m/z* 171,0210 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calc. pour $\text{C}_7\text{H}_7\text{O}_5$: 171,0288)

Données de RMN ^1H et ^{13}C (500 et 125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : voir [Tableau 22](#)



III.8.13. Gallate de méthyleAspect physique : poudre blanche dans *n*-Hex/AcOEt 10%Formule brute : C₈H₈O₅Spectre de masse : HRESIMS m/z 185,0450 [M+H]⁺ (calc. pour C₈H₉O₅ : 185,0444)Données de RMN ¹H et ¹³C (500 et 125 MHz, DMSO-d₆) : voir [Tableau 23](#)**III.8.14. kaempférol-3-O-galactopyranoside**Aspect physique : solides jaunes dans CH₂Cl₂/MeOH 20%

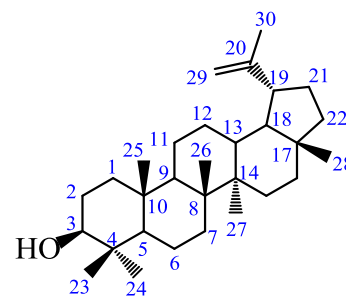
Point de fusion : 185–187 °C

Formule brute : C₂₁H₂₀O₁₁Spectre de masse : HRESIMS m/z 449,1088 [M+H]⁺ (calc. pour C₂₁H₂₁O₁₁ : 449,1078)Données de RMN ¹H et ¹³C (500 et 125 MHz, DMSO-d₆) : voir [Tableau 24](#)**III.8.15. Lupéol**Aspect physique : solides blancs dans *n*-Hex/AcOEt 20%.

Point de fusion : 214 °C.

Formule brute : C₃₀H₅₀O.

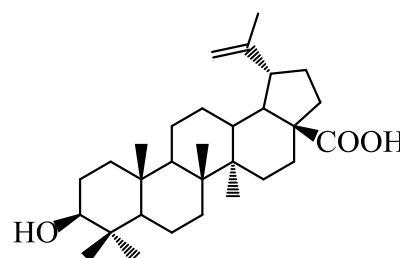
Test de Liebermann Burchard : Positif

SMIE [M]⁺ à m/z 426Données de RMN ¹H et ¹³C (500 & 125 MHz, CDCl₃): voir [Tableau 25](#)**III.8.16. Acide bétulinique**Aspect physique : solides blancs dans *n*-Hex/AcOEt 25%.

Point de fusion : 300–305 °C

Formule brute: C₃₀H₄₈O₃

Test de Liebermann Burchard : Positif

SMIE [M]⁺ à m/z 456Données de RMN ¹H et ¹³C (500 et 125 MHz, CD₃OD) : voir [Tableau 25](#)

III.8.17. Friedéline

Aspect physique : solides blancs dans *n*-Hex/AcOEt 20%.

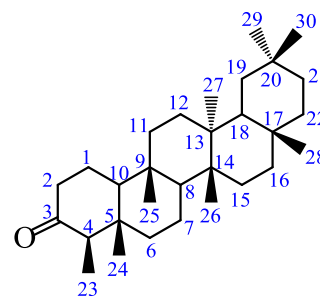
Point de fusion : 260–262 °C (Lit. 262,5 °C).

Formule brute: C₃₀H₅₀O.

Test de Liebermann Burchard : Positif

SMIE [M]⁺ à *m/z* 426

Données de RMN ¹H et ¹³C (500/125 MHz, CDCl₃) : voir [Tableau 26](#)

**III.8.18. Épifriedélinol**

Aspect physique : solides blancs dans *n*-Hex/AcOEt 20%

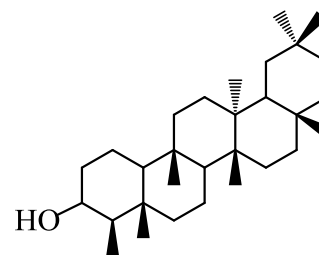
Point de fusion : 478,3 °C

Test de Liebermann Burchard : Positif

Formule brute: C₃₀H₅₂O

SMIE [M]⁺ à *m/z* 428

Données de RMN ¹H et ¹³C (500 et 125 MHz, CDCl₃) : voir [Tableau 26](#)



RÉFÉRENCES

- Abdullahi S.M, Musa A.M, Abdullahi M.I., Sule M.I, Sani Y.M., **2013**. Isolation of Lupeol from the Stem-bark of *Lonchocarpus sericeus* (Papilionaceae). Open Access 1–8.
- Abreu V.G.C., Takahashi J.A., Duarte L.P., Piló-Veloso D., Junior P.A.S., Alves R.O., Romanha A.J., Alcântara A.F.C., **2011**. Evaluation of the bactericidal and trypanocidal activities of triterpenes isolated from the leaves, stems, and flowers of *Lychnophora pinaster*. *Rev. bras. farmacogn.* **21**, 615–621.
- Adewunmi C., Agbedahunsi J.M., D'Adebajo, Aladesanmi A.J., Murphy N., Wando J., **2001**. Médecines ethno-vétérinaires: criblage des plantes médicinales nigériennes pour les propriétés trypanocidales, *J. Ethnopharmacol.* **77**, 19–24.
- Ajibade T.O., Olayemi F.O., **2015**. Reproductive and toxic effects of methanol extract of *Alchornea cordifolia* leaf in male rats, *Andrologia* **47**, 1034–1040.
- Arbonnier M., **2002**. Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest, CIRAD-MNHN, Editions Quae, 285.
- Asilbekova D.T., Gusakova S.D., Moiseeva G.P., Glushenkova A.I., **1987**. New epoxy acids of *Galeopsis bifida*. *Chem. Nat. Compd.* **23**, 186–192.
- Ayisi N. K., Nyadedzor C., **2003**. Comparative in vitro effects of AZT and extracts of *Ocinum gratissimum*, *Ficus polita*, *Clausera anisata*, *Alchornea cordifolia* and *Elaeophorbium drupifera* against HIV-1 and HIV-2 infections, *Antivir. Res.* **58**, 25–33.
- Barbo F.E., Meda C.I., Claudia M., Young M., Cordeiro I., Blatt C.T.T., **2002**. Pentatronol from *Alchornea sidifolia* (Euphorbiaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* **30**, 605–607.
- Bauer M., **2001**. Analyses des solvants résiduels dans les produits pharmaceutiques, Editions T.I, Vol. 3260.
- Bi Y.F., Zheng X.K., Liu H.M., Feng W.S., Ji C.R., **2001**. Studies on the chemical constituents from pineneedles of *Pinus Massoniana Lamb.* *Acta Pharm. Sin.* **36**, 832–835.
- Botineau M., **2010**. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Editions Tec & Doc Lavoisier.
- Braca A., Mendez J., Menichini F., Morelli I., **2002**. Constituents of *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae), *Biochem. Syst. Ecol.* **30**, 1109–1111.
- Brotzu G., **1948**. "Ricerche su di un nuovo antibiotico. *Lav.Ist. Ig. Cagliari*" pp. 1–11.
- Bruneton J., **1999**. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3^{ème} édition, Revue et Augmentée, Tec & Doc Lavoisier.

- Carbain B., **2009**. A convenient synthesis of bioactive cyclohexenephosphonates. University of Sussex. A University of Sussex DPhil thesis 1–205.
- CLSI, **2006**. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard. 9th Edition Document M2-A9. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Correia, A.A., Nougueria P.L., **1962**. *Anis Fac Farm Ports*, 22–23.
- Crete P., **1965**. Précis de botanique: Systématique des Angiospermes, tome 2, Révision de la 2^{ème} édition.
- Cueva C., Moreno-Arribas M.V., Martin-Alvares P.J., Bills G., Vicente M.F., Basilio A., Rivas C.L., Requena T., Rodriguez J.M., Bartolomé B., **2010**. Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria, *Res. Microbiol.* **161**, 372–382.
- Cui G.Y., Tan R.X., **2004**. Lignans and tannins from *Alchornea davidii* (Euphorbiaceae) and their chemotaxonomic significance, *Biochem. Syst. Ecol.* **32**, 99–102.
- De la Mensbrughe G., **1966**. Germination et plantules des essences arborées de la forêt dense et humide de la Côte d’Ivoire, Seine, Paris, 101–102.
- De Wilderman E., **1920**. Le “Niando” succédané du chanvre au Congo belge, in *Congo*, t. I, p. 534–538.
- Deresse S., **2011**. Biosynthesis of fatty acids. *SCH* 511, 38–105.
- Dewick P.M., **2002**. Medicinal natural products: a biosynthetic approach, John Wiley & sons Ltd.
- Dutta A.C., **1981**. Botany for degree students 5th ed. Calcutta. Oxford University Press, 697.
- E. de Wildeman, 1920, Congo 1, 534.
- Ek S., Kartimo H., Mattila S., Tolonen A. **2006**. Characterization of phenolic compounds from *lingonberry* (*Vaccinium vitis-idaea*). *J. Agric. Food Chem.* **27**, 9834–9842.
- Fleming A., **1929**. On the Antibacterial Action of Cultures of a *Penicillium*, with Special Reference to their Use in the Isolation of *B. influenzae*. *Br. J. Exp. Pathol.* **10**, 226–236.
- Gupta D., John P.P., Kumar P., Jain J., Kaushik R., Gupta M.K., **2013**. Isolation of salicylate and three other new compounds from unripe fruits of *Aegle Marmelos* Corr. *WJPPS*. **3**, 624–631.
- Harborne J.B., **1995**. Plant polyphenols and their role in plant defence mechanisms. *In Polyphenols* **94**, 19–26.

- Hart N.K., Johns S.R., Lamberton J.A., **1969**. Hexahydroimidazo-pyrimidines, a new class of alkaloids from *Alchornea javanensis*, *Open Access-Chem. Commun.* 1484–1485.
- Hart N.K., Johns S.R., Lamberton J.A., Willing R.I., **1970**. Alkaloids of *Alchornea javanensis* (Euphorbiaceae): the isolation of hexahydroimidazo[1,2- α]pyrimidines and guanidines, *Aust. J. Chem.* **23**, 1673–1693.
- Hijman M.E.E., Weerdenburg J.C.A., **1985**. Flore du Cameroun, Édition MESRES, Direction B. Sabatie, 24–33.
- Huang Y.-L., Chen Y.-Y., Yan X.-J., Liu J.-L., Yang Z.-M., Li D.-P., **2014**. Chemical constituents from the leaves of *Alchornea trewioides*; phenolic acids and related compounds, *Guihaia* **34**, 126–129.
- IUPAC, **1977**. Commission on Biochemical Nomenclature (CBN), "The Nomenclature of Lipids – Recommendations, 1976", *Eur. J. Biochem.* **79**, 11–21.
- Iwu M.M., **2014**. Handbook of African Medicinal Plants, Second Edition. CRC Press. pp. 1–506.
- Jamal A.K., Yaacob W.A., Din L.B. **2009**. A chemical study on *Phyllanthus columnaris*. *Eur. J. Sci. Res.* **28**, 76–81.
- Jia, L., Min, Z. (**2007**). Constituents of *Clerodendrum canescens*. *Zhongcaoyao* **38**, 161–163.
- Jorgensen J.H., Turnidge J.D., **2007**. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods, In: Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., Tenover, M.A. (Editors), *Manual of Clinical Microbiology*, ASM Press, Washington, 1152–1172.
- Kaidu H.B., Erika G.P., Andre G.T., Euder, Glendes A.M., Joao H.G.L., **2014**. Alchornedine, a new anti-trypanosomal guanidine alkaloid from *Alchornea glandulosa*, *Planta med.* **80**, 1310–1314.
- Kannathasan K., Senthilkumar A., Venkatesalu V., **2015**. Crystal structure and antibacterial evaluation of epifriedelinol isolated from *Vitex peduncularis* Wall. ex Schauer. *Arab. J. Chem.* **12**, 2289–2292.
- Kerharo J. et Bouquet A., **1950**. Plantes médicinales et toxiques de la Côte d'Ivoire, Haute Volta : mission d'étude de la pharmacopée indigène en AOF, Edition Vigot.
- Kha K.M., Perveen S., Ayattollahi S.A., Saba N., Rashid A., Firdous S., Haider S.M., Ullah Z., Rahat S., Khan Z., **2002**. Isolation and structure elucidation of three glycosides and a long chain alcohol from *Polianthes tuberosa* Linn. *Nat. Prod Lett.* **16**, 283–290.
- Khan N.M.M.U., Akter N., Hossain M.S., Rahman M.H., **2015**. New stigmasterol and long chain alcohol from *Tinospora cordifolia*. *Int. J. Multidiscip.* **2**, 143–145.

- Khan R., Khanam Z., Khan A.U., **2011**. Isolation and characterization of *n*-octacosanoic acid from *Viburnum foetens*: A novel antibiofilm agent against *Streptococcus mutans*. *Med. Chem. Res. Open Access*, 2–8.
- Khuong-Huu F., Le Forestier J.-P., Goutarel R., **1972**. Alchornéine, isoalchornéine et alchornéinone, produits isolés de l'*Alchornea floribunda* Muell. Arg. *Tetrahedron* **28**, 5207–5220.
- Kim S.S., Lee C.K., Kang S.S., Jung H.A., Choi J.S., **1997**. Chlorogenic acid, an antioxidant principle from aerial parts of *Artemisia iwayomogi* that acts on 1,1-Diphenyl- 2-picrylhydrazyl radical. *Arch. Pharm. Res.* **20**, 148–154.
- Kleiman R., Plattner R.D., Spencer F.G. **1977**. *Alchornea cordifolia* seed oil: A rich source of a new C20 epoxide, (+)cis-14,15-epoxy-cis-11-eicosenoic acid. *Lipids* **12**, 610–612.
- Kone, K.P.F.O., **2018**. Application des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des metabolites secondaires de trois plantes antidiabetiques et antihypertensives de la pharmacopee ivoirienne. Thèse unique de Doctorat en Sciences des Procédés Chimiques, Alimentaires et Environnementaux, Institut National Polytechnique Felix Houphouët-Boigny, p. 1–301.
- Kouakou K., Schepetkin I.A., Yapi A., Kirpotina L.N., Jutila M.A., Quinn M.T., **2013**. Immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Alchornea cordifolia*, *J. Ethnopharmacol.* **146**, 232–242.
- Kouam F.S. 2000. « Contribution à l'étude chimique de deux plantes médicinales du Cameroun : *Alchornea cordifolia* et *Dorstenia mannii* et hémisynthèse de quelques flavanones » Université de Yaoundé I, Doctorat de troisième cycle, pp. 52–67.
- Kuete V, Azebaze A.G., Mbaveng A., Nguemfo E.L., Tshikalange E.T., Chalard P., Nkengfack A.E., **2011**. Antioxidant, antitumor and antimicrobial activities of the crude extract and compounds of the root bark of *Allanblackia floribunda*. *Pharm. Biol.* **49**, 57–65.
- Kuigoua G.M., Kouam S.F., Ngadjui B.T., Schulz B., Green I.R., Choudhary M.I., Krohn K., **2010**. Minor Secondary Metabolic Products from the Stem Bark of *Plumeria rubra* Linn. Displaying Antimicrobial Activities. *Planta Med.* **76**, 620–625.
- Kusari S., **2010**. Endophytic fungi harbored in *Camptotheca acuminata*, *Hypericum perforatum* and *Juniperus communis* as promising sources of Camptothecin, hypericin and deoxypodophyllotoxin. Thesis, *Faculty of Chemistry, Technische Universität Dortmund*, 1–244.

- Kusari S., Pandey S.P., Spiteller M., **2013**. Untapped mutualistic paradigms linking host plant and endophytic fungal production of similar bioactive secondary metabolites. *Phytochemistry* **91**, 81–87.
- Kusari S., Tatsimo S.J., Zühlke S., Talontsi F.M., Kouam, S.F., Spiteller M., **2014**. Tramadol—a true natural product? *Angewandte Chemie International Edition* **53**, 12073–12076.
- Kusari S., Zühlke, S., Spiteller M., **2009**. An endophytic fungus from *Camptotheca acuminata* that produces camptothecin and analogues. *J. Nat. Prod.* **72**, 2–7.
- Kuzdzal-Savoie, **1965**. Les techniques modernes d'analyse (spectroscopie, chromatographie) au service du laboratoire de recherches sur la biochimie des lipides du lait. Le lait, INRA Editions, **45**, 251–262.
- Lamikanra A., Ogundaini A.O., Ogungbamila F.O., **1990**. Antibacterial constituents of *Alchornea cordifolia* leaves, *Phytother. Res.* **4**, 198–200.
- Lindsay S. **1992**. High Performance Liquid Chromatography, Analytical Chemistry by Open Learning, 2^{ème} édition, Chichester (G.B.), 223–234.
- Liu M., Yang S., Jin L., Hu D., Wu Z., Yang S., **2012**. Chemical Constituents of the Ethyl Acetate Extract of *Belamcanda chinensis* (L.) DC Roots and Their Antitumor Activities. *Molecules* **17**, 6156–6169.
- Lopes F.C.M., Rocha A., Pirraco A., Regasini L.O., Silva D.H.S, Bolzani V.S, Azevedo I., Carlos I.Z., Soares R., **2009**. Anti-angiogenic effects of pterogynidine alkaloid isolated from *Alchornea glandulosa*, *BMC Complementary and Alternative Medicine* **9**, 1–11.
- Luhata L.P., Munkombwe N.M. **2015**. Isolation and Characterisation of Stigmasterol and β -Sitosterol from *Odontonema Strictum* (Acanthaceae). *JIPBS*, **2**, 88–95.
- Mahato S.B., Kundu A.P., **1994**. ¹³C NMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids. A Compilation and Some Salient Features. *Phytochemistry* **37**, 1517–1575.
- Mann A., Ibrahim K., Oyewale A.O., Amupitan J.O., Fatope M.O, Joseph I. Okogun, **2011**. Antimycobacterial friedelane-terpenoid from the root bark of *Terminalia avicennioides*. *Am. J. Chem.* **1**, 52–55.
- Mavar-Manga H., Brkic D., Marie D.E.P., Quetin-Leclercq J., **2004**. In vivo anti-inflammatory activity of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *J. Ethnopharmacol.* **92**, 209–214.
- Mavar-Manga H., Haddad M., Pieters, L., Baccelli C., Penge A., Quetin-Leclercq J., **2008**. Anti-inflammatory compounds from leaves and root bark of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., *J. Ethnopharmacol.* **115**, 25–29.

- Menendez R., Marrero D., Mas R., Fernandez I., González L., González R.M., **2005**. *In vitro* and *in vivo* study of octacosanol metabolism. *Arch. Med. Res.* **36**, 113–119.
- Minet J.-J., Eudes V., Costanza C., Archer X., Barbe-Le B.M., Baron G., **2010**. L'utilisation des méthodes chromatographiques en police scientifique, retour sur une affaire d'attentat, L'actualité chimique n°342-343, 62–69.
- Mir M.A., Zahoor I., Shafi A., **2017**. Isolation, Characterization and Bioactivities of *Sambucus wightiana* derived Dotriacontanoic acid. *IJTSRD* **1**, 1323–1332.
- Moss G.P., **1995**. Glossary of class names of organic compounds and reactivity intermediates based on structure (IUPAC Recommendations 1995).
- Mustofa, Valentin A., Benoit-Vical F., Pelissier Y., Kone-Bamba D., Mallie M., **2000**. Activité Antiplasmodiale des extraits d'usine utilisés dans la médecine traditionnelle africaine occidentale, *J. Ethnopharmacol.* **73**, 1–2.
- Na H.J., Lee G., Oh H.Y., Jeon K.S., Kwon H.J., Ha K.S., Lee H., Kwon Y.G., Kim Y.M., **2006**. 4-O-Methylgallic acid suppresses inflammation-associated gene expression by inhibition of redox-based NF-kappaB activation. *Int. Immunopharmacol.* **6**, 1597–1608.
- Newman D.J., Cragg G.M., Snader K.M., **2000**. The influence of natural products upon drug discovery. *Nat Prod Rep* **17**, 215–234.
- Noundou X.S., Krause R.W.M., van Vuuren S.F., Ndinteh D.T., Olivier D.K., **2016**. Antibacterial effects of *Alchornea cordifolia* (Schumach. and Thonn.) Müll. Arg extracts and compounds on gastrointestinal, skin, respiratory and urinary tract pathogens. *J. Ethnopharmacol.* **179**, 76–82.
- Ogundipe O.O., Moody J.O., Houghton P.J., Odelola H.A., **2001**. Bioactive chemical constituents from *Alchornea laxiflora* (benth) pax and Hoffman. *J. Ethnopharmacol.* **74**, 275.
- Ogungbamila F.O., Samuelsson G., **1990**. Smooth muscle relaxing flavonoids from *Alchornea cordifolia*. *Acta Pharm. Nord.* **2**, 421–422.
- Ogunlana E.O., Ramstad E., **1975**. Investigations into the antibacterial activities of local plants; *Planta med.* **27**, 354–360.
- Okoye F.B.C., Osadebe P.O., Nworu C.S., Okoye N.N., Omeje E.O., Esimone C.O., **2011**. Topical anti-inflammatory constituents of lipophilic leaf fractions of *Alchornea floribunda* and *Alchornea cordifolia*, *Nat. prod. Res.* **25**, 1941–1949.

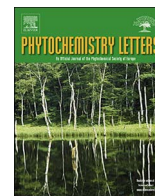
- Okoye F.B.C., Osadebe P.O., Proksch P., Edrada-Ebel R. A., Nworu C.S., Esimone C.O., **2010**. Anti-inflammatory and membrane-stabilizing stigmastane steroids from *Alchornea floribunda* leaves, *Planta Med.* **76**, 172–177.
- Okwu D.E., Ukanwa N., **2010**. Isolation, characterization and antibacterial activity screening of anthocyanidine glycosides from *Alchornea cordifolia* (Schumach. and Thonn.) Mull. Arg. Leaves. *J. Chem.* **7**, 41–48.
- Osadebe P.O., Okoye F.B.C., Uzor P.F., Nnamani N.R., Adiele I.E., Obiano N.C., **2012**. Phytochemical analysis, hepatoprotective and antioxidant activity of *Alchornea cordifolia* methanol leaf extract on carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats, *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **43**, 289–293.
- Patrick-Iwuanyanwu K.C., Onyeike E.N., Adhikari A., **2014**. Isolation, identification and characterization of gallic acid derivatives from leaves of *Tapinanthus bangwensis*. *J. Nat. Prod.* **7**, 14–19.
- Pone K.B., Sabrina B.F., Carlos R.K., **2016**. Recent trends in phytochemistry: ethnobotany and pharmacological significance of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll.Arg. *J. Ethnopharmacol.* **191**, 216–244.
- Ragasa C.Y., Ebajo V.Jr., Reyes M.M.D.L., Mandia E.H., Brkljača R., Urban S., **2015**. Triterpenes from *Calophyllum inophyllum* Linn. *Inter. J Pharm Phytochem Res.* **7**, 718–722.
- Raju V.H., Ganapaty S., Prasanna, S. S., Vijaya G.J., Kishore P.S., Asif A.K. (**2012**). Phytochemical and pharmacological evaluation of *Tragia cannabina* for anti-inflammatory activity. *Int Curr. Pharm. J.* **1**, 213–216.
- Rezanka T., **2002**. Glycosides of polyenoic branched fatty acids from myxomycetes. *Phytochemistry* **60**, 639–646.
- Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. **1996**. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids *Free Radic. Biol. Med.* **20**, 933–956.
- Sandjo L.P., Poumale H.M.P., Noudou S.X., Nga N.H, Shiono, Y., Ngadjui B.T., Krause R. M.W., Ndinteh D.T., Mbafor J.T., **2011**. Two new fatty acid derivatives from the stem bark of *A. laxiflora* (Euphorbiaceae), *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **88**, 1153–1159.
- Santelli M., **2012**. Chimie bioorganique, Medecine sciences publications, Lavoisier.
- Satiraphan M., Pamornsilpadaharm P., Sittisombut C., Sotanaphun U., Raynaud F., Garbay C., Michel S., Cachet X., **2012**. Lupane triterpenes from the leaves of the tropical rain forest tree *Hopea odorata* Roxb. and their cytotoxic activities. *Biochem. Syst. Ecol.* **44**, 407–412.

- Setzer W.N., Shen X.M., Bates R.B., Burns J.R., McClure K.J., Zhang P., Moriarity D.M., Lawton R.O. **2000**. A phytochemical investigation of *Alchornea latifolia*. *Fitoterapia* **71**, 195–198.
- Sibille P., **2014**. La chimie analytique au service de la toxicologie médico-légale. *Chimie et expertise*, EDP Sciences, p. 4.
- Simo C.C.F., Kouam S.F., Poumale H.M.P., Simo I.K., Ngadjui B.T., Green I.R., Krohn K., **2008**. Benjaminamide: A new ceramide and other compounds from the twigs of *Ficus benjamina* (Moraceae). *Biochem. Syst. Ecol.* **36**, 238–243.
- Sinclair R.G., McKay, A.F., Jones R.N. 1952. The infrared absorption spectra of saturated fatty acids and esters. Published as Contribution No. 2681 from the laboratories of the National Research Council of Canada **74**, 2570–2575.
- Singh S.B., Barrett J.F., **2006**. Empirical antibacterial drug discovery – Foundation in natural products. *Biochem. Pharmacol.* **71**, 1006–1015.
- Singla C., Ali M., **2018**. Antidandruff activity and chemical constituents of the leaves of *Betula cylindrostachya* Lindl. ex Wall. *JMPS* **6**, 189–193.
- Siwe N.X., Krause R.W., Van-Vuuren S.F., Ndinteh D.T., Olivier D.K., **2016**. Antibacterial effects of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. extracts and compounds on gastrointestinal, skin, respiratory and urinary tract pathogens. *J. Ethnopharmacol.* **179**, 76–82.
- Slee A.M., Wuonola M.A., McRipley R.J., Zajac I., Zawada M.J., Bartholomew P.T., Gregory W.A., Forbes M. **1987**. Oxazolidinones, a New Class of Synthetic Antibacterial Agents: in vitro and in vivo activities of DuP105 and DuP721. *Antimicrob. Agents Chemother.* **31**, 1791–1797.
- Soro Y., Kassi A.B.B., Bamba F., Siaka S., Touré, S.A. et Coustard J.M. **2012**. Flavonoids and gallic acid from leaves of *Santaloides afzelii* (Connaraceae), *Rasayan J. Chem.* **5**, 332–337.
- Srinivasan R., Chandrasekar M.J.N., Nanjan M.J., **2011**. Phytochemical Investigations of *Caesalpinia Digyna* Root. *www publictions (p), E-J. Chem.* **8**, 1843–1847.
- Sultana S., Ali M., Mir S.R., **2017**. Chemical constituents from the leaves of *Adenantha pavonina* and *Erythrina variegata* and roots of *Heliotropium eichwaldii*. *Int. J. Adv. Pharm. Med. Bioallied Sci.* **5**, 217–224.
- Swain L.A., Downum K.R. 1990. Light-activated toxins of the moraceae. *Biochem. Syst. Ecol.* **18**, 153–156.

- Tona L., Kambu K., Ngimbi N., Mesia K., Cimanga K., De Bruyne T., Pieters L., Totté J., Vlietinck J., **1999**. Biological screening of traditional preparations from some medicinal plants used as antidiarrhoeal in Kinshasa, Congo, *Phytoledecine* **6**, 59–66.
- Tona L., Kambu K., Ngimbi N., Mesia K., Penge O., Lusakibanza M., Cimanga K., De Bruyne T., Apers S., Totté J., Pieters L., Vlietinck J., **2000**. Antiamoebic and spasmolytic activities of extracts from some antidiarrhoeal traditional preparations used in Kinshasa, Congo, *Phytomedicine* **7**, 31–38.
- Tsuji S., Sano T., Ariga T., Miyatake T., **1981**. Increased synthesis of hexacosanoic acid (C26:0) by cultured skin fibroblasts from patients with adrenoleukodystrophy (ALD) and adrenomyeloneuropathy (AMN). *J Biochem.* **90**, 1233–1236.
- Urrea-Bulla A., Suarez M.M., Moreno-Murilla B., **2004**. Biological activity of phenolic compounds from *Alchornea glandulosa*, *Fitoterapia* **75**, 392–394.
- Wikler M.A., **2006**. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard, CLSI, Wayne, PA.
- Wu Z.Y., **1991**. The areal-types of Chinese genera of seed plants. *Acta Bot. Yunnan.* **4**, 1–139.
- Yamamoto Y., Itoh T., Yamamoto K., **2015**. Chemical Synthesis of a Very Long-Chain Fatty Acid, Hexacosanoic Acid (C26:0), and the Ceramide Containing Hexacosanoic Acid. *J Nutr Sci Vitaminol.* **61**, 222–227.

ANNEXE : PUBLICATION ISSUE DE LA THÈSE

Ebessa V., Tiani M.L.G., Tchamgoue J., Kouam F.S., Ngadjui T.B., Green I.R., Choudhary M.I., Tane P. Alchornoic acid derivatives from the fruits of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Muell. Arg. (Euphorbiaceae). *Phytochemistry Letters* 23 (2018) 62–65.



Alchornoic acid derivatives from the fruits of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Muell. Arg. (Euphorbiaceae)

Virginie Ebessa^{a,b}, Gesquiere Laure M. Tiani^c, Joseph Tchamgoue^a, Simeon F. Kouam^{a,*}, Bonaventure T. Ngadjui^c, Ivan R. Green^d, Muhammad I. Choudhary^e, Pierre Tane^{b,*}

^a Department of Chemistry, Higher Teacher Training College, University of Yaounde I, P.O. Box 47, Yaounde, Cameroon

^b Department of Chemistry, University of Dschang, P.O. Box 67, Dschang, Cameroon

^c Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, University of Yaounde I, P.O. Box 812, Yaounde, Cameroon

^d Department of Chemistry and Polymer Science, University of Stellenbosch, P/Bag X1, Matieland, Stellenbosch, 7602, South Africa

^e H.E.J. Research Institute of Chemistry, International Center for Chemical and Biological Sciences (ICCBS), University of Karachi, 75270, Pakistan

ARTICLE INFO

Keywords:

Alchornea cordifolia
Euphorbiaceae
Fatty acids
Deepoxyalchornoic acid
Bisalchornoic ester
Antibacterial activity

ABSTRACT

Two alchornoic acid derivatives, deepoxyalchornoic acid (1) and bisalchornoic ester (2), together with six known compounds, alchornoic acid (3), gallic acid, 4-O-methylgallic acid, shikimic acid, kaempferol-3-O-galactoside and 2,3-dihydroxypropyl octacosanoate were isolated from a dichloromethane/methanol-soluble extract of the ripe fruits of the Cameroonian medicinal plant *Alchornea cordifolia*. The structures of the new fatty acid derivatives were elucidated by interpretation of their HRESIMS, 1D and 2D NMR spectroscopic data and by comparison with those reported in the literature. Some of the isolated compounds demonstrated inhibition activity against the microbial strains *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Citrobacter braakii*.

1. Introduction

The genus *Alchornea* belongs to the family Euphorbiaceae and comprises 60 species (Wu, 1991). *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Muell. Arg. is a shrub that grows up to 8 m tall and has a large number of branches. It is widely distributed in tropical and subtropical regions of Africa where it is extensively used in traditional medicine for the treatment of pain and inflammatory disorders, hormonal-related gynaecological disorders, infertility, urinary infections, respiratory and intestinal problems as well as malaria and fevers (Pone et al., 2016). In Ghana and Burkina Faso the leaves, root bark and fruits of *A. cordifolia* are sold in local markets from November to January and thus constitutes a source of income for the local population (Mavar-Manga et al., 2007).

The varied popular uses of different plant parts of *A. cordifolia* have led to numerous modern pharmacological investigations including antibacterial, antifungal, antiparasitic, spasmolytic, hepatoprotective, reproductive and antiviral activities (Siwe Noundou et al., 2016; Muanza et al., 1994; Tona et al., 2000, 2007; Osadebe et al., 2012; Ajibade and Olayemi, 2015; Ayisi and Nyadedzor, 2003). Earlier phytochemical studies have described the isolation of a variety of compounds belonging to the following classes: tannins and phenolic acids (Lamikanra et al., 1990; Ogungbamila and Samuelsson, 1990; Banzouzi et al., 2002), flavonoids (Lamikanra et al., 1990; Ogungbamila and

Samuelsson, 1990; Ajali, 2000), alkaloids (Mavar-Manga et al., 2004) and terpenoids (Siwe Noundou et al., 2016). In a further detailed phytochemical study of *A. cordifolia*, we report herein the isolation and structural elucidation of two new fatty acid derivatives named deepoxyalchornoic acid (1) and bisalchornoic ester (2) together with six known compounds as well as their antibacterial activity.

2. Results and discussion

The dichloromethane/methanol extract of ripe fruits of *A. cordifolia* was subjected to repeated column chromatography to give several fractions which were further purified to yield eight compounds of which compounds 1 and 2 were hitherto unknowns.

Compound 1, named deepoxyalchornoic acid (Fig. 1), was isolated as an optically active white crystals, $[\alpha]_D^{20} = +4.54$ ($c = 1.10$, CHCl_3). This observed value is in accordance with those reported for other alchornoic acid derivatives (Asilbekova et al., 1987). Its molecular formula was determined to be $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_4$ from the pseudomolecular ion peak $[\text{M} + \text{H}]^+$ at $m/z = 343.2869$ (calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{O}_4$, 343.2848), obtained by high-resolution mass spectrometry (HRESIMS) and is consistent with two degrees of unsaturation. The IR spectrum featured bands at $\nu_{\text{max}} 3679 \text{ cm}^{-1}$ (free OH) and 1697 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$). The ^1H NMR spectrum of 1 (Table 1) revealed signals indicating the presence of

* Corresponding authors.

E-mail addresses: kfogue@yahoo.com (S.F. Kouam), ptane@yahoo.com (P. Tane).

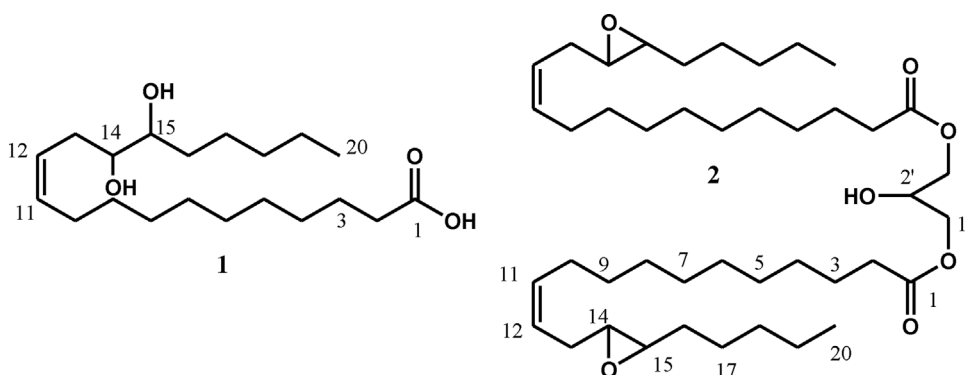


Fig. 1. Chemical structures of compounds 1 and 2.

Table 1
 ^1H and ^{13}C NMR data for 14,15-dihydroxyeicos-11Z-enoic acid (1) and bisalchornoic ester (2) in CDCl_3 (500 and 125 MHz).

Position	1		2	
	δ_{H} (m, J, Hz)	δ_{C}	δ_{H} (m, J, Hz)	δ_{C}
1		175.3		173.8
2	2.17 (t, 7.2)	34.4	2.35 (t, 7.5)	34.0
3	1.47 (m)	25.2	1.64 (m)	24.8
4	1.23 (brs)	29.3	1.35 (brs)	29.2
5–8	1.23 (brs)	29.4–29.7	1.29 (brs)	29.1–29.4
9	1.29 (brs)	29.8	1.29 (brs)	29.3
10	1.98 (m)	27.6	2.05 (m)	27.4
11	5.36 (dt, 7.2, 10.4)	131.2	5.53 (dt, 7.2, 10.5)	132.6
12	5.41 (ddd, 6.8, 7.2, 10.4)	127.7	5.41 (ddd, 7.0, 7.2, 10.5)	123.8
13	2.03 (ddd, 6.4, 6.8, 14.1)	31.4	2.19 (ddd, 6.5, 7.0, 14.7)	26.2
	2.20 (ddd, 6.1, 7.2, 14.1)		2.38 (ddd, 6.2, 7.2, 14.7)	
14	3.25 (m)	74.0	2.93 (m)	56.5
15	3.23 (m)	73.2	2.93 (m)	57.2
16	1.37 (m)	33.1	1.54 (m)	27.7
17	1.27 (m)	26.0	1.46 (m)	26.2
			1.54 (m)	
18	1.25 (m)	32.3	1.35 (m)	31.7
19	1.28 (m)	22.9	1.29 (brs)	22.5
20	0.84 (t, 6.8)	14.7	0.91 (t, 7.0)	13.9
1'			4.19 (dd, 4.3, 11.4)	65.0
			4.14 (dd, 5.7, 11.4)	
2'			4.09 (dd, 4.3, 5.7)	68.3

one terminal methyl group at δ_{H} 0.84 and a long chain of methylene protons at δ_{H} 1.23–1.98. The ^{13}C NMR spectrum of (1) (Table 1) displayed 20 carbon signals which were assigned in combination with DEPT and HSQC experiments to one methyl, fourteen methylenes, four methines and one quaternary carbon. Characteristic signals for a carboxylic acid group (δ_{C} 175.3), two olefinic carbons (δ_{C} 131.2 and 127.7), two oxygenated methine carbons (δ_{C} 74.0 and 73.2) and a terminal methyl (δ_{C} 14.7) were evident in the ^{13}C NMR spectrum. The fatty acid nature of (1) was confirmed by a set of signals at δ_{C} 29.4–29.7. In addition, the ^1H and ^{13}C NMR spectral data of compound 1 exhibited signals for two oxymethine protons and carbons at $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3.25/74.0 and 3.23/73.2, and two olefinic protons and carbons at $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 5.36/131.2 and 5.41/127.7. Furthermore, the ^1H NMR spectrum had three upfield proton signals at δ_{H} 2.17, 2.20 and 2.03 which were assigned to two methylene groups (H-2 and H-13) adjacent to the carboxylic (C-1) and the oxymethine (C-14) carbons, respectively.

The structure of 1 was fully assigned by analyses of 2D NMR experiments. In the HMBC experiment, the proton signal at δ_{H} 2.17 (H-2) showed correlation peaks with carbon signals at δ_{C} 175.3 (C-1) and 29.3 (C-4), and cross peaks were also observed between the proton signal at δ_{H} 1.98 (H-10) and the carbon signals at δ_{C} 131.2 (C-11), 127.7 (C-12) and 29.8 (C-9). Furthermore, the methyl signal at δ_{H} 0.84

(H-20) showed cross peaks with two carbon signals at δ_{C} 22.9 (C-19) and 32.3 (C-18). The geometry of the double bond was found to be Z based on the coupling constant between the olefinic protons H-11 and H-12 ($J = 6.8$ Hz) and the chemical shifts (δ_{C} 27.6 and 31.4) assigned to the allylic carbons. The chemical shifts for the corresponding allylic carbons for the E configuration are usually more than δ_{C} 33.0 (Simo et al., 2008). This was confirmed in the ^1H NMR spectrum by the chemical shifts of allylic protons observed at δ_{H} 1.98, 2.03 and 2.20 (Rezanka, 2002). The NMR data of (1) was fully rationalized based on its comparison with those of related compounds described in the literature (Kleiman et al., 1977). Thus, the structure of 1, named 14,15-dihydroxyeicos-11Z-enoic acid was assigned (Fig. 1).

Compound 2 was obtained as an optically active white crystals, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +4.48$ ($c = 4.68$, CHCl_3). Its HRESIMS mass spectrum showed a pseudomolecular ion peak $[\text{M} + \text{H}]^+$ at $m/z = 705.5661$ (calcd. for $\text{C}_{43}\text{H}_{77}\text{O}_7$, 705.5669) corresponding to the molecular formula $\text{C}_{43}\text{H}_{76}\text{O}_7$. The IR spectrum showed absorption bands due to hydroxyl, ester carbonyls and an olefinic double bond at ν_{max} 3657, 1728, 1706 and 711 cm^{-1} respectively. Interpretation of the ^1H and ^{13}C NMR spectra of compound 2 (Table 1) indicated the presence of one methyl, 15 methylenes, 5 methines and one quaternary carbon. The ^{13}C NMR spectrum of 2 also indicated the presence of one characteristic ester carbonyl at δ_{C} 173.8, two olefinic carbons (δ_{C} 132.6 and 123.8), two oxymethine carbons characteristic of an epoxy group (δ_{C} 57.2 and 56.5), one terminal methyl (δ_{C} 13.9) and fourteen methylene chain carbons appearing between δ_{C} 34.0–22.5 ppm. These observations clearly indicated the presence of an alchornoic acid (3) moiety. Further analyses of the ^{13}C NMR spectrum displayed resonances for an oxymethine and an oxymethylene group at δ_{C} 68.3 and 65.0 respectively. In the ^1H - ^1H COSY spectrum, cross peaks were observed between their corresponding proton signals at δ_{H} 4.09 (H-2'), 4.14 and 4.19 (H-1'). The ^{13}C NMR spectrum displayed only 22 carbon signals instead of 43. This led to the conclusion that compound 2 is a dimer of alchornoic acid as a substructure. In the HMBC experiment, the oxymethine carbon signal showed a weak correlation with the methylene proton signals at δ_{H} 4.14 and 4.19 which in turn exhibited cross peak to the ester carbonyl signal at δ_{C} 173.8 (C-1). It was therefore concluded that two units of alchornoic acid have been condensed with glycerol in a symmetrical 1,3-fashion. Based on the above evidence, the structure of compound 2 was assigned and named bisalchornoic ester.

The known compounds were identified as alchornoic acid (3) (Kleiman et al., 1977), gallic acid (4) (Ogungbamila and Samuelsson, 1990), 4-O-methylgallic acid (5) (Na et al., 2006), shikimic acid (6) (Eykmann, 1885), kaempferol-3-O-galactoside (7) (Ek et al., 2006) and 2,3-dihydroxypropyl octacosanoate (8) (Kuigoua et al., 2010) (Fig. 2).

Compounds 1, 4, 5 and 6 which were obtained in sufficient quantity, were evaluated for their antibacterial activity utilizing an agar diffusion assay and compared with ciprofloxacin. The results, in terms of radius of zone of inhibition are presented in Table 2. From the table, it is evident that 4-O-methylgallic acid (5) and shikimic acid (6) were active against all microbial strains at our disposal (*Escherichia coli*,

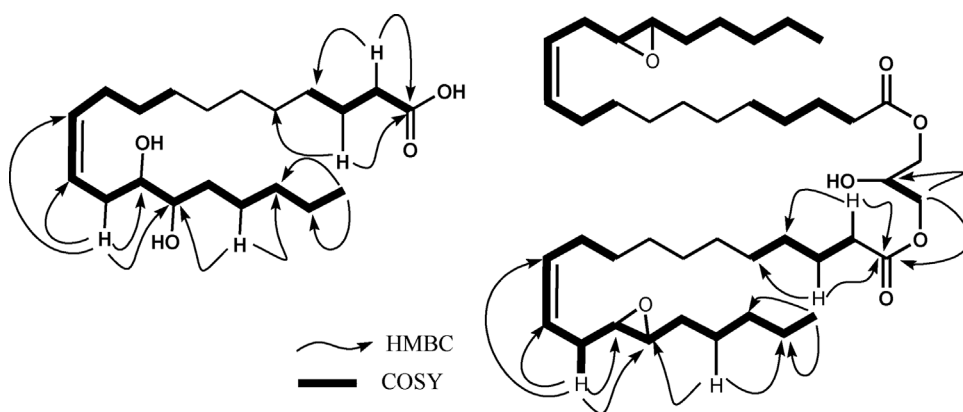


Fig. 2. Key HMBC and ^1H - ^1H COSY correlations of compounds 1 and 2.

Table 2
Biological activity of the pure compounds 1, 4–6^a.

Compound	Ech ATCC 25922	Ech clinical	Ech ATCC 35218	Kp ATCC 700603	Kp ATCC 13883	Cb clinical
Methanol (50%)	0	0	0	0	0	0
Ciproflaxacin	45	28	28	22	22	nd
1	–	25	–	–	–	20
4	–	–	–	–	–	10
5	25	25	25	20	20	25
6	15	15	13	12	13	13

^a Compounds 1, 4–6 (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) were tested in an agar diffusion assay for inhibitions of *Escherichia coli* (Ech), *Klebsiella pneumoniae* (Kp) and *Citrobacter braakii* (Cb). The radius of zone of inhibition was measured in mm. (–): inactive, nd: not determined.

Klebsiella pneumoniae and *Citrobacter braakii*) whereas, gallic acid (4) was only active against *Citrobacter braakii*. The new compound, deepoxyalchornoic acid (1) had very weak activity against *C. braakii* (DZI = 20 mm) and *E. coli* (DZI = 25 mm).

In this assay, compound 5 was the most active against all the tested microorganisms with the radius of the zone of inhibition observed between 20 and 25 mm, followed by compounds 6 and 4 with their radii of zone of inhibition of 12 – 15 and 10 mm respectively. The isolated phenolic acids, compounds 4 and 5 exhibited an interestingly different pattern of activity. These results were supported by those described in the literature (Cueva et al., 2010; Pone et al., 2016). At a glance, it would appear that, the methoxy group present in compound 5 is presumably responsible for its significant activity difference in comparison to compound 4. Thus, our results on the antibacterial activity of these compounds isolated from *A. cordifolia* have further strengthened the previous findings on the effectiveness of extracts of this plant against microbial infections (Siwe Noundou et al., 2016).

3. Experimental

3.1. General experimental procedures

Melting points were determined on a Gallenkamp melting point apparatus. IR spectra were recorded on a Shimadzu FT-IR spectrophotometer. The high resolution mass spectra were obtained from a QTOF spectrometer (Bruker, Germany), equipped with an ESI source in positive ionization mode. Optical rotations were measured on a PerkinElmer polarimeter, model 241. ^1H - and ^{13}C NMR spectra were recorded with a Bruker spectrometer at 500 MHz. Chemical shifts (δ) are quoted in parts per million (ppm) from internal standard tetramethylsilane (TMS). Column chromatography (CC) was carried out on silica gel 60 F₂₅₄ and silica gel 100 (Merck; Darmstadt, Germany). Precoated plates of silica gel 60 F₂₅₄ (Merck; Darmstadt, Germany) were used for analytical purposes and the spots were detected with an

UV lamp at 254 and 366 nm and by spraying with 50% H₂SO₄ followed by heating.

3.2. Plant material

Ripe fruits of *A. cordifolia* (Euphorbiaceae) were collected in Bangangté (Western Region of Cameroon) in May 2014. The plant material was identified by Mr. Victor Nana, an experienced botanist at the Cameroon National Herbarium, Yaoundé, where a voucher specimen (N° 40512 HNC) has been deposited.

3.3. Extraction and isolation

Dried and powdered plant material (2.8 kg) was percolated (10 L \times 3) in a mixture of CH₂Cl₂/MeOH (1:1). After three days, the solution was filtered and removal of the solvent *in vacuo* afforded 175 g of crude extract. A part of the crude extract (170 g) was subjected to silica gel flash column chromatography and eluted with a mixture of *n*-hexane-EtOAc in order of increasing polarity (0–100%) to yield a total of 99 fractions of ca. 150 mL each which were combined on the basis of TLC analysis into four fractions: I (15 g, *n*-hexane-EtOAc 100:0 and 19:1), II (6 g, *n*-hexane-EtOAc 4:1), III (3 g, *n*-hexane-EtOAc 1:1) and IV (10 g, EtOAc).

Fraction I was found to contain a complex mixture and was not investigated further. Fractions II and III were separately subjected to two silica gel column chromatography purifications viz., [C_{II} (50 \times 2.0 cm, 0.040–0.063 mm, 70 g) and C_{III} (50 \times 2.5 cm, 0.040 – 0.063 mm, 100 g)] using *n*-hexane-EtOAc with gradient polarity (10–60%) as eluent. Subfractions F5–8 from C_{II}, eluted with a mixture of hexane-EtOAc (9:1) yielded (1) (5.3 mg). The subfractions F20–35 (from C_{II}), which were eluted with hexane-EtOAc (4:1) and subjected to a second CC, afforded (2) (3.2 mg) and (3) (10.0 mg). Subfractions F3–10 from C_{III} was similarly subjected to a second CC, followed by preparative TLC yielded (8) (13.8 mg), (7) (6.5 mg) and (5) (11.0 mg). Fraction IV, after having been chromatographed on a silica gel column (60 \times 2.5 cm, 0.040–0.063 mm) and eluted with *n*-hexane-acetone (4:1), gave compounds (4) (12.0 mg) and (6) (23.0 mg). The most polar subfractions, eluted with acetone, from fraction IV was further subjected to a CC purification using CH₂Cl₂/MeOH in increasing polarity to yield mainly (7) (30.8 mg).

3.3.1. 14,15-dihydroxyeicos-11Z-enoic acid or deepoxyalchornoic acid (1)

White crystals from hexane-EtOAc; m.p. 64.5 °C; $[\alpha]_D^{20} = +4.54$ (c = 1.10, CHCl₃); UV (PDA) 196, 222 nm; IR (KBr): $\nu_{\text{max}} = 3679, 2947, 2912, 2852, 1697, 1469, 1409, 1274, 1132, 1080, 919 \text{ cm}^{-1}$; HRESIMS m/z 343.2869 [M + H]⁺ (calcd. for C₂₀H₃₉O₄, 343.2848); For ^1H and ^{13}C NMR data, see Table 1.

3.3.2. Bisalchornoicester (2)

White crystals from hexane-EtOAc; m.p. 66.7 °C; $[\alpha]_D^{20} = +4.48$ (c = 4.68, CHCl₃); UV (PDA) 196, 216 nm; IR (KBr): $\nu_{\max} = 3657, 2950, 2908, 2850, 1728, 1706, 1469, 1384, 1205, 1182, 952, 823, 711 \text{ cm}^{-1}$; HRESIMS $m/z = 705.5661 [M + H]^+$ (calcd. for C₄₃H₇₇O₇, 705.5669); For ¹H and ¹³C NMR data, see Table 1.

3.4. Bioassays

The *in vitro* antibacterial activity of compounds **1**, **4**, **5** and **6** was evaluated using a panel of Gram positive bacteria collected from the Pasteur Centre (Yaoundé-Cameroon). The compounds were dissolved in methanol 50% at a concentration ranging from 50 to 1000 µg/mL. The assay was performed according to Jorgensen and Turnidge (2007) with some modification. Nutrient agar (NA) media was used for test bacteria and the test organisms were inoculated over the surface of the sterilized media, with 1.5×10^8 CFU/mL (colony-forming units) for bacteria. Sterile disks of Wattman No. 3 (6.0 mm in diameter) were loaded with 20 µg/mL of each compound, dried, and then placed on agar surface of freshly inoculated medium with the test microorganisms. A control test for the solvent was also performed. The Petri dishes were kept in a refrigerator for one hour to permit homogenous diffusion of the antimicrobial agent before growth of the test microorganisms, and the plates were then incubated at 37 °C for 24 h. The appearance of a clear inhibition zone around the disk in the inoculated Petri dishes is an indication of antimicrobial activity, and the diameters of the clear zones surrounding the discs were measured.

Acknowledgments

This work was supported by the International Foundation of Science and The World Academy of Sciences. S.K.F. also appreciates the Humboldt Foundation and the DAAD for the equipment offered to him. The excellent technical assistance of Judith Laure Demgne Fopossi is gratefully acknowledged.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2017.11.011>.

References

- Ajali, U., 2000. Antibacterial activity of *Alchornea cordifolia* stem bark. *Fitoterapia* 71, 436–438.
- Ajibade, T.O., Olayemi, F.O., 2015. Reproductive and toxic effects of methanol extract of *Alchornea cordifolia* leaf in male rats. *Andrologia* 47, 1034–1040.
- Asilbekova, D.T., Guskova, S.D., Moiseeva, G.P., Glushenkova, A.I., 1987. New epoxy acids of *Galeopsis bifida*. *Chem. Nat. Compd.* 23, 186–192.
- Ayisi, N.K., Nyadedzor, C., 2003. Comparative *in vitro* effects of AZT and extracts of *Ocimum gratissimum*, *Ficus polita*, *Clausena anisata*, *Alchornea cordifolia*, and *Elaeophorbium drupifera* against HIV-1 and HIV-2 infections. *Antivir. Res.* 58, 25–33.
- Banzouzi, J.T., Prado, R., Menan, H., Valentin, A., Roumestan, C., Mallie, M., Pelissier, Y., Blache, Y., 2002. *In vitro* antiplasmodial activity of extracts of *Alchornea cordifolia* and identification of an active constituent: ellagic acid. *J. Ethnopharmacol.* 81, 399–401.
- Cueva, C., Moreno-Arribas, M.V., Martín-Alvarez, P.J., Bills, G., Vicente, M.F., Basilio, A., Rivas, C.L., Requena, T., Rodríguez, J.M., Bartolomé, B., 2010. Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Res. Microbiol.* 161, 372–382.
- Ek, S., Kartimo, H., Mattila, S., Tolonen, A., 2006. Characterization of phenolic compounds from lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*). *J. Agric. Food Chem.* 27, 9834–9842.
- Eykman, J.F., 1885. Isolation from the fruit of the oriental plant *Illicium religiosum*. *Rec. Trav. Chim.* 4, 32.
- Jorgensen, J.H., Turnidge, J.D., 2007. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. In: Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., Tenover, M.A. (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press, Washington, pp. 1152–1172.
- Kleiman, R., Plattner, R.D., Spencer, F.G., 1977. *Alchornea cordifolia* seed oil: A rich source of a new C20 epoxide, (+)-cis-14,15-epoxy-cis-11-eicosenoic acid. *Lipids* 12, 610–612.
- Kuigoua, G.M., Kouam, S.F., Ngadjui, B.T., Schulz, B., Green, I.R., Choudhary, M.I., Krohn, K., 2010. Minor secondary metabolic products from the stem bark of *Plumeria rubra* Linn. displaying antimicrobial activities. *Planta Med.* 7, 620–625.
- Lamikanra, A., Ogundaini, A.O., Ogungbamila, F.O., 1990. Antibacterial constituents of *Alchornea cordifolia* leaves. *Phytother. Res.* 4, 198–200.
- Mavar-Manga, H., Brkic, D., Marie, D.E., Quetin-Leclercq, J., 2004. *In vivo* anti-inflammatory activity of *Alchornea cordifolia* (Schumacher & Thonn.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *J. Ethnopharmacol.* 92, 209–214.
- Mavar-Manga, H., Lejoly, J., Quetin-Leclercq, J., Schmelzer, G.H., 2007. In: Schmelzer, G.H., Gurib-Fakim, A. (Eds.), *Alchornea cordifolia* (Schumacher & Thonn.) Müll. Arg. [Internet] Record from Protabase. PROTA (Plant Resources of Tropical Africa/ Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands. <http://database.prota.org/search.htm>.
- Muanza, D.N., Kim, B.W., Euler, K.L., Williams, L., 1994. Antibacterial and antifungal activities of nine medicinal plants from Zaire. *Int. J. Pharmacogn.* 32, 337–345.
- Na, H.J., Lee, G., Oh, H.Y., Jeon, K.S., Kwon, H.J., Ha, K.S., Lee, H., Kwon, Y.G., Kim, Y.M., 2006. 4-O-Methylgallic acid suppresses inflammation-associated gene expression by inhibition of redox-based NF- κ B activation. *Int. Immunopharmacol.* 6, 1597–1608.
- Ogungbamila, F.O., Samuelsson, G., 1990. Smooth muscle relaxing flavonoids from *Alchornea cordifolia*. *Acta Pharm. Nord.* 2, 421–422.
- Osadebe, P.O., Okoye, F.B., Uzor, P.F., Nnamani, N.R., Adiele, I.E., Obiano, N.C., 2012. Phytochemical analysis, hepatoprotective and antioxidant activity of *Alchornea cordifolia* methanol leaf extract on carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 5, 289–293.
- Pone, K.B., Sabrina, B.F., Carlos, R.K., 2016. Recent trends in phytochemistry: ethnobotany and pharmacological significance of *Alchornea cordifolia* (Schumacher & Thonn.) Müll. Arg. *J. Ethnopharmacol.* 191, 216–244.
- Rezanka, T., 2002. Glycosides of polyenoic branched fatty acids from myxomycetes. *Phytochemistry* 60, 639–646.
- Simo, C.C.F., Kouam, S.F., Poumale, H.M.P., Simo, I.K., Ngadjui, B.T., Green, I.R., Krohn, K., 2008. Benjaminamide: a new ceramide and other compounds from the twigs of *Ficus benjamina* (Moraceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 36, 238–243.
- Siwe Noundou, X., Krause, R.W., Van-Vuuren, S.F., Ntinteh, D.T., Olivier, D.K., 2016. Antibacterial effects of *Alchornea cordifolia* (Schumacher & Thonn.) Müll. Arg. extracts and compounds on gastrointestinal, skin, respiratory and urinary tract pathogens. *J. Ethnopharmacol.* 179, 76–82.
- Tona, L., Kambu, K., Ngimbi, N., Mesia, K., Penge, O., Lusakibanza, M., Cimanga, K., De Bruyne, T., Apers, S., Totte, J., Pieters, L., Vlietinck, A.J., 2000. Antiamoebic and spasmolytic activities of extracts from some anti-diarrhoeal traditional preparations used in Kinshasa Congo. *Phytomedicine* 7, 31–38.
- Tona, G.L., Mesia, G.K., Nanga, T.H., Cimanga, R.K., Apers, S., Cos, P., Maes, L., Pieters, L., Vlietinck, A.J., 2007. *In vitro* anti protozoal and cytotoxic activities of plant extracts from Democratic Republic of Congo. *Recent Res. Dev. Plant Sci.* 4, 41–60.
- Wu, Z.Y., 1991. The areal-types of Chinese genera of seed plants. *Acta Bot. Yunnan.* 4, 1–139.