

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

PAIX-TRAVAIL-PATRIE

\*\*\*\*\*

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

\*\*\*\*\*

FACULTÉ DES SCIENCES

\*\*\*\*\*

CENTRE DE RECHERCHE ET DE FORMATION  
DOCTORALE EN SCIENCES, TECHNOLOGIES ET

GÉOSCIENCES

\*\*\*\*\*

UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION DOCTORALE  
EN CHIMIE ET APPLICATIONS



REPUBLIC OF CAMEROON

PEACE-WORK-FATHERLAND

\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

FACULTY OF SCIENCE

\*\*\*\*\*

POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCE, TECHNOLOGY AND  
GEOSCIENCES

\*\*\*\*\*

DOCTORAL RESEARCH UNIT FOR CHEMISTRY AND  
APPLICATIONS

**LABORATOIRE DE PHARMACOCHEMIE DES SUBSTANCES NATURELLES**  
**NATURAL PRODUCTS PHARMACOCHEMISTRY LABORATORY**

**Alcaloïdes Indolomonoterpéniques isolés de *Rauvolfia*  
*caffra* Sond et *Tabernaemontana penduliflora* K.  
Schum (Apocynaceae): Isolement, Détermination  
Structurale et Activités Biologiques**

**THÈSE**

**Présentée et soutenue en vue de l'obtention du diplôme de  
Doctorat/ *Ph.D* en Chimie Organique**

**Par :**

**BITOMBO André Néhémie ; Matricule : 10Y169**

**Master en Chimie Organique**

**Devant le jury :**

<b>Président :</b>	<b>DONGO Etienne, Professeur</b>	<b>Université de Yaoundé I ;</b>
<b>Rapporteurs:</b>	<b>PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel, Professeur</b>	<b>Université de Yaoundé I ;</b>
	<b>NGONO BIKOBO Dominique Serge Maître de Conférences</b>	<b>Université de Yaoundé I ;</b>
<b>Membres :</b>	<b>MBAZE MEVA'A Luc, Professeur</b>	<b>Université de Douala ;</b>
	<b>FEKAM BOYOM Fabrice, Professeur</b>	<b>Unive</b>
	<b>ATCHADE Alex De Théodore, Maître de Conférences</b>	<b>Unive</b>
	<b>AMBASSA Pantaléon Maître de Conférences</b>	<b>Unive</b>

**Année 2021**



REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

FACULTE DES SCIENCES

\*\*\*\*\*

CENTRE DE RECHERCHE ET DE  
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES,  
TECHNOLOGIE ET GEOSCIENCES



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

\*\*\*\*\*

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

FACULTY OF SCIENCE

\*\*\*\*\*

POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCE,  
TECHNOLOGY AND GEOSCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE  
DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

ATTESTATION DE CORRECTION

Titre de la thèse : « Alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés de *Rauvolfia caffra* Sond et *Tabernaemontana penduliflora* K. Schum (Apocynaceae) : Isolement, détermination structurale et activités biologiques».

Nous soussignés, Professeurs DONGO Etienne, MBAZE MEVA'A Luc, FEKAM BOYOM Fabrice, ATCHADE Alex De Théodore, AMBASSA Pantaléon, NGONO BIKOBO Dominique Serge, PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel, attestons que le candidat **BITOMBO André Néhémie**, Matricule **10Y169**, après sa soutenance de thèse de Doctorat/Ph.D le 19 janvier 2022, a bel et bien pris en compte dans la mouture finale de sa thèse toutes les corrections qui lui ont été faites conformément aux recommandations du jury.

En foi de quoi nous lui délivrons cette attestation de correction pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le **23** / **FEV** / **2022**

Président :

DONGO Etienne.  
(Professeur, UY1)

Membres :

MBAZE MEVA'A Luc  
(Professeur, UY1)

AMBASSA Pantaléon  
(Maître de Conférences, UY1)

ATCHADE Alex De Théodore  
(Maître de Conférences, UY1)

Rapporteurs :

PEGNYEMB Dieudonné E.  
(Professeur, UY1)

NGONO B. Dominique Serge  
(Maître de Conférences, UY1)

FEKAM BOYOM Fabrice  
(Professeur, UY1)

<b>UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I</b> <b>Faculté des Sciences</b> Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		<b>THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I</b> <b>Faculty of Science</b> Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>		<b>LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF</b>

**ANNÉE ACADEMIQUE 2021/2022**

(Par Département et par Grade)

**DATE D'ACTUALISATION 22 septembre 2021**

**ADMINISTRATION**

**DOYEN** : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*

**VICE-DOYEN / DPSAA** : ATCHADE Alex de Théodore, *Maître de Conférences*

**VICE-DOYEN / DSSE** : NYEGUE Maximilienne Ascension, *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** :  
 AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

**1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)**

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DAIGA 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	Chef de Département
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	ATOUGHO 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	DAF / FS
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	<b>EWANE Cécile Anne</b>	Maître de Conférences	En poste

17	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
18	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
19	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
20	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
21	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
22	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

23	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
24	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
25	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
25	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
26	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
27	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
30	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
31	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
32	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
33	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
34	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste

35	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
36	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
37	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

## 2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (46)

1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	DAARS/FS
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	<b>DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré</b>	Professeur	En Poste
6	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	Vice Doyen/FMSB/UYI
7	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8	KAMTCHOING Pierre	Professeur	En poste
9	<b>KEKEUNOU Sévilor</b>	Professeur	En poste
10	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
11	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
12	NOLA Moïse	Professeur	En poste

13	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
14	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
15	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	<i>En poste</i>

16	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
19	<b>LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.</b>	Maître de Conférences	En poste
20	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
21	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
22	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
23	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

24	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
25	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
26	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
27	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
28	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
29	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
30	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
31	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
32	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
33	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
34	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
35	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
36	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
40	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste

42	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
43	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
44	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
45	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
46	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

**3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (33)**

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	<b>MBOLO Marie</b>	Professeur	En poste
5	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
6	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
7	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

8	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
10	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
11	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
12	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
13	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	CE / MINRESI
14	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
15	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
16	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
17	TSOATA Esaïe	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	NGOUO 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 NTSOMBAH NTSEFONG	Assistant	En poste
28	KABELONG BANAHOU 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) (33)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	Chef de Département
2	<b>DJOUFAC WOUMFO Emmanuel</b>	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	Recteur Univ.Ngaoundere
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	Ministre Chargé de Miss.PR
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	CT MINRESI
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	Vice-Doyen Univ. Bamenda
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	DOYEN FS UD <sub>s</sub>
10	NGOMO Horace MANGA	Professeur	Vice Chancellor/UB

11	<b>ACAYANKA Elie</b>	Maître de Conférences	En poste
12	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	Chargée Mission P.R.
13	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
14	KAMGANG YOUBI 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	<b>TCHAKOUTE KOUAMO Hervé</b>	Maître de Conférences	En poste

21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU DAOUA	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 nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINFEM

29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste

31	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
32	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
33	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

#### 5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen/FSE/UYI
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDS
4	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
5	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	Directeur/ MINESUP/ Chef de Département
6	WANDJI Jean	Professeur	En poste

7	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	Vice-Doyen / DPSAA
8	<b>AMBASSA Pantaléon</b>	Maître de Conférences	En poste
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	<b>MVOT AKAK CARINE</b>	Maître de Conférences	En poste
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<b>C.E/ MINESUP</b>
20	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	C.S/ MINESUP

21	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
23	<b>TAGATSING FOTSING Maurice</b>	Maître de Conférences	En poste
24	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	Doyen /FS/ UYI
25	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
26	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
27	<b>ZONDEGOUMBA Ernestine</b>	Maître de Conférences	En poste

28	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
29	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
30	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
31	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
32	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste

33	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
34	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

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

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	Chef Div.MINESUP
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP

3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
---	---------------	-----------------------	----------

4	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
5	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	Chef de Département
6	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
7	<b>DOMGA KOMGUEM Rodrigue</b>	Chargé de Cours	En poste
8	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
10	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
11	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
12	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	Directeur adjoint Enset. Ebolowa
14	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
15	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
16	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
17	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste

18	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël 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. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

**7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)**

1	<b>AYISSI Raoult Domingo</b>	Professeur	Chef de Département
2	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	Inspecteur MINESUP

3	<b>KIANPI Maurice</b>	Maître de Conférences	En poste
4	<b>MBANG Joseph</b>	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	<b>MBELE BIDIMA Martin Ledoux</b>	Maître de Conférences	En poste
7	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
8	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	Chef service des programmes & Diplômes/FS/UYI
9	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
10	<b>TCHOUNDJA Edgar Landry</b>	Maître de Conférences	En poste

11	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
12	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
14	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
15	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
16	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
17	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
18	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
19	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
20	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
21	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
22	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste

23	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargé de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste

26	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
27	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
28	MBIAKOP Hilaire George	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	Chef de Département
2	<b>NYEGUE Maximilienne Ascension</b>	Professeur	VICE-DOYEN / DSSE
3	<b>NWAGA Dieudonné M.</b>	Professeur	En poste

4	<b>ASSAM ASSAM Jean Paul</b>	Maître de Conférences	En poste
5	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	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. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (40)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	Vice-Recteur. UN

4	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
6	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7	<b>NANA NBENDJO Blaise</b>	Professeur	En poste
8	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
9	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
12	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen FS Univ/Bda
13	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste

16	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
17	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18	<b>ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA</b>	Maître de Conférences	En poste
19	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
22	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
23	<b>MBINACK Clément</b>	Maître de Conférences	En poste
24	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
25	SAIDOU	Maître de Conférences	MINRESI
26	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	Directeur/ENS/UYI

30	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31	<b>CHAMANI Roméo</b>	Chargé de Cours	En poste
32	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
33	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
34	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
35	MEL'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste

36	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
37	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
38	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
39	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
40	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste

<b>10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)</b>
--

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NGOS III Simon	Professeur	En poste
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste

8	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
10	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
12	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
13	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
14	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
15	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
16	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
17	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance &amp; du Matériel/UYII</i>
18	<b>TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM</b>	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
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	DG/ART
----	--------------------	-----------------------	--------

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	LAMILLEN 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	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
39	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste

41	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
42	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	8 (01)	14 (10)	13 (05)	3 (02)	<b>38 (18)</b>
BPA	15 (01)	8 (06)	18 (05)	05 (02)	<b>46 (14)</b>
BPV	07 (01)	10 (01)	9 (06)	07 (01)	<b>33 (9)</b>
CI	10 (01)	10 (02)	10 (02)	03 (0)	<b>33 (5)</b>
CO	6 (0)	21 (05)	05 (02)	02 (0)	<b>34(7)</b>
IN	2 (0)	1 (0)	14 (01)	08 (01)	<b>25 (2)</b>
MAT	2 (0)	8 (0)	15 (01)	05 (02)	<b>30 (3)</b>
MIB	3 (0)	4 (02)	05 (01)	06 (02)	<b>18 (5)</b>
PHY	15 (0)	14 (02)	09 (03)	02 (0)	<b>40 (5)</b>
ST	7 (1)	15 (01)	18 (05)	02 (0)	<b>42(7)</b>
<b>Total</b>	<b>75 (5)</b>	<b>105 (29)</b>	<b>116 (31)</b>	<b>43 (10)</b>	<b>339 (75)</b>
Soit un total de		<b>339 (75)</b> dont :			
-	Professeurs	<b>75 (5)</b>			
-	Maîtres de Conférences	<b>105 (29)</b>			
-	Chargés de Cours	<b>116 (31)</b>			
-	Assistants	<b>43 (10)</b>			
()		<b>75</b>			

# **DÉDICACES ET REMERCIEMENTS**

## DEDICACES

À MES PARENTS  
À NATHAN  
À MES FRÈRES ET SŒURS

« IL FAUT TOUJOURS CONNAÎTRE LES LIMITES DU POSSIBLE.  
PAS POUR S'ARRÊTER, MAIS POUR TENTER L'IMPOSSIBLE  
DANS LES MEILLEURES CONDITIONS »  
– ROMAN GARY

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé, au sein du Laboratoire de Pharmacochimie et des Substances Naturelles de l'Université de Yaoundé I ; sous la co-direction, de Messieurs **Dieudonné Emmanuel Pegnyemb**, Professeur, et de **Dominique Serge Ngoni Bikobo**, Maître de Conférences.

Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur **Dieudonné Emmanuel Pegnyemb**, Professeur, d'avoir accepté de superviser ce travail et pour m'avoir accueilli dans le Laboratoire de Pharmacochimie et des Substances Naturelles me donnant ainsi l'opportunité de me former en Chimie des Substances Naturelles et en Pharmacologie.

J'aimerais également exprimer ma très grande gratitude à Monsieur **Dominique Serge Ngoni Bikobo**, Maître de Conférences, qui a été au cœur de ce projet de thèse et l'a dirigé avec compétence, rigueur, une grande disponibilité et une patience extrême, aussi pour ces nombreux conseils et suggestions tant scientifiques que techniques. J'ai tout appris auprès de lui sur les différentes méthodes et techniques de pointe utilisées dans ce travail, ce qui me donne aujourd'hui un solide bagage pour la suite de ma carrière ; je tiens à vous exprimer ma vive reconnaissance.

Je remercie Monsieur le Professeur **Afsar Khan** de l'Université *Comsats* de Islamabad au Pakistan pour m'avoir accueilli dans son laboratoire dans le cadre de la bourse TWAS. J'ai beaucoup apprécié son hospitalité, sa disponibilité, sa patience et son attention particulière. Son dynamisme pour la recherche des produits naturels a été pour moi une source de motivation. Je tiens également à le rassurer de ma reconnaissance et de ma sympathie pour la formation que j'ai reçue.

Mes sincères remerciements sont adressés à Monsieur le Professeur **Grégoire Christian Bochet** de l'Université de Fribourg en Suisse pour m'avoir accueilli dans son équipe de recherche dans le cadre de la bourse de l'Université de Fribourg, ceci m'a permis de faire mon travail dans l'environnement stimulant d'un groupe de recherche de renommée mondiale. J'ai ainsi eu l'occasion de participer au *Summer school* de la *Swiss Chemical Society*, un congrès de renommée mondiale. Je vous renouvelle mes remerciements.

J'aimerais également remercier Monsieur le Professeur **Fabrice Fekam Boyom** du Laboratoire de Phytobiochimie et Etude des Plantes Médicinales, de l'Université de Yaoundé I ainsi que toute son équipe pour la collaboration fructueuse ayant abouti la réalisation de la partie biologique de cette thèse.

Je remercie sincèrement Monsieur **Auguste Abouem A Zintchem**, Maître de Conférences, pour sa disponibilité, ses multiples conseils réconfortants, sa collaboration et coopération tout au long de ces années.

Un grand merci aux Professeurs **Joséphine Ngo Mbing, Olivier Placide Note et Joseph Thierry Ndongo**, et aux Docteurs **Gaétan Bahiya, Ledoux Kamto, Angélique Nicolas Messi, Mc Jesus Kinyok, Line Simo, Norbert Mbabi, Eric Robert Tiam, Lin Marcelin Ambassa Messi, Marius Balemaken Missi et Guy Roland Ebede**, dont j'ai apprécié la disponibilité et les conseils enrichissants.

Je tiens également à remercier tous mes collègues de laboratoire actuels ou anciens, pour leur aide pratique ou théorique, leur bonne humeur et leur amitié. Ces remerciements s'adressent tout particulièrement à Messieurs : **Jean Noel Evina, Jeanne Louise Nkot, Fred Zoua, Alexis Bienvenue Nama, Emmanuel Biang Moffi, Eric Mvondo Essimi**.

Avant de conclure je ne saurai passer sous silence l'immense soutien de ma famille pour m'avoir donné la passion de la connaissance, du doute et pour m'avoir soutenu pendant ces longues années d'études. Je pense particulièrement à mon père Rev. **Taata Oscar Zintchem A Mbang**, À Monsieur et Madame **Ekorong** pour leur soutien indéfectible, À Monsieur le Sous-préfet **Joël Thierry Goufan Yombi** un grand frère spécial, À mes frères et sœurs **Leonard Assiang, André Zintchem, Lydie Valérie Nwayin, Mathurain Mbassa**, un merci à ceux ou celles que je n'ai pas cité ici.

Enfin, je ne saurai terminer sans dire un grand merci à Monsieur et Madame **Nwatchok** qui ont joué un rôle déterminant durant tout ce parcours ; un merci également à **Monique Nemi et André Nathan Bitombo** pour leur soutien moral et affectif et je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



**TABLE DE MATIERES**

## Table des matières

Liste protocolaire.....	a
DEDICACES .....	i
REMERCIEMENTS .....	ii
LISTE DES ABRÉVIATIONS ET SYMBOLES .....	xi
LISTE DES TABLEAUX .....	xiv
LISTE DES FIGURES.....	xvi
RESUMÉ.....	xx
ABSTRACT.....	xxii
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE 1 : REVUE DE LA LITTÉRATURE	
1. Généralités sur la famille des Apocynaceae .....	5
1.1. Introduction .....	5
1.2. Répartition de la famille des Apocynaceae .....	5
1.3. Classification botanique de la famille des Apocynaceae.....	6
1.4. Etudes phytochimiques antérieures et principaux métabolites isolés de la famille des Apocynaceae.....	7
1.4.1. Principaux métabolites secondaires isolés de la famille des Apocynaceae .....	8
1.4.1.1. Généralités sur les alcaloïdes .....	8
1.4.1.2. Généralités sur les alcaloïdes indolomonoterpéniques .....	13
1.4.1.2.1. Alcaloïdes indolomonoterpéniques : présentation, distribution, biosynthèse .....	13
1.4.1.2.2. Alcaloïdes indolomonoterpéniques de type II : Ibogane .....	18
1.4.1.2.3. Alcaloïdes indolomonoterpéniques de type III : Aspidospermane.....	18
1.4.1.2.4. Activités pharmacologiques et intérêt biologique des alcaloïdes indolomonoterpéniques .....	19
1.5. Généralités sur le genre <i>Rauvolfia</i> .....	21
1.5.1. Introduction .....	21

1.5.2. Distribution géographique des espèces du genre <i>Rauwolfia</i> .....	22
1.5.3. Usages ethnopharmacologiques des espèces du genre <i>Rauwolfia</i> .....	22
1.5.4. Constituants chimique du genre <i>Rauwolfia</i> .....	23
1.5.4.1. Alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés des plantes du genre <i>Rauwolfia</i> .....	23
1.5.4.2. Les bis-indoles.....	37
1.5.4.3. Autres alcaloïdes .....	38
1.5.4.4. Les triterpénoïdes et stéroïdes .....	39
1.5.4.5. Les iridoïdes et séco- iridoïdes.....	39
1.5.4.6. Les composés phénoliques .....	39
1.5.4.7. Les lignanes.....	40
1.5.4.8. Les coumarines.....	40
1.5.4.9. Les flavonoïdes .....	41
1.5.4.10. Autres composés .....	41
1.6. Activités pharmacologiques et intérêts biologiques des plantes du genre <i>Rauwolfia</i> ...	41
1.6.1. Activités antioxydantes .....	41
1.6.2. Activités anticancéreuses .....	42
1.6.3. Activités antimicrobiennes .....	43
1.6.4. Cytotoxicité.....	43
1.6.6. Activités antipsychotiques .....	44
1.6.7. Activités antidiabétiques.....	44
1.7. Généralités sur l'espèce <i>Rauwolfia caffra</i> Sond.....	45
1.7.1. Introduction .....	45
1.7.2. Classification botanique.....	45
1.7.3. Description <i>Rauwolfia caffra</i> Sond .....	45
1.7.4. Origine et répartition géographique de <i>Rauwolfia caffra</i> Sond.....	47
1.7.5. Usages ethnopharmacologiques de <i>Rauwolfia caffra</i> Sond .....	48
1.7.6. Etudes phytochimiques antérieures sur <i>Rauwolfia caffra</i> Sond .....	49

1.7.7. Activités biologiques sur <i>Rauvolfia caffra</i> Sond .....	51
1 .8. Généralités sur le genre <i>Tabernaemontana</i> .....	52
1 .8.1. Introduction .....	52
1 .8.2. Classification du genre <i>Tabernaemontana</i> selon Plum. ex L., 1753 .....	53
1 .8.3. Description botanique des plantes du genre <i>Tabernaemontana</i> .....	53
1.8.4. Distribution géographique des espèces du genre <i>Tabernaemontana</i> .....	53
1.8.5. Usages des espèces du genre <i>Tabernaemontana</i> .....	54
1 .8.5.1. Usages ethnopharmacologiques des espèces du genre <i>Tabernaemontana</i> .....	54
1 .8.5.2. Autres usages des espèces du genre <i>Tabernaemontana</i> .....	55
1.8.6. Etudes phytochimiques antérieures et principaux métabolites isolés du genre <i>Tabernaemontana</i> .....	55
1.8.6.1. Alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés des plantes du genre <i>Tabernaemontana</i> .....	55
1.8.6.2. Bisindoles isolés des plantes du genre <i>Tabernaemontana</i> .....	57
1.8.6.3. Flavonoïdes isolés des plantes du genre <i>Tabernaemontana</i> .....	59
1.9. Activités biologiques des plantes du genre <i>Tabernaemontana</i> .....	59
1.9.1. Activités antioxydantes .....	59
1.9.2. Activité antitumorales et cytotoxiques.....	61
1.9.3. Activités antimicrobiennes .....	62
1.9.4. Activités antiparasitaires .....	63
1 .10. Généralités sur l'espèce <i>Tabernaemontana penduliflora</i> K.Schum .....	64
1 .10.1. Introduction .....	64
1.10.2. Classification botanique.....	65
1.10.3. Description botanique de <i>Tabernaemontana penduliflora</i> K. Schum.....	65
1.10.4. Distribution géographique de <i>Tabernaemontana penduliflora</i> K. Schum.....	66
1.10.5. Usages ethnopharmacologiques de <i>Tabernaemontana penduliflora</i> K. Schum ..	67
1.10.6. Etudes phytochimiques antérieures sur <i>Tabernaemontana penduliflora</i> K. Schum .....	67

1.10.7. Activités biologiques des composés isolés de <i>Tabernaemontana penduliflora</i> K. Schum .....	67
<b>CHAPITRE 2 : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
<b>PARTIE A : ETUDES PHYTOCHIMIQUES.....</b>	<b>67</b>
2.1. Investigation phytochimique des écorces du tronc de <i>Rauwolfia caffra</i> et des tiges de <i>Tabernaemontana penduliflora</i> .....	67
2.1.1. Introduction.....	67
2.1.2. Screening chimique des extraits des écorces du tronc de <i>Rauwolfia caffra</i> et des tiges de <i>Tabernaemontana penduliflora</i> .....	67
2.1.3. Analyses UHPLC-HRMS des écorces du tronc de <i>Rauwolfia caffra</i> et des tiges de <i>Tabernaemontana penduliflora</i> .....	69
2.2. Etude phytochimique des écorces du tronc de <i>Rauwolfia caffra</i> .....	70
2.2.1. Extraction et isolement des alcaloïdes .....	70
2.2.3. Caractérisation chimique des alcaloïdes isolés de <i>Rauwolfia caffra</i> .....	78
2.2.3.1. Détermination structurale du RC1 .....	78
2.2.3.2. Détermination structurale du RC2 .....	87
2.2.3.3. Identification du composé RC3 .....	95
2.2.4.2.4. Identification du composé RC4 .....	98
2.2.4.2.5. Identification du composé RC5 .....	102
2.2.4.2.6. Identification du composé RC6 .....	106
2.2.4.2.7. Identification du composé RC7 .....	109
2.2.4.2.8. Identification du composé RC8 .....	112
2.2.4.2.9. Identification du composé RC9 .....	115
2.2.4.2.10. Identification du composé RC10 .....	117
2.2.4.2.11. Identification du composé RC11 .....	120
2.2.4.2.12. Identification du composé RC12 .....	124
2.2.4.2.13. Identification du composé RC13 .....	127
2.2.4.2.14. Identification du composé RC14 .....	130

2.2.4.2.15. Identification du composé RC15 .....	134
2.2.4.2.16. Identification du composé RC16 .....	137
2.2.4.2.17. Identification du composé RC17 .....	140
2.2.4.2.18. Identification du composé RC18 .....	142
2.2.4.2.19. Identification du composé RC19 .....	144
2.2.5. Etude phytochimique des tiges de <i>Tabernaemontana penduliflora</i> .....	148
2.2.5.1. Extraction et isolement des alcaloïdes .....	148
2.2.5.2. Caractérisation chimique des alcaloïdes isolés des tiges de <i>Tabernaemontana penduliflora</i> .....	150
2.2.5.2.1. Détermination structurale du composé TP1 .....	150
2.2.5.2.1.1. Détermination structurale du composé TP1a .....	151
2.2.5.2.1.2. Détermination structurale du composé TP1b .....	159
2.2.5.2.2. Détermination structurale du composé TP2 .....	161
2.2.5.2.3. Détermination structurale du composé TP3 .....	168
2.2.5.2.3.1. Détermination structurale du composé TP3a .....	169
2.2.5.2.3.2. Détermination structurale du composé TP3b .....	175
2.2.5.2.4. Détermination structurale du composé TP4 .....	177
2.2.5.2.5. Identification du composé TP5 .....	184
2.2.5.2.6. Identification du composé TP6 .....	188
2.2.5.2.7. Identification du composé TP7 .....	191
2.2.5.2.8. Identification du composé TP8 .....	195
2.2.5.2.9. Identification du composé TP9 .....	197
<b>PARTIE B : ÉTUDES BIOLOGIQUES ET BIOSYNTÈSE DE QUELQUES COMPOSÉS ISOLÉS .....</b>	<b>200</b>
2.2.6. Activités biologiques des extraits et composés isolés .....	200
2.2.6.1. Activités anticancéreuses <i>in vitro</i> contre les cellules cancéreuses du colon humain HCT 116 .....	200
2.2.6.2. Activités antimicrobiennes .....	201

2.2.6.3. Activités antiplasmodiales <i>in vitro</i> .....	202
2.2.7. Biosynthèse de quelques composés isolés.....	203
2.2.8. Importance Chimiotaxonomique .....	205
Conclusion générale et perspectives .....	206
<b>CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODES</b>	
3.1. Matériel végétal et extraction .....	208
3.1.1. Récolte.....	208
3.1.2. Séchage et broyage .....	208
3.1.3. Extraction et isolement.....	208
3.1.4. Screening phytochimique .....	211
3.2. Méthodes chromatographiques analytiques.....	211
3.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	211
3.2.2. Chromatographie liquide ultraperformance couplée à la spectrométrie de masse (UHPLC-HRMS). .....	212
3.2.3. Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS /MS) .....	213
3.3. Méthodes chromatographiques préparatives .....	213
3.3.1. Chromatographie sur colonne ouverte (CC) .....	213
3.3.2. Chromatographie préparative sur couche mince (CPCM) .....	214
3.4. Méthodes physico-chimiques .....	214
3.4.1. Mesure du pouvoir rotatoire.....	214
3.4.2. Spectroscopie ultraviolet (UV) .....	215
3.4.3. Spectroscopie infra-rouge (IR) .....	215
3.4.4. Spectroscopie par dichroïsme circulaire (CD).....	215
3.4.5. Spectrométrie de masse (SM) .....	216
3.4.6. Résonance magnétique nucléaire (RMN).....	216
3.5. Méthodes biologiques.....	217
3.5.1. Activité antiproliférative par la méthode d'analyse <i>IncuCyte® Live-Cell</i> .....	217

3. 5. 2. Culture des cellules.....	218
3. 5. 3. Test antimicrobien par la méthode de micro dilution (MABA) .....	219
3. 5. 3. 1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration bactéricide minimale (CMB) .....	219
3. 5. 3. 2. Souches bactériennes et conditions de croissance.....	220
3. 5. 4. Activité antiplasmodiale <i>in vitro</i> de l'extrait et molécules. ....	220
3. 5. 4. 1. Culture <i>in vitro</i> de <i>Plasmodium falciparum</i> .....	220
3. 5. 4. 2. Synchronisation de la culture parasitaire .....	220
3. 5. 4. 3. Essai d'inhibition de la croissance de <i>P. falciparum</i> . ....	221
3. 5. 4. 3. 1. Dosage par fluorescence à base de <i>SYBR green I</i> .....	221
3. 6. Constantes physiques et données spectrales des composés isolés.....	222
3. 6. 1. Alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés des écorces du tronc de <i>R. caffra</i> Sond .....	222
3. 6.2. Alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés des tiges de <i>T. penduliflora</i> K. Schum .....	231
Références bibliographiques .....	238

## PUBLICATIONS

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS ET SYMBOLES**

## LISTE DES ABRÉVIATIONS ET SYMBOLES

- [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> : pouvoir rotatoire spécifique
- MIA's : Monoterpene Indole Alkaloids
- A-549 : lignée d'origine humaine de cancer du poumon (épithélium alvéolaire)
- AB 943 : lignée primaire immortalisée de fibroblastes humains (peau adulte)
- ACT : *Artemisinin-based Combination Therapy*
- CRC : *Colon-Rectum Cancer*
- AcOEt : Acétate d'Ethyle
- ATCC : *American Type Culture Collection*
- APG : *Angiosperm Phylogeny Group*
- ADN : Acide Désoxyribonucléique
- ATP: Adénosine triphosphate
- AF: Acide Formique
- br s: Singulet large (*broad singlet*)
- CC : Chromatographie sur Colonne
- CCM : Chromatographie sur Couche Mince
- CI<sub>50</sub> : Concentration inhibitrice 50 %
- CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance
- CLHP-MS : Chromatographie liquide Haute Performance couplée à la spectrométrie de masse
- CID : *Collision Induced Dissociation* (dissociation induite par collision)
- CLHP-Q-TOF-MS<sub>2</sub> : Chromatographie Liquide Haute Performance couplée à la spectrométrie de masse tandem (analyseurs Quadripole et Temps de vol)
- COSY : *Correlation Spectroscopy*
- CPS : chimioprévention du paludisme saisonnier
- d : doublet
- dd : doublet de doublet
- ddd : doublet de doublet dédoublé
- DC : Dichroïsme Circulaire
- DCE : Dichroïsme Circulaire Électronique
- DCM : Dichlorométhane
- DEPT-135 : *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*.

DO : Densité Optique  
DAD : *Diode Array Detector*, Détecteur UV à barette de diodes  
 $\varepsilon$  : Coefficient d'extinction molaire  
 $\delta_H$  : déplacement chimique du proton  
 $\delta_C$  : déplacement chimique du carbone  
DNP : *Dictionary of Natural Products*  
EC : *Exciton Chirality*  
ESI : électrospray  
3D7 : souche du *Plasmodium falciparum* chloroquino-sensible  
Dd2 : souche du *Plasmodium falciparum* chloroquino-résistante  
FB : formule Brute  
GSK : GlaxoSmithKline  
GNPS: *Global Natural Product Social Molecular Networking*  
HMBC : *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*  
HSQC : *Heteronuclear Single Quantum Correlation*  
HCT 116 : lignée d'origine humaine de cancer du colon  
HUVEC : lignée endothéliale ombilicale saine humaine  
HEPES : acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique  
HEP-G2 : lignée d'origine humaine de cancer hépatique  
IR : Infra-Rouge  
*J* : constante de couplage  
LV9: *Leishmania donovani*  
m : multiplet  
MS : spectrométrie de masse  
MS/MS ou MS<sub>2</sub> : Spectrométrie de masse en 2 étapes  
MN : *Molecular Networking*  
nm : Nanomètre  
NOESY : *Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*  
NADP<sub>+</sub> : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate  
N.I. : Niveau d'Identification  
NH<sub>4</sub>OH : ammoniacque (solution aqueuse)  
OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
PNLP : Programme National de Lutte contre le Paludisme

PID : pulvérisation intradomiciliaire d'insecticides  
ppm : partie par million  
ROESY : *Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy*  
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire  
ONG : Organisation Non Gouvernementale  
q : quadruplet  
SiOH : silice (gel)  
HRSM-ESI : Spectrométrie de masse (Haute résolution) en mode électrospray  
S.D : *standard deviation*  
s : singulet  
Tr: Temps de rétention  
TMS : Triméthyl-silyl  
TIC : *Total Ion Count* (courant ionique total)  
ToF : *Time-of-Flight* (analyseur à temps de vol)  
TPI : Traitement Préventif Intermittent  
TDDFT : *Time-Dependent Density Functional Theory*  
t : triplet  
UV : Ultra-Violet  
UNICEF : Fonds des Nations Unies pour l'Enfance  
UICN : Union Internationale pour la Conservation de la Nature

## **LISTES DES FIGURES ET TABLEAUX**

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1:</b> Types de squelette des quinze sous-familles d'alcaloïdes et exemples de composés typiques (Hesse, 2002 ; Cordell, 1981) .....	10
<b>Tableau 2:</b> Quelques alcaloïdes isolés des espèces du genre <i>Rauvolfia</i> .....	24
<b>Tableau 3:</b> Résultats du screening chimique effectué sur les extraits au méthanol de <i>R. caffra</i> et à l'éthanol de <i>T. penduliflora</i> .....	68
<b>Tableau 4:</b> Données spectrales RMN du composé RC1 (CDCl <sub>3</sub> + CD <sub>3</sub> OD, 400 et 100 MHz) .....	86
<b>Tableau 5:</b> Données spectrales RMN du composé RC2 (CDCl <sub>3</sub> + CD <sub>3</sub> OD, 400 et 100 MHz) .....	94
<b>Tableau 6:</b> Données spectrales RMN du composé RC3 (CD <sub>3</sub> OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature .....	97
<b>Tableau 7:</b> Données spectrales RMN du composé RC4 (CD <sub>3</sub> OD+ CDCl <sub>3</sub> , 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature .....	101
<b>Tableau 8:</b> Données spectrales RMN du composé RC5 (CD <sub>3</sub> OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature .....	105
<b>Tableau 9:</b> Données spectrales RMN du composé RC6 (CD <sub>3</sub> OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature .....	108
<b>Tableau 10:</b> Données spectrales RMN du composé RC7 (CD <sub>3</sub> OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature.....	111
<b>Tableau 11:</b> Données spectrales RMN du composé RC8 (CDCl <sub>3</sub> , 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature.....	114
<b>Tableau 12:</b> Données spectrales RMN du composé RC9 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature .....	117
<b>Tableau 13:</b> Données spectrales RMN du composé RC10 (CDCl <sub>3</sub> , 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature .....	119
<b>Tableau 14:</b> Données spectrales RMN du composé RC11 (CD <sub>3</sub> OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature .....	123
<b>Tableau 15:</b> Données spectrales RMN du composé RC12 (CD <sub>3</sub> OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature .....	126
<b>Tableau 16:</b> Données spectrales RMN du composé RC13 (CDCl <sub>3</sub> , 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature.....	129
<b>Tableau 17:</b> Données spectrales RMN du composé RC14 (CD <sub>3</sub> OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature .....	133

<b>Tableau 18:</b> Données spectrales RMN du composé RC15 (CD <sub>3</sub> OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature .....	136
<b>Tableau 19:</b> Données spectrales RMN du composé RC16 (CDCl <sub>3</sub> , 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature.....	139
<b>Tableau 20:</b> Données spectrales RMN du composé RC17 (CD <sub>3</sub> OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature .....	142
<b>Tableau 21:</b> Données spectrales RMN du composé RC18 (CD <sub>3</sub> OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature .....	144
<b>Tableau 22:</b> Données spectrales RMN du composé RC19 (CDCl <sub>3</sub> , 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature.....	147
<b>Tableau 23:</b> Données spectrales RMN du composé TP1a (CDCl <sub>3</sub> , 400 et 100 MHz).....	158
<b>Tableau 24:</b> Données spectrales RMN du composé TP1b (CDCl <sub>3</sub> , 400 et 100 MHz) .....	160
<b>Tableau 25:</b> Données spectrales RMN du composé TP2 (Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> , 400 et 100 MHz) ....	167
<b>Tableau 26:</b> Données spectrales RMN du composé TP3a (Methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 400 et 100 MHz)	174
<b>Tableau 27:</b> Données spectrales RMN du composé TP3b (Methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 400 et 100 MHz)	176
<b>Tableau 28:</b> Données spectrales RMN du composé TP4 (Chloroforme- <i>d</i> <sub>1</sub> , 400 et 100 MHz) .....	183
<b>Tableau 29:</b> Données spectrales RMN du composé TP5 (CDCl <sub>3</sub> , 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature.....	187
<b>Tableau 30:</b> Données spectrales RMN du composé TP6 (CDCl <sub>3</sub> , 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature.....	190
<b>Tableau 31:</b> Données spectrales RMN du composé TP7 (CDCl <sub>3</sub> , 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature.....	194
<b>Tableau 32:</b> Données spectrales RMN du composé TP8 (CDCl <sub>3</sub> , 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature.....	196
<b>Tableau 33:</b> Données spectrales RMN du composé TP9 (CDCl <sub>3</sub> , 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature.....	199
<b>Tableau 34:</b> Paramètres d'inhibition (CMI et CMB) des composés purs (µg/mL) et de l'extrait au méthanol (mg/mL).....	201
<b>Tableau 35:</b> Activité antiplasmodiale <i>in vitro</i> de l'extrait hydroéthanolique et composés purs de <i>T. penduliflora</i> .....	202

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Répartition de la famille des Apocynaceae.....	5
<b>Figure 2.</b> Résumé des relations phylogéniques au sein des Apocynaceae admises en 2012.....	6
<b>Figure 3.</b> Exemples de métabolites secondaire de la famille des Apocynaceae.....	8
<b>Figure 4.</b> Origine de la strictosidine (parties tryptaminique en noir et monoterpénique en bleu) .....	14
<b>Figure 5.</b> Alcaloïdes indolomonoterpéniques de types I, II, III : principe de la biosynthèse..	15
<b>Figure 6.</b> Les squelettes des alcaloïdes indolomonoterpéniques monomériques de type I.....	17
<b>Figure 7.</b> Les squelettes des alcaloïdes indolomonoterpéniques monomériques de type II...	18
<b>Figure 8.</b> Les squelettes des alcaloïdes indolomonoterpéniques monomériques de type III .	19
<b>Figure 9.</b> Alcaloïdes indolomonoterpéniques d'intérêt pharmaceutique cités .....	21
<b>Figure 10.</b> Distribution géographique des espèces du genre <i>Rauwolfia</i> .....	22
<b>Figure 11.</b> Systématique de l'espèce <i>Rauwolfia caffra</i> .....	45
<b>Figure 12.</b> Arbre de <i>Rauwolfia caffra</i> Sond .....	46
<b>Figure 13.</b> Feuilles, fleurs et fruits de <i>Rauwolfia caffra</i> Sond .....	47
<b>Figure 14.</b> Distribution géographique de <i>Rauwolfia caffra</i> en Afrique .....	47
<b>Figure 15.</b> Systématique du genre <i>Tabernaemontana</i> selon Plum. ex L.....	53
<b>Figure 16.</b> Distribution géographique des espèces du genre <i>Tabernaemontana</i> .....	54
<b>Figure 17.</b> Systématique de <i>Tabernaemontana penduliflora</i> K. Schum. ....	65
<b>Figure 18.</b> Arbuste de <i>Tabernaemontana penduliflora</i> K. Schum.....	66
<b>Figure 19.</b> Fleurs de <i>Tabernaemontana penduliflora</i> K. Schum.....	66
<b>Figure 20.</b> Profils LC-MS de l'extrait à l'éthanol de <i>R. caffra</i> .....	69
<b>Figure 21.</b> Profils LC-MS de l'extrait à l'éthanol de <i>T. penduliflora</i> .....	70
<b>Figure 22.</b> Schéma d'extraction des alcaloïdes de l'extrait au MeOH des écorces de <i>R. caffra</i> et fractionnement.....	72
<b>Figure 23.</b> Schéma d'isolement des composés de la fraction F2.....	73
<b>Figure 24.</b> Schéma d'isolement des composés de la fraction F7.....	74
<b>Figure 25.</b> Schéma d'isolement des composés de la fraction F1.....	75
<b>Figure 26.</b> Schéma d'isolement des composés de la fraction F5.....	76
<b>Figure 27.</b> Schéma d'isolement des composés de la fraction F3.....	77
<b>Figure 28.</b> Schéma d'isolement des composés de la fraction F4.....	78
<b>Figure 29.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé RC1 .....	79
<b>Figure 30.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC1.....	80
<b>Figure 31.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC1 .....	81

<b>Figure 32.</b> Spectre COSY (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC1 .....	82
<b>Figure 33.</b> Spectre ROESY (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC1 .....	83
<b>Figure 34.</b> Corrélation ROESY du composé RC1 .....	83
<b>Figure 35.</b> Spectre HMBC (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC1 .....	84
<b>Figure 36.</b> Spectre CD combiné au spectre UV-Vis de RC1 dans le methanol. ....	84
<b>Figure 37.</b> Optimisation géométrique de la Rauwolfianoïde A .....	85
<b>Figure 38.</b> Spectre Infrarouge sur disque de AgCl de RC2.....	87
<b>Figure 39.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé RC2.....	88
<b>Figure 40.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC2.....	89
<b>Figure 41.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC2 .....	90
<b>Figure 42.</b> Spectre HMBC (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC2 .....	90
<b>Figure 43.</b> Spectre COSY (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC2 .....	91
<b>Figure 44.</b> Spectre ROESY (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC2 .....	92
<b>Figure 45.</b> Corrélation ROESY du composé RC2.....	92
<b>Figure 46.</b> Spectre CD combiné au spectre UV-Vis de RC2 dans le methanol. ....	93
<b>Figure 47.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé RC3.....	95
<b>Figure 48.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC3 .....	96
<b>Figure 49.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé RC4.....	99
<b>Figure 50.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD + CDCl <sub>3</sub> ) de RC4.....	99
<b>Figure 51.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD+ CDCl <sub>3</sub> ) de RC4.....	100
<b>Figure 52.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé RC5.....	103
<b>Figure 53.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC5.....	103
<b>Figure 54.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC5 .....	104
<b>Figure 55.</b> Spectre de masse ESI-MS du composé RC6 .....	106
<b>Figure 56.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC6.....	107
<b>Figure 57.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC6 .....	107
<b>Figure 58.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé RC7.....	109
<b>Figure 59.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC7.....	110
<b>Figure 60.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC7 .....	110
<b>Figure 61.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé RC8.....	112
<b>Figure 62.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de RC8.....	113
<b>Figure 63.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de RC8 .....	113
<b>Figure 64.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé RC9.....	116
<b>Figure 65.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé RC10.....	118

<b>Figure 66.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé RC11 .....	120
<b>Figure 67.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC11.....	121
<b>Figure 68.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC11 .....	122
<b>Figure 69.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé RC12.....	124
<b>Figure 70.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC12.....	125
<b>Figure 71.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC12 .....	125
<b>Figure 72.</b> Spectre de masse ESI-MS du composé RC13 .....	127
<b>Figure 73.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de RC13.....	128
<b>Figure 74.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de RC13 .....	128
<b>Figure 75.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé RC14.....	130
<b>Figure 76.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC14.....	131
<b>Figure 77.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC14 .....	132
<b>Figure 78.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé RC15.....	134
<b>Figure 79.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC15 .....	135
<b>Figure 80.</b> Spectre de masse ESI-MS du composé RC16 .....	137
<b>Figure 81.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de RC16.....	138
<b>Figure 82.</b> Spectre de masse ESI-MS du composé RC17 .....	140
<b>Figure 83.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de RC17 .....	141
<b>Figure 84.</b> Spectre de masse ESI-MS du composé RC18 .....	143
<b>Figure 85.</b> Spectre de masse ESI-MS du composé RC19 .....	145
<b>Figure 86.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de RC19.....	146
<b>Figure 87.</b> Schéma d'extraction et d'isolement des alcaloïdes des tiges de <i>T. penduliflora</i> .	149
<b>Figure 88.</b> Spectre de masse HRESI-MS des composés TP1a et TP1b .....	150
<b>Figure 89.</b> Spectre de masse ESI-MS des composés TP1a et TP1b.....	151
<b>Figure 90.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP1a et TP1b.....	152
<b>Figure 91.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP1a et TP1b.....	153
<b>Figure 92.</b> Spectre COSY (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP1a et TP1b.....	154
<b>Figure 93.</b> Spectre HMBC (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP1a et TP1b .....	155
<b>Figure 94.</b> Spectre HSQC (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP1a et TP1b.....	155
<b>Figure 95.</b> Spectre ROESY (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP1a et TP1b .....	156
<b>Figure 96.</b> Spectre de masse HRESI-MS du composé TP2 .....	161
<b>Figure 97.</b> Spectre de masse ESI-MS du composé TP2 .....	162
<b>Figure 98.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de TP2.....	163
<b>Figure 99.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de TP2.....	163

<b>Figure 100.</b> Spectre HMBC (400 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de TP2 .....	164
<b>Figure 101.</b> Spectre COSY (400 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de TP2.....	165
<b>Figure 102.</b> Spectre HSQC (400 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de TP2.....	165
<b>Figure 103.</b> Spectre ROESY (400 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de TP2 .....	166
<b>Figure 104.</b> Spectre de masse HRESI-MS des composés TP3a et TP3b .....	168
<b>Figure 105.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de TP3a et TP3b .....	170
<b>Figure 106.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de TP3a et TP3b.....	170
<b>Figure 107.</b> Spectre HSQC (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de TP3a et TP3b.....	171
<b>Figure 108.</b> Spectre HMBC (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de TP3a et TP3b.....	172
<b>Figure 109.</b> Spectre COSY (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de TP3a et TP3b.....	173
<b>Figure 110.</b> Spectre ROESY (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de TP3a et TP3b .....	173
<b>Figure 111.</b> Spectre de masse HRESI-MS des composés TP4.....	177
<b>Figure 112.</b> Spectre de masse ESI-MS des composés TP4 .....	178
<b>Figure 113.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP4 .....	179
<b>Figure 114.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP4 .....	179
<b>Figure 115.</b> Spectre HMBC (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP4.....	180
<b>Figure 116.</b> Spectre COSY (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP4.....	181
<b>Figure 117.</b> Spectre ROESY (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP4 .....	181
<b>Figure 118.</b> Spectre de masse LC-HRESI-MS des composés TP5 .....	185
<b>Figure 119.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP5 .....	185
<b>Figure 120.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP5 .....	186
<b>Figure 121.</b> Spectre de masse HRESI-MS de TP6.....	188
<b>Figure 122.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP6 .....	189
<b>Figure 123.</b> Spectre de masse ESI-MS du composé TP7 .....	192
<b>Figure 124.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP7.....	192
<b>Figure 125.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP7 .....	193
<b>Figure 126.</b> Spectre de masse LC-ESI-MS du composé TP8.....	195
<b>Figure 127.</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP9 .....	198
<b>Figure 128.</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de TP9 .....	198
<b>Figure 129.</b> Inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses HCT 116 des composés purs RC1, RC2 et RC5.....	200
<b>Figure 130.</b> Biosynthèse de quelques alcaloïdes indoliques isolés .....	205

## RESUMÉ

## RESUMÉ

Cette thèse décrit l'isolement des alcaloïdes indoliques de deux plantes camerounaises *Rauvolfia caffra* et *Tabernaemontana penduliflora* (Apocynaceae) faisant usage des méthodes et techniques d'isolement de pointe (UHPLC-HRMS), et l'évaluation des activités anticancéreuse, antimicrobienne, et antiplasmodiale de certains d'entre eux. Des résultats obtenus lors du screening chimique, l'investigation phytochimique des extraits alcaloïdiques a été entreprise. Ainsi, l'utilisation des différentes techniques de séparation et de purification a conduit à l'isolement de 32 composés dont 08 dérivés nouveaux. Les structures de tous ces composés ont été déterminées et identifiées sur la base des méthodes spectroscopiques RMN (1D et 2D), UV et IR, masse (ESI MS ; HRESI MS), CD et la TDDFT.

L'extrait au MeOH des écorces du tronc de *R. caffra* a conduit à l'isolement de 19 alcaloïdes indolomonoterpéniques dont : 02 dérivés nouveaux (rauvolfianoïdes **A-B**) (**306-307**) et 17 autres alcaloïdes déjà décrit dans la littérature ; identifiés à la raucaffricine (**56**), la nortetraphyllicine (**47**), la tetraphyllicine (**42**), la sarpagine (**148**), la lochnerine (**141**), 10-méthoxytetrahydroalstonine (**78**), l'isoreserpiline (**80**), la reserpiline (**73**), la melinonine A (**315**), la darcyribéirine (**305**), 19-*epi*-ajmalicine (**316**), 3-*epi*-rauvanine (**317**), la yohimbine (**100**), la suaveoline (**206**), l'akuammiline (**177**), la norsuaveoline (**207**) et la 17-*O*-acétylnortetraphyllicine (**46**).

L'investigation phytochimique de l'extrait à l'EtOH des tiges de *T. penduliflora* a permis d'isoler 13 alcaloïdes indolomonoterpéniques dont 05 dérivés nouveaux de  $\beta$ -carbolines possédant le squelette de type corynanthe (penduliflorines A-E) (**308-312**) et la voacangine-*N*-oxyde (tabernaemontine) (**313**) qui est le dérivé *N*-oxyde de la voacangine ainsi que 07 autres alcaloïdes déjà décrit dans la littérature identifiés à la coronaridine (**266**), la voacangine (**322**), la 3-oxocoronaridine (**320**), la 3-oxoheyneanine (**319**), voachalotine (**323**), la voacristine hydroxyindolenine (**321**), et la voacangine hydroxyindolenine (**318**).

Connues au Cameroun sous les noms "Nepumè" (*R. caffra*) en Bamiléké et "Etoe" (*T. penduliflora*) en Ewondo, ces deux espèces sont utilisées pour le traitement des infections microbiennes et le paludisme. Les extraits au MeOH des écorces du tronc de *R. caffra* Sond et à EtOH (95%) des tiges de *T. penduliflora* K. Schum (Apocynaceae) ont été soumis à un criblage biologique. Ces extraits ont été tour à tour évalués pour leurs activités antimicrobiennes (contre trois souches bactériennes inductrice du cancer du colon *Escherichia coli* ATCC 35218, *Shigella sp* et *Salmonella sp*) et antiplasmodiale (sur 3D7 (CQS) et Dd2 (CQR)).

Certains de ces composés (rauolfianoïdes A-B et 3-*epi*-rauvanine) ont été testés sur les cellules cancéreuses HCT116 du cancer du colon humain puis sur trois souches bactériennes inductrices du cancer du colon (*Escherichia coli* ATCC 35218, *Shigella sp* and *Salmonella sp*). Ceux-ci ont présenté une activité cancéreuse peu significative  $CI_{50} > 40 \mu\text{M}$ . La rauolfianoïde **A** a présenté une activité antibactérienne probante sur toutes les souches avec une valeur de  $CI_{50}$  comprise entre  $6.25\text{--}25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  et a été caractérisée comme de faible inducteurs d'apoptose dans la lignée des cellules cancéreuses du colon humain HCT116. Par ailleurs, l'activité antiplasmodiale de penduliflorines A-C et voacangine-*N*-oxyde a été évaluée sur deux souches de *P. falciparum* (CQS 3D7 et CQR Dd2). Tous les composés testés ont présenté une bonne activité antiplasmodiale *in vitro*. La Penduliflorine A et la voacangine-*N*-oxyde ont présenté une activité plus significative sur les deux souches avec une valeur  $CI_{50}$  comprise entre  $1.85\text{--}7.88 \mu\text{g}/\text{mL}$  comparable à celle de la chloroquine et de l'artémisinine.

**Mots clés :** *Rauwolfia caffra* ; *Tabernaemontana penduliflora* ; Apocynaceae, Rauolfianoïdes ; Penduliflorines ; Tabernaemontine ; Antimicrobienne, Anticancéreuse ; Antiplasmodiale.



## **ABSTRACT**

## ABSTRACT

This thesis describes the isolation of indole alkaloids from *Rauvolfia caffra* and *Tabernaemontana penduliflora* (Apocynaceae) using modern techniques for isolation of natural products (UHPLC-HRMS), and the evaluation of anti-colon cancer, antimicrobial and antiplasmodial properties of some of them. According to these results, extraction of alkaloids was carry out and the fractionation and purification of alkaloidal extract led to the isolation of 08 new compounds along with 24 known ones. All the structures were characterized on the basis of NMR (1D and 2D), UV, and IR, mass (ESI MS; HRESI MS), CD and TDDFT analysis.

The MeOH extract of stem bark of *R. caffra* yielded 02 undescribed monoterpenes indole alkaloids trivially named rauvolfianoids A-B (**306-307**). In addition, 17 known indole alkaloids were obtained and identified as raucaffricine (**56**), nortetraphyllicine (**47**), tetraphyllicine (**42**), sarpagine(**148**), lochnerine (**141**), 10-methoxytetrahydroalstonine (**78**), isoresserpiline (**80**), reserpiline (**73**), melinonine A (**315**), darcyribearine (**305**), 19-*epi*-ajmalicine (**316**), 3-*epi*-rauvanine (**317**), yohimbine (**100**), suaveoline (**206**), akuammiline (**177**), norsuaveoline (**207**) and 17-*O*-acetylnortetraphyllicine (**46**) respectively, on the basis of their physical and spectroscopic data and by comparison with literature data.

Phytochemical investigation of the alkaloidal extract of trunk of *T. penduliflora* led to the isolation of 05 undescribed carboxy-indole alkaloids with the corynanthe skeleton, penduliflorines **A-E** (**308-312**) as well as voacangine-*N*-oxide alkaloid, tabernaemontine (**313**) along with 07 known alkaloids namely coronaridine (**266**), voacangine (**322**), 3-oxocoronaridine (**320**), 3-oxoheyneanine (**319**), voachalotine (**323**), voacristine hydroxyindolenine (**321**) and voacangine hydroxyindolenine (**318**).

These species known in Cameroon as “*Nepumè*” (*R. caffra*) in Bamiléké and “*Etoe*” (*T. penduliflora*) in Ewondo are used for the treatment of infectious diseases and malaria. The MeOH extract of the stem bark of *Rauvolfia caffra* Sond and the EtOH (95%) extract of trunk of *Tabernaemontana penduliflora* K. Schum (Apocynaceae) were subjected to biological assay. The first extract was evaluated for their antimicrobial against three bacterial strains (*Escherichia coli* ATCC 35218, *Shigella sp* and *Salmonella sp*); the second extract was then evaluated for their antiparasmodial against two strains 3D7 (CQS) and Dd2 (CQR).

Some of the isolated compounds were evaluated for antimicrobial and anticancer activities against three bacterial strains (*Escherichia coli* ATCC 35218, *Shigella sp* and *Salmonella sp*) and CRC-related opportunistic pathogens respectively. Moreover they showed no significant antiproliferative effect against HCT 116 cell line (IC<sub>50</sub> > 40 µM). Rauvolfianoid

**A** exhibited potent antibacterial activities with MIC values in the range 6.25–25  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  and were characterized as weak apoptosis inducers in HCT116 human colon carcinoma cell line. Antiplasmodial activity of penduliflorines **A-E** and voacangine-*N*-oxide were evaluated against two strains of *Plasmodium falciparum* 3D7 and Dd2. These compounds showed good *in vitro* activity. Among them, penduflorine **A** and tabernaemontine showed significant inhibitory activity against the two strains with  $\text{IC}_{50}$  values in the range 1.85–7.88  $\mu\text{g}/\text{mL}$  comparable to those of Artemisinin and Chloroquine, and the others exhibited moderate activity.

**Keywords:** *Rauvolfia caffra*; *Tabernaemontana penduliflora*; Apocynaceae; Rauvolfianoids; Penduliflorines; Tabernaemontine ; Antimicrobial activity; Anticancer ; Antiplasmodial activity.

# **INTRODUCTION GÉNÉRALE**

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

La flore Africaine en général, et Camerounaise en particulier, regorge d'une importante réserve de plantes à caractères aromatiques et médicinaux. Ainsi, les plantes médicinales occupent une place importante dans la pharmacopée Africaine. De nos jours, elles jouent encore un rôle déterminant dans le traitement de certaines pathologies comme le cancer, les infections microbiennes et le paludisme (Pousset, 2004 ; Dounias et *al.*, 2000).

En effet, le cancer est une maladie définie comme une prolifération anarchique de cellules au sein d'un tissu normal de l'organisme. Les cancers les plus fréquents sont ceux du poumon, de la prostate chez l'homme ; du sein chez la femme et du colon-rectum (CCR) auquel nous nous intéressons.

Ce dernier (CCR) représente depuis plusieurs décennies un important problème de santé publique dans le monde. Il s'agit d'un des cancers les plus fréquents dans le monde, et se classe au 3<sup>ème</sup> rang des cancers avec 1,8 millions de nouveaux cas diagnostiqués chaque année pour une mortalité avoisinant les 50% chaque année. Malgré le fait que le taux d'incidence reste le plus bas en Afrique, il est toujours fournisseur d'une létalité plus forte dans la plupart des pays occidentaux.

Au Cameroun selon les statistiques du *Global Burden of Cancer*, 915 nouveaux cas (soit 4, 5 % de tous les cancers) et 556 décès (soit 4, 3 % de tous les cancers) ont été enregistrés. (Globocan, 2020).

Le CCR se développe à partir des cellules (muqueuses saines) qui tapissent la paroi interne du côlon et du rectum, par accumulation de mutations et modifications épigénétiques. Dans plus de 80 % des cas, il provient d'une tumeur bénigne, appelée polype adénomateux, qui évolue lentement et finit par devenir cancéreuse. Ce processus nommé séquence adénome-cancer est assez long et peut s'étendre sur plus de 10 ans. Généralement 10 % des cas de CCR sont héréditaires, 90 % sont sporadiques. Parmi les facteurs de risque du CCR on pourrait citer : le tabagisme, l'alcoolisme, la sédentarité, l'inactivité physique, le surpoids, l'obésité, l'alimentation avec une consommation faible en fibres, excessive de viande rouge. Par ailleurs d'autres facteurs externes tels que des agents infectieux (virus, bactéries) joueraient aussi un rôle important dans le développement du CCR. En effet, Il existe un lien bien établi entre l'inflammation bactérienne et le développement du CCR. Il semblerait que le microbiote intestinal soit un des acteurs majeurs impliqués dans la carcinogénèse. Cette hypothèse semble se confirmer au fil des différentes études. Et il en ressort une dysbiose du microbiote intestinal, avec une

surreprésentation anormale des espèces bactériennes commensales. Les recherches les plus pertinentes concernent *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum* et *Escherichia coli*. Toutefois, bien que les bactéries soient généralement perçues comme néfastes pour la santé (car souvent assimilés à tort à des pathogènes), il est important de noter que le microbiote intestinal entretient une relation mutualiste forte avec l'hôte, qui selon la situation sera qualifié d'«eubiose» ou de «dysbiose».

Quant au paludisme ou malaria, c'est une érythropathie causée par des parasites du genre *Plasmodium* et transmis à l'Homme par un moustique du genre *Anopheles*. Il est endémique des régions tropicales ou subtropicales, englobant essentiellement des pays à faible Produit Intérieur Brut (Lewison et al., 2008).

Cinq espèces sont responsables de la pathologie chez l'Humain : il s'agit de *Plasmodium falciparum* (la plus fréquemment responsable d'accès mortels), *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, ainsi que de *P. knowlesi*, identifié assez récemment chez l'homme (Singh et al., 2004). D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) : « le paludisme est une affection fébrile aiguë de santé publique et constitue la principale cause de mortalité dans plusieurs pays d'Afrique sub-saharienne. En 2017, on dénombrait environ 90% des cas et 92% de décès dans cette région. Les enfants de moins de 5 ans ainsi que les femmes enceintes sont particulièrement à risque (OMS, 2017). Au Cameroun, d'après les statistiques du ministère de la santé publique, plus de 4000 décès ont été enregistrés en 2017 (PNLP, 2019).

Les méthodes de traitement du CCR, des infections microbiennes et du paludisme sont diverses. S'agissant du CCR repose principalement sur l'utilisation des substances médicamenteuses à l'origine de la lyse des cellules tumorales, sur la chirurgie associée parfois à la radiothérapie ou sur l'utilisation de médicaments anticancéreux (Bévacizumab<sup>®</sup>, Cétuximab<sup>®</sup> ou Pannitumumab<sup>®</sup>) qui ciblent un récepteur ou un mécanisme précis de la tumeur.

Quant au paludisme, l'OMS en 2017 recommande la mise au point des nouvelles stratégies thérapeutiques combinant l'artémisinine à d'autres molécules (ACTs) comme médicament de choix dans le traitement sévère de la Chloroquine<sup>®</sup> comme médicament de seconde zone.

Cependant, le traitement de ces maladies par ces médicaments et méthodes conventionnels est souvent toxique et entraîne une résistance physiologique, un coût de traitement et de prise en charge élevée, des organismes non ciblés et une inaccessibilité dans les zones reculées. En effet les résistances de plus en plus nombreuses aux anticancéreux, antimicrobiens et antipaludiques constituent un problème majeur de santé publique.

Afin de contribuer à la résolution de ces problèmes, l'innovation des thérapies ciblées ainsi que la phytothérapie sont de plus en plus encouragées.

Ainsi, les besoins en nouvelles alternatives thérapeutiques sont cruciaux car, bien que diverses stratégies soient explorées de nos jours, le screening de nouvelles molécules isolées de produits naturels ou issues de la médecine traditionnelle est de mise.

C'est dans cet ordre d'idée que le Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles s'est focalisé sur la thématique des alcaloïdes indolomonoterpéniques pour ce travail de thèse. Pour la réalisation de cette thèse, deux plantes de la famille des Apocynaceae ; *R. caffra* Sond et *T. penduliflora* K.Schum ont été sélectionnées pour leurs potentiels chimiques et pour leurs utilisations en médecine traditionnelle. La question de recherche est donc : Est ce que ces plantes contiennent des métabolites secondaires potentiellement antimicrobiens, cytotoxiques et antiplasmodiaux ou dotés d'une efficacité thérapeutique vis-à-vis des micro-organismes résistants ?

Le présent travail a pour objectif général la recherche des alcaloïdes indolomonoterpéniques des espèces *R. caffra* Sond et *T. penduliflora* K. Schum (Apocynaceae) et l'évaluation de leurs activités anticancéreuse, antimicrobienne et antiplasmodiale.

### **Objectifs Spécifiques**

Il s'agira plus spécifiquement de:

- Préparer les extraits à partir des différentes parties de la plante (écorces et tiges) ;
- Evaluer les activités : antimicrobiennes et antiplasmodiales des différents extraits des plantes ;
- Réaliser les techniques analytiques couplées (UHPLC-HRMS) afin d'en montrer les applications futures dans le domaine de la dérégulation d'extraits bruts ;
- Isoler les composés d'intérêts issus des extraits enrichis et les caractériser ;
- Evaluer les activités Anticancéreuses contre les souches humaines du cancer du colon HCT116, antimicrobiennes contre trois souches bactériennes (*Escherichia coli* ATCC 35218, *Shigella sp* and *Salmonella sp*) inductrices du CCR et antiplasmodiales contre les souches CQS (3D7) et CQR (Dd2) de *P. falciparum* sur les composés purs;
- Entreprendre des études de Relation-Structure-Activité pour identifier les mécanismes d'action de ces molécules.

Ce manuscrit est articulé autour de trois chapitres :

Le premier, relatif à la revue de la littérature, présente l'aperçu botanique sur la famille des Apocynaceae, sur les genres *Rauvolfia* et *Tabernaemontana*, puis sur les espèces *R. caffra* et *T. penduliflora* ainsi que quelques travaux chimiques antérieurs.

Le deuxième, porte sur les résultats et discussion ; dédiés aux travaux personnels d'étude chimique et biologique des deux plantes sélectionnées ;

Le troisième sur le matériel et les méthodes, présente notre démarche de travail et la méthodologie d'obtention des composés.

# **CHAPITRE 1 : REVUE DE LA LITTERATURE**

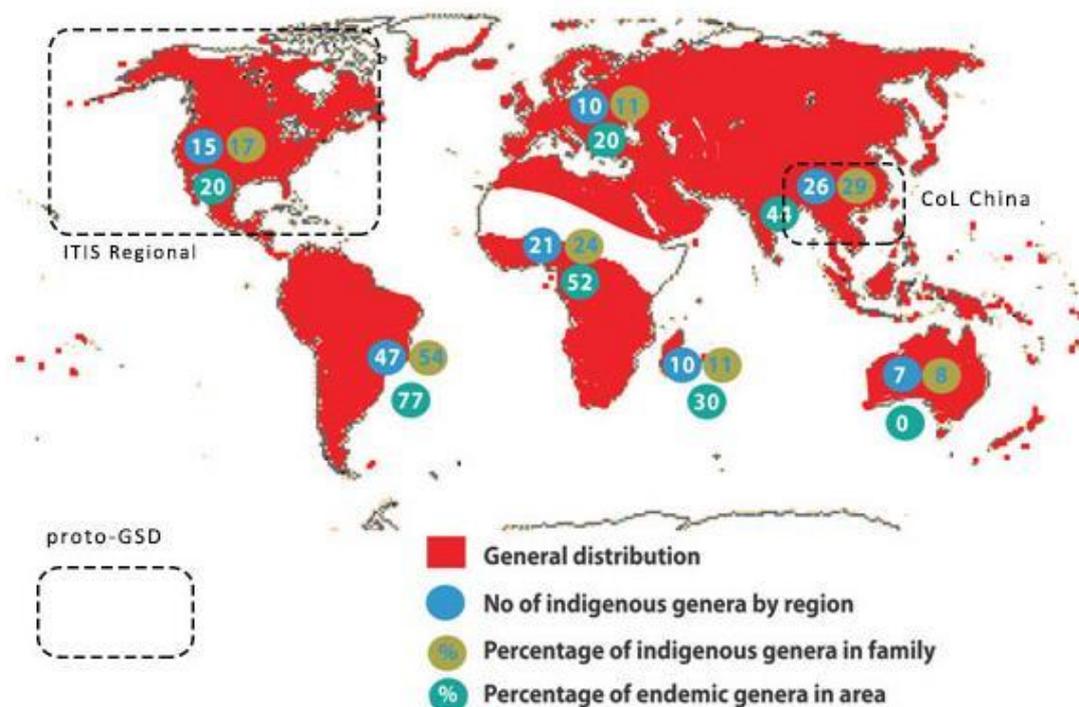
## 1. Généralités sur la famille des Apocynaceae

### 1.1. Introduction

Les Apocynaceae constituent une vaste famille d'Angiospermes qui fut décrite pour la première fois en 1789 par le botaniste français Antoine-Laurent de Jussieu (Endress, 2004). Rattachée à l'ordre des Gentianales, cette famille regroupe 410 genres et 5556 espèces acceptées par le site The PlantList (<http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Apocynaceae> (22/06/2021)). Ce sont essentiellement des arbres, des arbustes, des lianes, répandus dans les régions tropicales et subtropicales. Quelques représentants herbacés sont rencontrés dans les zones tempérées (<http://www.biologydiscussion.com/angiosperm/dicotyledons/apocynaceae-characters-distributionand-types/48288> (22/06/2021)). Ce sont parfois des plantes cultivées, d'intérêt économique (plantes ornementales, sources de principes actifs médicamenteux, plantes médicinales) (Bruneton, 2016).

### 1.2. Répartition de la famille des Apocynaceae

La figure ci-dessous représente la répartition géographique de la famille des Apocynaceae.

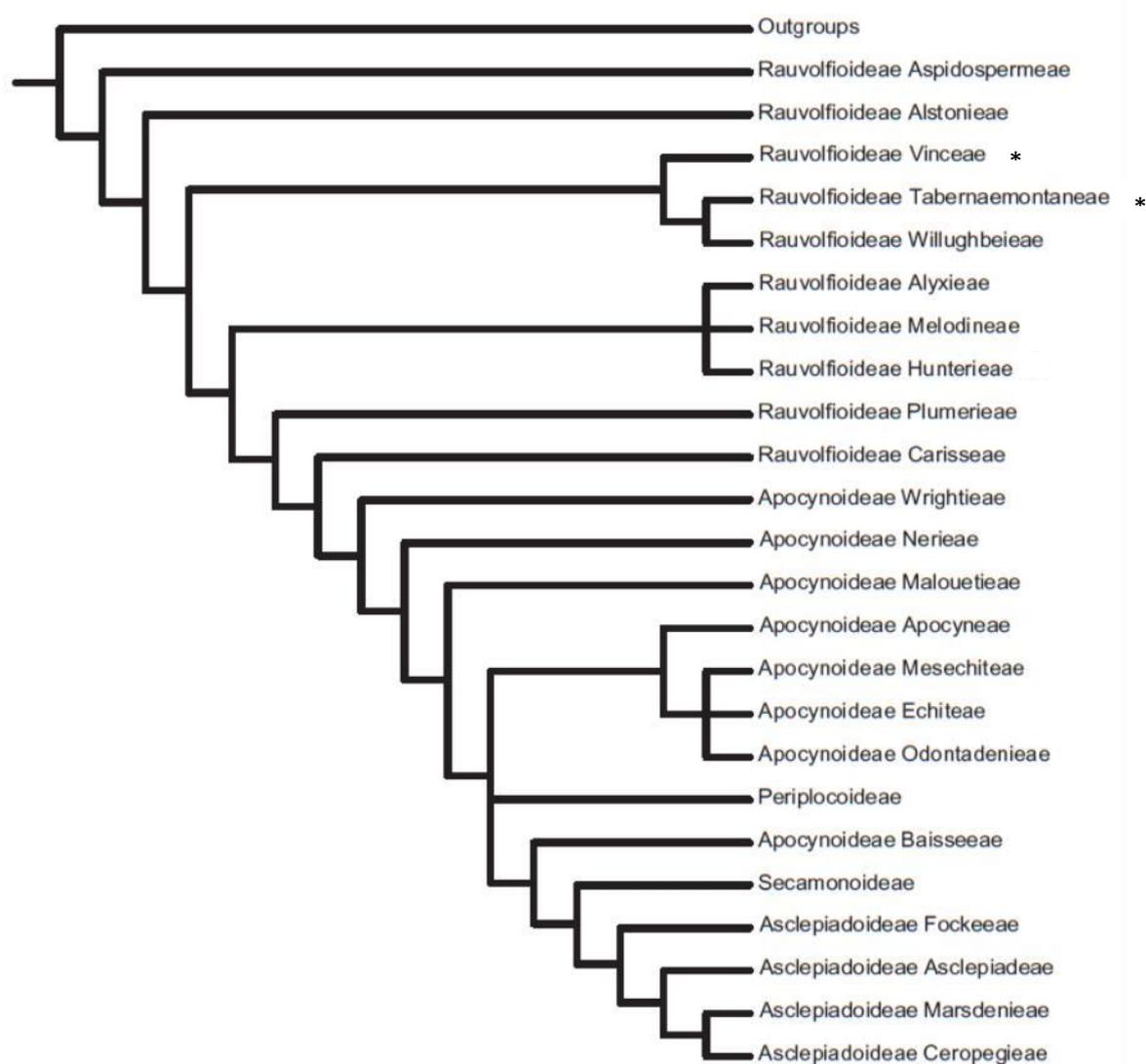


**Figure 1. Répartition de la famille des Apocynaceae**  
(<http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2013> / (03/05/2021))

En rouge : distribution générale ; bleu : nombre de genres indigènes, par région ; beige : % des genres, par rapport à la famille ; vert : % d'endémicité par rapport à la flore de la région.

### 1.3. Classification botanique de la famille des Apocynaceae

La classification interne de cette famille a été l'objet de modifications assez récentes. Dans une revue publiée en 2013, Nazar et collaborateurs retiennent une organisation en 5 sous-familles à savoir : *Rauvolfioideae*, *Apocynoideae*, *Periplocoideae*, *Secamonoideae* et *Asclepiadoideae*, divisées en 22 tribus et une quarantaine de sous-tribus, avec de nombreux déplacements récents de genres et sous-tribus (Nazar et al., 2013). En 2014, Endress et collaborateurs inventorient 25 tribus et 49 sous-tribus pour 366 genres, incluant de nouvelles tribus dans les *Rauvolfioideae* et les *Apocynoideae*. Des espèces étudiées dans le présent travail sont des *Rauvolfioideae*. Elles appartiennent à la tribu des *Vinceae* (genre *Rauvolfia*) et à la tribu, des *Tabernaemontanae* sous-tribu des *Plumerieae* (genre *Tabernaemontana*) (Endress et al., 2014).

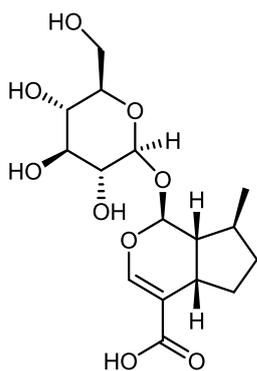


**Figure 2. Résumé des relations phylogéniques au sein des Apocynaceae admises en 2012 (Nazar et al., 2013)**

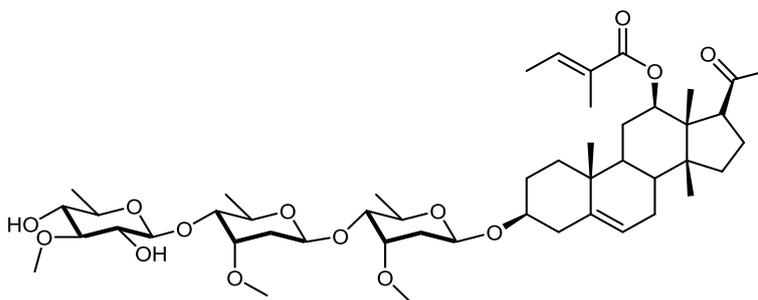
Les plantes de cette famille ont des caractéristiques morphologiques communes. Leurs feuilles sont généralement opposées ou verticillées, à nervation pennée ; les inflorescences sont groupées en cymes ou en racèmes ; les fleurs peuvent parfois être solitaires, terminales ou axillaires ; les fleurs, pentamères, sont souvent remarquables et de grande taille, à corolle tubulaire avec 5 lobes, 5 étamines insérées sur la corolle, 2 à 8 carpelles fusionnés ou 2 carpelles libres ; les fruits, souvent géminés, sont des baies, des drupes ou parfois des follicules déhiscents (Dupont et *al.*, 2012 ; Clark, 2014). Enfin, elles sont pourvues de latex. Cette famille regroupe les plantes dicotylédones comprenant plusieurs genres parmi lesquels, les genres *Pleiocarpa*, *Catharanthus*, *Holarrhena*, *Landolphia*, *Ancylobothrys*, *Fernaldia*, *Dyctyophleba*, *Melodinus*, *Hunteria*, *Alstonia*, *Rauwolfia* et *Tabernaemontana* (Kam et Choo, 2006).

#### 1.4. Etudes phytochimiques antérieures et principaux métabolites isolés de la famille des Apocynaceae

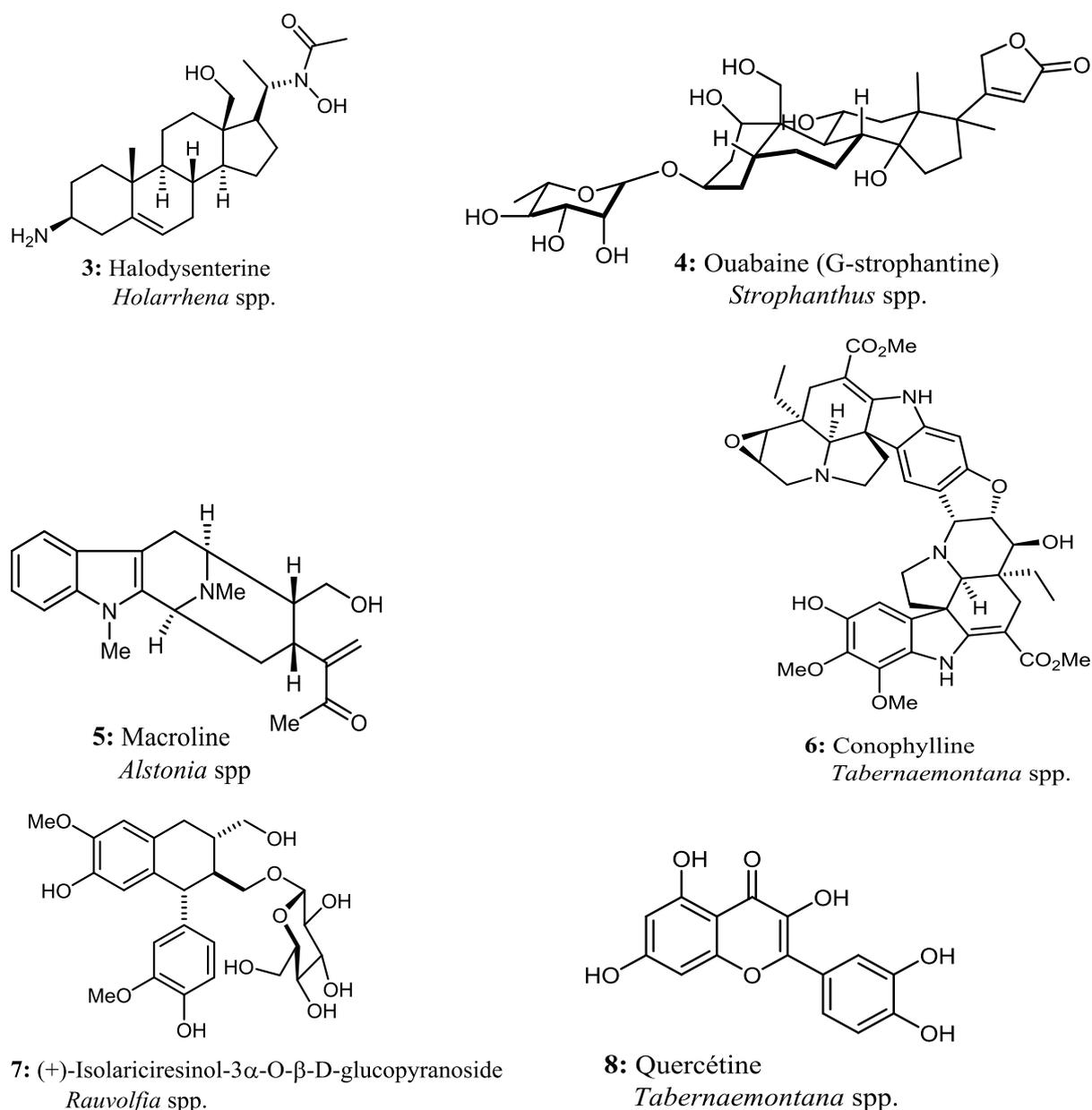
Les Apocynaceae produisent plusieurs classes de métabolites secondaires qui les caractérisent. Il s'agit des iridoïdes ou séco-iridoïdes (**1**) ; des triterpénoïdes de type stérol, à noyau pregnane et *nor*-pregane, souvent hétérosidiques (**2**) ; des dérivés pregnanes azotés (dits « alcaloïdes stéroïdiques d'Apocynaceae ») (**3**) ; des hétérosides cardiotoniques de type cardénolide (**4**) ; des alcaloïdes indolomonoterpéniques, chez les *Rauwolfioideae*, avec des dérivés de type I, II, III et des alcaloïdes binaires (**5**, **6**) (Chan et *al.*, 2016). Des lignanes (**7**), des alcaloïdes indoliques et des alcaloïdes pyrrolizidiniques, ainsi que les flavonoïdes (**8**) de la famille sont parfois décrits (Derwick, 2009 ; Bruneton, 2016).



**1:** Acide deoxyloganique  
*Rauwolfia* spp.



**2:** P57, *Hoodia* spp.



**Figure 3. Exemples de métabolites secondaires de la famille des Apocynaceae**

### 1.4.1. Principaux métabolites secondaires isolés de la famille des Apocynaceae

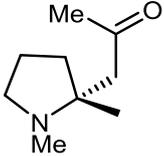
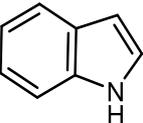
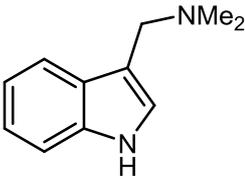
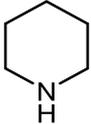
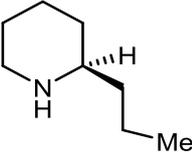
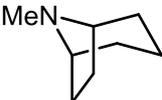
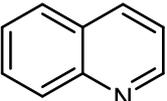
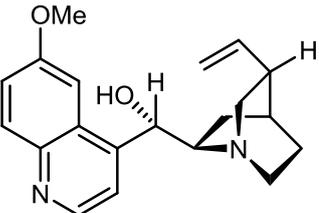
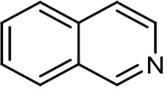
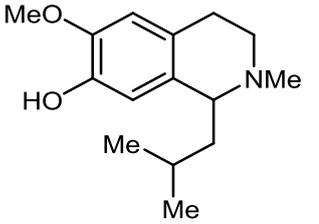
#### 1.4.1.1. Généralités sur les alcaloïdes

Les alcaloïdes représentent un ensemble de molécules naturelles que l'humanité a utilisées et continue d'utiliser dans les potions, les médicaments, les thés, cataplasmes et poisons il y a 4000 ans (Cordell, 1981). Depuis leur apparition en 1819 plusieurs définitions du terme alcaloïde ont pu être données, où W. Meissner a défini les alcaloïdes *comme étant des substances dérivées de plantes qui réagissent comme des alcalis* (Meissner, 1819). Cette définition est de nos jours très réductrice car les alcaloïdes ne sont pas isolés simplement des plantes mais également des champignons et du règne animal et n'ont pas forcément un caractère basique. En 2001, un total de 26 900 alcaloïdes connus ont été isolés de diverses sources

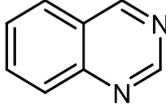
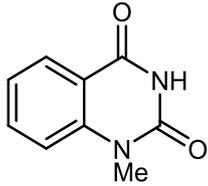
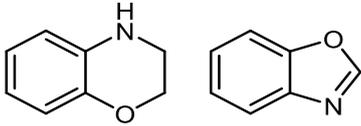
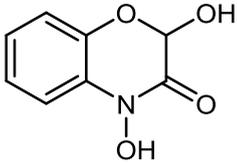
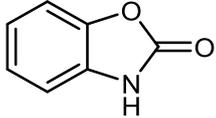
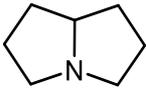
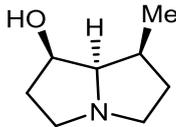
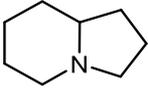
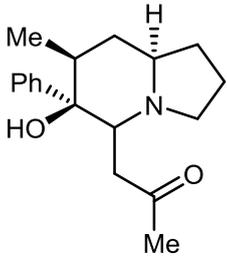
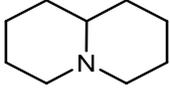
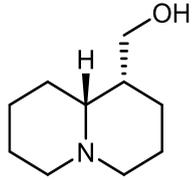
(plantes, champignons, organismes, mammifères, etc....) (Cordell et *al.*, 2001). Au vu du nombre de nouveaux alcaloïdes découverts au cours des années, cette définition a évolué. En 1896, I. Guareschi écrit que le terme alcaloïde est applicable à tous composés organiques basiques obtenus à partir du règne animal ou de plantes, ou préparé artificiellement (Guareschi, 1896).

Au 20<sup>ème</sup> siècle, des tournures différentes sont utilisées, la plus récente étant celle de S. W. Pelletier en 1983 : *un alcaloïde est un composé organique cyclique contenant un atome d'azote dans un degré d'oxydation négatif qui a une distribution limitée à certains organismes vivants.* Cette définition est l'une des plus exactes. Elle ne prend plus en compte le caractère basique systématique et elle tient compte de la présence d'un alcaloïde dans une ou plusieurs espèces vivantes, bien qu'il existe aussi des alcaloïdes acycliques. Dans son livre, M. Hesse définit les alcaloïdes comme étant *des substances organiques d'origine naturelle contenant un ou plusieurs atomes d'azote avec un caractère basique de degré plus ou moins fort.* La définition des alcaloïdes étant déjà difficile, la classification de ceux-ci n'est pas plus simple. La classification des alcaloïdes tient compte de deux paramètres distincts : la position de l'atome d'azote au sein de la structure et les différentes fonctions qui en découlent, et la famille de plantes dont ils sont extraits (90 % des alcaloïdes sont issus de plantes). On compte cinq grandes classes d'alcaloïdes, chacune divisée en plusieurs sous-familles : les alcaloïdes hétérocycliques, les alcaloïdes portant un atome d'azote exo cyclique, les alcaloïdes de type putrescine, spermidine et spermine, les alcaloïdes peptidiques et les alcaloïdes terpéniques et stéroïdiens. La grande majorité des alcaloïdes fait partie de la classe des alcaloïdes hétérocycliques. Celle-ci est divisée en plusieurs familles suivant le motif hétérocyclique qui la compose (pyrrole, indole, pipéridine, tropane, imidazole, isoquinoline,...) et est divisée de nouveau suivant leur origine végétale ou animale comme indiqué dans le tableau 1 ci-dessous (Hesse, 2002 ; Cordell, 1981).

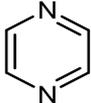
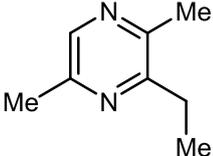
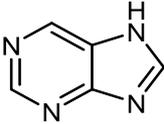
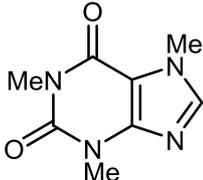
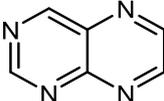
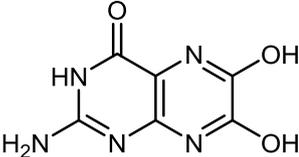
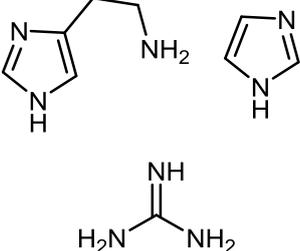
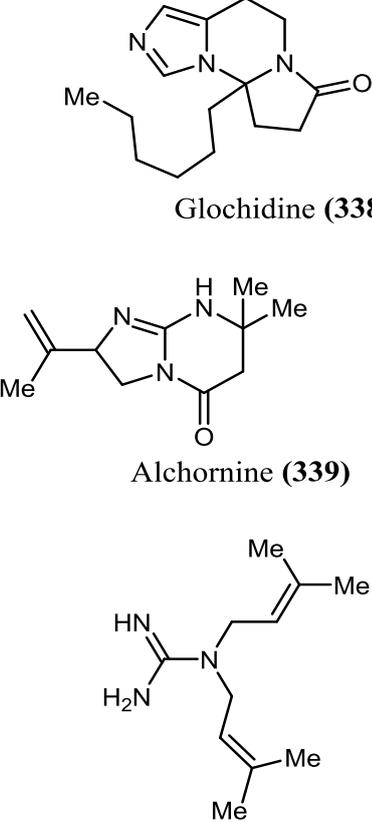
**Tableau 1: Types de squelette des quinze sous-familles d'alcaloïdes et exemples de composés typiques (Hesse, 2002 ; Cordell, 1981)**

Sous-familles	Motifs hétérocycliques	Exemples
Pyrrolidine		 <b>(+)-R-Hygrine (324)</b>
Indole		 <b>Gramine (325)</b>
Pipéridine		 <b>(+)-Coniine (326)</b>
Tropane		 <b>Tropinone (327)</b>
Quinololine		 <b>(-)-Quinine (328)</b>
Isoquinoléine		 <b>Lophocerine (329)</b>

**Tableau 1: (Suite)**

<p>Quinazoline</p>		 <p>Glycosmicine (<b>330</b>)</p>
<p>Benzoxazine et benzoxazoles</p>		 <p>2,4-Dihydroxy-2<i>H</i>-benzo[<i>b</i>][1,4] oxazin-3(4<i>H</i>)-one (<b>331</b>)</p>  <p>Benzo[<i>d</i>]oxazol-2(3<i>H</i>)-one (<b>332</b>)</p>
<p>Pyrrolizidine</p>		 <p>(-)-Retronecanol (<b>333</b>)</p>
<p>Indolizidine</p>		 <p>Crepidamine (<b>334</b>)</p>
<p>Quinolizidine</p>		 <p>(-)-Lupinine (<b>335</b>)</p>

**Tableau 1: (Suite et fin)**

<p>Pyrazine</p>		 <p>3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine <b>(336)</b></p>
<p>Purine</p>		 <p>Caffeine <b>(337)</b></p>
<p>Pteridine</p>		 <p>Leucopterine <b>(338)</b></p>
<p>Histamine, Imidazole, et guanidine</p>		 <p>Glochidine <b>(338)</b></p> <p>Alchornine <b>(339)</b></p> <p><i>N',N''</i>-Diisopentenylguanidine <b>(340)</b></p>

## 1.4.1.2. Généralités sur les alcaloïdes indolomonoterpéniques

### 1.4.1.2.1. Alcaloïdes indolomonoterpéniques : présentation, distribution, biosynthèse

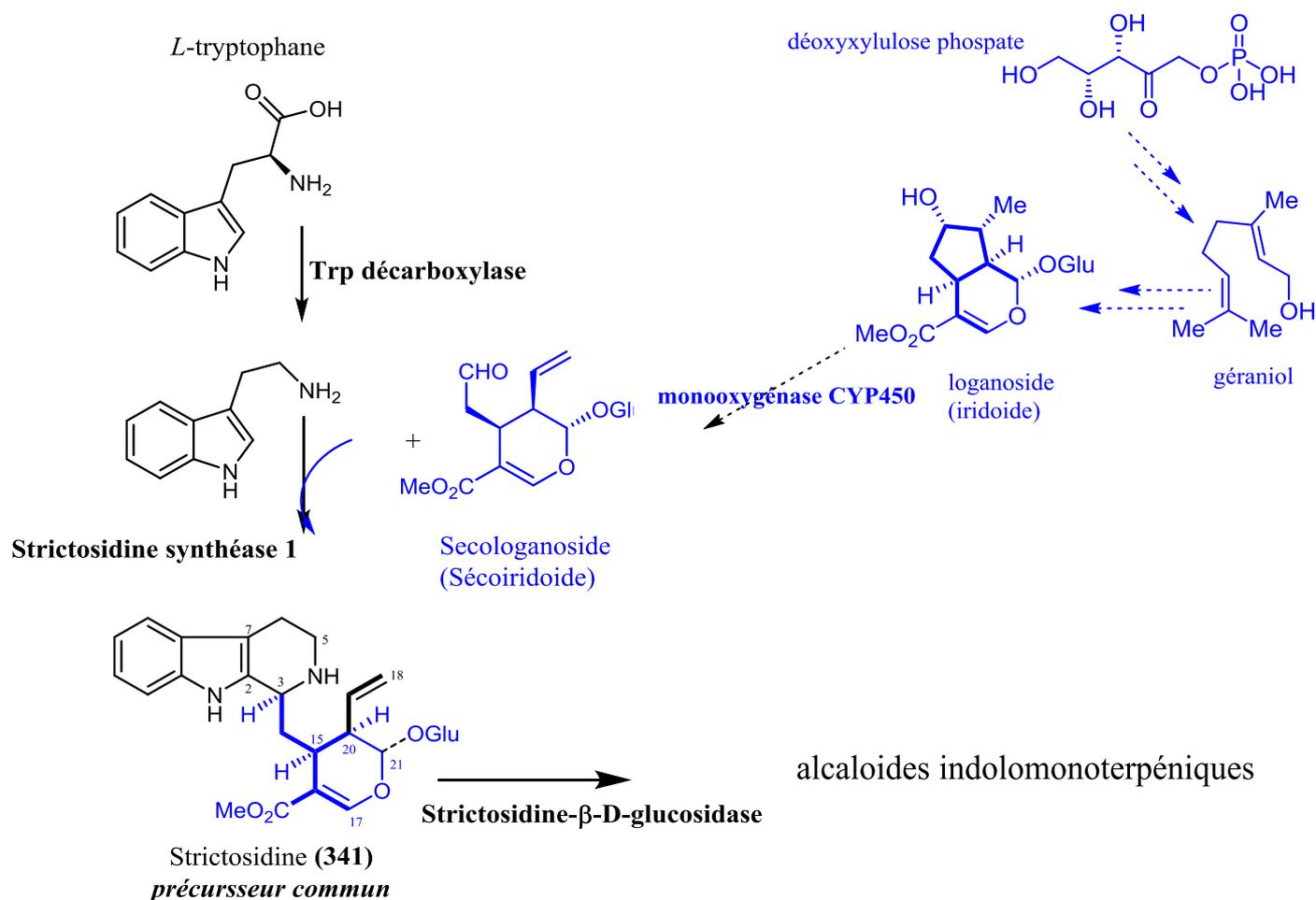
Les alcaloïdes indolomonoterpéniques constituent le groupe le plus vaste des alcaloïdes dérivés du tryptophane et des alcaloïdes en général. Cette classe de métabolites secondaires a une distribution restreinte à des espèces végétales provenant de 4 des 5 familles constituant l'ordre des Gentianales (Lamiids) :

- Loganiaceae;
- Gelsemiaceae (anciennement Loganiaceae, jusqu'en 1995 ; dont l'ancienne famille des Pteleocarpaceae) ;
- Rubiaceae ;
- Apocynaceae.

Les Gentianaceae en sont ainsi exemptes. D'autre part, on rencontre exceptionnellement ces molécules chez des Asterids basales :

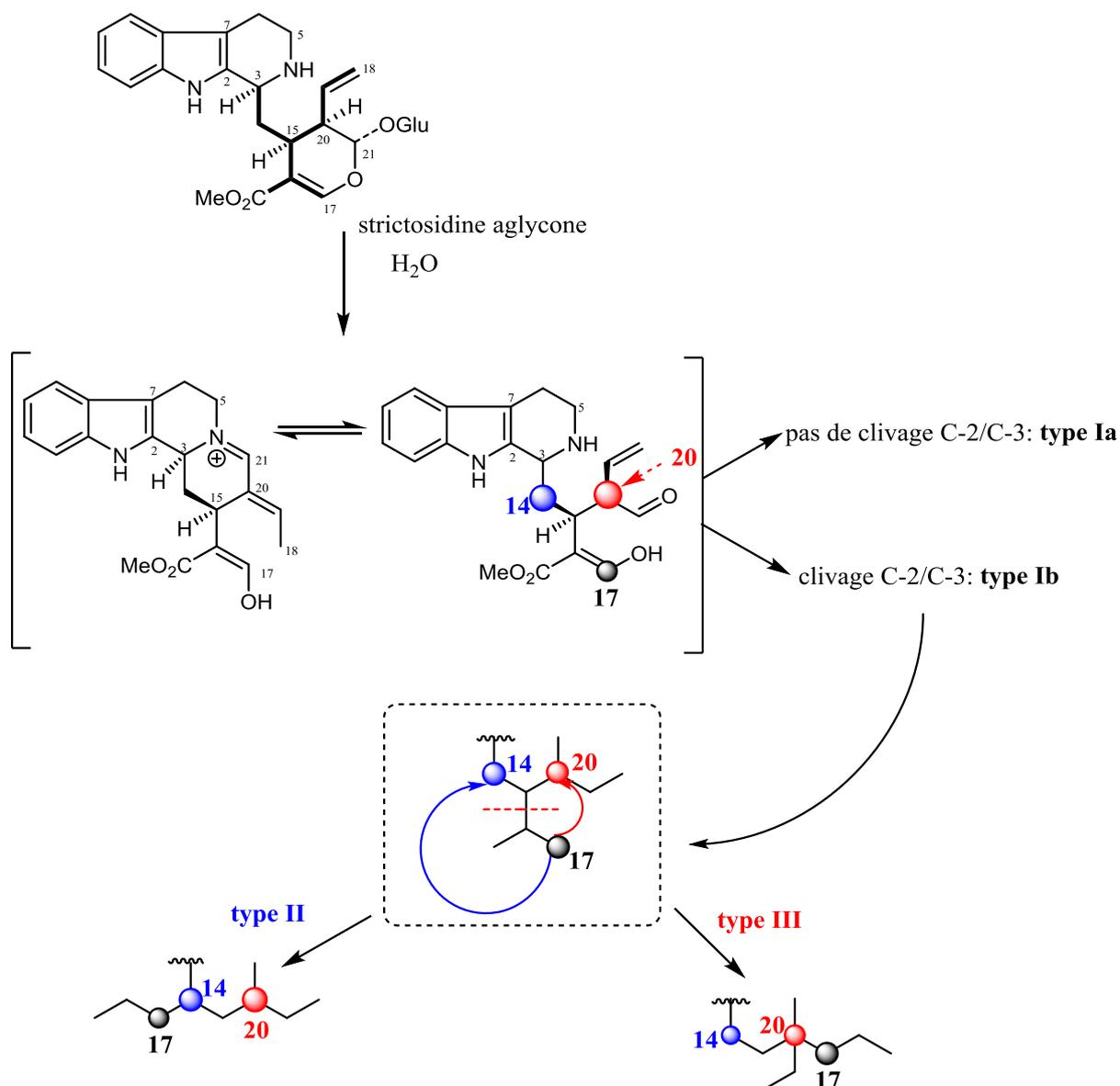
- Icacinaceae (ordre des Icacinales, encore reconnues par l'APG IV) (Ramesha et *al.*, 2013; Chase et *al.*, 2016).
- Nyssaceae (avec le genre *Camptotheca* ; ordre des Cornales) ;
- Cornaceae (incluant les Alangiaceae depuis l'APG II ; ordre des Cornales) (Itoh et *al.*, 2000).

A ce jour, plus de 3 000 alcaloïdes indolomonoterpéniques différents ont été isolés. Ils se caractérisent par leur origine biosynthétique commune : ils proviennent tous d'un même précurseur, la strictosidine, issue de la condensation d'une molécule de tryptamine et d'une unité monoterpénique de type sécoiridoïde, hétérosidique, le sécologanoside (O'Connor et *al.*, 2006 ; De Luca et *al.*, 2014). Certains alcaloïdes indolomonoterpéniques ne possèdent pas de noyau indolique, oxindolique ou dihydroindolique mais un noyau quinoléique (quinine et analogues, camptothécine et analogues), les stades précoces de leur biogenèse les rattachant cependant à cette classe d'alcaloïdes (Bruneton, 2016)



**Figure 4. Origine de la strictosidine (parties tryptaminique en noir et monoterpénique en bleu)** (O'Connor et al., 2006 ; De Luca et al., 2014)

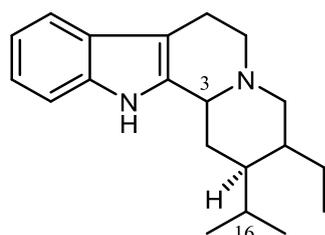
Les alcaloïdes indolomonoterpéniques présentent une très forte diversité structurale : 45 squelettes étaient décrits en 2017 (42 au commencement de ce travail). On répartit traditionnellement ces squelettes en 3 types structuraux, en fonction de l'absence de réarrangement de la partie d'origine monoterpénique (type I : sans clivage de la liaison C-2/C-3 – type Ia, ou avec clivage de celle-ci – type Ib), ou d'une rupture de la liaison C-15/C-16 de cette entité, avec attaque du carbone C-17 sur le C-14 (type II) ou sur le C-20 (type III) (Dewick, 2009)



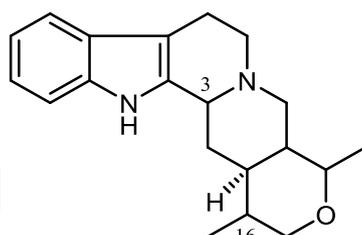
**Figure 5. Alcaloïdes indolomonoterpéniques de types I, II, III : principe de la biosynthèse**

Les figures 6, 7 et 8 ci-dessous présentent les 45 squelettes des alcaloïdes indolomonoterpéniques monomériques regroupés par type. (Dewick, 2002 ; Stöckigt et Rupert, 1999 ; Atta-ur-Rahman et Basha, 1983 ; Kisakurek et Hesse, 1980 ; Kisakurek et Leeuwenberg, 1980 ; Van Beek *et al.*, 1984 ; Danieli et Palmisano, 1986 ; Kompis *et al.*, 1971)

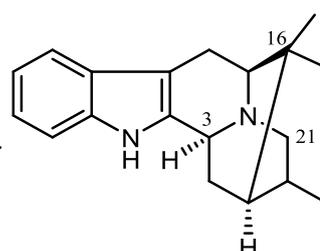
### 1.4.1.2.1. Alcaloïdes indolomonoterpéniques de type I : Corynantheane-Strychnane



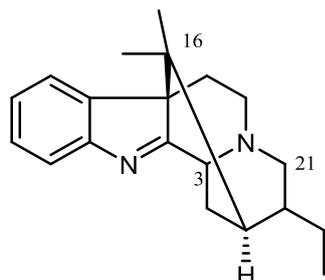
Corynantheine



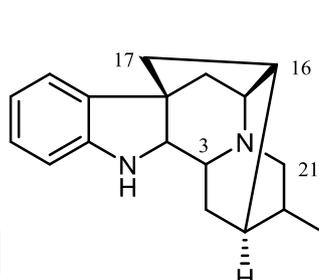
Ajmalicine



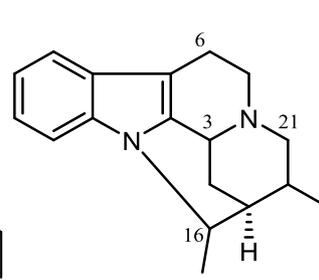
Sarpagine



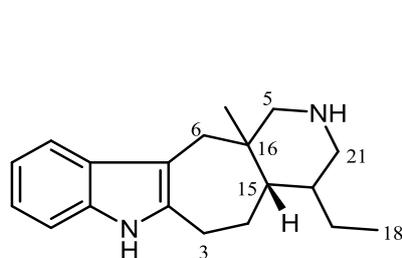
Akuammiline



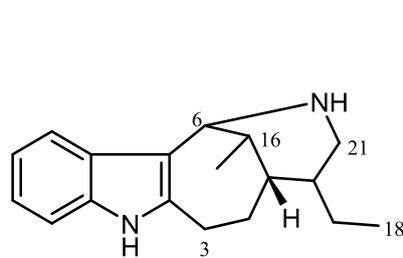
Ajmaline



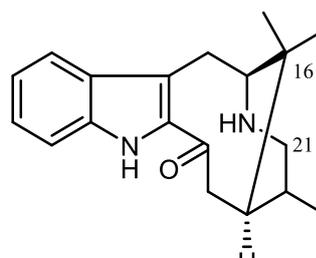
Pleiocarpamine



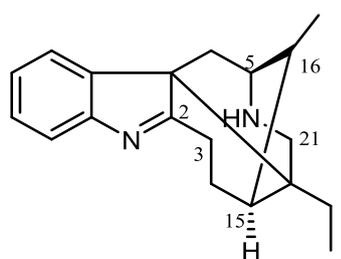
Ervatamine



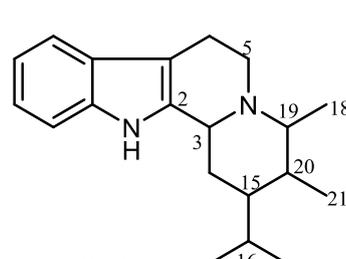
Ervatisine



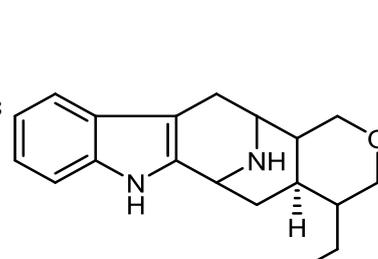
Vobasine



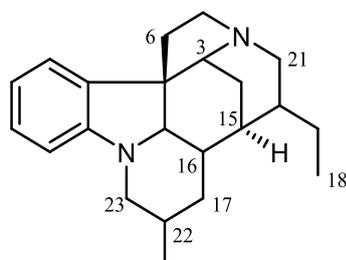
Koumine



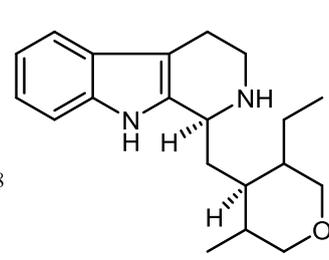
Malindane



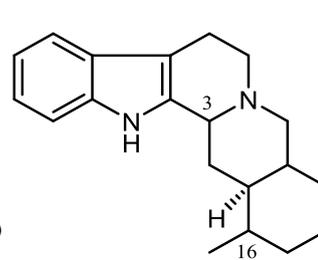
Macroline



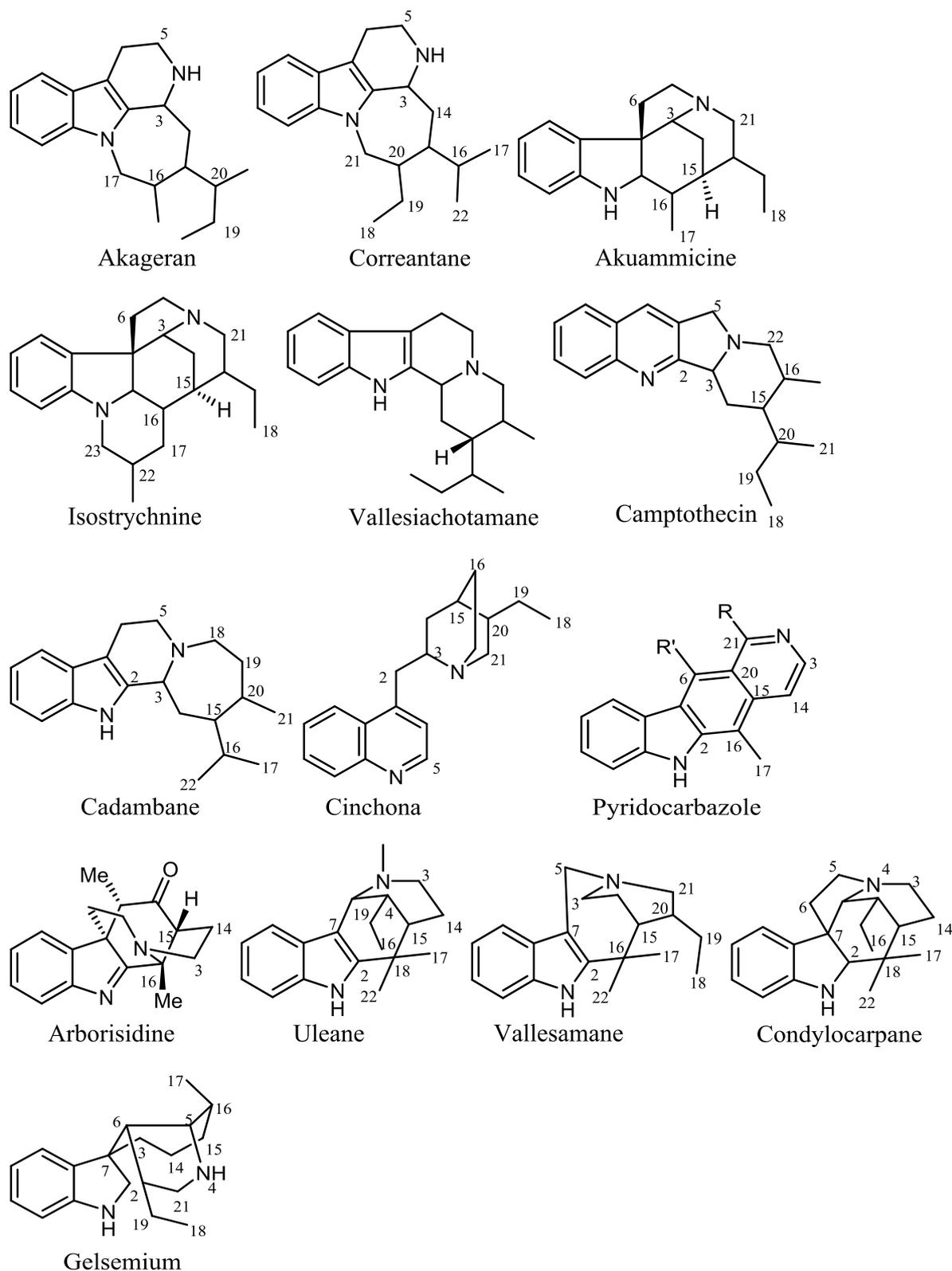
Isostrychnine



Vincoside



Yohimbinoïde



**Figure 6. Les squelettes des alcaloïdes indolomonoterpéniques monomériques de type I**

### 1.4.1.2.2. Alcaloïdes indolomonoterpéniques de type II : Ibogane

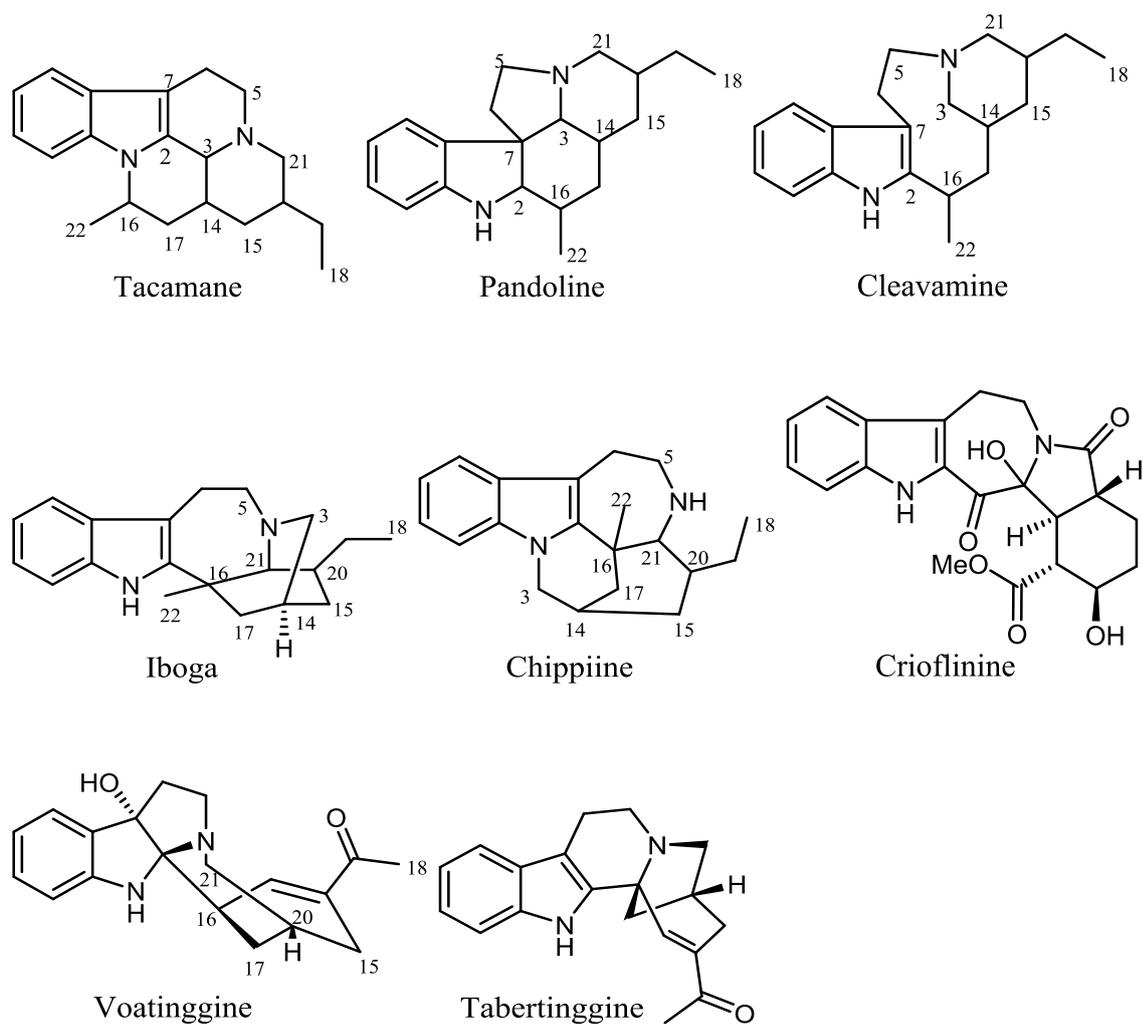
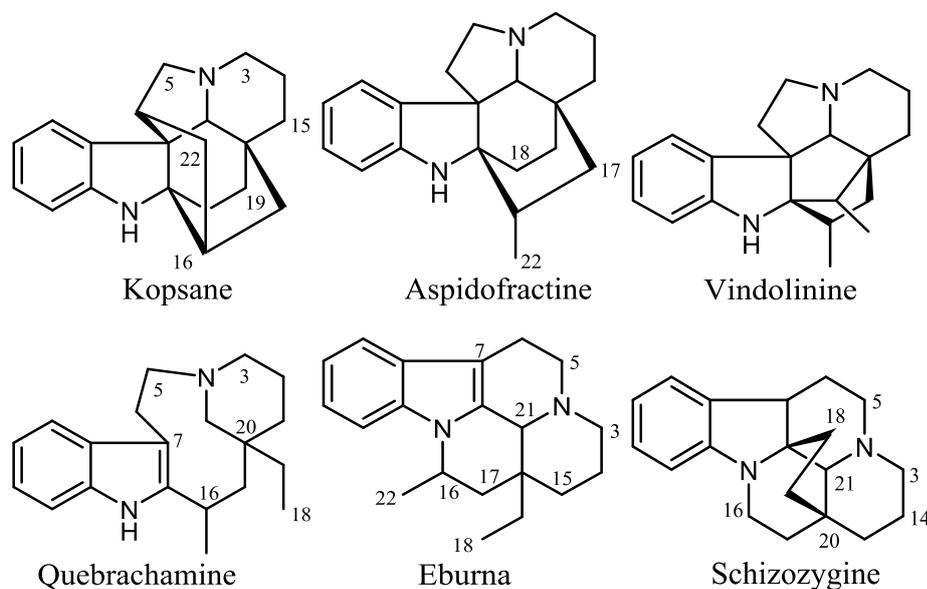
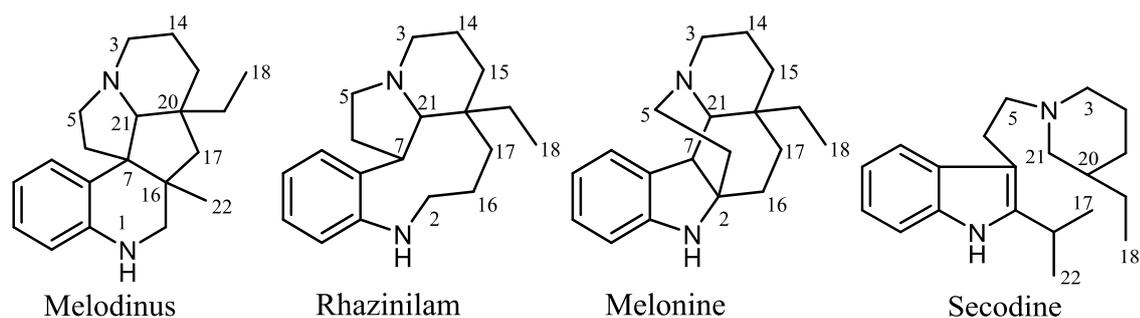


Figure 7. Les squelettes des alcaloïdes indolomonoterpéniques monomériques de type II

### 1.4.1.2.3. Alcaloïdes indolomonoterpéniques de type III : Aspidospermane





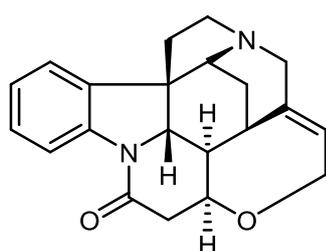
**Figure 8. Les squelettes des alcaloïdes indolomonoterpéniques monomériques de type III**

#### 1.4.1.2.4. Activités pharmacologiques et intérêt biologique des alcaloïdes indolomonoterpéniques

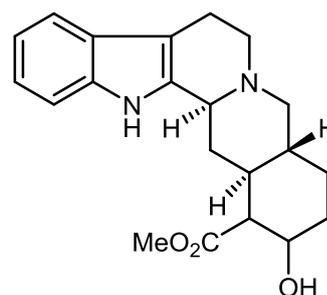
Les plantes à alcaloïdes indolomonoterpéniques sont fréquemment employées par l'Homme comme plantes-poisons (poisons de flèche, poisons ordaliques, psychotropes ...) et / ou comme plantes médicinales, avec de forts phénomènes de convergence. (Saslis-Lagoudakis *et al.*, 2012 ; Delaveau, 1974 ; Prance, 2001). En effet, ces alcaloïdes possèdent des activités pharmacologiques très marquées, notamment sur la sphère cardiovasculaire et les systèmes nerveux périphérique et central. (OMS, 2013). Les alcaloïdes de cette classe mis sur le marché des médicaments tendent à être abandonnés au profit de principes actifs au rapport bénéfice/risque plus favorable et à la marge thérapeutique moins étroite (c'est le cas, par exemple, pour la strychnine (9), l'ajmalicine (raubasine) (10), la réserpine (11), la yohimbine (12)... ) (Bruneton, 2016). De même, les plantes contenant ces alcaloïdes employées en phytothérapie occidentale sont globalement abandonnées car trop toxiques et n'ont guère plus que des emplois en homéopathie. Cependant, certains représentants suscitent actuellement des efforts de recherche préclinique et clinique, dans l'optique d'un emploi thérapeutique (ibogaïne (13) et noribogaïne de *Tabernanthe iboga* Baill., Apocynaceae, comme antiaddictifs ; mitragynine (14) de *Mitragyna speciosa* (Korth.) Haval., Rubiaceae, comme antalgique) (Belgers *et al.*, 2016; Schmidt *et al.*, 1995 ; Kruegel *et al.*, 2017).

Certains indolomonoterpènes exercent une activité antimalarique (la quinine extraite des *Cinchona* en particulier) (OMS, 2013). Ce potentiel antiplasmodial, retrouvé pour des représentants de types et de squelettes variés (Wright, 2010), justifie probablement l'utilisation de nombreuses espèces végétales en médecine traditionnelle. D'autres sont cytotoxiques et présentent un potentiel antitumoral. Ainsi, cette classe de molécules a un intérêt fondamental en thérapeutique anticancéreuse avec la vinblastine (15) et la vincristine (16), deux alcaloïdes « binaires » de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*) et leurs analogues hémisynthétiques, à activité anti-tubuline (Klayman *et al.*, 1984 ; Towns *et al.*, 2014). La camptothécine (17) (*Camptotheca acuminata* Decne., Cornaceae) constitue un chef-de-file dont

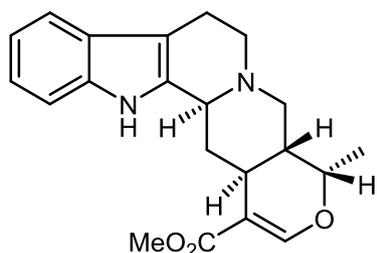
des dérivés hémisynthétiques sont employés en chimiothérapie anticancéreuse, en tant qu'inhibiteurs de topo-isomérase de type I (OMS, 2013). Sans oublier ceux exerçant une activité antimicrobienne (Le Nukuhivensium (**18**) et N<sub>12</sub>-méthylnukuhivensium (**19**) composés spécifiques isolés de *R. nukuhivensis* possèdent une activité antimicrobienne contre *S. aureus* avec des valeurs de CMI<sub>90</sub> de 105 et 115 mg/mL respectivement (Martin et al., 2012). Au cours de cette thèse, les composés isolés ont ainsi été évalués *in vitro* pour leur activités antimicrobienne, cytotoxique et antiplasmodiale.



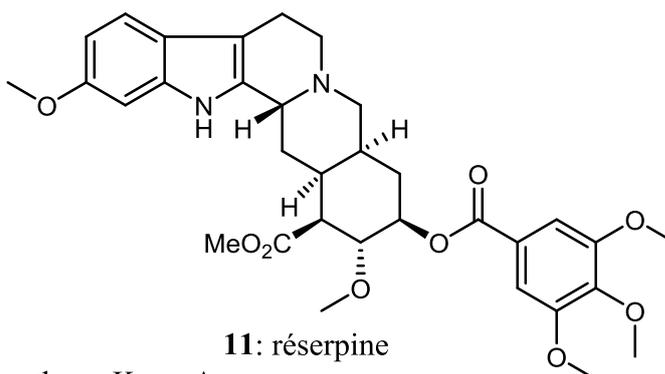
**9: strychnine**  
*Strychnos nux-vomica* L.,  
Loganiaceae



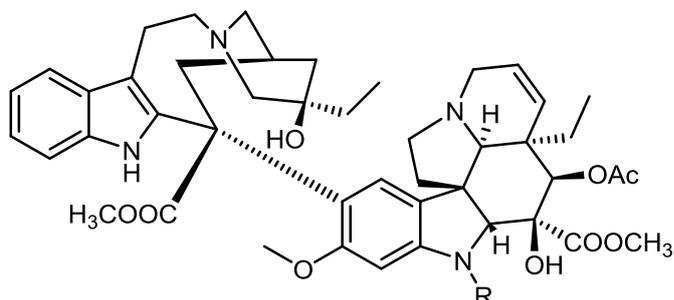
**12: yohimbine**  
*Pausinystalia johimbe* (K.Schum)  
Pierre ex Beille, Rubiaceae



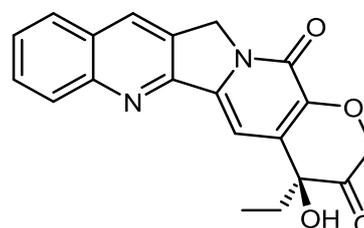
**10: ajmalicine (raubasine)**  
*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz, Apocynaceae



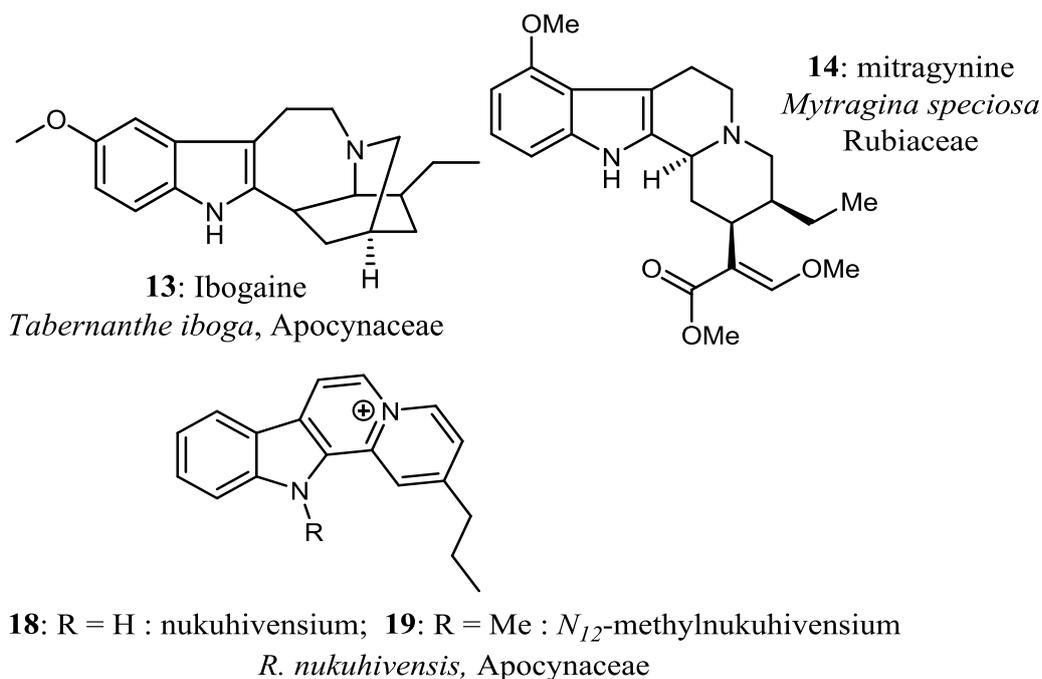
**11: réserpine**



**15: R = Me : vinblastine; 16: R = CHO : vincristine**  
*C. roseus*, Apocynaceae



**17: Camptothécine**  
*Camptotheca acuminata*, Cornaceae



**Figure 9. Alcaloïdes indolomonoterpéniques d'intérêt pharmaceutique cités**

## 1.5. Généralités sur le genre *Rauwolfia*

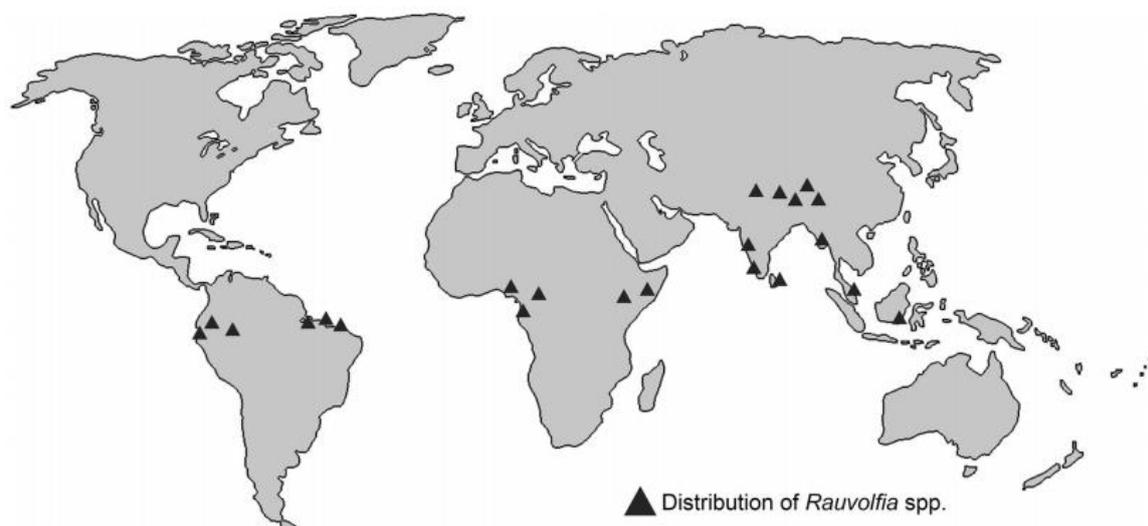
### 1.5.1. Introduction

Le genre *Rauwolfia* fait partie de la famille des Apocynaceae. Il contient environ 135 espèces rependues dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Amérique latine et d'Asie du Sud-Est en particulier (figure 1) (Monachino, 1954 ; Mehrotra et *al.*, 2015). La chine en compte 07 espèces déjà identifiées. (Ping-tao et *al.*, 1996). En Afrique 10 espèces sont présente soit 03 espèces à Madagascar et le 07 autres répartie dans le reste du continent. Le Cameroun en compte 03 espèces à savoir *R. preussii* K. Schum, *R. vomitoria* Afzel, *R. macrophylla* Stapf synonymes (*R. caffra* Sonder ; *R. natalensis* Sonder ; *R. ochrosioides* K. Schum ; *R. inebrians* K. Schum ; *R. caffra* var. *natalensis* Stapf ex Hiern ; *R. leucopoda* K. Schum ; *R. welwitschii* Stapf ; *R. obliquinervis* Stapf ; *R. goetzei* Stapf ; *R. oxyphylla* Stapf ; *R. tchibangensis* Pellegrin ; *R. mayombensis* Pellegrin). Il s'apparente étroitement au genre *Tabernaemontana*. (Van dilst et Leeuwenberg, 1991). Certaines espèces du genre *Rauwolfia* sont le plus souvent utilisées en culture ornementale en tant qu'essence d'ombrage dans les caféières, et, grâce à sa multitude de fleurs à l'instar de *Rauwolfia vomitoria*, *R. caffra*. De plus ce sont les arbres décoratifs à croissance rapide bien adapté aux jardins abrités (Burkill, 1985). Les études phytochimiques antérieures ont révélé que le genre *Rauwolfia* est une source d'alcaloïdes indolomonoterpéniques, des alcaloïdes binaires, des iridoïdes et séco-iridoïdes, des triterpènes, des lignanes, des flavonoïdes et des composés phénoliques. Certains de ces composés ainsi que leurs extraits bruts présentent des activités antioxydants, anti

inflammatoires, antimicrobiennes, antidiabétiques, antitumorales, anti-hypertensive, antipsychotiques, antiplasmodiales et cytotoxiques (Mehemet Boğa et al., 2019).

### 1.5.2. Distribution géographique des espèces du genre *Rauwolfia*

L'image ci-dessous représente la répartition géographique du genre *Rauwolfia*



**Figure 10. Distribution géographique des espèces du genre *Rauwolfia* (Mukherjee et al., 2019)**

### 1.5.3. Usages ethnopharmacologiques des espèces du genre *Rauwolfia*

Plusieurs plantes du genre *Rauwolfia* sont couramment employées en Asie et en Afrique comme médicament traditionnel. C'est ainsi que *R. vomitoria* Afzel arbre de taille moyenne est utilisée pour le traitement de plusieurs maladies. La décoction des racines pulvérisées se prend pour traiter le diabète, le paludisme, la hernie, les rhumatismes, la fatigue, le rachitisme, la tuberculose et l'hypertension. L'infusion d'écorces se prend pour soigner la fièvre (Neuwinger, 2000 ; Neuwinger, 1996).

Les écorces des racines de *Rauwolfia serpentina* (communément appelé « *sarpagandha* » et « *chandrika* » en Inde) Benth. ex Kurz, ont en effet une action sédative et apaisante sur le système nerveux sympathique. Elles sont utilisées en Inde pour traiter l'hypertension et les crises d'angoisse (Monachino, 1954 ; Lowinger, 1957). *R. serpentina* est également utilisée pour le traitement du paludisme, la dysenterie, les maux de ventre, les morsures de serpent et d'insectes (Lobay, 2015).

De même, l'écorce des jeunes rameaux et les feuilles de *R. media* Pichon sont utilisées pour soigner la conjonctivite d'origine virale (Schmelzer et Fakim, 2008)

En Côte d'Ivoire et en RD Congo, les racines fraîches ou séchées de *R. mannii* Stapf se prennent pour traiter les troubles gastro-intestinaux, les empoisonnements, la jaunisse, la gonorrhée ou la stérilité féminine. Aussi une décoction des racines s'ingère pour traiter la fièvre et le diabète, le jus de l'écorce s'applique sur les yeux pour traiter l'épilepsie (Schmelzer et Fakim, 2008).

*R. obscura* quant à elle est une plante bien connue en médecine traditionnelle congolaise. Elle est appelée en langues vernaculaires par « *ompi-mpie* » (Gangoulou), « *ondule* » (Beti) et « *nungubakuyu* » (Lari). Ses racines sont réputées aphrodisiaques (Ondele et al., 2015). En Inde, les racines de *R. tetraphylla* sont utilisées pour stimuler les contractions en cas d'accouchement difficile. Le jus extrait de la racine est utilisé pour traiter les douleurs musculaires et le rhumatisme. La décoction des feuilles est utilisée contre la toux et le rhume, la pâte de feuilles est utilisée pour les maladies de la peau (Iqbal et al., 2013).

#### **1.5.4. Constituants chimiques du genre *Rauvolfia***

Le screening de la littérature nous renseigne sur environ 256 métabolites secondaires isolés et identifiés des plantes de ce genre et regroupés en : Alcaloïdes ; triterpénoïdes ; iridoïdes ; flavonoïdes ; coumarines ; lignanes ; composés phénoliques et sucres. Il est à noter que les alcaloïdes indolomonoterpéniques sont prédominants dans ce genre.

##### **1.5.4.1. Alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés des plantes du genre *Rauvolfia***

Plusieurs alcaloïdes indolomonoterpéniques ont été isolés de plusieurs espèces du genre *Rauvolfia*. Environ 256 composés ont été isolés et regroupés en différentes sous classes parmi lesquelles : 34 ajmalines : [20-53] ; 15 perakines : [54-68] ; 23 ajmalicines : [69-91] ; 27 yohimbines : [92-118] ; 15 corynanthéanes : [119-133] ; 07 oxindole : [134-140] ; 28 sarpagines : [141-168] ; 08 peraksines : [169-176] ; 13 Akuammilines : [177-189] ; 06 Akuammicines : [190-196] ; 05 Pleiocarpamines : [196-200] ; 05 Picralines : [201-205] ; 04 Suaveolines : [206-209] ; 07 Macrolines : [210 -216] et 03 Vallesiachotamines : [217-219] .

Le tableau 2 ci-dessous présente quelques alcaloïdes isolés des plantes du genre *Rauvolfia*.

**Tableau 2: Quelques alcaloïdes isolés des espèces du genre *Rauvolfia***

Espèces	Parties étudiées	Alcaloïdes isolés	Références
<i>R. vomitoria</i> Afzel (Cameroun)	Feuilles	Geissoschizol ( <b>128</b> ) Normacusine B ( <b>145</b> ) Sarpagine ( <b>148</b> ) Lochnerine ( <b>141</b> ) 3-Hydroxysarpagine ( <b>149</b> )	Zhan et <i>al.</i> , 2020
		Carapanaubine ( <b>137</b> ) Isocarapanaubine ( <b>135</b> ) Reserpiline ( <b>73</b> ) Rauvoxine ( <b>138</b> ) Rauvoxinine ( <b>136</b> ) Strictamine ( <b>180</b> ) Picrinine ( <b>202</b> ) Akuammiline ( <b>177</b> ) Deacetylakuammiline ( <b>179</b> ) Perakine ( <b>59</b> ) Normacusine B ( <b>145</b> ) $\alpha$ -Yohimbine ( <b>117</b> ) Peraksine ( <b>170</b> ) Raucaffrinoline ( <b>60</b> ) Reserpinine ( <b>70</b> ) Aricine ( <b>78</b> ) Isoreserpiline ( <b>80</b> ) Tetrahydroalstonine ( <b>77</b> )	Amer et Court, 1980
	Branches	Peraksine ( <b>170</b> ) Purpeline ( <b>36</b> ) Norrauvomitine ( <b>41</b> ) Isoreserpiline ( <b>80</b> ) Reserpiline ( <b>73</b> ) Endolobine ( <b>39</b> ) Norpurpeline ( <b>37</b> )	Zeng et <i>al.</i> , 2017
	Ecorces du tronc	Seredamine ( <b>43</b> )	

**Tableau 2: (Suite)**

		10-Methoxy-geissoschizol ( <b>126</b> ) Rauvanine ( <b>83</b> ) Picraline ( <b>201</b> ) Nortetraphyllicine ( <b>47</b> ) Picraphylline ( <b>90</b> ) Norseredamine ( <b>44</b> ) 10-Hydroxy-geissoschizol ( <b>126</b> ) Deoxyperaksine ( <b>168</b> ) Acetylgeissoschizol ( <b>127</b> ) Pleiocarpaminol ( <b>195</b> ) Mitoridine ( <b>35</b> ) Akuammicine ( <b>187</b> ) 11-Methoxy-yohimbine ( <b>101</b> ) 10-methoxy-tetraphyllicine ( <b>45</b> ) <i>Na</i> -Methyl-sarpagine ( <b>150</b> ) <i>Na, Nb</i> -Diméthyl-sarpagine ( <b>151</b> ) Norajmaline ( <b>21</b> ) Alstonine ( <b>87</b> ) Yohimbine ( <b>100</b> ) Geissoschizine ( <b>121</b> )	Iwu et Court, 1982
	Tronc	Sereidine ( <b>110</b> ) Rescinamine ( <b>94</b> ) Renoxidine ( <b>99</b> ) Raumitorine ( <b>85</b> ) Serpentinine ( <b>224</b> ) Ajmaline ( <b>20</b> ) 17- <i>O</i> -acetyljmaline ( <b>24</b> ) Isoajmaline ( <b>30</b> ) Isosandwicine ( <b>34</b> ) Rauvomitine ( <b>40</b> ) Sandwicine ( <b>28</b> ) Vomalidine ( <b>52</b> )	Iwu et Court, 1977

**Tableau 2: (Suite)**

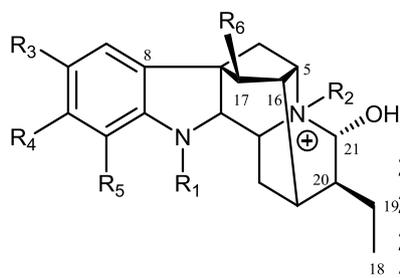
<i>R. caffra</i> Sond		Vomilenine ( <b>54</b> ) carapanaubine- <i>N</i> -oxyde ( <b>139</b> ) Suaveoline ( <b>206</b> ) Norrauvomitine ( <b>41</b> )	
	Feuilles	19,20-Dihydroakuammicine ( <b>192</b> ) Vomilenine ( <b>54</b> ) Akuammicine ( <b>190</b> ) Akuammicine- <i>N<sub>b</sub></i> -oxyde ( <b>194</b> ) Strictamine ( <b>180</b> ) Sitsirikine ( <b>122</b> ) Akuammidine ( <b>147</b> ) Perakine ( <b>59</b> ) Raucaffrinoline ( <b>60</b> ) Normacusine B ( <b>145</b> ) Peraksine ( <b>170</b> ) Macrophylline ( <b>209</b> ) Sarpagine ( <b>148</b> ) 21-Deoxyvomilenine ( <b>55</b> ) 19, 20-dihydrovomilenine ( <b>57</b> )	Nasser et Court, 1983
	Ecorces du tronc	Raucaffricine ( <b>56</b> ) <i>N</i> -methylsarpagine ( <b>150</b> ) Spegatine ( <b>146</b> )	Tlhapi et <i>al.</i> , 2020
		Tetrahydroalstonine ( <b>77</b> ) Ajmalicine ( <b>69</b> ) 21-Deoxyvomilenine ( <b>55</b> ) Pleiocarpamine ( <b>196</b> ) Akuammicine ( <b>190</b> ) Akuammicine- <i>N<sub>b</sub></i> -oxyde ( <b>194</b> ) Alloyohimbine ( <b>104</b> ) Mitrephylline ( <b>140</b> ) Yohimbine ( <b>100</b> ) Sitsirikine ( <b>122</b> )	Nasser et Court 1984

**Tableau 2: (Suite)**

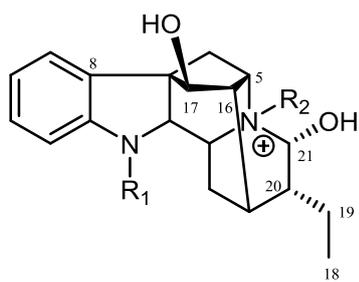
			<p>Ajmalicine (<b>71</b>)  Dihydroakuammidine (<b>163</b>)  Vellosimine (<b>152</b>)  Normacusine B (<b>145</b>)  Geissoschizol (<b>128</b>)  Nortetraphyllicine (<b>47</b>)  Peraksine (<b>170</b>)  Suaveoline (<b>206</b>)  Norsuaveoline (<b>207</b>)  Norajmaline (<b>21</b>)  Macrophylline (<b>209</b>)  Cabucinine (<b>81</b>)  Dihydrotalpinine (<b>164</b>)  Ajmaline (<b>20</b>)  Sarpagine (<b>148</b>)  Norajmalidine (<b>51</b>)</p>	
<i>R. verticillata</i> Baill	Banches et feuilles		<p>Perakine (<b>59</b>)  Alstoyunine F (<b>68</b>)  19, 20-dihydrovomilenine (<b>57</b>)  Vinorine (<b>55</b>)  Vomilenine (<b>54</b>)  Serpinine (<b>42</b>)  Ajmaline (<b>20</b>)  Sitsirikine (<b>122</b>)  18,19-Dihydro-sitsirikine (<b>124</b>)  Tombozine (<b>145</b>)  Vellosimine (<b>152</b>)  Vallesiachotamine (<b>217</b>)  Isovallesiachotamine (<b>218</b>)  Pseudoyohimbine (<b>111</b>)  Yohimbine (<b>100</b>)  <math>\beta</math>-Yohimbine (<b>115</b>)  Rauverine A (<b>210</b>)</p>	Zhang et al., 2013

**Tableau 2: (Suite et fin)**

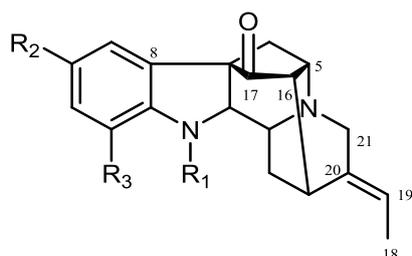
		Rauverine C ( <b>156</b> ) Rauverine D ( <b>58</b> ) Rauverine E ( <b>65</b> )	
<i>R. reflexa</i> .KL	Ecorces	Reflexine A ( <b>304</b> ) Macusine B ( <b>162</b> )	Fadaeinasab et <i>al.</i> , 2019
		Vinorine ( <b>55</b> ) Rescinnamine ( <b>94</b> )	Fadaeinasab et <i>al.</i> , 2014
<i>R. grandiflora</i> Mart	Ecorces des racines	Darcyribeirine ( <b>305</b> ) Isoreserpiline ( <b>80</b> ) Isoreserpine ( <b>93</b> )	Cancelieri et <i>al.</i> , 2002



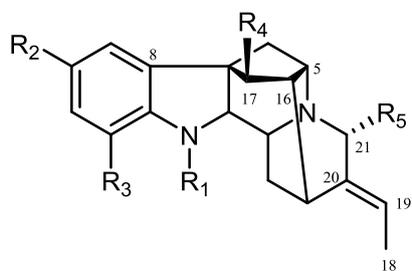
- 20:** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = -, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = H, R<sub>5</sub> = H, R<sub>6</sub> = OH  
**21:** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = -, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = H, R<sub>5</sub> = H, R<sub>6</sub> = OH  
**22:** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = -, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = OH, R<sub>5</sub> = H, R<sub>6</sub> = OH  
**23:** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = -, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = H, R<sub>5</sub> = OH, R<sub>6</sub> = OH  
**24:** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = -, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = H, R<sub>5</sub> = H, R<sub>6</sub> = OAc  
**25:** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = -, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = H, R<sub>5</sub> = H, R<sub>6</sub> = O-TMB  
**26:** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = H, R<sub>5</sub> = H, R<sub>6</sub> = OH  
**27:** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = -, R<sub>3</sub> = COCH<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> = H, R<sub>5</sub> = H, R<sub>6</sub> = OCOCH<sub>3</sub>  
**28:** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = -, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = H, R<sub>5</sub> = H, R<sub>6</sub> = OH  
**29:** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = -, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = H, R<sub>5</sub> = H, R<sub>6</sub> = OH



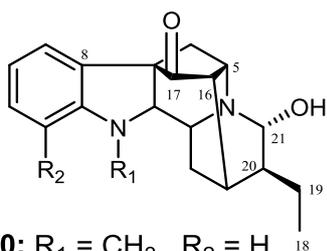
- 30:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = -$   
**31:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$   
**32:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = -$   
**33:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$   
**34:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = -$



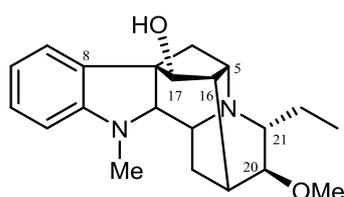
- 35:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OH}$   
**36:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$   
**37:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$   
**38:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$   
**39:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$ ,  $R_3 = \text{H}$



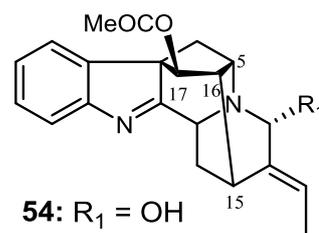
- 40:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{TMB}$ ,  $R_5 = \text{OH}$   
**41:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{TMB}$ ,  $R_5 = \text{OH}$   
**42:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{OH}$ ,  $R_5 = \text{H}$   
**43:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$ ,  $R_4 = \text{OH}$ ,  $R_5 = \text{OH}$   
**44:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$ ,  $R_4 = \text{OH}$ ,  $R_5 = \text{OH}$   
**45:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{OH}$ ,  $R_5 = \text{H}$   
**46:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{OCOCH}_3$ ,  $R_5 = \text{H}$   
**47:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{OH}$ ,  $R_5 = \text{H}$   
**48:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{OH}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{OH}$ ,  $R_5 = \text{H}$   
**49:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{OH}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{OCOCH}_3$ ,  $R_5 = \text{H}$



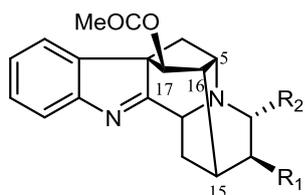
- 50:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$   
**51:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$   
**52:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$



**53**

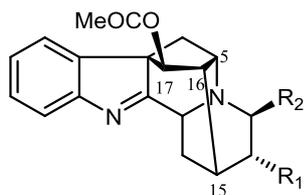


- 54:**  $R_1 = \text{OH}$   
**55:**  $R_1 = \text{H}$   
**56:**  $R_1 = \beta\text{-D-glucoside}$



**57:** R<sub>1</sub> = CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = OH

**58:** R<sub>1</sub> = CHOHCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = OH



**59:** R<sub>1</sub> = CHO, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>

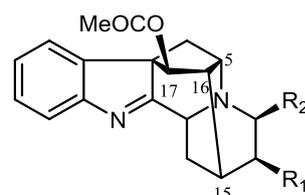
**60:** R<sub>1</sub> = CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>

**61:** R<sub>1</sub> = Cl, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>

**62:** R<sub>1</sub> = CH=CHC=OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>

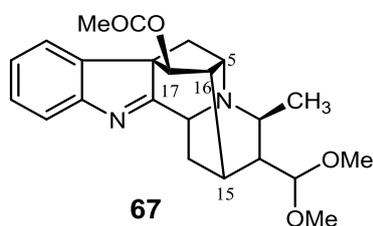
**63:** R<sub>1</sub> = CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>

**64:** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>

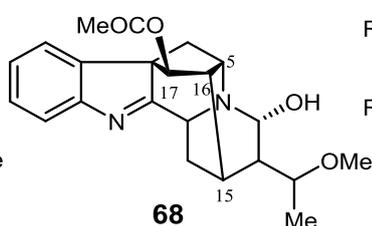


**65:** R<sub>1</sub> = CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> = OH

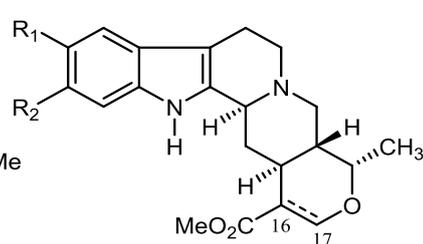
**66:** R<sub>1</sub> = Cl, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>



**67**



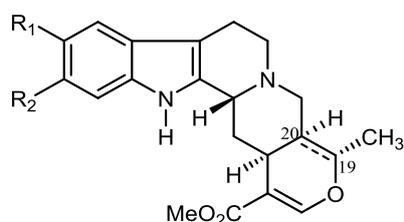
**68**



**69:** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = H, Δ<sup>16,17</sup>

**70:** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>, Δ<sup>16,17</sup>

**71:** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = H, 16,17-dihydro



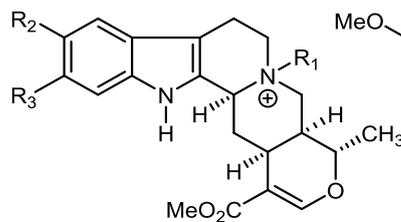
**72:** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>, 19,20-dihydro

**73:** R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>, 19,20-dihydro

**74:** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>, 19,20-dihydro

**75:** R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = H, 19,20-dihydro

**76:** R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>, Δ<sup>19,20</sup>

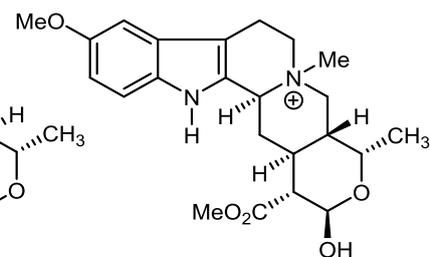


**77:** R<sub>1</sub> = -, R<sub>2</sub> = H, R<sub>3</sub> = H

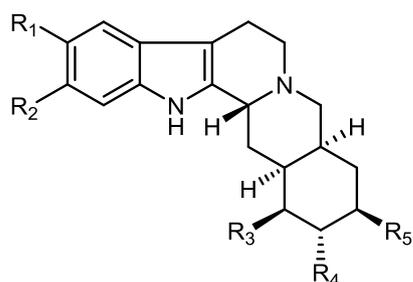
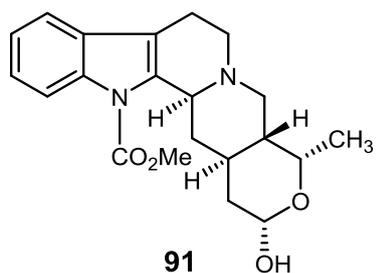
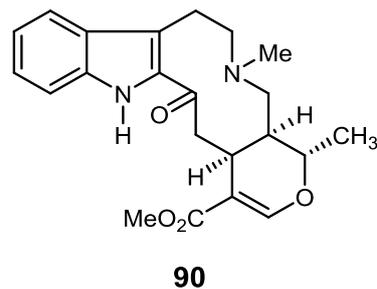
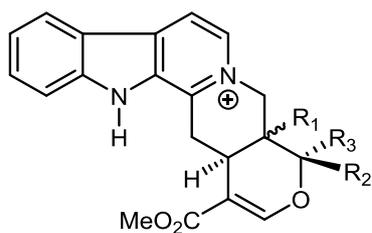
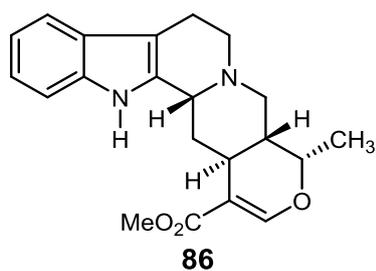
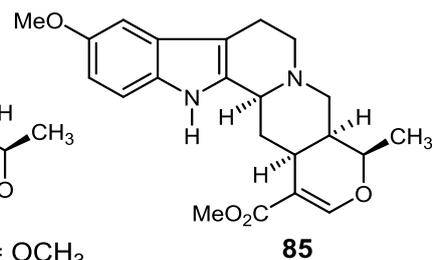
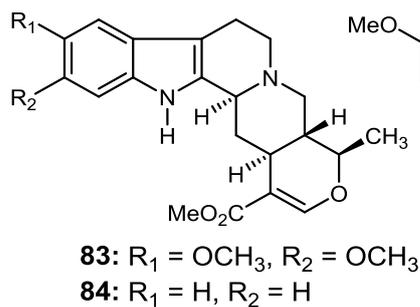
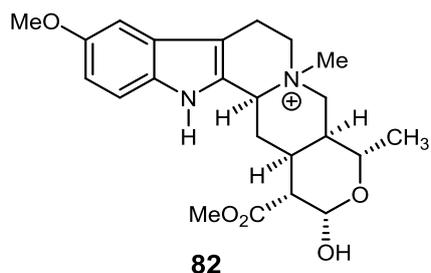
**78:** R<sub>1</sub> = -, R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = H

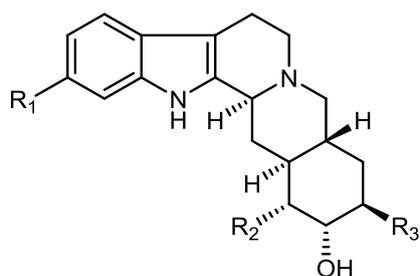
**79:** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = H, R<sub>3</sub> = H

**80:** R<sub>1</sub> = -, R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = OCH<sub>3</sub>



**81**



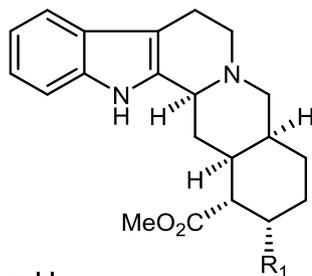


**100:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{COOCH}_3$ ,  $R_3 = \text{H}$

**101:**  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{COOCH}_3$ ,  $R_3 = \text{H}$

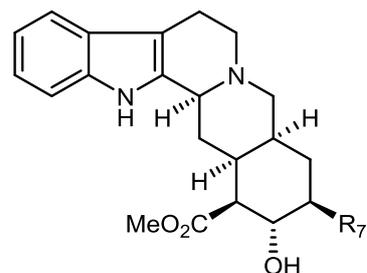
**102:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{COOCH}_3$ ,  $R_3 = \text{OH}$

**103:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{COOH}$ ,  $R_3 = \text{H}$ .



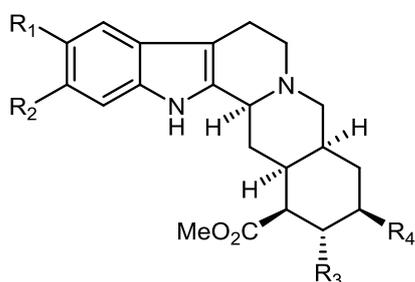
**104:**  $R_1 = \text{OH}$

**105:**  $R_1 = \text{OCOCH}_3$



**106:**  $R_1 = \text{H}$ ,

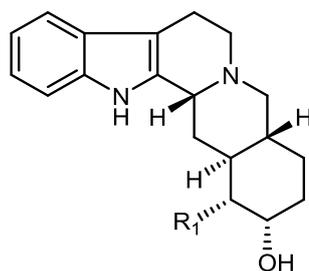
**107:**  $R_1 = \text{OH}$



**108:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$ ,  $R_4 = \text{OH}$

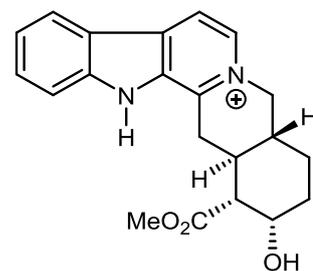
**109:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$ ,  $R_4 = \text{OH}$

**110:**  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$ ,  $R_3 = \text{OH}$ ,  $R_4 = \text{H}$ .

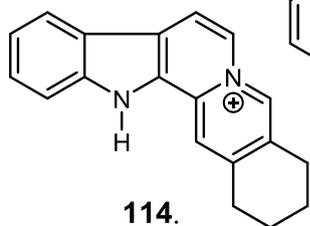


**111:**  $R_1 = \text{COOCH}_3$

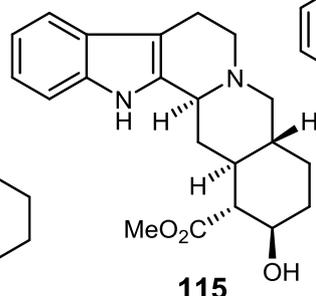
**112:**  $R_1 = \text{COOH}$ .



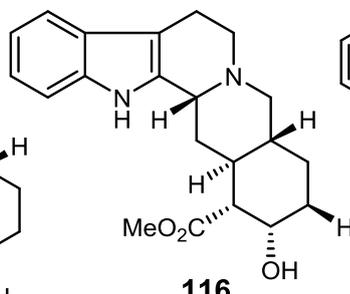
**113**



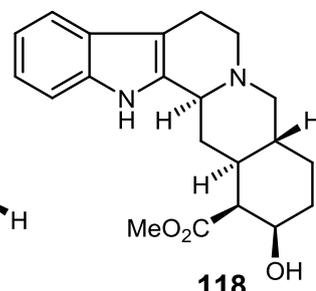
**114.**



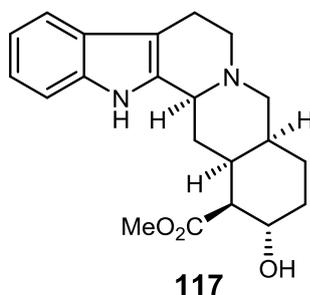
**115**



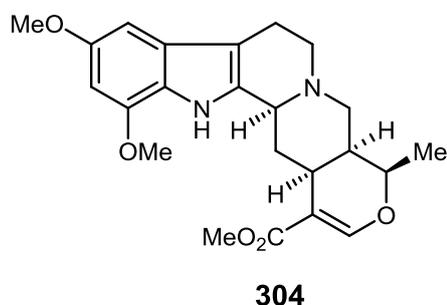
**116**



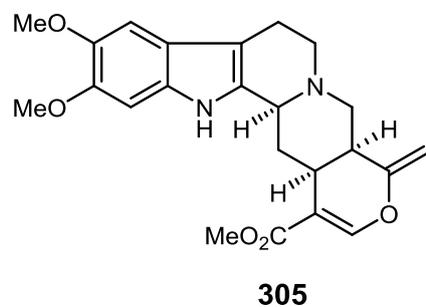
**118**



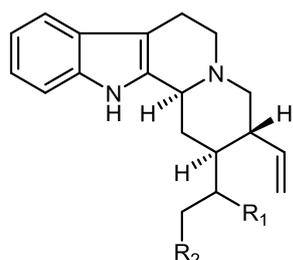
**117**



**304**



**305**

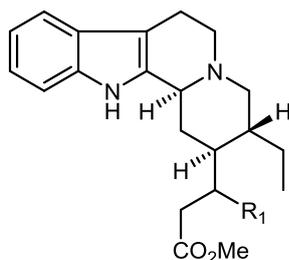


**119:**  $R_1 = H, R_2 = OH$

**120:**  $R_1 = CHOH, R_2 = COOCH_3$

**121:**  $R_1 = COH, R_2 = COOCH_3$

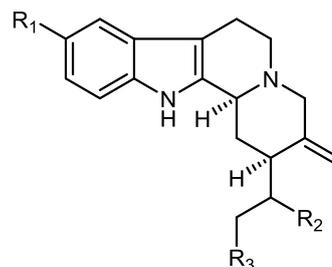
**122:**  $R_1 = CH_2OH, R_2 = COOCH_3$



**123:**  $R_1 = CHOH$

**124:**  $R_1 = CH_2OH$

**125:**  $R_1 = CH_2OH$



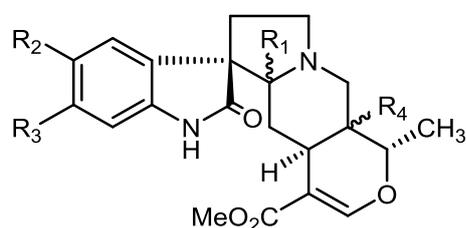
**126:**  $R_1 = OCH_3, R_2 = CH_2OH, R_3 = H,$

**127:**  $R_1 = H, R_2 = CH_2OH, R_3 = COOCH_3$

**128:**  $R_1 = H, R_2 = CH_2OH, R_3 = H$

**129:**  $R_1 = OH, R_2 = CH_2OH, R_3 = H$

**130:**  $R_1 = H, R_2 = CH_2OAc, R_3 = H$

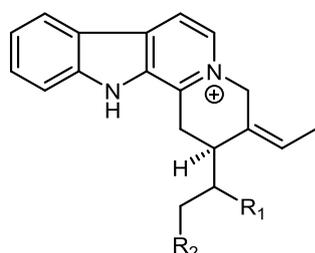


**137:**  $R_1 = \alpha-H, R_2 = OCH_3, R_3 = OCH_3, R_4 = \alpha-H$

**138:**  $R_1 = \beta-H, R_2 = OCH_3, R_3 = OCH_3, R_4 = \alpha-H$

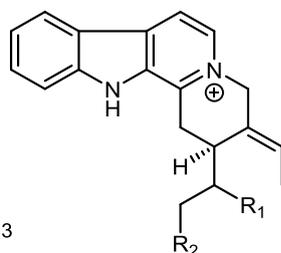
**139:**  $R_1 = \alpha-H, R_2 = OCH_3, R_3 = OCH_3, R_4 = \alpha-H, Nb \rightarrow O$

**140:**  $R_1 = \alpha-H, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = \beta-H,$

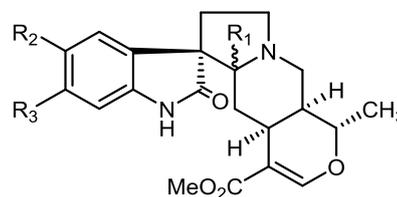


**131:**  $R_1 = CO-glu, R_2 = COOCH_3$

**132:**  $R_1 = CH_2OH, R_2 = OH$



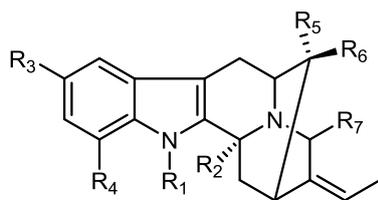
**133:**  $R_1 = CH_2OH, R_2 = OH$



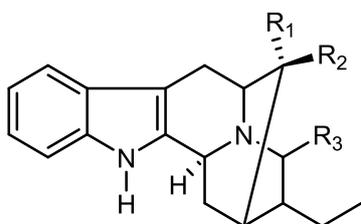
**134:**  $R_1 = \alpha-H, R_2 = H, R_3 = OCH_3$

**135:**  $R_1 = \alpha-H, R_2 = OCH_3, R_3 = OCH_3$

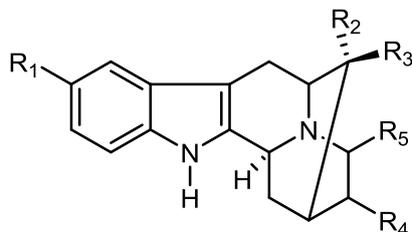
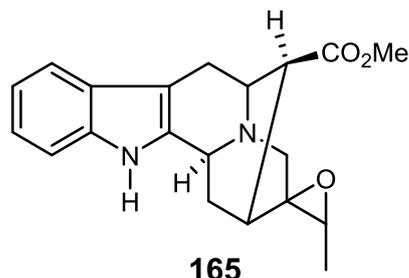
**136:**  $R_1 = \beta-H, R_2 = OCH_3, R_3 = OCH_3$



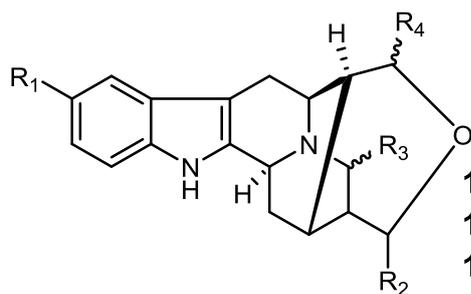
- 141:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = OCH_3, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CH_2OH, R_7 = H$   
**142:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = OCH_3, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CH_2OH, R_7 = H, (N_b-CH_3)$   
**143:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = OCH_3, R_4 = H, R_5 = CH_2OH, R_6 = H, R_7 = H$   
**144:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = H, R_5 = CH_2OH, R_6 = COOCH_3, R_7 = H$   
**145:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CH_2OH, R_7 = H$   
**146:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = OH, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CH_2OH, R_7 = H (N_b-CH_3)$   
**147:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = H, R_5 = COOCH_3, R_6 = CH_2OH, R_7 = H$   
**148:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = OH, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CH_2OH, R_7 = H,$   
**149:**  $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = OH, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CH_2OH, R_7 = H$   
**150:**  $R_1 = CH_3, R_2 = H, R_3 = OH, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CH_2OH, R_7 = H$   
**151:**  $R_1 = CH_3, R_2 = H, R_3 = OH, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CH_2OH, R_7 = H, (N_b-CH_3)$   
**152:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CHO, R_7 = H$   
**153:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = OCH_3, R_5 = H, R_6 = CHO, R_7 = H$   
**154:**  $R_1 = CH_3, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CHO, R_7 = H$   
**155:**  $R_1 = CH_3, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = OCH_3, R_5 = H, R_6 = CHO, R_7 = H$   
**156:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CH(OCH_3)_2, R_7 = H$   
**157:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = OCH_3, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = COOH, R_7 = H, (N_b-CH_3)$   
**158:**  $R_1 = CH_3, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = OCH_3, R_5 = H, R_6 = CH_2OH, R_7 = H, (N_b-H)$   
**159:**  $R_1 = CH_3, R_2 = OH, R_3 = H, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CH_2OH, R_7 = H$   
**160:**  $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = H, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CH_2OH, R_7 = H$   
**161:**  $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = H, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CH_2OH, R_7 = H$   
**162:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = CH_2OH, R_7 = CH_3$



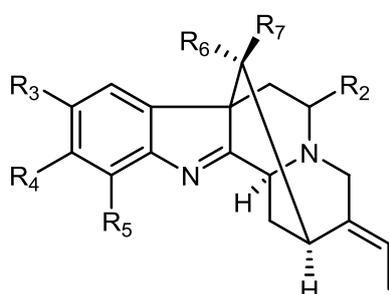
- 163:**  $R_1 = COOCH_3, R_2 = CH_2OH, R_3 = H$   
**164:**  $R_1 = H, R_2 = CH_2OH, R_3 = OH$



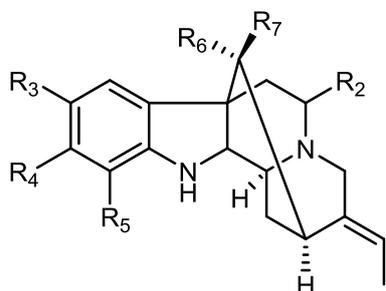
- 166:**  $R_1 = OCH_3, R_2 = H, R_3 = CH_2OH, R_4 = CHCH_2OH, R_5 = H$   
**167:**  $R_1 = H, R_2 = CH_3, R_3 = CH_2OAc, R_4 = CHO, R_5 = CH_3$   
**168:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = CH_2OH, R_4 = CH_2OH, R_5 = CH_3$



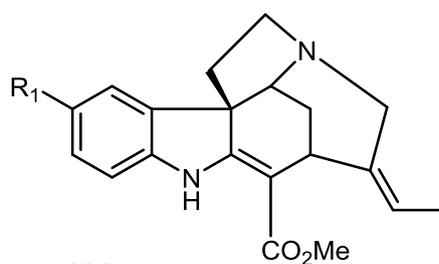
- 169:**  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$ ,  $R_3 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  
**170:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \alpha\text{-CH}_3$ ,  $R_4 = \beta\text{-OH}$ ,  
**171:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \alpha\text{-CH}_3$ ,  $R_4 = \beta\text{-H}$ ,  
**172:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$ ,  $R_3 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_4 = \alpha\text{-OH}$ ,  
**173:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$ ,  $R_3 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_4 = \beta\text{-OH}$ ,  
**174:**  $R_1 = \text{OH}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \beta\text{-CH}_3$ ,  $R_4 = \alpha\text{-OH}$ ,  
**175:**  $R_1 = \text{OH}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \beta\text{-CH}_3$ ,  $R_4 = \beta\text{-OH}$ ,  
**176:**  $R_1 = \text{OH}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \beta\text{-CH}_3$ ,  $R_4 = \alpha\text{-OCH}_3$



- 177:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{CH}_2\text{OAc}$ ,  $R_7 = \text{COOCH}_3$   
**178:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{CH}_2\text{OAc}$ ,  $R_7 = \text{COOCH}_3$   
**179:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_7 = \text{COOCH}_3$   
**180:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{COOCH}_3$   
**181:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OH}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{COOCH}_3$   
**182:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{OH}$ ,  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{COOCH}_3$   
**183:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{OCH}_3$ ,  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{COOCH}_3$   
**184:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OCH}_3$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{OCH}_3$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{COOCH}_3$   
**185:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{H}$   
**186:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{OH}$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{COOCH}_3$   
**187:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{OCOCH}_3$ ,  $R_6 = \text{H}$ ,  $R_7 = \text{COOCH}_3$



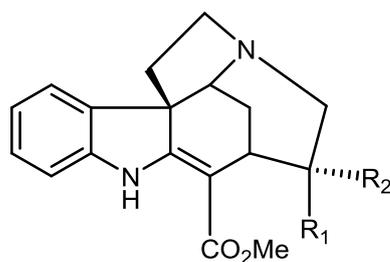
- 188:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{CH}_2\text{OAc}$ ,  $R_7 = \text{COOCH}_3$   
**189:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_7 = \text{COOCH}_3$



**190:**  $R_1 = H$

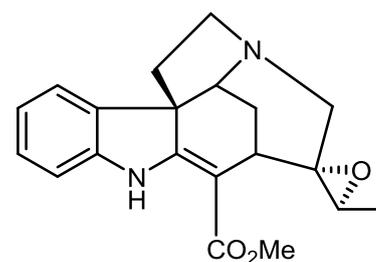
**191:**  $R_1 = OCH_3$

**194:**  $R_1 = H, N_4 \rightarrow O$

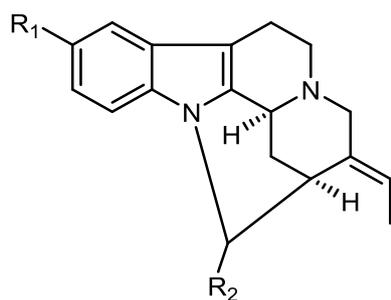


**192:**  $R_1 = CH_2CH_3, R_2 = H$

**195:**  $R_1 = CHOCH_3, R_2 = OH$



**193**

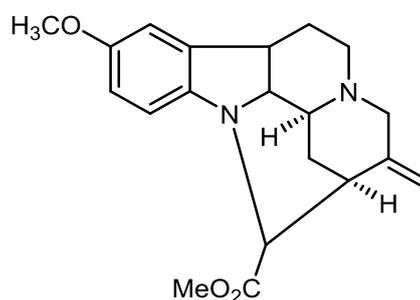


**196:**  $R_1 = H, R_2 = COOCH_3$

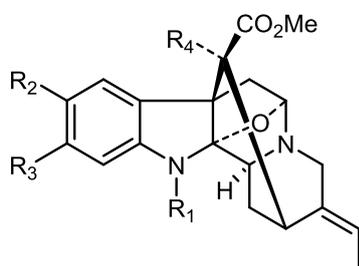
**197:**  $R_1 = OCH_3, R_2 = COOCH_3$

**198:**  $R_1 = H, R_2 = COOCH_2OH$

**200:**  $R_1 = OCH_3, R_2 = COOCH_3, N_4 \rightarrow O$



**199**



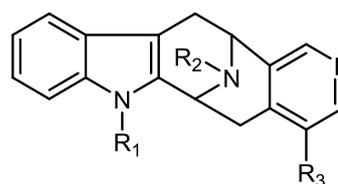
**201:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = CH_2OAc$

**202:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = H$

**203:**  $R_1 = CH_3, R_2 = OCH_3, R_3 = OCH_3, R_4 = H$

**204:**  $R_1 = H, R_2 = OCH_3, R_3 = OCH_3, R_4 = H$

**205:**  $R_1 = H, R_2 = OCH_3, R_3 = H, R_4 = H$

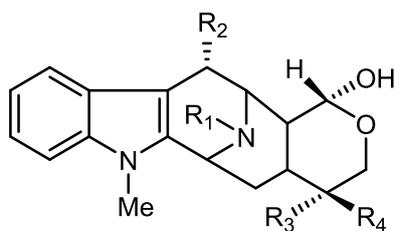


**206:**  $R_1 = CH_3, R_2 = H, R_3 = CH_2CH_3$

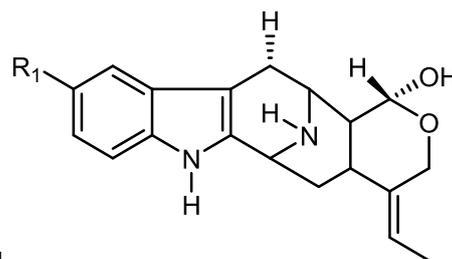
**207:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = CH_2CH_3$

**208:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H$

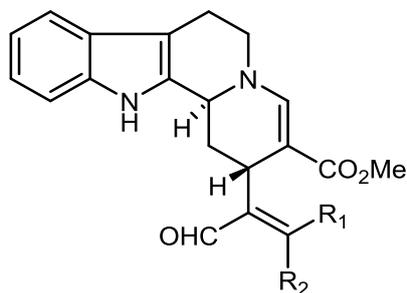
**209:**  $R_1 = H, R_2 = CH_3, R_3 = CH_2CH_2OH$



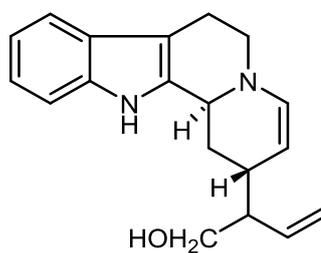
- 211:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = CH_2CH_3$   
**212:**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = CH_2CH_3, R_4 = H$   
**213:**  $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = H, R_4 = CH_2CH_3$   
**214:**  $R_1 = CH_3, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = CH_2CH_3$   
**215:**  $R_1 = H, R_2 = OCH_3, R_3 = H, R_4 = CH_2CH_3$



- 210:**  $R_1 = H$   
**216:**  $R_1 = OH$



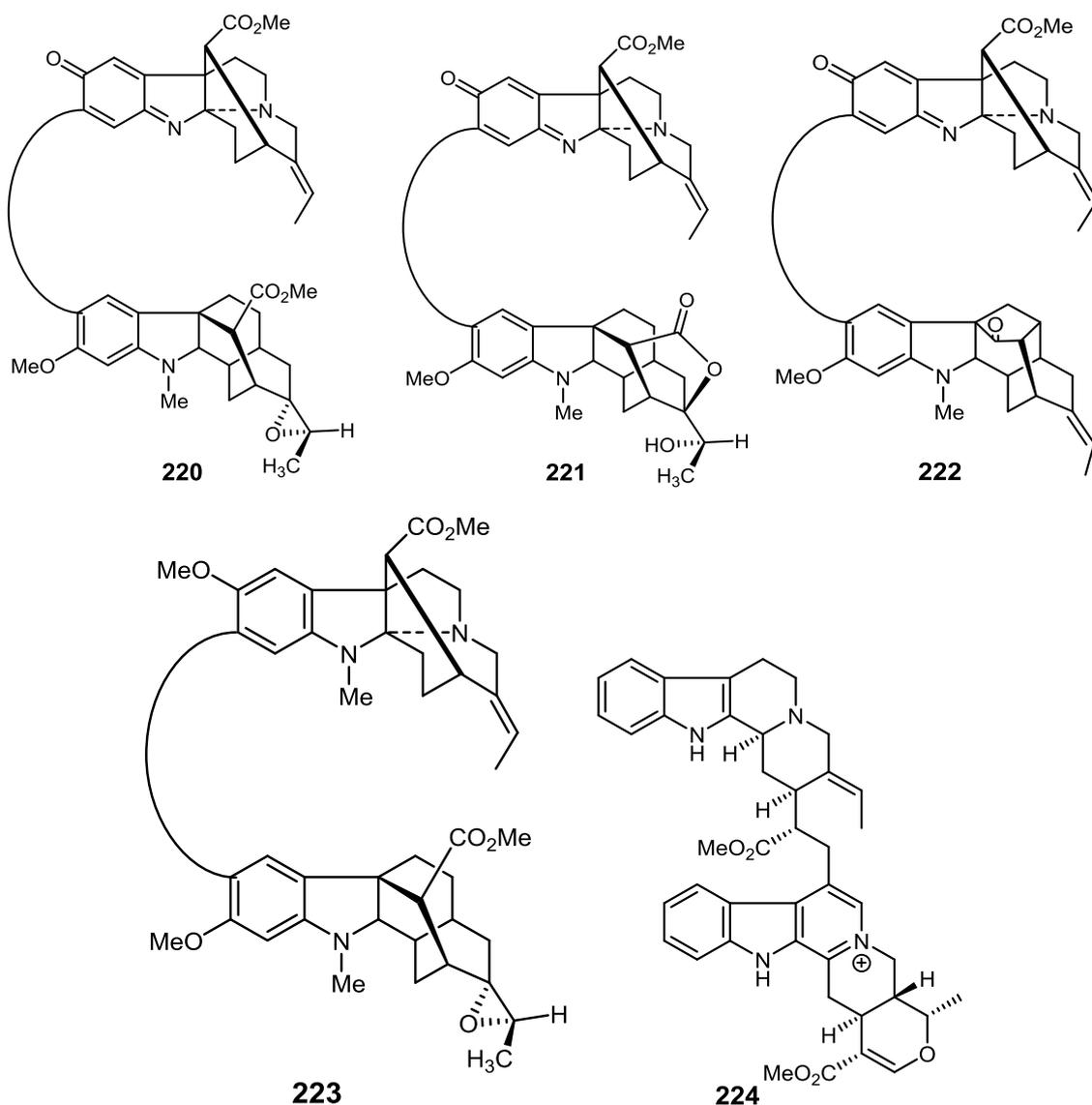
- 217:**  $R_1 = H, R_2 = CH_3$   
**218:**  $R_1 = CH_3, R_2 = H$



**219**

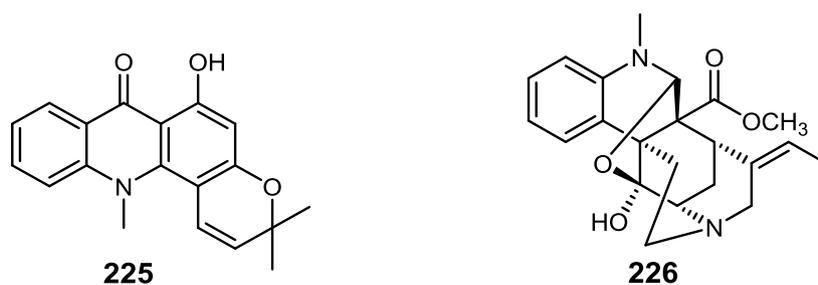
#### 1.5.4.2. Les bis-indoles

Au total 05 bis-indoles ont été isolés des feuilles de *R. sumatrana* et des écorces du tronc de *R. nitida* dont la rausutrine (**220**), la rausutranine (**221**), la flexicorine (**222**), la cabufileine (**223**) et la serpentinine (**224**) (Subhadhirasakul et *al.*, 1994 ; Amer et Court, 1981).



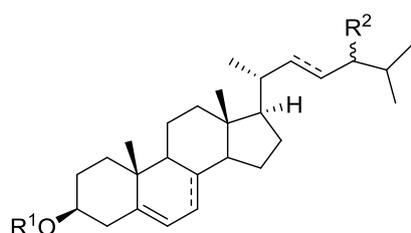
### 1.5.4.3. Autres alcaloïdes

En 2012, Hong et collaborateurs ont isolé du tronc et rhizomes de *R. verticillata* un nouvel alcaloïde 9-hydroxynoracronycine (**225**) (Hong *et al.*, 2012). Des feuilles de *R. sumatrana*, la lanceomigine (**226**) a été isolée par Subhadhirasakul et collaborateurs en 1994 (Subhadhirasakul *et al.*, 1994)



#### 1.5.4.4. Les triterpènes et stéroïdes

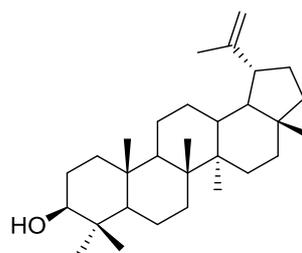
Un triterpène de type Lupane : Lupéol (**230**), isolé des feuilles de *R. mattfeldiana* (Vieira et al., 1998) et 3 stéroïdes ;  $\beta$ -sitostérol (**227**), stigmastérol (**228**) et 7-dehydrositostérol (**229**) furent isolés de *R. mattfeldiana* et *R. serpentina* (Vieira et al., 1998 ; Karmakar et Chakroborty, 1983).



**227:** R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=Et, 7,8-dihydro, 22,23-dihydro

**228:** R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=Et, 7,8-dihydro,  $\Delta^{22,23}$

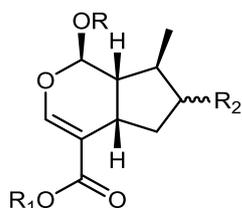
**229:** R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=Et,  $\Delta^{7,8}$ , 22,23-dihydro



**230**

#### 1.5.4. 5. Les iridoïdes et séco- iridoïdes

Au total 6 iridoïdes et un séco- iridoïde ont été isolé de deux espèces du genre *Rauvolfia*. Parmi eux, la 7-epiloganine (**231**), l'acide loganique (**232**), l'acide 7-deoxyloganique (**233**) et la secoxyloganine (**234**) sont isolés des racines de *R. serpentina* par Itoh et collaborateurs (Itoh et al., 2005) ; alors que des écorces de *R. grandiflora*, la loganine (**235**), la boonéine (**236**) et l'isobooéine (**237**) ont été isolé (Bianco et al., 1994).

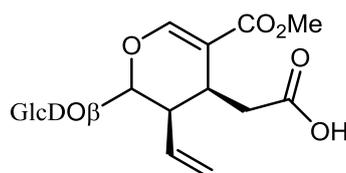


**231:** R=  $\beta$ -D-Glc, R<sub>1</sub>= Me, R<sub>2</sub>=  $\alpha$ -OH

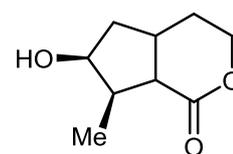
**232:** R=  $\beta$ -D-Glc, R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>=  $\beta$ -OH

**233:** R=  $\beta$ -D-Glc, R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>= H

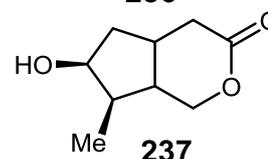
**234:** R=  $\beta$ -D-Glc, R<sub>1</sub>= Me, R<sub>2</sub>=  $\beta$ -OH



**235**



**236**

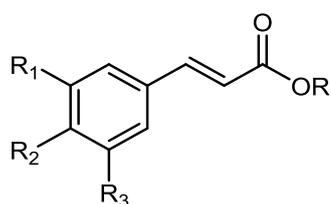


**237**

#### 1.5.4. 6. Les composés phénoliques

En 2013, Fadaeisanab et collaborateurs ont isolés des feuilles de *R. reflexa* 03 composés phénoliques : l'acide (*E*)-3-(3, 4,5-trimethoxyphenyl) acrylique (**238**), (*E*)-methyl-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl) acrylate (**239**), 17-methoxycarbonyl-14-heptadecaenyl-4-hydroxy-3-methoxycinnamate (**240**) (Fadaeisanab et al., 2013). De plus, des écorces du tronc de *R. mattfeldiana*, le methyl-4'-*O*-methylarthonioate (**241**), l'acide arthonioïque (**242**) et

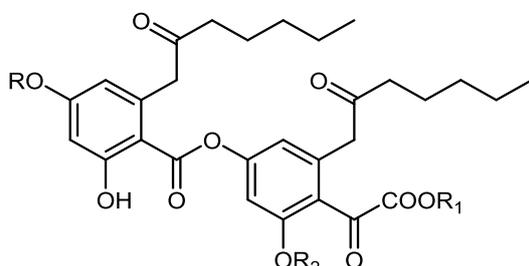
l'acide microphyllinique (**243**) ont été isolés (Vieira *et al.*, 1998). L'acide gallique (**244**) fut isolé du tronc de *R. vomitoria* par Malik et Afza en 1983 (Malik et Afza, 1983).



**238:** R= H, R<sub>1</sub>= R<sub>2</sub>= R<sub>3</sub>= OMe

**239:** R= Me, R<sub>1</sub>= R<sub>3</sub>= OMe, R<sub>2</sub>= OH

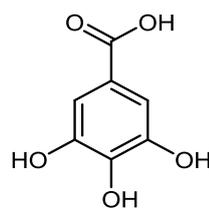
**240:** R= , R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>= OH, R<sub>3</sub>= OMe



**241:** R= R<sub>1</sub>= R<sub>2</sub>= Me

**242:** R= R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>= Me

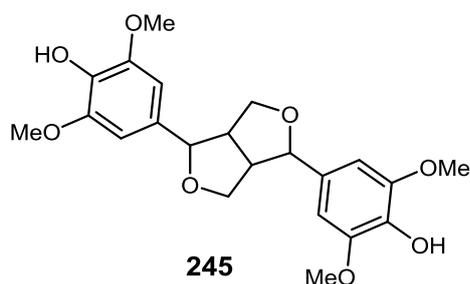
**243:** R= Me, R<sub>1</sub>= R<sub>2</sub>= H



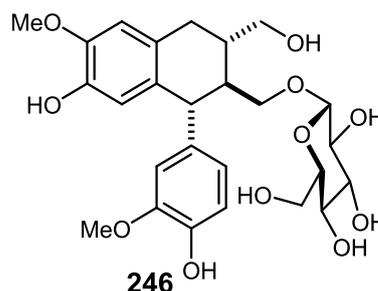
**244**

#### 1.5.4. 7. Les lignanes

02 lignanes à savoir : syringaresinol (**245**) et (+)-isolariciresinol-3 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**246**) ont été isolés des racines et rhizomes de *R. verticillata* (Hong *et al.*, 2012) et des racines de *R. serpentina* (Itoh *et al.*, 2005) respectivement.



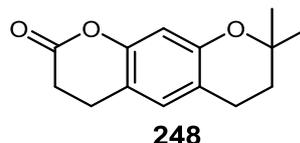
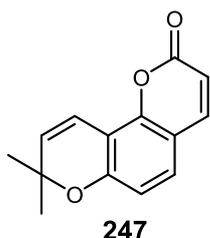
**245**



**246**

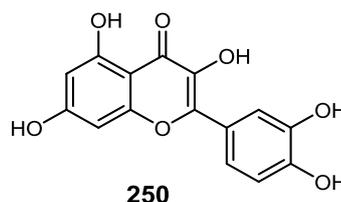
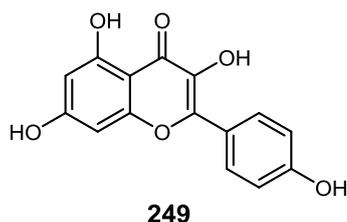
#### 1.5.4. 8. Les coumarines

En 2012, Hong et collaborateurs ont isolé des racines et rhizomes de *R. verticillata* 02 coumarines à savoir : seseline (**247**) et xanthyletine (**248**) (Hong *et al.*, 2012).



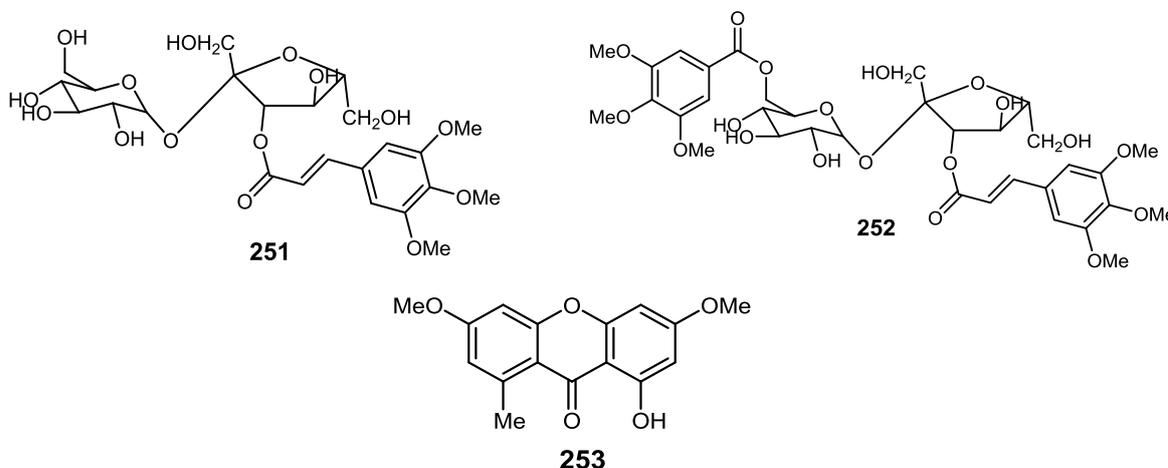
### 1.5.4. 9. Les flavonoïdes

Des feuilles et des racines de *R. vomitoria* et *R. serpentina*, 02 flavonoïdes furent isolés : kaempferol (**249**) et quercétine (**250**) (Malik et Afza, 1983 ; Gupta et Gupta, 2015).



### 1.5.4. 10. Autres composés

Les composés glucosidiques, glomeratose A (**251**), 6'-O-(3, 4, 5-triméthoxybenzoyl) glomeratose A (**252**) et la xanthone, lichexanthone (**253**) ont été isolés du tronc de *R. serpentina* et des écorces du tronc de *R. matfeldiana* respectivement.



## 1.6. Activités pharmacologiques et intérêt biologique des plantes du genre *Rauvolfia*

### 1.6.1. Activité antioxydante

L'extrait des racines de *R. vomitoria* a été étudié usant différentes méthodes de dosages d'antioxydants à savoir : piégeage du peroxyde d'hydrogène, des radicaux d'oxyde nitrique et la chélation des ions métalliques réduisant l'effet prooxydant des ions. De plus, la capacité antioxydant de l'inhibition de la peroxydation lipidique et le pouvoir ferrique réducteur de

l'extrait de ces racines par rapport à l'acide ascorbique ont fait l'objet d'études approfondies (Okolie et al., 2011). Vinay et collaborateurs ont étudié l'activité antioxydant *in vitro* de quatre extraits : extrait au méthanol des fruits, les extraits au *n*-hexane, au dichlorométhane et au méthanol des feuilles de *R. tetraphylla* avec BHA utilisé comme référence. Les extraits au *n*-hexane et au méthanol des feuilles ont montré une activité significativement efficace pour des concentrations de 5 à 50mg/mL (Vinay et al., 2016). La serpentine (**88**) l'un des composés les plus actifs de racines de *R. serpentina* est un antioxydant non cytotoxique. Ce composé a également présenté une dose-dépendante sur la réduction de ROS en induisant l'inhibition de la protéine p65 une sous unité de NF-κB (Dutta et al., 2011).

### 1.6.2. Activité anticancéreuse

Un certain nombre de composés isolés des espèces du genre *Rauvolfia* ont été testés contre un panel de lignées cellulaires cancéreuses afin de déterminer leurs propriétés anticancéreuses. C'est ainsi que l'efficacité cytotoxique de la rauvovertine A (**172**), 17-*epi*-rauvovertine A (**173**), rauvovertine B (**174**), 17-*epi*-rauvovertine B (**175**), et la rauvovertine C (**176**) contre les lignées de cellules cancéreuses HL-60, SMMC-7721, A-549, MCF-7, et SW-480 a été étudiée. La rauvovertine C (**176**) s'est avéré être le composé le plus cytotoxique contre toutes lignées de cellulaires designées (Gao et al., 2015). Hong et collaborateurs ont évalué l'activité cytotoxique de la 9-hydroxynoracronycine (**225**) contre la lignée cellulaire de cancer du sein MCF-7 et la leucémie promyélocytaire humaine HL-60 à 102, 8 mmol/L (Hong et al., 2012). L'acide yohimbinique (**103**), l'acide isorauhimbiniq ( **112**), la réserpine (**92**), la yohimbine (**100**), l'isorauhimbine (**116**), 18-hydroxy-*epiallo*-yohimbine (**107**), et la reserpine (**70**) ont également été évaluées pour leur activité inhibitrice contre les topoisomérases humaines I et II. L'acide yohimbinique (**103**) et la réserpine (**92**) se sont avérés être les inhibiteurs topoisomérases I et II les plus puissants avec des valeurs IC<sub>50</sub> de 30 et 20 mM respectivement. L'inhibition remarquable de la croissance cellulaire de la leucémie promyélocytaire HL-60 a été détectée avec l'acide yohimbinique (**102**), l'acide isorauhimbiniq (**112**) et la réserpine (**92**) (Itoh et al., 2005). L'activité potentielle de l'extrait enrichi en alcaloïdes de type β-carboline de *R. vomitoria*, a été étudiée *in vitro* et *in vivo* contre le cancer de la prostate. La croissance *in vitro* et *in vivo* et la progression du cycle cellulaire des ganglions lymphatiques *carcinoma* du cancer de la prostate ont été réduites par l'extrait de *R. vomitoria* (Bemis et al., 2006). L'extrait enrichi en β-carboline de *R. vomitoria* a été testé pour son activité cytotoxique contre les cellules cancéreuses du pancréas en monothérapie et en association avec la gemcitabine. Cet extrait a montré une activité apoptotique et a inhibé la

formation de colonies de cellules PANC-1 à une dose-dépendante. L'effet synergique de cet extrait avec la gemcitabine augmente avec des concentrations élevées et son efficacité antipancréatique a été prouvée par des données obtenues d'une étude d'un modèle murin orthotopique de cancer de pancréas et de réduction de la croissance tumorale (Yu et Chen, 2014).

### 1.6.3. Activité antimicrobienne

L'extrait éthanolique de *R. vomitoria* a montré une forte activité antibactérienne contre *S. aureus* résistant à la méthicilline (MRSA I et II) et *S. aureus* sensible à la méthicilline (Pesewu et al., 2008). Les extraits des feuilles, des tiges et des racines de *R. tetraphylla* ont été criblés pour leur activité antibactérienne par mesure de leurs zones d'inhibition. L'extrait au méthanol des feuilles a montré l'inhibition maximale de la zone croissance bactérienne ( $25,0 \pm 2,4$ mm) contre *S. aureus* et celui des racines a démontré une zone d'inhibition de la croissance fongique ( $22,0 \pm 2,1$ mm) contre *F. oxysporum* (Rohela et al., 2016). L'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux des racines de *R. obscura* a été reportée contre un panel de bactéries à savoir : *E. coli*, *E. paracoli*, *Citrobacter diversus*, *Klebsilla pneumoniae*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *S. aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Tona et al., 1999). Nukuhivensium (**18**) et *N*<sub>12</sub>-methyl-nukuhivensium (**19**) composés spécifiques isolés de *R. nukuhivensis* possèdent une activité antimicrobienne contre *S. aureus* avec des valeurs de CMI<sub>90</sub> de 105 et 115 mg/mL respectivement (Martin et al., 2012).

### 1.6.4. Cytotoxicité

La cytotoxicité de la réserpine de *R. serpentina* a été étudiée en utilisant un test de réduction de la résazurine contre différentes lignées de cellules cancéreuses. Il a été constaté que la réserpine (**92**) était efficace contre les cellules surexprimant la glycoprotéine P ou les cellules tumorales surexprimant la protéine de résistance au cancer du sein (BCRP). Les cellules surexprimant des récepteurs du facteur de croissance épidermique (EGFR) et les cellules knock-out p53 se sont révélées résistantes à la réserpine. L'association de la réserpine (**92**) et de la doxorubicine a démontré que l'activité d'inhibition de la réserpine (**92**) sur la fonction d'efflux de la glycoprotéine P augmentait avec l'augmentation des doses de doxorubicine (Abdelfatah et Efferth, 2015). L'efficacité cytotoxique de neuf composés isolés de *R. nukuhivensis* a été rapportée dans d'autres publications. À une concentration de 100 mM, le *N*<sub>12</sub>-méthylnukuhivensium (**19**) a montré une inhibition de la viabilité cellulaire de 67,12%. De plus, la spégatine (**146**), la flavopérérine et la norsandwicine (**29**) ont montré une diminution remarquable de la fonction mitochondriale par rapport aux cellules témoins (Martin et al., 2015)

### 1.6.6. Activité antipsychotique

L'herbe *R. vomitoria* et sa réserpine (**92**) alcaloïde ont été rapportées comme agents antipsychotiques par rapport à la chlorpromazine dans une étude menée sur des souris. L'extrait d'écorce de racine de *R. vomitoria* a montré un effet significatif sur la prise en charge des troubles psychotiques (Bisong et al., 2013). Les activités antipsychotiques de certains composés isolés, à savoir la 11-déméthoxyreserpiline (**75**), la 10-déméthoxyreserpiline (**72**), l' $\alpha$ -yohimbine (**117**) et la réserpine (**73**), à partir de feuilles de *R. tetraphylla*, ont été déterminées par Gupta et al. (Gupta et al., 2012). Plus précisément, l'association de 11-déméthoxyreserpiline (**74**) et de 10-déméthoxyreserpiline (**72**) (dose de 12,5 mg / kg), d' $\alpha$ -yohimbine (**117**) (dose de 6,25 mg / kg) et de réserpine (**73**) (dose de 25 mg / kg) a montré des activités antipsychotiques de 75%, 81% et 69% (pourcentage d'inhibition de l'hyperactivité induite par les amphétamines), respectivement (Gupta et al., 2012).

### 1.6.7. Activité antidiabétique

Le screening de la littérature a révélé le traitement des troubles hypertensifs et neurologiques à l'aide de médicaments traditionnels bien connus de *Rauwolfia serpentina*. Une gamme d'améliorations a été observé, y compris le poids corporel et la glycémie changements, avec des risques réduits associés à l'insuline sérique, au cholestérol total (TC), triglycérides (TG), lipoprotéine de basse densité (LDL-c), très basse densité lipoprotéines (VLDL-c), lipoprotéines-cholestérols de haute densité (HDL-c), total l'hémoglobine, l'hémoglobine glycosylée et le glycogène hépatique. Risque coronarien également réduit lors de la prise de *Rauwolfia serpentina*. Il a également été signalé que l'homéostasie des glucides et des lipides a été traitée en inhibant l'absorption du fructose dans l'intestin ou en diminuant la résistance à l'insuline dans le type 2 induit par le fructose souris diabétiques (Azmi et Qureshi, 2016). Les propriétés antidiabétiques d'un extrait aqueux de plante de *Rauwolfia vomitoria* ont été signalées par Campbell et collaborateurs. (Campbell et al., 2006) chez un animal étude réalisée sur des souris. Les résultats ont montré que la teneur en triglycérides sériques était plus élevée que chez les témoins, suggérant que le traitement des produits naturels induisait mobilisation lipidique. En plus de cela, la teneur totale en acides gras a été réduite du traitement (Campbell et al., 2006).

## 1.7. Généralités sur l'espèce *Rauwolfia caffra* Sond

### 1.7.1. Introduction

*Rauwolfia caffra* est une espèce végétale appartenant à la famille des Apocynacées. Il est communément appelé «arbre de la quinine» et est largement utilisé en Afrique subsaharienne par les autochtones comme médicament (Nkunya, 1992). En Tanzanie, *R. caffra* est largement répandu dans les forêts fluviales de Brachystegia, les basses terres, dans les forêts pluviales sèches de montagne et dans les marécages (FAO, 1986). On le trouve couramment dans les régions montagneuses d'Arusha, du Kilimandjaro, de Morogoro, de Mbeya et de Tanga en Tanzanie. Il est connu sous le nom de *Mwembemwitu*, ou *mkufi* (Kiswahili), *Msesewe* (Kichagga), *Olchapukalyan* ou *Oljabokaryan* (Maasai) (Njau, 2001; Mbuya et al., 1994).

### 1.7.2. Classification botanique

**Règne :** Plantae

**Sous-règne :** Tracheobionta

**Division :** Magnoliophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Sous-classe :** Asteridae

**Ordre :** Gentianales

**Famille :** Apocynaceae

**Genre :** *Rauwolfia*

**Espèce :** *Rauwolfia caffra* Sond

**Synonymies :** *R. macrophylla* Stapf; *R. natalensis* Sonder ; *R. ochrosioides* K. Schum ; *R. inebrians* K. Schum ; *R. caffra* var. *natalensis* Stapf ex Hiern ; *R. leucopoda* K. Schum ; *R. welwitschii* Stapf ; *R. obliquinervis* Stapf ; *R. goetzei* Stapf ; *R. oxyphylla* Stapf ; *R. tchibangensis* Pellegrin ; *R. mayombensis* Pellegrin

**Figure 11. Systématique de l'espèce *Rauwolfia caffra* (Sond., Linnaea 23 :77 , 1850)**

### 1.7.3. Description *Rauwolfia caffra* Sond

C'est un arbre de taille moyenne à plutôt grande atteignant 40 m de haut ; fût jusqu'à 1 m de diamètre ; écorce grise à marron, lisse ou rugueuse et liégeuse, fissurée ; rameaux souvent à 4–5 côtes ou à 4–5 ailes, à nettes cicatrices foliaires (Van Dilst et Leeuwenberg, 1991).



**Figure 12. Arbre de *Rauwolfia caffra* Sond (Photo prise par Bitombo, 03/04/2017)**

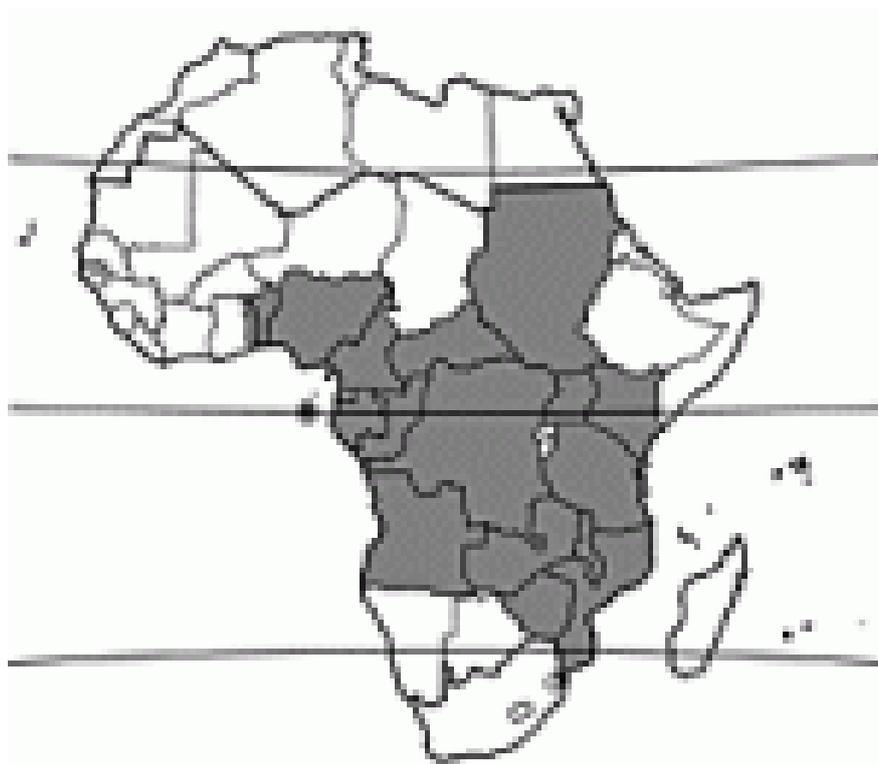
Feuilles verticillées par 3–6, nombreuses à l’extrémité des branches, simples et entières ; stipules absentes ; pétiole jusqu’à 6 cm de long ; limbe étroitement elliptique à étroitement obovale, de 2–50(–70) cm × 1–15(–20) cm, base décurrenente sur le pétiole, apex aigu, glabre. Inflorescence : cyme dense, en verticilles terminaux de 1–4, à nombreuses fleurs ; pédoncule de 1,5–13,5 cm de long, glabre. Fleurs bisexuées, régulières, 5-mères, odorantes ; pédicelle jusqu’à 2 mm de long ; sépales soudés à la base, inégaux, ovales, de 0,5–1,5 mm de long ; tube de la corolle cylindrique, de 3–5,5 mm de long, glabre à l’extérieur, à l’intérieur glabre sur 1,5–4,5 mm de la base, puis courtement poilu jusqu’à la gorge et poilu sur la base des lobes à l’intérieur, lobes ovales à obovales, de 0,5–1,5 mm de long, blancs, blanc verdâtre ou blanc jaunâtre ; étamines insérées à 2–4 mm au-dessus de la base de la corolle, incluses ; ovaire supère, globuleux à obovale, composé de 2 carpelles libres ou en partie soudés, style de 0,5–3 mm de long, tête du pistil cylindrique à col basal et à apex stigmoïde. Fruit : drupe globuleuse à ellipsoïde, de 5–20 mm de long lorsqu’un carpelle s’est développé, obcordée, 2-lobée, de 10–30 mm de long lorsque les deux carpelles se sont développés, rouge foncé, contenant 1–2 graines. Graines ellipsoïdes, de 7–13 mm de long, comprimées latéralement (Iwu, 1993).



**Figure 13. Feuilles, fleurs et fruits de *Rauwolfia caffra* Sond (Photo prise par Bitombo, 03/04/2017)**

#### **1.7.4. Origine et répartition géographique de *Rauwolfia caffra* Sond**

*Rauwolfia caffra* est présent depuis le Togo jusqu'au sud du Soudan, en Ouganda et au Kenya et vers le sud jusqu'à la partie orientale de l'Afrique du Sud, en passant par l'Afrique centrale et l'Afrique de l'Est (Burkill, 1994)



**Figure 14. Distribution géographique de *Rauwolfia caffra* en Afrique (Van Dilst et Leeuwenberg, 1991)**

### 1.7.5. Usages ethnopharmacologiques de *Rauvolfia caffra* Sond

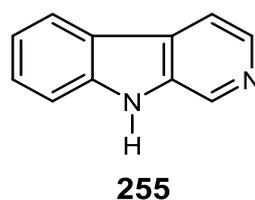
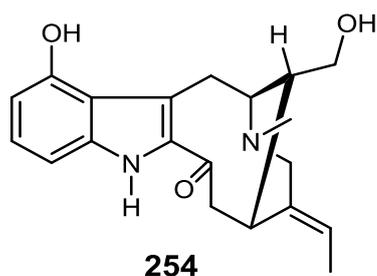
Les informations ethnobotaniques indiquent que *R. caffra* a été largement utilisé pour le traitement de diverses maladies. Les décoctions dérivées de l'écorce de tige sont considérées comme astringentes, purgatives ou émétiques pour traiter la fièvre, les gonflements, les abcès, l'hépatite et la pneumonie (Tshikalange et *al.*, 2005). L'écorce de tige pilée est appliquée contre les lésions cutanées de rougeole ou les démangeaisons (Schmelzer et Gumb-Fakin, 2008). Une écorce de tige est mâchée pour soigner la toux et les maux de dents et aussi pour le traitement des maladies vénériennes (Njau, 2001). La décoction de racine se prend pour traiter la fièvre et les jambes enflées (Tshikalange et *al.*, 2005). L'écorce amère est fortement purgative et on dit qu'elle produit de graves douleurs abdominales; néanmoins les Pongos d'Afrique du Sud utilisent l'écorce pour les troubles abdominaux (Bryant, 1995).

En Afrique de l'Est, l'écorce est couramment employée en médecine locale. Broyée, elle est appliquée en cas de rougeole ou de prurit. On boit une décoction d'écorce comme astringent, purgatif ou émétique pour soigner la fièvre, les œdèmes, les rhumatismes, l'hépatite, la pneumonie, les douleurs abdominales et comme neuroleptique. On mâche un morceau d'écorce contre la toux et les maux de dents. On inhale de la poudre de feuilles séchées en cas de maux de tête. Une décoction de racine permet de soulager la fièvre, la lourdeur des jambes, l'insomnie et les palpitations. La racine permet de traiter l'insomnie et le manque d'assurance. Une décoction de racine ou d'écorce cuite dans une bouillie est appliquée sur les abcès enkystés, et la poudre d'inflorescences encore fermées sur les plaies. Une décoction d'écorce ou de racine est ingérée pour lutter contre les parasites internes, tels que l'ascaris et le ténia. Le jus de racine, mélangé à du miel, est appliqué sur les fractures (Burkill, 1994). En Tanzanie, on consomme une décoction de racine en cas de douleurs abdominales, de constipation et de menstruations irrégulières ou encore d'hypertension. On inhale la vapeur d'une décoction d'écorce pour soigner l'épilepsie et les maladies oculaires (Hines et Eckman, 1993). En Zambie, l'écorce de tige est utilisée contre les maladies vénériennes. Au Zimbabwe, on utilise le jus de fruits broyés en guise de gouttes auriculaires pour soigner les otalgies. En Afrique du Sud, on boit une décoction d'écorce comme neuroleptique en cas d'hystérie, et contre l'insomnie. (Van Wyk et Gericke, 2000)

Dans les régions d'Arusha et du Kilimandjaro en Tanzanie, on ajoute de l'extrait de racine et d'écorce de tige moulue à une bière locale élaborée à partir de bananes à cuire pour en relever l'amertume et augmenter sa teneur en alcool. Le bois convient à la fabrication de cagettes à fruits, de meubles de cuisine et de rayonnages. Parfois, on sculpte des ustensiles de cuisine et des tambours (Mbuya et *al.*, 1994). Au Kenya, on utilise les poteaux dans la construction de huttes et de ruches. *Rauvolfia caffra* est utilisé comme essence d'ombrage dans les caféières, et, grâce à sa multitude de fleurs, elle constitue une espèce mellifère importante en Tanzanie. L'arbre est une source appréciable de bois de chauffage. Le latex solidifié est utilisé comme glu pour la capture des oiseaux au Kenya (Omino et Kokwaro, 1993). L'écorce contient une fibre dont on fait des cordes d'arcs et des ficelles au Cameroun et au Gabon. *Rauvolfia caffra* est un arbre décoratif à croissance rapide bien adapté aux jardins abrités. Il est utilisé en culture ornementale en tant qu'essence d'ombrage en Afrique australe (Burkill, 1994).

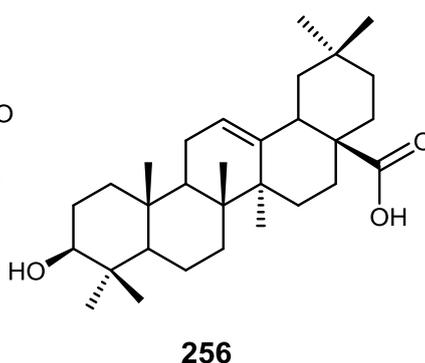
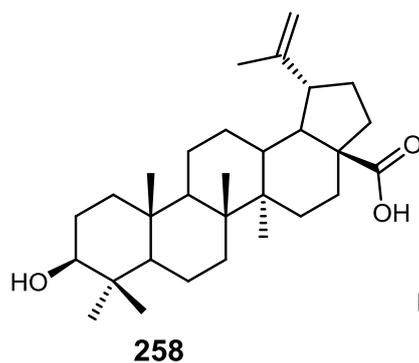
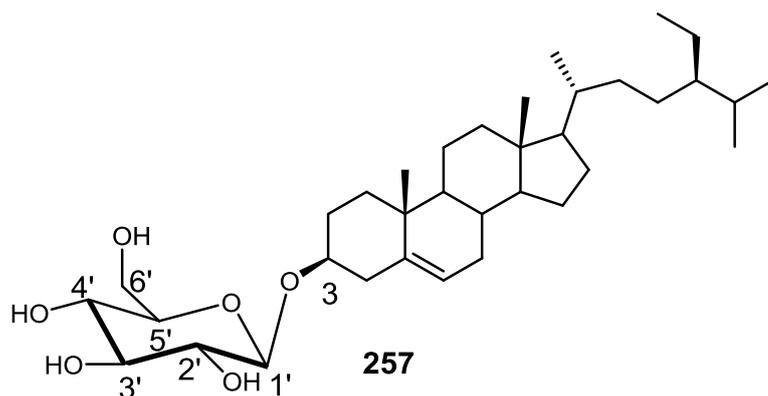
#### **1.7.6. Etudes phytochimiques antérieures sur *Rauvolfia caffra* Sond**

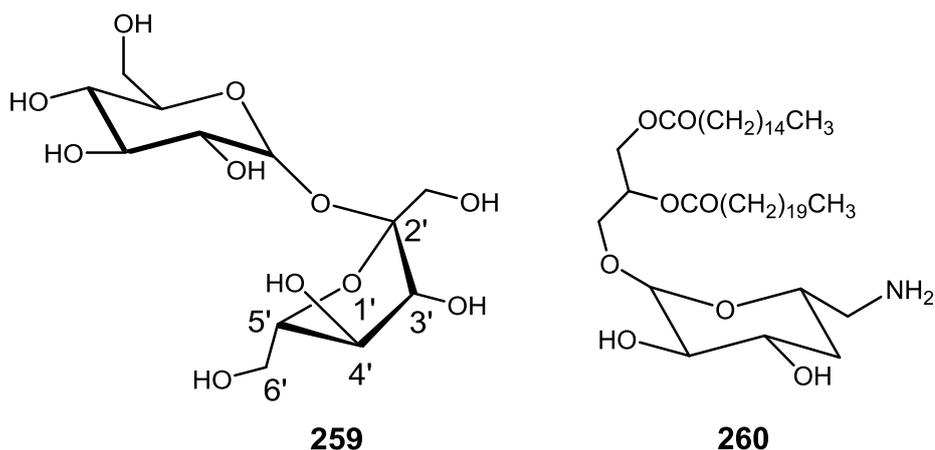
Selon nos investigations, des études phytochimiques ont été menées sur la plante *R. caffra* nous pouvons citer entre autre les travaux de Madati et collaborateurs (1977), puis de Nasser et Court (1982 ; 1984). Ces derniers ont mené une étude phytochimique sur les extraits des feuilles, des écorces et des racines de *R. caffra* et ont isolé 44 alcaloïdes indolomoterpéniques nommés ajmaline (20), norajmaline (21), akuammicine (190), akuammicine-*N<sub>b</sub>*-oxyde (194), 19,20-dihydroakuammicine (192), pleiocarpamine (196), norajmalidine (51), purpeline (36), rauvomitine (40), nortetraphyllicine (47), perakine (59), vomilenine (54), vinorine (55), raucaffrinoline (60), ajmalicine (69), ajmalicinine (71), reserpiline (73), tetrahydroalstonine (77), cabucinine (81), serpentine (87), reserpine (92), methylreserpate (109), rescinnamine (98), acide reserpique (95), yohimbine (100), alloyohimbine (104), geissoschizol (128), sitsirikine (120), mitraphylline (140), dihydroperasksine (168), normacusine B (145), akuammidine (147), dihydroakuammidine (163), sarpagine (148), vellosimine (154), dihydrotalpinine (164), peraksine (170), deoxyperaksine (171), strictamine (180), deacetyl-19,20-dihydrostrictamine (185), suaveoline (206), norsuaveoline (207), macrophylline (209), 9-hydroxy-16-epiaffinine (253), norharmane (254) .



Par la suite, Tlhapi et collaborateurs (2018) ont mené une étude phytochimique sur l'extrait méthanolique des écorces de *R. caffra* et ont isolé le lupeol (**230**), *N*-methylsarpagine (**150**), spigatine (**146**) et la raucaffricine (**56**) (Tlhapi et *al.*, 2018)

Enfin Messanga et collaborateurs (2017) ont mené une investigation phytochimique sur l'extrait méthanolique des feuilles de *R. caffra* et ont isolé l'acide oleanolique (**256**), sitosterol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**257**), acide betulinique (**258**), vellosimine (**154**), sarpagine (**148**), D-fructofuranosyl- $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 1)- $\alpha$ -D-glucopyranoside (**259**) et la rauwolfiane (**260**) (Ebeh Messanga et *al.*, 2017)





### 1.7.7. Activités biologiques sur *Rauvolfia caffra* Sond

L'espèce *Rauvolfia caffra* a fait l'objet de plusieurs études biologiques. Entre autre nous pouvons citer les travaux de Milugo et collaborateurs en 2013 qui ont évalués de l'activité antioxydant de l'extrait au méthanol des écorces de *R. caffra* s'est montré prometteur en tant que remède, avec une activité antioxydante comparable à celle du médicament utilisé dans le commerce quercétine (*R. caffra* = 79,7% ± 1,9; quercétine = 82,6% ± 2,0). Cependant, nous avons trouvé deux composés chimiques avec des effets antagonistes: la coexistence d'alcaloïdes et de saponines réduit significativement l'activité antioxydante (alcaloïdes uniquement = 63%; alcaloïdes plus saponines = 15%; stéroïdes, terpénoïdes et glycosides cardiaques = 82%), donc alcaloïdes et saponines devraient être exclusifs les uns aux autres dans les formulations médicamenteuses. (Milugo et *al.*, 2013)

Par la suite, Ebeh Messanga et collaborateurs (2017) dans leurs travaux chimiques ont démontré que le glyceroglycolipide (rauvolfianine (**260**)) et l'acide oléanolique (**256**) isolés des feuilles de cette espèce avaient également montré bonne une activité antimycobaterienne sur un isolat clinique AC45 de *Mycobacterium tuberculosis* résistant à l'isoniazide (Ebeh Messanga et *al.*, 2017).

Tlhapi et collaborateurs (2018) ont mené une étude phytochimique UPLC-MS guidée sur les écorces de *R. caffra* et ont évalué l'activité antiplasmodiale sur une souche CQS de *Plasmodium falciparum* 3D7. Dans cette étude, le profil chimique d'un extrait brut au méthanol des écorces de *Rauvolfia caffra* Sond a été déterminé par UPLC-MS ; trois alcaloïdes indoliques (raucaffricine, *N*-méthylsarpagine et spégatine) et un triterpénoïde (lupéol) ont été isolés. L'activité antiplasmodiale sur l'extrait brut, les fractions et composés purs a été déterminée en utilisant le test de lactate déshydrogénase du parasite (pLDH). Une fraction a présenté l'activité antiplasmodiale la plus élevée avec une IC<sub>50</sub> de 6,533 µg / mL. Cependant, la raucaffricine, isolée de la fraction active n'a montré aucune activité. (Tlhapi et *al.*, 2018)

Par la suite, (Tlhapi et *al.*, 2020) Dans le cadre d'une étude en cours sur les produits naturels issus de plantes médicinales locales, L'extrait au méthanol d'écorce des tiges de *Rauvolfia caffra* Sond a été étudié pour son activité biologique. L'extrait brut, les fractions et les composés isolés ont été testés pour leurs activités anti-oxydantes, antitrypanosomiale et antiproliférative. Deux fractions ont montré une forte activité de piégeage des radicaux libres DPPH et un bon pouvoir réducteur avec les valeurs IC<sub>50</sub> et IC<sub>0.5</sub> de 0,022 ± 0,003 mg / mL et 0,036 ± 0,007 mg / mL, puis 0,518 ± 0,044 mg / mL et 1,076 ± 0,136 mg / mL, respectivement. La spégatine (4) a été identifiée comme le principal composé antioxydant de *R. caffra* avec IC<sub>50</sub> et IC<sub>0.5</sub> de 0,119 ± 0,067 mg / mL et 0,712 ± 0 mg / mL, respectivement. Une fraction a montré une activité antitrypanosomiale élevée avec une valeur IC<sub>50</sub> de 18,50 µg / mL. Cependant, le constituant majeur de cette fraction, la raucaffricine (2) n'était pas active. L'extrait brut, les fractions et les composés purs n'ont présenté aucun effet cytotoxique à une concentration de 50 µg / mL contre les cellules HeLa.

## **1 .8. Généralités sur le genre *Tabernaemontana***

### **1 .8.1. Introduction**

Le genre *Tabernaemontana* qui regroupe environ 117 espèces de plantes à fleurs qui sont des arbustes ou des arbres , réparties dans les régions tropicales d'Afrique, d'Asie, d'Amérique, des Iles du pacifiques et les régions subtropicales, appartient à la famille des Apocynaceae et à la sous famille des Rauvolfioideae (Edith et Rosa, 2015). Dix-huit espèces sont présentes sur le continent africain et quinze à Madagascar. Il s'apparente étroitement au genre *Voacanga*. Au Cameroun on retrouve 04 espèces (*T. contorta* Stapf, *T. crassa* Benth, *T. eglandulosa* Stapf, *T. penduliflora* K. Schum) (Van Beek et *al.*, 1984).

Ce genre a été créé par Carl von Linné en 1753 en référence au botaniste et médecin allemand Jakob Dietrich von Bergzabern (Bad Bergzabern, 1522 – Heidelberg, 1590), connus sous le nom de *Tabernaemontanus*, latinisation de son lieu de naissance Bergzabern. Une importante confusion règne dans la littérature botanique concernant la délimitation de ce genre (Leeuwenberg, 1994 ; Van Beek et *al.*, 1984).

## 1.8.2. Classification du genre *Tabernaemontana* selon Plum. ex L., 1753

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Gentianales

Famille : Apocynaceae

Genre : *Tabernaemontana* Plum. ex L.

### Figure 15. Systématique du genre *Tabernaemontana* selon Plum. ex L. (1753)

#### 1.8.3. Description botanique des plantes du genre *Tabernaemontana*

Le genre *Tabernaemontana* comprend 100 à 110 espèces de plantes à fleurs que l'on trouve dans les régions tropicales. Ces plantes sont des arbustes ou arbres à latex blanc de 1 à 15 m de haut. Les feuilles sont sempervirentes, opposées, longues de 3 à 25 cm à sève laiteuse.

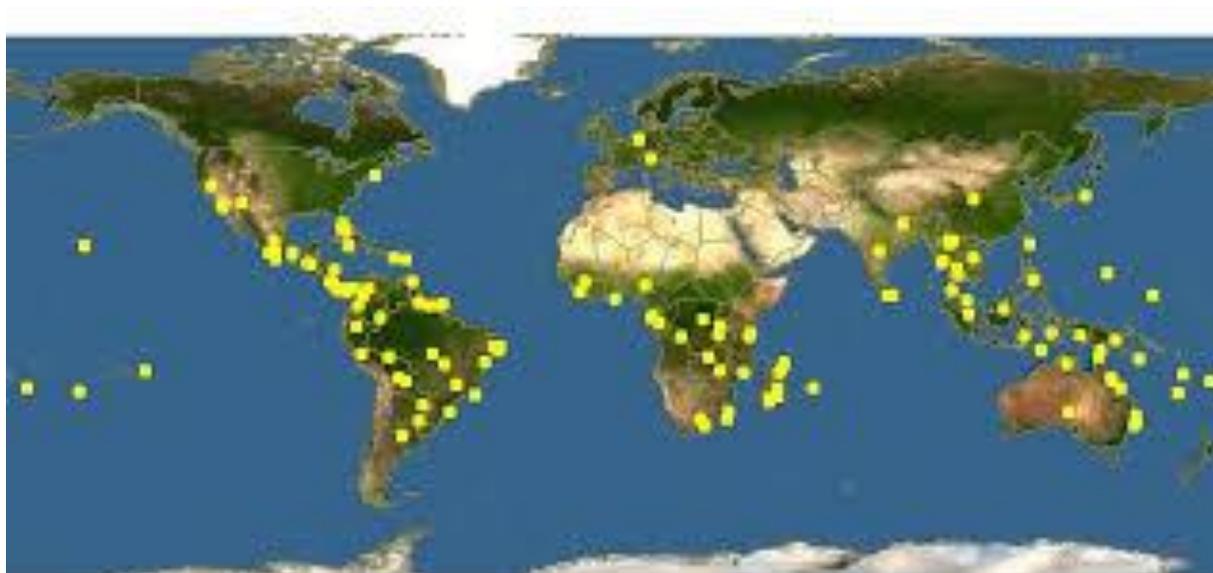
Les fleurs sont odorantes, blanches ; d'un diamètre de 1 à 5 cm. Les tiges sont branchées à plusieurs reprises à une ramification dichotomique. La surface ventrale est munie d'une gaine stipulaire inter et intrapétiolaire

Les fruits sont des follicules coriaces, ovoïdes ou globuleux, géminés. Les graines sont entourées d'un arille coloré, à albumen ruminé. Elles sont obliquement ellipsoïdes, avec rainure profonde sur le côté (Li et al., 1995).

#### 1.8.4. Distribution géographique des espèces du genre *Tabernaemontana*

Les plantes du genre *Tabernaemontana* sont présentes dans les régions tropicales d'Afrique, d'Asie, d'Amérique, des Iles du pacifiques et les régions subtropicales (González-Rocha et Cerros-Tlatilpa, 2015). Au Cameroun, on les retrouve dans les régions du Sud, du Centre ; de l'Est et du Nord-Ouest (Van Beek et al., 1984).

La figure ci-dessous représente la répartition géographique du genre *Tabernaemontana*



**Figure 16. Distribution géographique des espèces du genre *Tabernaemontana* (Mukherjee et al., 2019)**

### **1.8.5. Usages des espèces du genre *Tabernaemontana***

#### **1.8.5.1. Usages ethnopharmacologiques des espèces du genre *Tabernaemontana***

Plusieurs plantes du genre *Tabernaemontana* sont couramment employées en Asie et en Afrique comme médicament traditionnel. C'est ainsi que *T. catharinensis* plante à taille moyenne est utilisée pour remédier aux douleurs dentaires, éliminer les tumeurs de l'épiderme, puis comme antidote contre la morsure de serpent (Leeuwenberg, 1994 ; Pereira et al., 2008).

Au Cameroun, les feuilles de *T. contorta* Stapf sont utilisées pour prévenir la formation de chéloïdes et comme antiseptique (Burkill, 1985).

*T. divaricata* est utilisée pour traiter diverses maladies telles que l'épilepsie, les tumeurs abdominales, les infections oculaires, les maux de tête, la lèpre, les inflammations, la fièvre et la diarrhée (Ankita et Jyoti, 2019).

Les feuilles et le latex provenant des tiges et écorces de *T. crassa* réduits en pâte, ont plusieurs usages essentiellement comme anesthésique local en Afrique de l'Ouest. Au Cameroun et en centrafrrique, la décoction des feuilles, des écorces de racine ou de tige s'emploient contre la fièvre, le rhume ou la sinusite, la diarrhée, l'hématurie et la gonorrhée, le rachitisme chez les enfants et la fatigue chez les adultes (Mairura et al., 2006).

Le latex de *T. pachysiphon* est utilisé comme styptique et s'applique sur les blessures récentes pour prévenir les infections. Les feuilles séchées et réduites en poudre s'emploient sur les petites plaies et les ulcères pour faciliter leur guérison. Le latex des pétioles ou de l'écorce est utilisé pour soigner les douleurs des seins des femmes qui allaitent. En République

Démocratique du Congo, une préparation à base d'écorce des tiges macérée est employée pour lutter contre la gale (Elia, 2006).

#### **1.8.5.2. Autres usages des espèces du genre *Tabernaemontana***

Certaines espèces du genre *Tabernaemontana* sont utilisées comme matière première pour la fabrication des manches de couteaux et poignards, des arcs et flèches, ainsi que la fabrication d'étoffes (Leeuwenberg, 1991 ; Neuwinger, 2000).

D'autres sont aussi utilisées en culture ornementale en tant qu'essence d'ombrage, et, en raison de leurs feuilles vert foncé brillantes et la multitude de fleurs parfumées à l'instar de *Tabernaemontana pachysiphon*, *T. crassa*. La pulpe des feuilles écrasées sert à teindre les cheveux en brun et le latex blanc abondant à certains endroits de certaines espèces est parfois utilisé pour falsifier le caoutchouc d'hévéa (Burkill, 1985).

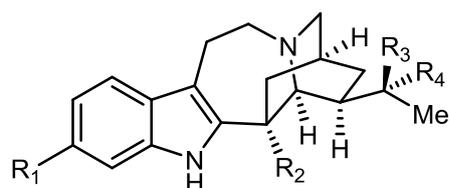
#### **1.8.6. Etudes phytochimiques antérieures et principaux métabolites isolés du genre *Tabernaemontana***

Les études phytochimiques antérieures ont montré que le genre *Tabernaemontana* est une principale source d'alcaloïdes indolomonoterpéniques, ce qui n'empêche pas également la présence des alcaloïdes dimères de la classe des corynanthéanes et iboganes, des triterpènes, des flavonoïdes et des composés phénoliques (Leeuwenberg, 1991 ; Van Beek *et al.*, 1984 ; Boligon *et al.*, 2014 ; Liang *et al.*, 2006).

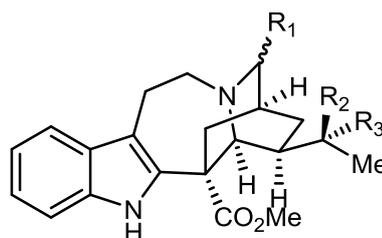
##### **1.8.6.1. Alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés des plantes du genre *Tabernaemontana***

Le screening de la littérature nous renseigne sur un nombre important d'alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés de ce genre et appartenant principalement aux alcaloïdes indoliques de type II (Ibogane) en plus des types I et III.

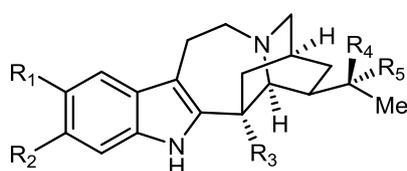
Kam et Sim (2002) ont isolé des feuilles et écorces du tronc de *T. corymbosa*, viz, le 19(*S*)-hydroxyibogamine (**261**), le 19-*epi*-isovoacristine (**262**), l'isovoacryptine (**263**), le 3*R/S*-ethoxyheyneanine (**264**), le 3*R/S*-ethoxy-19-*epi*-heyneanine (**265**), la coronaridine (**266**), ibogamine (**267**), le 3-oxocoronaridine (**268**), la voacangine (**269**), l'isovoacangine (**270**), l'isovoacristine (**271**), l'heyneanine (**272**), le 19-*epi*-heyneanine (**273**), le 3-oxo-19-*epi*-heyneanine (**274**), la coronaridine-7-hydroxyindolenine (**275**), 3*R/S*-ethoxycoronaridine (**277**), 3-methoxycoronaridine (**278**), 3-hydroxycoronaridine (**279**).



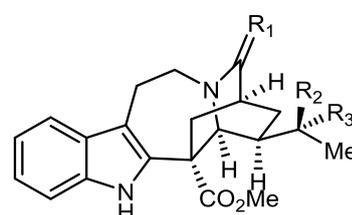
- 261:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OH}$ ,  $R_4 = \text{H}$   
**262:**  $R_1 = \text{OMe}$ ,  $R_2 = \text{CO}_2\text{Me}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{OH}$   
**263:**  $R_1 = \text{OMe}$ ,  $R_2 = \text{CO}_2\text{Me}$ ,  $R_3, R_4 = \text{O}$



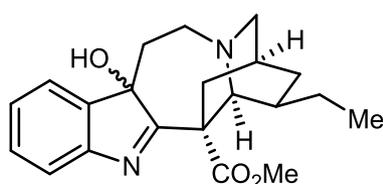
- 264:**  $R_1 = \text{OEt}$ ,  $R_2 = \text{OH}$ ,  $R_3 = \text{OH}$   
**265:**  $R_1 = \text{OEt}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{OH}$   
**277:**  $R_1 = \text{OEt}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$   
**278:**  $R_1 = \text{OMe}$ ,  $R_2 = \text{OH}$ ,  $R_3 = \text{H}$   
**279:**  $R_1 = \text{OH}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$



- 266:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{CO}_2\text{Me}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{H}$   
**267:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{H}$   
**269:**  $R_1 = \text{OMe}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{CO}_2\text{Me}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{H}$   
**270:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{OMe}$ ,  $R_3 = \text{CO}_2\text{Me}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{H}$   
**271:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{OMe}$ ,  $R_3 = \text{CO}_2\text{Me}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{OH}$   
**272:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{CO}_2\text{Me}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{OH}$   
**273:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{CO}_2\text{Me}$ ,  $R_4 = \text{OH}$ ,  $R_5 = \text{H}$   
**303:**  $R_1 = \text{OH}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{CO}_2\text{Me}$ ,  $R_4 = \text{H}$ ,  $R_5 = \text{H}$

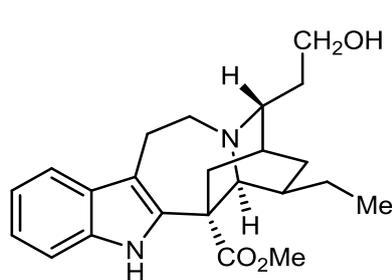


- 268:**  $R_1 = \text{O}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$   
**274:**  $R_1 = \text{O}$ ,  $R_2 = \text{OH}$ ,  $R_3 = \text{H}$

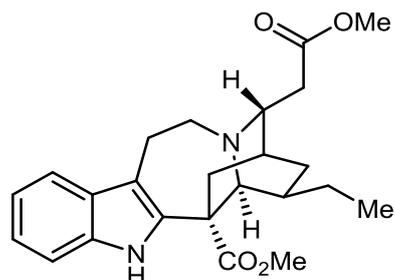


### 275

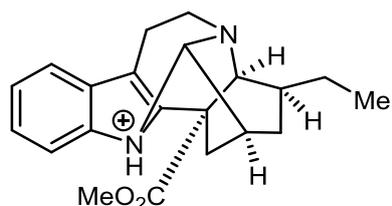
De même, Zhang et collaborateurs (2015) ont isolé des branches et feuilles de *T. officinalis* la taverdivarine G (**276**) et la taverdivarine H (**280**), tandis que Deng et collaborateurs (2018) ont isolé des branches et feuilles de *T. divaricata* le 3 $\alpha$ -hydroxyméthyl-ibogamine (**281**) et la 3 $\alpha$ -acetateméthoxyl-ibogamine (**282**).



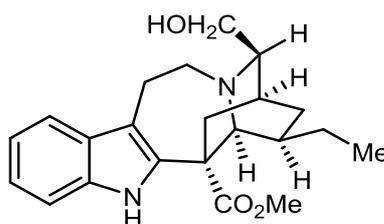
**281**



**282**

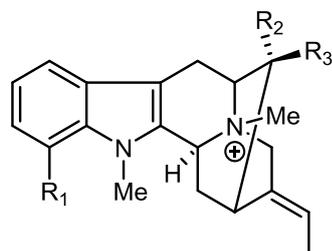


**276**



**280**

Amelia et collaborateurs (2019) ont isolé des écorces de *T. macrocarpa* Jack, la 22-déméthyl-12-méthoxy-4-méthylvoachalotine (**283**), la 22-dééthylfuchsiaefoline (**284**), la 12-méthoxy-4-méthylvoachalotine (**285**), isositsirikine (**287**), affinisine (**286**), affinine (**288**)

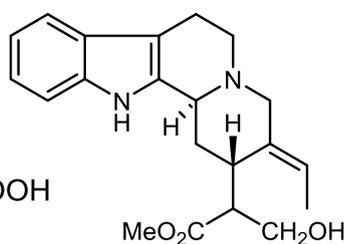


**283:**  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_3 = \text{COOH}$

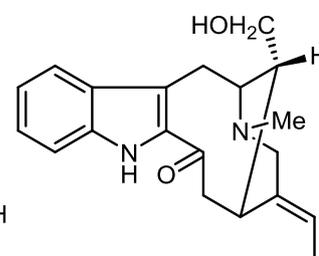
**284:**  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{COOH}$

**285:**  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_3 = \text{CO}_2\text{Me}$

**286:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{CH}_2\text{OH}$



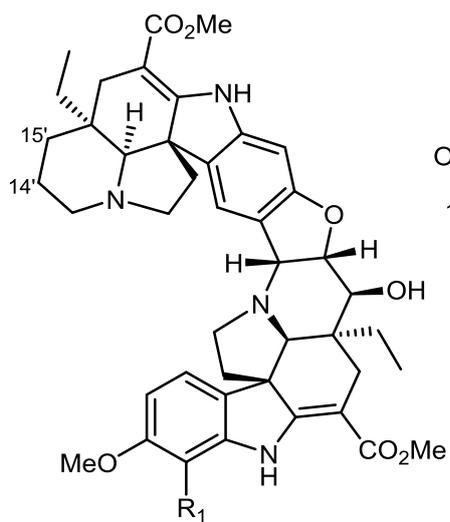
**287**



**288**

### 1.8.6.2. Bisindoles isolés des plantes du genre *Tabernaemontana*

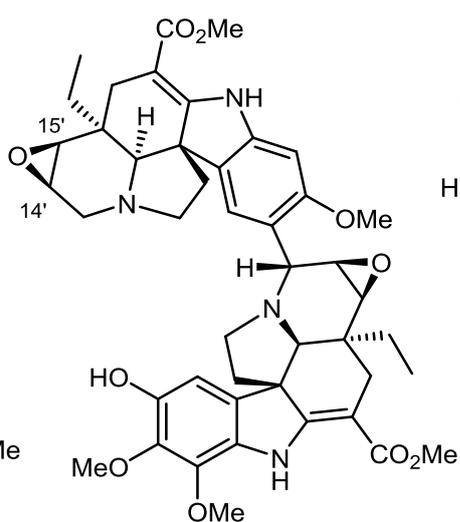
Plusieurs bisindoles ont été isolés des plantes du genre *Tabernaemontana* ainsi, Mansoor et al (2013) ont isolé des racines de *T. elegans* les bisindoles tels la tabernaeelegantine C (**289**) et la tabernaeelegantinine B (**290**). Par ailleurs, Zhang et collaborateurs (2018) ont isolé des branches et feuilles de *T. corymbosa* neuf bisindoles nommés taberyunines A-I (**291-299**)



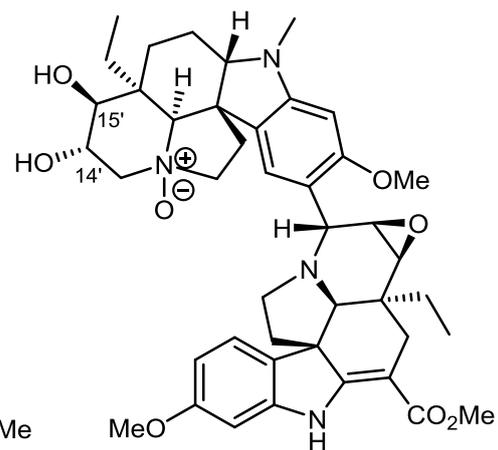
**291:** R<sub>1</sub> = H 14',15'-β-expoxy

**292:** R<sub>1</sub> = H Δ<sup>14',15'</sup>

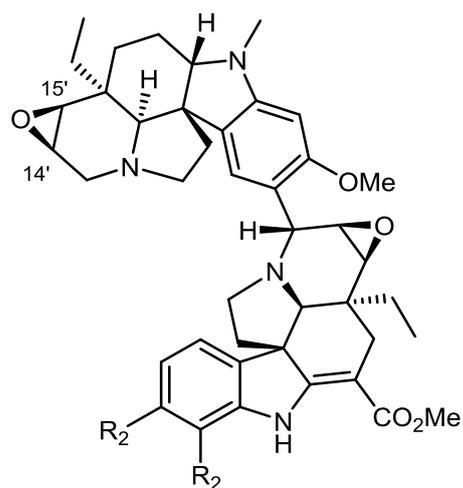
**293:** R<sub>1</sub> = OH 14',15'-β-expoxy



**294**

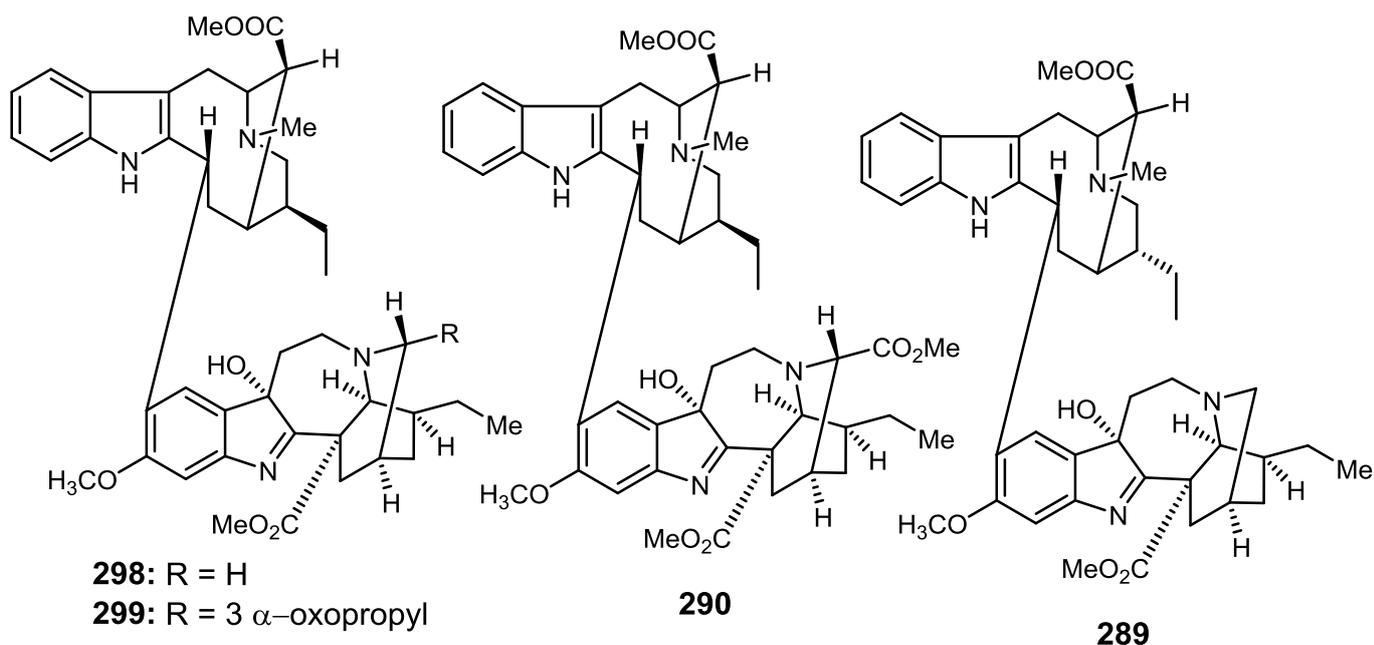


**297**



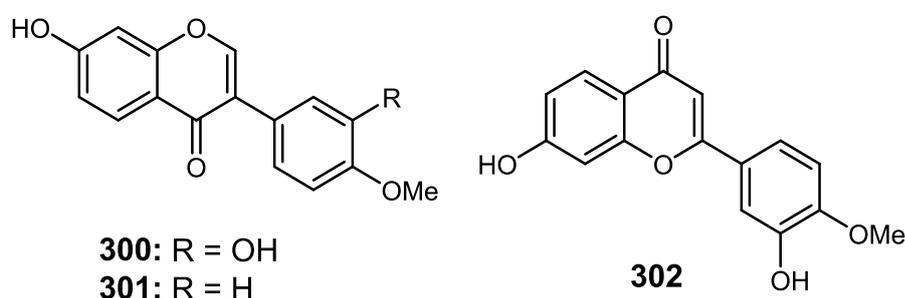
**295:** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OMe

**296:** R<sub>1</sub> = OMe, R<sub>2</sub> = OMe



### 1.8.6.3. Flavonoïdes isolés des plantes du genre *Tabernaemontana*

En 2006, Liang et collaborateurs ont isolé des racines et du tronc de *T. divaricata* les flavonoïdes tels la calycosine (**300**), la formonontine (**301**) et la farnisine (**302**).



Cependant, il est important de relever que plusieurs triterpènes, stéroïdes, et composés phénoliques ont déjà été isolés et caractérisés des plantes du genre *Tabernaemontana* (Van Beek et *al.*, 1984). Certains de ces composés ainsi que leurs extraits bruts présentent des activités antioxydantes, anti inflammatoires, antimicrobiennes, antitumorales, antimycobacteriennes, anti-hypertensives, antiplasmodiales et cytotoxiques (Van Beek et *al.*, 1984 ; Oliveira et *al.*, 2007 ; Cantrell et *al.*, 2001 ; Ndongo et *al.*, 2017) .

## 1.9. Activités biologiques des plantes du genre *Tabernaemontana*

### 1.9.1. Activités antioxydantes

La capacité antioxydante dépend de plusieurs facteurs, tels que la vitesse de réaction entre l'échantillon et les espèces réactives et le rapport de concentration entre l'antioxydant et la cible. Magalhães et ses collaborateurs (2008) ont passé en revue les méthodes les plus couramment

utilisées pour la détermination *in vitro* de l'activité antioxydante et ont montré qu'elles diffèrent les unes des autres en ce qui concerne les conditions et mécanismes de réaction, l'oxydant et les espèces cibles/sondes, et la forme sous laquelle les résultats sont exprimés. (Magalhães et al., 2008). L'espèce *Tabernaemontana* a été évaluée par plusieurs méthodes utilisant différents mécanismes tels que l'inhibition de la capacité de génération et de piégeage contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les espèces réactives de l'azote (RNS), la capacité réductrice et la capacité de chélation des métaux. Par conséquent, étant donné que la capacité antioxydante des extraits bruts, des fractions et des composés isolés des espèces de *Tabernaemontana* a été évaluée par plusieurs méthodes, il est presque impossible de comparer les résultats rapportés. De plus, certains échantillons ont été testés à l'aide d'une seule méthode, par exemple l'activité de piégeage des radicaux DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), et il a été démontré qu'ils ne présentaient pas de capacité antioxydante. Cependant, de tels résultats ne peuvent pas être considérés comme concluants pour cette activité, compte tenu de l'éventail des mécanismes impliqués dans le processus d'oxydation.

*Tabernaemontana catharinensis* est l'une des espèces de *Tabernaemontana* les plus étudiées. Des extraits d'éthanol de racines, de fractions alcaloïdes et non alcaloïdes, ainsi que les composés isolés voacangine (**269**) et voacristine hydroxy indolénine (**321**) ont été évalués pour leurs activités antiradicalaires par la méthode DPPH. L'acide ascorbique et la 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique (TROLOX) ont été utilisés comme témoins positifs, à des  $CI_{50}$  égales à 42,0 et 2,6 mg/mL, respectivement. Compte tenu des valeurs  $CI_{50}$  (mg/mL), la fraction alcaloïde était la plus active (60,0 mg/mL), suivie par 1a (70,0 mg/mL) et la fraction non alcaloïde (80,0 mg/mL). L'extrait à l'éthanol était le moins actif (100,0 mg/mL) (Santos et al., 2009)

Plusieurs extraits de racines, de tiges et de feuilles de *T. corymbosa* ont été testés pour leurs activités antioxydantes en utilisant des méthodes de DPPH, de chélation des métaux et de puissance réductrice. Les résultats ont montré que seul l'extrait au méthanol des feuilles, des tiges et des racines présentait une activité antioxydante *in vitro* par DPPH et chélation des métaux (Zulkefli et al., 2013) et était étroitement lié au contenu phénolique total dans l'ordre feuilles > racines > tiges. Des extraits à l'éthanol de *T. markgrafiana* et *T. sananho* (100,0 mg/mL) ont été évalués pour leur capacité à inhiber la peroxydation lipidique non enzymatique dans des microsomes hépatiques de rats stimulés par l'ascorbate de  $FeCl_3$  avec le BHT comme contrôle (100,0% d'inhibition). *T. markgrafiana* a présenté une inhibition de 14,8 %, tandis que *T. sananho* n'a montré aucune activité. De plus, les deux extraits ont été étudiés à l'aide d'évaluations du piégeage des radicaux superoxydes et hydroxyles. *T. sananho* a montré une

inhibition de 12,0 % et *T. markgrafiana* a inhibé 6,3 % du superoxyde généré par un système d'hypoxanthinexanthine oxydase. De plus, alors que le mannitol (50 mM, utilisé comme contrôle positif) a inhibé 48,3 % des radicaux hydroxyles, *T. sananho* et *T. markgrafiana* ont montré une activité moins significative (respectivement 7,4 % et 3,6 % d'inhibition) (De las Heras et *al.*, 1998)

### 1.9.2. Activités antitumorales et cytotoxiques

La multirésistance aux médicaments (MDR) constitue un obstacle majeur à la chimiothérapie anticancéreuse et est favorisée par l'efflux de médicaments des cellules tumorales par la glycoprotéine P (P-gp), entraînant ainsi une efficacité réduite de la chimiothérapie. Certaines substances, telles que le vérapamil<sup>®</sup> ou la cyclosporine<sup>®</sup>, ont été utilisées pour surmonter la MDR. Ces agents modulateurs de la P-gp n'ont pas montré de promesse significative dans la pratique clinique (Meschini et *al.*, 2003), donc l'identification de nouveaux composés avec peu d'effets secondaires indésirables est hautement souhaitable. Les alcaloïdes indoliques, dont plusieurs sont isolés des espèces de *Tabernaemontana*, sont des candidats potentiels comme modulateurs pour le contournement de la MDR (Kam et *al.*, 2004). La voacangine (**269**), par exemple, présente une activité antiangiogénique *in vitro* en supprimant la formation de tubes et la chimioinvasion induite par le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF). De plus, le composé peut inhiber l'angiogenèse *in vivo* dans la membrane chorioallantoïque à des doses non toxiques et diminuer l'expression du facteur inductible par l'hypoxie et de son gène cible, le VEGF, de manière dose-dépendante (Kim et *al.*, 2011). Par conséquent, de 1998 à 2015, plusieurs extraits, fractions et composés isolés de *Tabernaemontana* ont été évalués pour déterminer leurs effets sur la croissance cellulaire, et certains se sont avérés inverser ou inhiber la MDR. L'extrait brut du mélange chloroforme/méthanol des tiges de *T. angulata* a été évalué dans MCF-7 (adénocarcinome du sein humain), PC-3 (cancer de la prostate humaine), NCI-H460 (cancer du poumon humain), KM-12 (cancer du côlon humain), SF Lignées cellulaires - 268 (glioblastome humain) et RPMI-8226 (myélome) à des doses de 100 mg/mL. L'extrait a montré des effets cytotoxiques uniquement dans les cellules NCI-H460 et SF-268 (Assis et *al.*, 2009). De plus, l'extrait brut aqueux et les fractions d'écorce de tige de *T. alternifolia* ont été testés et n'ont pas montré de cytotoxicité significative dans les lignées cellulaires Vero (normales) (2 à 4 mg/mL) après 24 h d'incubation (Marathe et *al.*, 2013). L'extrait à l'éthanol de feuilles de *Tabernaemontana pandacaqui* a été évalué dans le carcinome primitif des cellules rénales humaines (786-O), l'adénocarcinome du colon grade II (HT-29), le carcinome de

l'ovaire (OVCAR-3), le mélanome (SK-MeI-28), le glioblastome (SNB-19), les lignées cellulaires MCF-7, PC-3 et A549.

L'extrait a montré une activité dans les cellules A549 ( $CI_{50} = 13,4$  mg/mL) et 786-O ( $CI_{50} = 4,6$  mg/mL) (Bradacs et al., 2010).

La voacangine (**269**) et l'isovoacangine (**270**), isolées de l'écorce de racine de *T. salzmannii*, ont été testées contre des cellules THP-1. Les alcaloïdes **269** ( $CI_{50} = 38,3$  mM) et **270** ( $CI_{50} = 54,5$  mM) ont montré une activité plus élevée que le sulfate de vincristine ( $CI_{50} > 100$  mM), utilisé comme contrôle positif (Figueiredo et al., 2010).

### 1.9.3. Activité antimicrobienne

La réponse de l'activité antimicrobienne dépend de la souche microbienne, de la méthode (test *in vivo* ou *in vitro*) et de l'échantillon testé. Des extraits, des fractions et des composés isolés des espèces de *Tabernaemontana* ont été évalués pour leur capacité à inhiber la croissance des micro-organismes. Compte tenu du nombre de méthodes et de souches *in vitro* décrites, une comparaison de l'activité de l'échantillon n'est souvent pas possible. Par conséquent, les données de la littérature pour la période 1984-2015 sont présentées avec une discussion limitée sur les résultats. Il a été démontré que les alcaloïdes dimères du type voacamine et les alcaloïdes 3-hydroxy-iboga possèdent une activité antimicrobienne (Van Beek et al., 1984 ; Van Beek et al., 1985 ; Delorenzi et al., 2002). Considérant que plusieurs espèces de *Tabernaemontana* contiennent ces types d'alcaloïdes, l'apparition d'une activité antimicrobienne dans ce genre peut être au moins en partie expliquée.

Des extraits de diverses parties de *T. dichotoma* ont montré une activité contre plusieurs souches bactériennes. Différents extraits aqueux et éthanoliques acides ont été testés contre *B. subtilis* (ATCC 6633), *S. aureus* (ATCC 6538), *P. aeruginosa* (ATCC 9027) et *E. coli* (ATCC 8739) à une concentration de 5 mg/mL. Des extraits d'écorce de racines fraîches et séchées, d'écorce de tiges fraîches et séchées, de feuilles séchées et de fruits frais étaient actifs contre *B. subtilis* et *S. aureus*. Des extraits aqueux et à l'éthanol d'écorce de racines fraîches et d'écorce de tiges fraîches, des extraits aqueux de fruits frais, un extrait à l'éthanol d'écorce de racines et de tiges séchées et des feuilles fraîches séchées étaient actifs contre *E. coli*. Aucun extrait n'était actif contre *P. aeruginosa* (Perera et al., 1984). L'extrait aqueux brut d'écorce de tige de *T. alternifolia* a montré une activité antibactérienne contre les micro-organismes à Gram positif, en particulier contre les isolats cliniques de *S. aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) et de *S. aureus* résistant à la vancomycine (VRSA). La CMI de l'extrait contre ces isolats allait de 600 à 800 mg/mL, tandis que la ciprofloxacine® présentait une valeur de CMI de 0,1 à 2,0

mg/mL. En revanche, le même extrait n'a pas montré d'activité contre les souches Gram-négatif. Les extraits d'éther aqueux et de pétrole et d'acétate d'éthyle des écorces de tiges de la même espèce ont été évalués contre *B. subtilis* (ATCC 6633), *S. aureus* (ATCC 6538P), *S. epidermidis* (ATCC 12228), *E. coli* (ATCC 8739), *S. aureus* (ATCC 43300) et 14 souches cliniques Gram-positif et Gram-négatif identifiées comme *Pseudomonas aeruginosa* (DMH 1), *S. aureus* (DMH 2–DMH 8 et DMH 10–DMH 14) et *E. coli* (DMH 9). Chaque souche clinique était résistante à au moins quatre antibiotiques différents. De plus, les extraits présentaient une faible activité antibactérienne contre les organismes Gram-positifs mais étaient inactifs contre les organismes Gram-négatifs (Marathe et al., 2013), tandis que l'extrait méthanolique de racines (1,0 mg/mL) s'est avéré actif contre *B. flexus*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Proteus aureus* et *E. coli*, en comparaison avec un antibiotique à la même concentration (Shrikanth et al., 2015)

#### 1.9.4. Activités antiparasitaires

Le paludisme et la maladie de Chagas représentent une menace mondiale pour la santé publique. Certaines espèces de *Tabernaemontana* jouent un rôle important en ethnomédecine en tant que remèdes contre le paludisme. Ces espèces semblent potentiellement intéressantes comme sources de nouveaux médicaments pour cibler cette maladie, ainsi que d'autres comme la leishmaniose, qui ont des effets dévastateurs dans certains pays en développement. L'extrait brut et les fractions alcaloïdes de l'écorce de racine de *T. catharinensis* ont été testés in vitro contre les formes trypomastigotes de *Trypanosoma cruzi*, en comparaison avec le cristal violet (comme témoin positif ;  $CL_{50} = 32$  mg/mL). La heyneanine (**272**) et la 12-méthoxy-Nb-méthylvoachalotine (**285**) ont montré une faible activité (valeurs  $CL_{50}$  de 890,89 et 356,73 mg/mL, respectivement) contre les formes trypomastigotes de *T. cruzi* (Van Beek et al., 1984 ; Pereira et al., 1999). Des extraits de feuilles (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et méthanol) de *T. elegans* ont été évalués pour leurs activités antipaludiques potentielles contre la souche *Plasmodium falciparum* 3D7, avec des extraits d'hexane et de dichlorométhane montrant une activité ( $CI_{50}$  de 59,0 et 26,9 mg/mL, respectivement) (Ramalhete et al., 2008). Les extraits au dichlorométhane et au méthanol de l'écorce de tige ont montré une activité antiplasmodiale significative contre *P. falciparum* NF54, une souche résistante à la chloroquine<sup>®</sup>, et n'ont pas montré de toxicité dans les cellules L6 du myoblaste squelettique du rat. Les extraits ont inhibé la croissance plasmodiale avec des valeurs  $CI_{50}$  de 0,3 et 0,8 mg/mL, respectivement (Bapela et al., 2014). Les extraits alcaloïdiques des écorces de tiges et de racines de *T. hystrix* ont montré une activité contre deux souches de *P. falciparum*. Pour la souche D6, la valeur  $CI_{50}$  de l'écorce de tige était de 495,0 ng/mL et pour la souche W2 résistante à la chloroquine<sup>®</sup>, la valeur était

de 817,0 ng/mL. L'extrait d'écorce de racines a montré une activité plus élevée (valeurs  $CI_{50}$  de 179,0 et 282,0 ng/mL pour les souches D6 et W2, respectivement). Parmi les alcaloïdes isolés, la voacamine présentait l'activité la plus élevée (valeurs  $CI_{50}$  de 238,0 et 298,0 ng/mL pour les souches D6 et W2, respectivement). Ces résultats sont à noter, compte tenu de l'utilisation de cette plante comme remède antipaludique en médecine populaire (Federici et al., 2000). Les extraits aqueux et méthanoliques de fruits et de feuilles de *T. pachysiphon* ont également été évalués dans les souches D6 et W2 de *P. falciparum*, en comparaison avec le phosphate de chloroquine ( $CI_{50} = 8,7$  ng/mL) et l'artémisinine ( $CI_{50} = 0,9$  ng/mL). Tous les extraits ont montré une activité antiplasmodiale, et les extraits les plus actifs dans la souche *P. falciparum* D6 étaient les extraits aqueux et méthanoliques de fruits ( $CI_{50} = 4,8$  et  $3,9$  mg/mL, respectivement). L'activité la plus élevée dans la souche *P. falciparum* W2 a été montrée par l'extrait aqueux de fruits ( $CI_{50} = 4,4$  mg/mL) (Muthaura et al., 2015). Les extraits à l'éthanol d'écorce de racine et de tige de la même espèce ont également montré une activité antiamibienne contre *Entamoeba histolytica* (Uwumarongie et al., 2011). L'extrait de dichlorométhane de feuilles de *T. pandacaqui* a montré une forte activité contre la souche *T. cruzi* ( $CL_{50} = 1,5$  mg/mL, en comparaison avec le benznidazole,  $CL_{50} = 2,0$  mg/mL) (Bradacs et al., 2010), tandis que les alcaloïdes et des extraits d'acétate d'éthyle d'écorce de tige de *T. rupicola* ont montré une activité *in vitro* dans la souche FcB1 de *P. falciparum* résistante à la chloroquine ( $CI_{50} = 1,6$  et  $6,5$  mg/mL, respectivement) (Girardot et al., 2011). Dans un criblage d'espèces végétales traditionnellement utilisées par les Chayahuitas pour traiter la leishmaniose, un extrait éthanolique de racine de *T. sananho* a été testé *in vitro* contre *L. amazonensis* et s'est avéré actif à  $DL_{50} = 58$  mg/mL (Estevez et al., 2007). Un extrait au méthanol (100 mg/mL) de feuilles de *Tabernaemontana undulata* a été examiné pour l'activité antipaludique *in vitro* en utilisant deux clones de *P. falciparum*, pour l'activité leishmanicide contre les formes amastigotes de *L. (V.) panamensis*, et pour l'activité trypanocide contre les épimastigotes de *T. cruzi*. Les résultats ont montré que *T. undulata* était actif contre *L. (V.) panamensis* et *P. falciparum*; cependant, l'extrait était inactif contre *T. cruzi* (Weniger et al., 2001).

## **1 .10. Généralités sur l'espèce *Tabernaemontana penduliflora* K.Schum**

### **1 .10.1. Introduction**

*T. penduliflora* est une plante de la famille des Apocynaceae. Elle est formellement connue comme étant *Conopharyngia penduliflora* (K. Schum) Stapf et est largement utilisé en Afrique subsaharienne par les autochtones comme médicament (Neuwinger, 2000). C'est un arbuste de 6-7 m de hauteur classé comme arbre de sous-étage dans les forêts tropicales. On le trouve

dans les forêts du Sud du Nigéria, du Sud Cameroun et en République Démocratique du Congo (Hutchinson et Dalziel, 1948). Au Cameroun elle est connue sous le nom de « Etoé » en Ewondo et dégage un jus laiteux de toutes les parties lorsqu'elle est coupée (Poisson et *al.*, 1967).

### 1.10.2. Classification botanique

**Règne :** Plantae

**Sous-règne :** Tracheobionta

**Division :** Magnoliophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Sous-classe :** Asteridae

**Ordre :** Gentianales

**Famille :** Apocynaceae

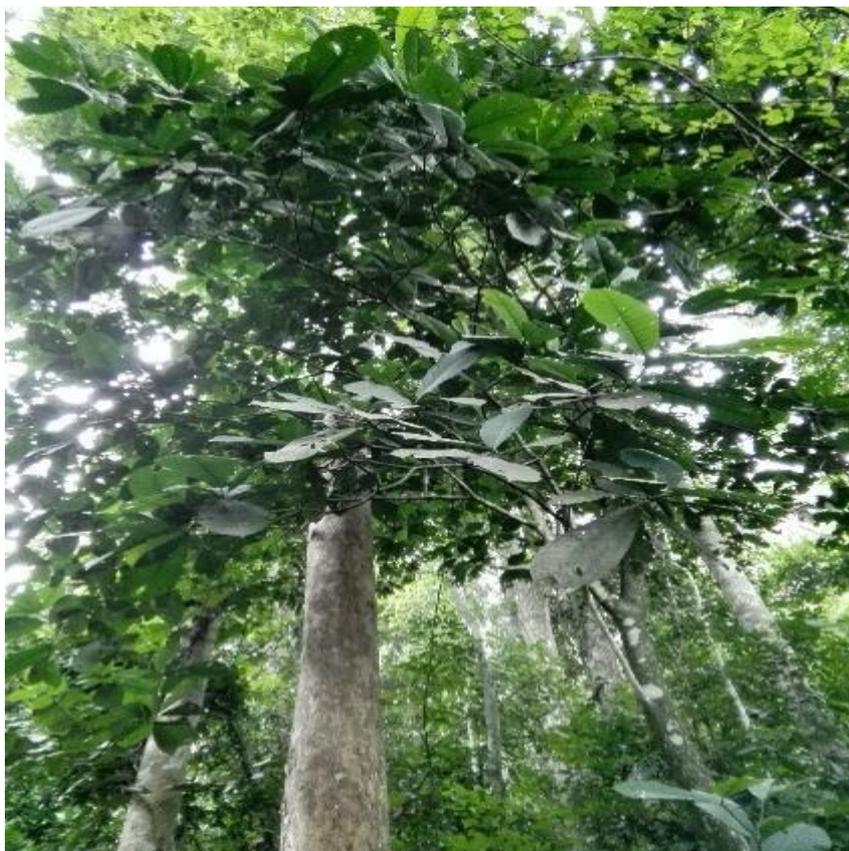
**Genre :** *Tabernaemontana*

**Espèce :** *Tabernaemontana penduliflora* K.Schum

**Figure 17. Systématique de *Tabernaemontana penduliflora* K. Schum (Hepper, 1962).**

### 1.10.3. Description botanique de *Tabernaemontana penduliflora* K. Schum

L'espèce *T. penduliflora* encore appelée *Camerunia penduliflora* K. Schum (Boiteau) est un arbuste ou petit arbre glabre atteignant généralement 8 m de haut. Elle recoltée dans la nature pour une utilisation locale comme médicament et source de bois et de fibres (Poisson et *al.*, 1967).



**Figure 18. Arbuste de *Tabernaemontana penduliflora* K. Schum (Photo prise par Bitombo, 03/06/2018)**

Les fleurs sont blanches, verdâtres ou roses en inflorescences sessiles et subumbellées en haute forêt (Poisson et *al.*, 1967).



**Figure 19. Fleurs de *Tabernaemontana penduliflora* K. Schum (Photo prise par Bitombo, 03/06/2018)**

#### **1.10.4. Distribution géographique de *Tabernaemontana penduliflora* K. Schum**

L'espèce *T. penduliflora* est retrouvée à l'ouest du Nigéria, au Gabon, en RD Congo, en République Centrafricaine et au Cameroun (Patel et *al.*, 1967). Au Cameroun, elle est présente

dans les régions du Centre, de l'Est, de l'Ouest et du Sud plus précisément dans la localité de *Nkoemvone*.

#### **1.10.5. Usages ethnopharmacologiques de *Tabernaemontana penduliflora* K. Schum**

*T. penduliflora* est une plante utilisée en médecine indigène pour soigner diverses affections et maladies infectieuses (Van Beek et al., 1984). L'une des utilisations la plus intéressantes concerne le latex pour la cicatrisation des plaies et pour le traitement des yeux endoloris. De plus la décoction des racines est efficace contre les maux d'estomac, la constipation, les flatulences, les maux de tête et comme hypnotique (Van Beek et al., 1984). Au Nigéria, les feuilles de *T. penduliflora* sont utilisées comme sédatif utérin (Dalziel, 1948 ; Hutchinson et Dalziel, 1948). Les racines de *T. penduliflora* sont utilisées pour traiter le paludisme (Titanji et al., 2008).

#### **1.10.6. Etudes phytochimiques antérieures sur *Tabernaemontana penduliflora* K. Schum**

A notre connaissance, seules les écorces des tiges et les graines ont jusqu'alors déjà fait l'objet d'une étude phytochimique. Ainsi des graines de *T. penduliflora*, a été isolé la coronaridine (**266**) (Ambujam et Parimo, 1985).

Masuda et collaborateurs (**2000**) ont isolé des écorces des tiges de cette plante, la 10-hydroxycoronaridine (**303**), l'heyneamine (**272**), la voacangine (**269**) et la coronaridine (**266**)

#### **1.10.7. Activités biologiques des composés isolés de *Tabernaemontana penduliflora* K. Schum**

Les études biologiques ont montré que les extraits à l'éthanol des écorces des racines et des écorces des tiges de *T. penduliflora* avaient une bonne activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram-positif. En outre, divers extraits de cette plante ont montré une activité significative contre la poliomyélite et le virus de l'herpès simplex (Van Beek et al., 1984).

En 2000, Masuda et collaborateurs ont montré que la 10-hydroxycoronaridine (**303**), l'heyneamine (**272**), la voacangine (**269**) et la coronaridine (**266**) ont potentiellement des effets préventifs bénéfiques chez les femmes contre les attaques cardiaques et autres problèmes cardiovasculaires, l'ostéoporose et peut être la maladie d'Alzheimer (Masuda et al., 2000).

## **CHAPITRE 2 : RESULTATS ET DISCUSSION**

## **PARTIE A : ETUDES PHYTOCHIMIQUES**

### **2.1. Investigation phytochimique des écorces du tronc de *Rauvolfia caffra* et des tiges de *Tabernaemontana penduliflora***

#### **2.1.1. Introduction**

*R. caffra* et *T. penduliflora* ont particulièrement retenu notre attention et ont été sélectionnées pour être soumises à une investigation phytochimique approfondie. Ce choix a été motivé par les critères ci-après :

- *R. caffra* et *T. penduliflora* sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies à l'instar du paludisme (Titanji et *al.*, 2008 ; Tlhapi et *al.*, 2018). Il s'agit là d'un critère important puisque les plantes très prisées des guérisseurs contiennent souvent des composés biologiquement actifs ;
- Ces plantes appartiennent à la famille des Apocynaceae très riche en alcaloïdes notamment les alcaloïdes indolomoterpéniques et les bisindoles reconnus pour les activités : antimicrobiennes, antitumorales, antiplasmodiale et cytotoxiques (Van Beek et *al.*, 1984 ; Oliveira et *al.*, 2007 ; Cantrell et *al.*, 2001 ; Ndongo et *al.*, 2017). Nous avons ainsi plus de chance de trouver des substances intéressantes, tant du point de vue chimique que biologique.
- Bien que ces plantes aient déjà fait l'objet d'investigations phytochimiques, il n'existe aucun travail relatant les propriétés anticancéreuses, antiplasmodiale et cytotoxique de leurs constituants ce qui pourrait constituer un intérêt.

#### **2.1.2. Screening chimique des extraits des écorces du tronc de *Rauvolfia caffra* et des tiges de *Tabernaemontana penduliflora***

L'extrait brut au méthanol des écorces du tronc de *Rauvolfia caffra* et l'extrait brut à l'éthanol des tiges de *Tabernaemontana penduliflora* ont été soumis à différents tests chimiques afin d'en déterminer leurs éventuelles compositions. Ce criblage chimique a permis de mettre en évidence la présence d'alcaloïdes (Dragendorff, coloration orange), de saponines, de triterpènes, de stéroïdes (Liebermann Burchard; CHCl<sub>3</sub>, Ac<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc.), de flavonoïdes (Shinoda; MeOH, Mg, HCl conc), de phénols et de tannins dans les extraits étudiés. Les résultats du screening chimique sont présentés dans le Tableau 3.

**Tableau 3: Resultats du screening chimique effectué sur les extraits au methanol de *R. caffra* et à l'éthanol de *T. penduliflora***

Métabolites secondaires	Tests	Resultats de <i>R. caffra</i>	Resultats <i>T. penduliflora</i>
Alcaloïdes	<b>DRAGGENDORF</b> (HCl, réactif de Draggendorf)	(++)	(++)
Saponines	<b>KOMAROWSKY</b> A (hydroxybenzaldéhyde dans 2 % de MeOH) B (EtOH/H <sub>2</sub> O 1 :1) A + B (5 :1)	(+)	(-)
Triterpènes et Steroïdes	<b>LIEBERMANN-BURCHARD</b> (CHCl <sub>3</sub> , Ac <sub>2</sub> O, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> conc)	(++)	(+)
Flavonoïdes	<b>SHINODA</b> (MeOH, Mg, HCl conc)	(+)	(-)
Phenols	(FeCl <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O) + (K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ])	(+)	(-)
Tannins	0,1% FeCl <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O	(+)	(+)

**Légende** : (+) Présence de la classe de composé; (++) Abondance de la classe de composé; (-) Absence de la classe de composé.

De ce tableau, il ressort que l'extrait brut des écorces du tronc de *R. caffra* contient les alcaloïdes, les triterpènes et stéroïdes en majorité. Ce qui est en accord avec les travaux de Nasser et son collaborateur Court (1982) ; (1984) ; ainsi que ceux d'Ebeh et collaborateurs (2017) qui ont démontré que *R. caffra* est très riche en alcaloïdes indoliques et triterpènes.

L'extrait brut à l'éthanol des tiges de *T. penduliflora* contient en majorité les alcaloïdes. Ce qui corrobore avec les resultats obtenus precedemment par Masuda et collaborateurs (2000), montrant que cette plante est riche en alcaloïdes.

Au terme de nos investigations, nous constatons que *R. caffra* n'a connu aucun travail relatant les propriétés antitumorales. Par ailleurs, il n'existe aucun travail relatant les propriétés antiplasmodiales de *T. penduliflora* à notre connaissance.

Pourtant, les extraits actifs de ces plantes contiennent des composés tels que: des alcaloïdes, des flavonoïdes, les phénols, des glycosides phénoliques simples ou des tanins.

Comme nous l'avons mentionné au screening chimique, il existe également de nombreuses publications sur les activités antimicrobiennes, antitumorales, et antiplasmodiales de ces familles des composés. Nous avons donc entrepris une investigation phytochimique approfondie sur *R. caffra* et *T. penduliflora* en vue de retrouver les composés responsables de ces activités.

### 2.1.3. Analyses UHPLC-HRMS des écorces du tronc de *Rauvolfia caffra* et des tiges de *Tabernaemontana penduliflora*

Dans le cadre de ce travail, les profils de métabolites des extraits à l'éthanol TMR (1 mg / mL) ont été acquis à l'aide d'un instrument UHPLC-DAD-CAD-LTQ Orbitrap XL (Thermo Fisher Scientific) équipé d'une source ionisation ESI à haute résolution. Après dilution de nos deux extraits dans l'éthanol, l'injection (4  $\mu$ L) de ces derniers et l'élution à polarité croissante au 0,1% HCOOH/H<sub>2</sub>O et 0,1% HCOOH/CH<sub>3</sub>CN, a permis d'obtenir différents profils UHPLC-HRMS en mode positif ci-dessous (Figs. 20 et 21).

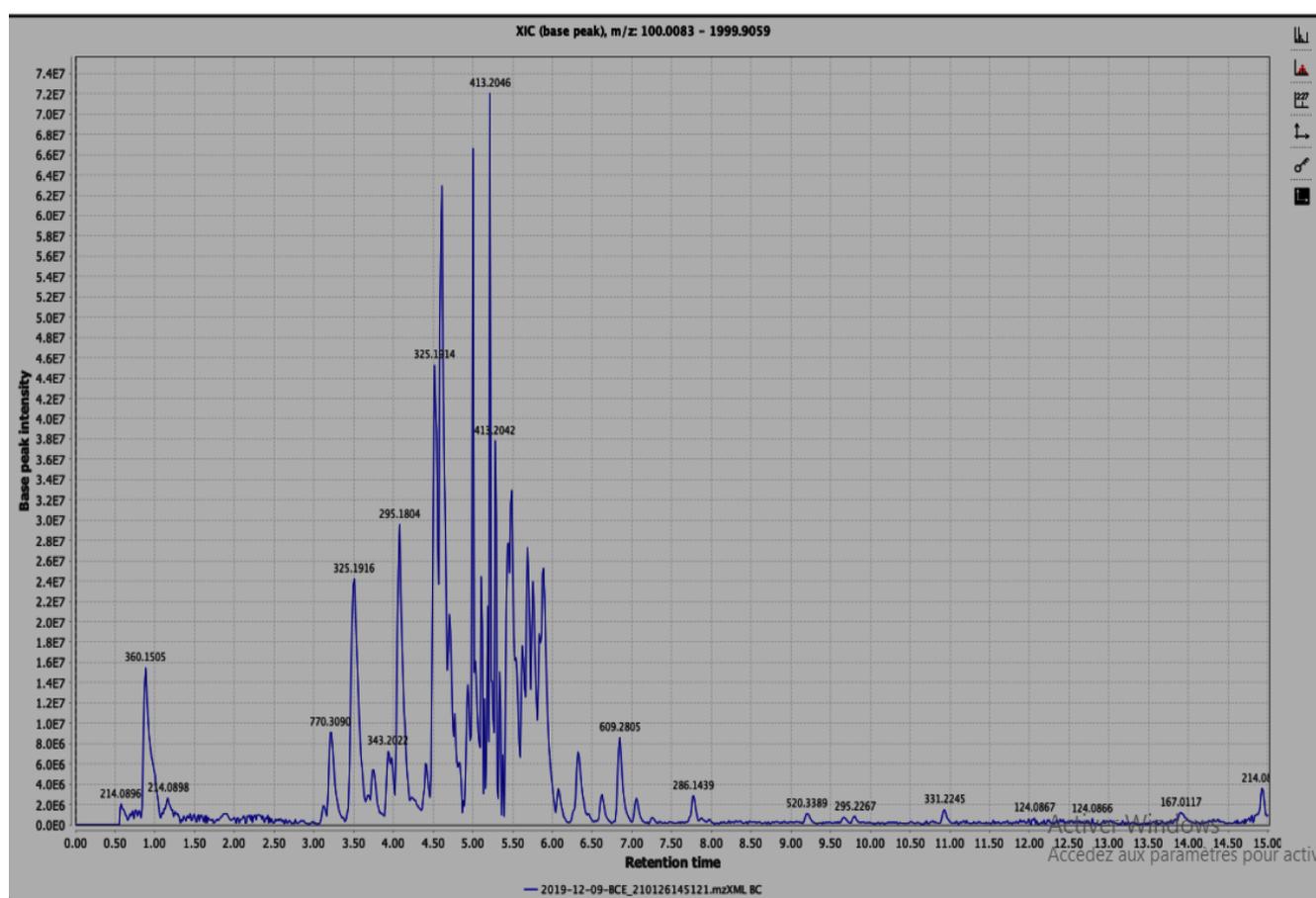
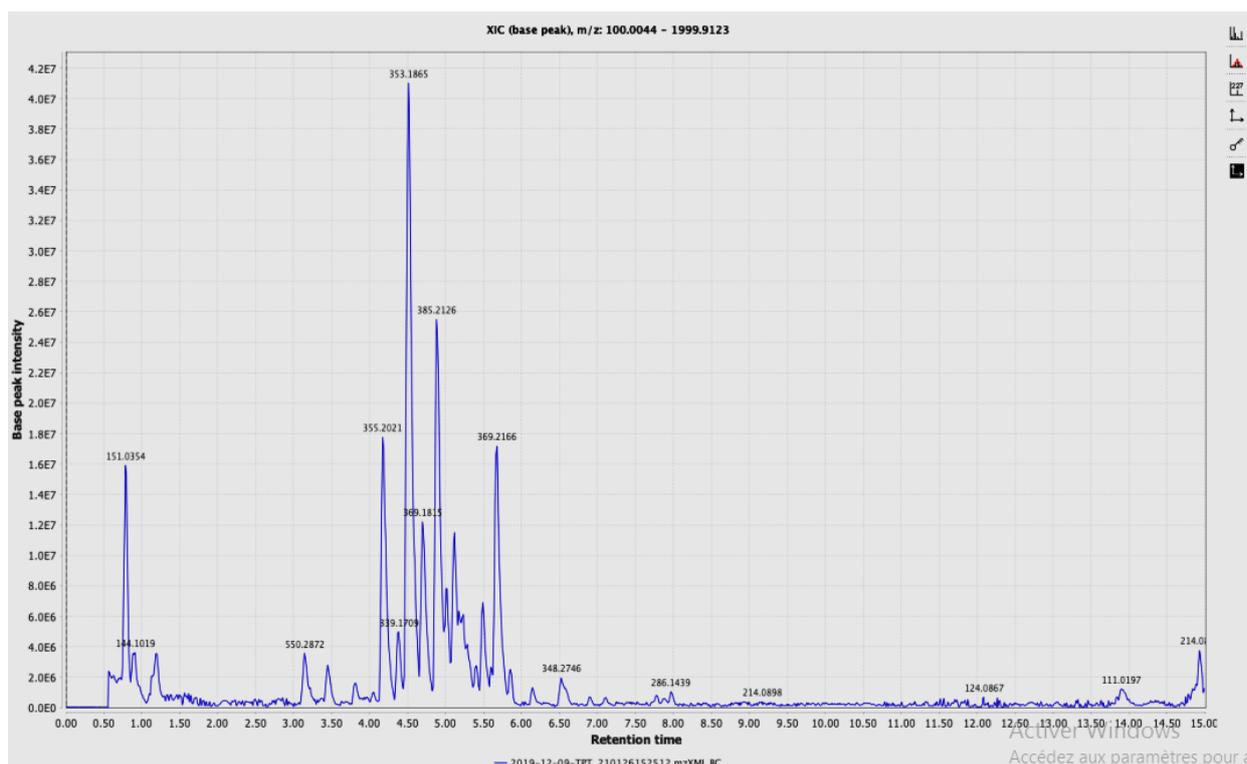


Figure 20. Profils LC-MS de l'extrait à l'éthanol de *R. caffra*



**Figure 21. Profils LC-MS de l'extrait à l'éthanol de *T. penduliflora***

Les chromatogrammes montrent trois pics majoritaires correspondant à des composés connus de *R. caffra* et quatre autres pics majoritaires également de *T. penduliflora* que nous n'avons pas pu identifier.

Il ressort de cette analyse que les composés d'intérêt et biomarqueurs ont été identifiés mais pas tous. En effet, pour certains métabolites à l'égard des protéines ou des peptides, la résolution de la LC-MS/MS pour sélectionner les ions d'intérêts et les séparer des interférents biologiques n'est pas suffisante ce qui en limite le niveau de détection (Sherman *et al.*, 2009). Vu l'intérêt que les extraits de ces plantes ont suscité lors du screening chimique, leur fractionnement et purification successives ont été entreprises. Ainsi, de l'extrait au méthanol des écorces du tronc de *R. caffra*, 20 composés **RC1-RC20** ont été isolés ; et de l'extrait à l'éthanol des tiges de *T. penduliflora*, 14 composés **TP1-TP14** ont également été isolés.

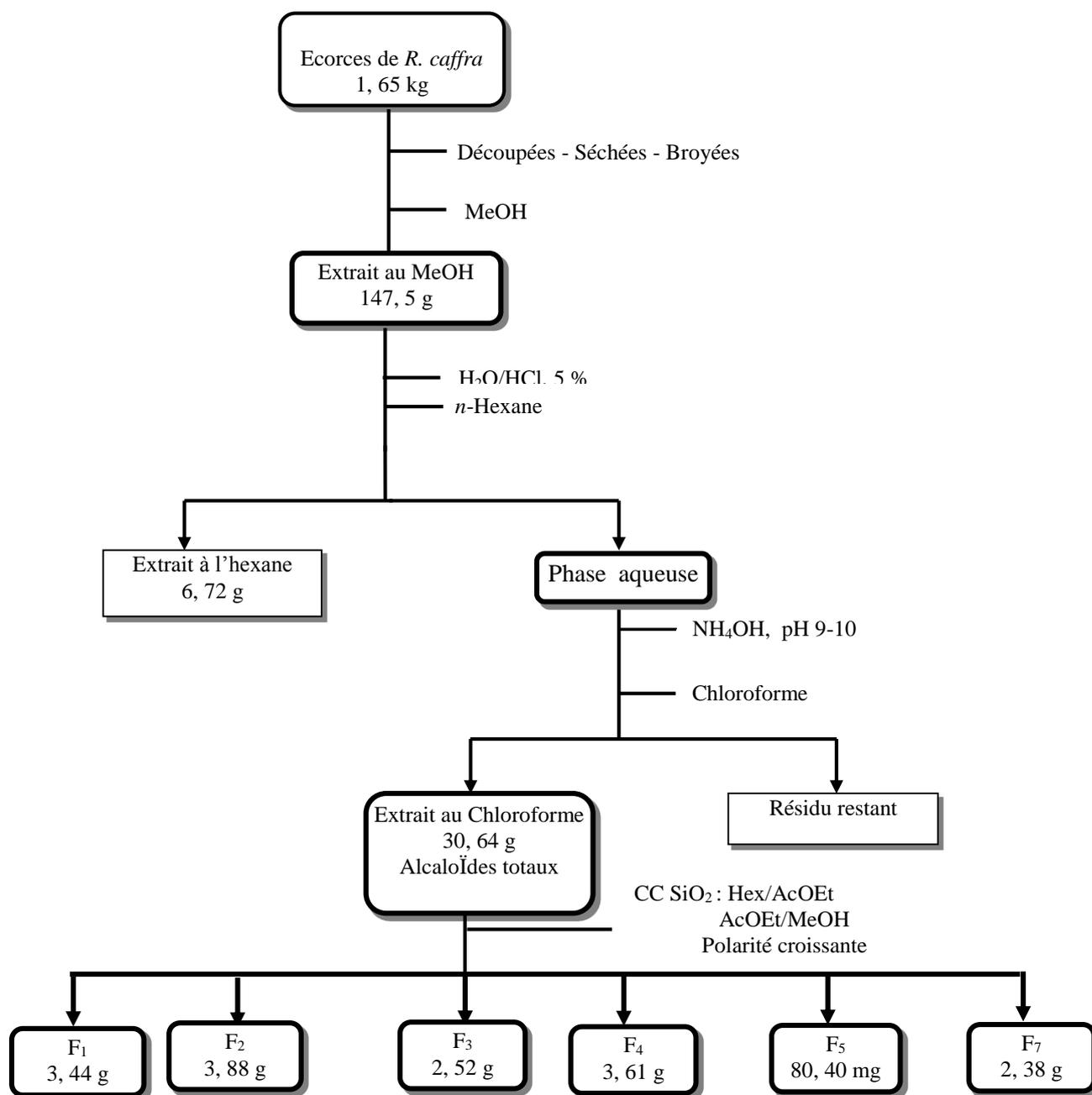
## 2.2. Etude phytochimique des écorces du tronc de *R. caffra*

### 2.2.1. Extraction et isolement des alcaloïdes

Les écorces du tronc de *Rauvolfia caffra* ont été séchées puis broyées pour donner une poudre de 1,65 kg. L'extraction a été faite à température ambiante en agitant le mélange pendant 48 heures environ, dans 7,5 L de méthanol. Après filtration, évaporation du solvant l'extrait brut (147,5 g) obtenu a été ensuite dissout partiellement dans l'eau acidifiée (300mL,

5%) puis basifiée ( $\text{NH}_4\text{OH}$  pH  $\approx$  9-10), enfin partitionné avec l'hexane et le chloroforme pour donner 35,6 g d'un extrait brut au chloroforme enrichi en alcaloïdes. 30,6 g de l'extrait alcaloïdique obtenu ont été soumis à des fractionnements par CC sur gel de silice (*n*-hexane / AcOEt / MeOH de polarité croissante) pour donner dix fractions (F1-F10) sur la base des profils obtenus par CCM. La fraction F<sub>1</sub> (3,44 g) a été soumise à une Chromatographie sur colonne sur gel de silice en éluant avec le système *n*-hexane / AcOEt et a conduit à l'isolement de trois composés indexés **RC2** (8,6 mg) **RC3** (6,4 mg) et **RC11** (5,3 mg). Par la suite, la fraction F<sub>2</sub> (3,88 g) obtenue à partir du regroupement de la série AcOEt / MeOH (v / v 100: 00 à 95: 5) a été soumise à une CC en utilisant  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  / MeOH (v / v 95: 5 à 70:30) pour donner quatre composés indexés **RC6** (5,4 mg), **RC10** (4,7 mg), **RC7** (4,2 mg) et **RC17** (7,3 mg).

La fraction F<sub>5</sub> (80,4 mg) a été séparée par CC répétitives sur Sephadex<sup>®</sup> LH-20 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  / MeOH (v / v 50: 50) et a conduit à l'isolement de deux composés indexés **RC4** (6,8 mg) et **RC8** (5,2 mg). De la fraction F<sub>3</sub> (2,52 g), obtenue à partir du regroupement de la série AcOEt / MeOH (v / v 25: 75), trois composés ont été isolés indexés **RC19** (4,7 mg), **RC20** (6,5 mg) et **RC1** (9,3 mg). La fraction F<sub>4</sub> (3,61 g) a été purifiée par CC sur gel de silice en éluant avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  / MeOH, (v / v 95: 5 à 60: 40) et a conduit à l'isolement de trois composés indexés **RC16** (4,4 mg), **RC18** (7,5 mg) et **RC15** (6,0 mg). F<sub>7</sub> (2,38 g) résultant du regroupement de la série de *n*-hexane / AcOEt (v / v 25: 75) a été chromatographiée par CC en utilisant  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  / MeOH (v / v 95: 5 à 70:30) pour donner cinq sous-fractions (F<sub>7a</sub> - F<sub>7e</sub>). La sous-fraction F<sub>7a</sub> (110,3 mg) a été appliquée à Sephadex<sup>®</sup> LH-20 CC avec MeOH pour donner les composés **RC9** (15,4 mg) et **RC5** (17,6 mg). La sous-fraction F<sub>7c</sub> (76,6 mg) a été purifiée par CC répétitive sur Sephadex LH-20 avec MeOH pour donner les composés **RC13** (9,3 mg) et **RC14** (7,2 mg). Le composé **RC12** (8,4 mg) a été isolé à partir de la sous-fraction F<sub>7d</sub> (23,5 mg) par CC successives sur Sephadex LH-20 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  / MeOH, v / v 50: 50). Un schéma d'extraction est présenté sur la figure 22 ci-dessus



**Figure 22.** Schéma d'extraction des alcaloïdes de l'extrait au MeOH des écorces de *R. caffra* et fractionnement

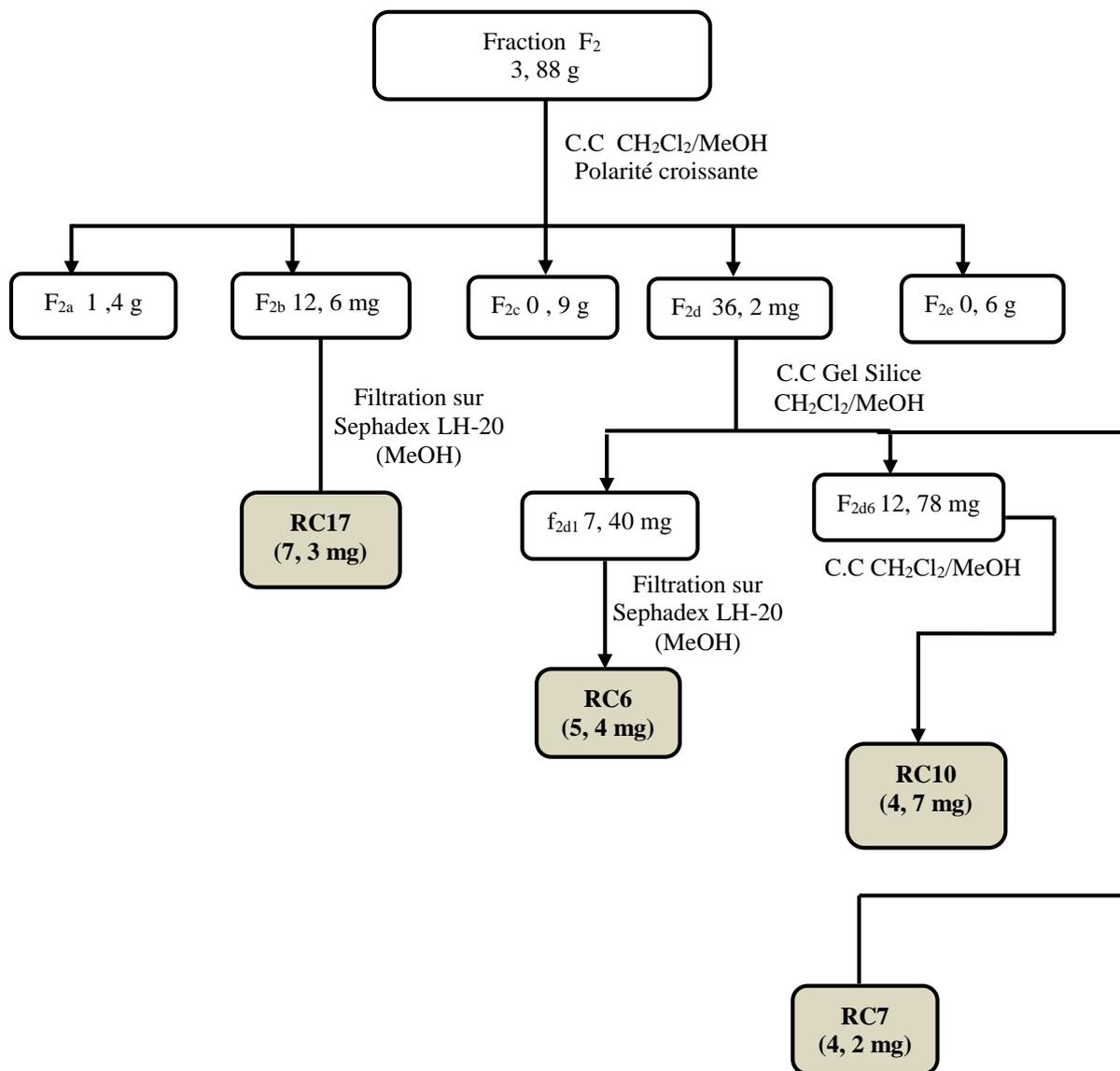


Figure 23. Schéma d'isolement des composés de la fraction F2

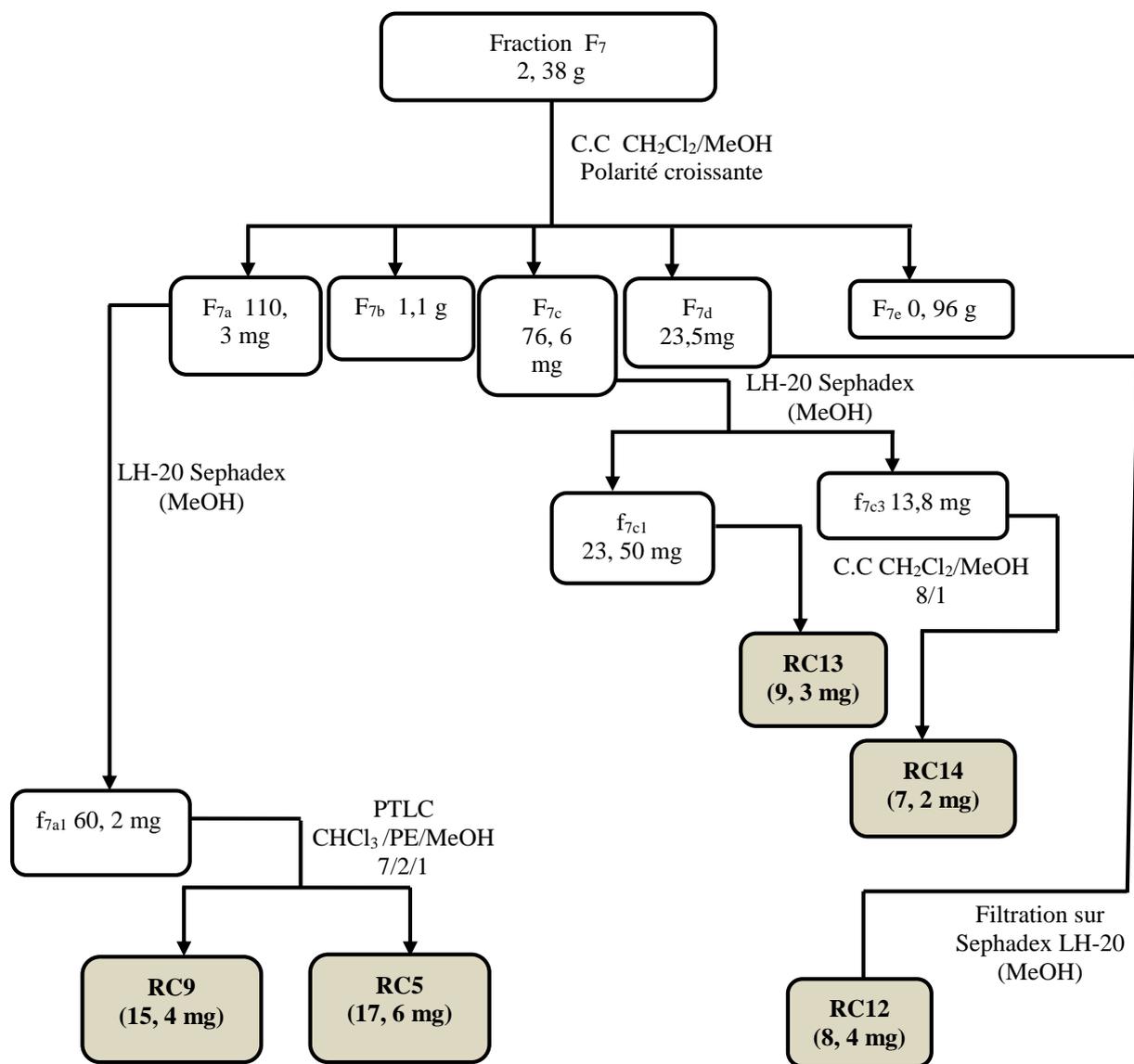


Figure 24. Schéma d'isolement des composés de la fraction F7

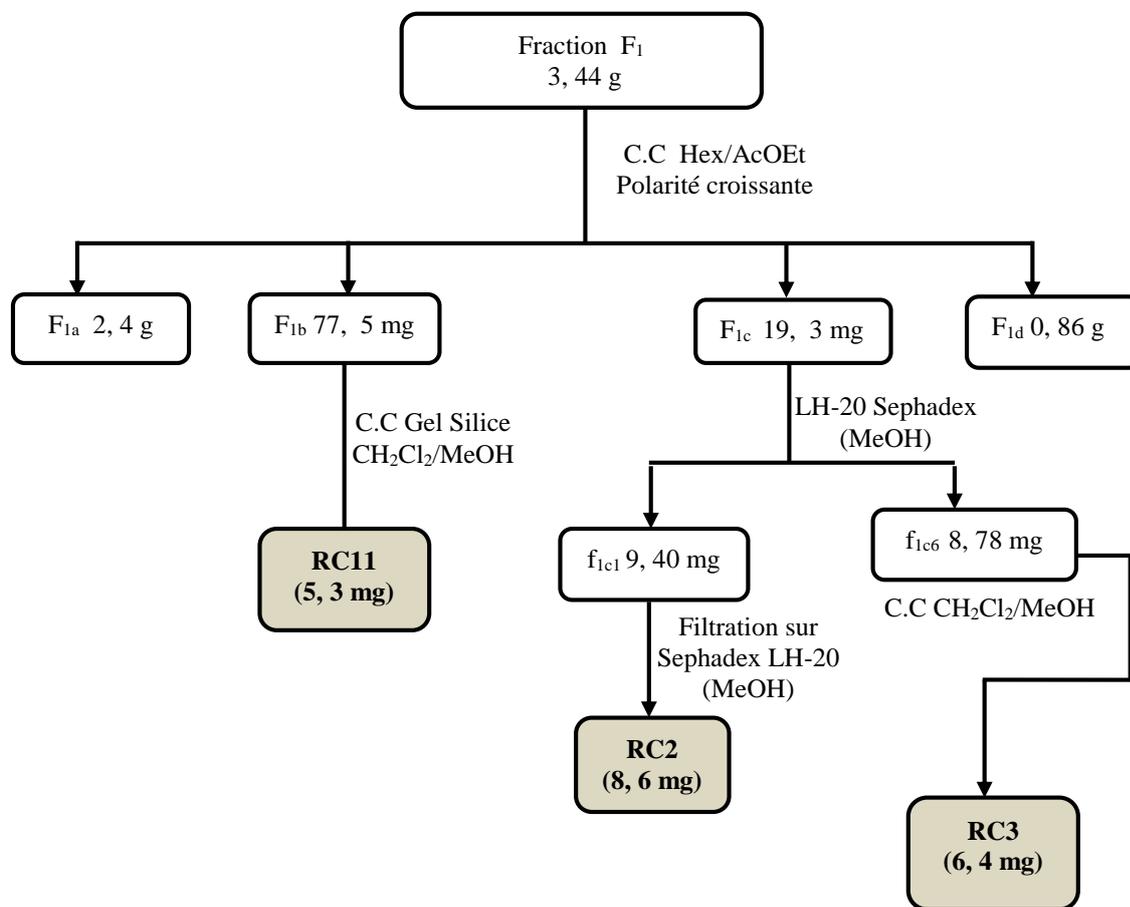
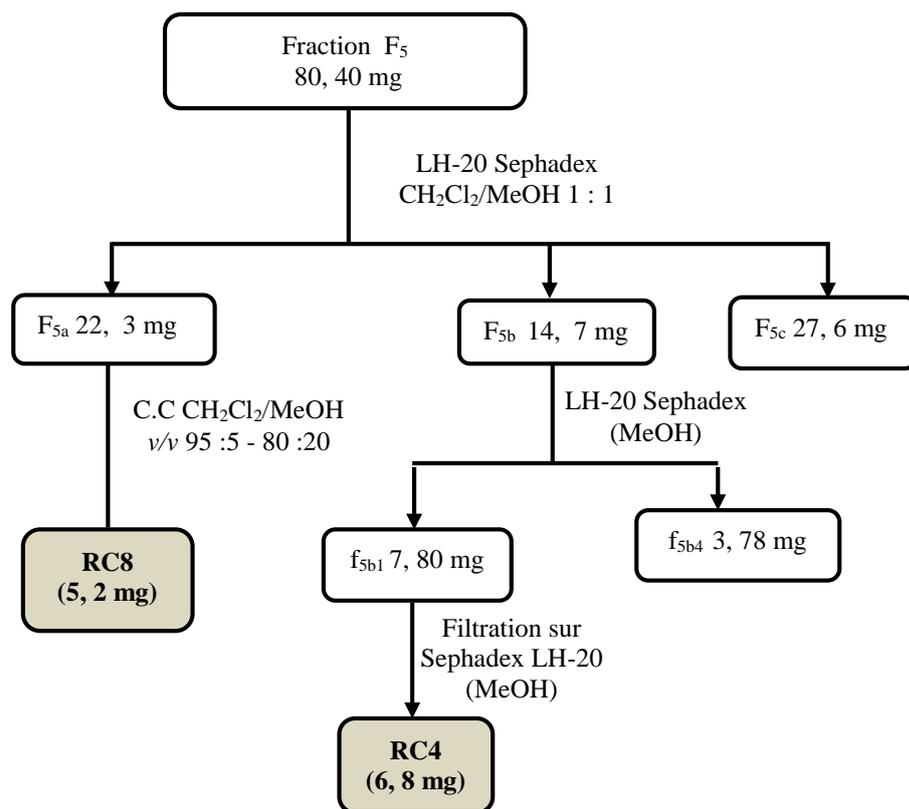


Figure 25. Schéma d'isolement des composés de la fraction F1



**Figure 26. Schéma d'isolement des composés de la fraction F5**

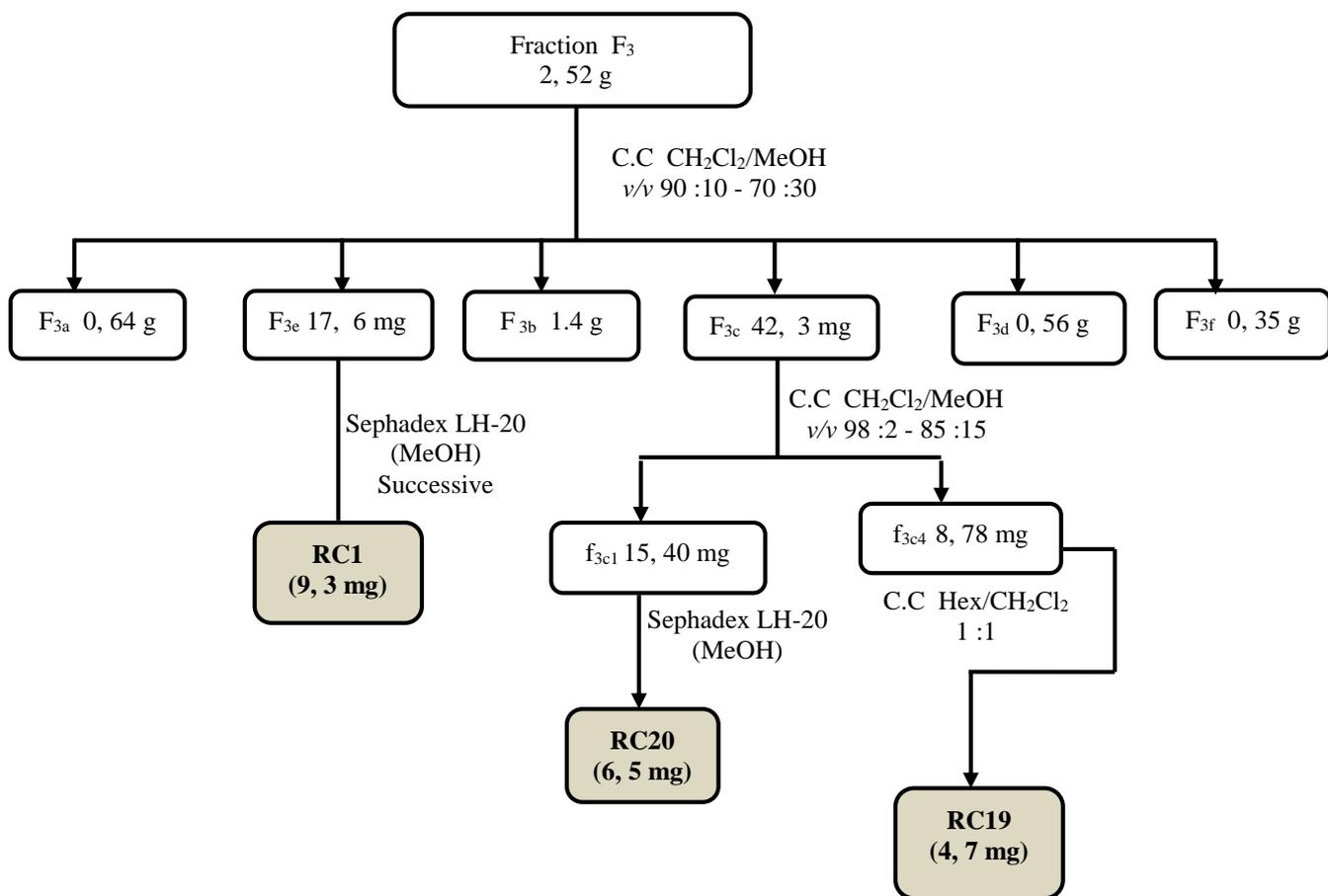


Figure 27. Schéma d'isolement des composés de la fraction F3

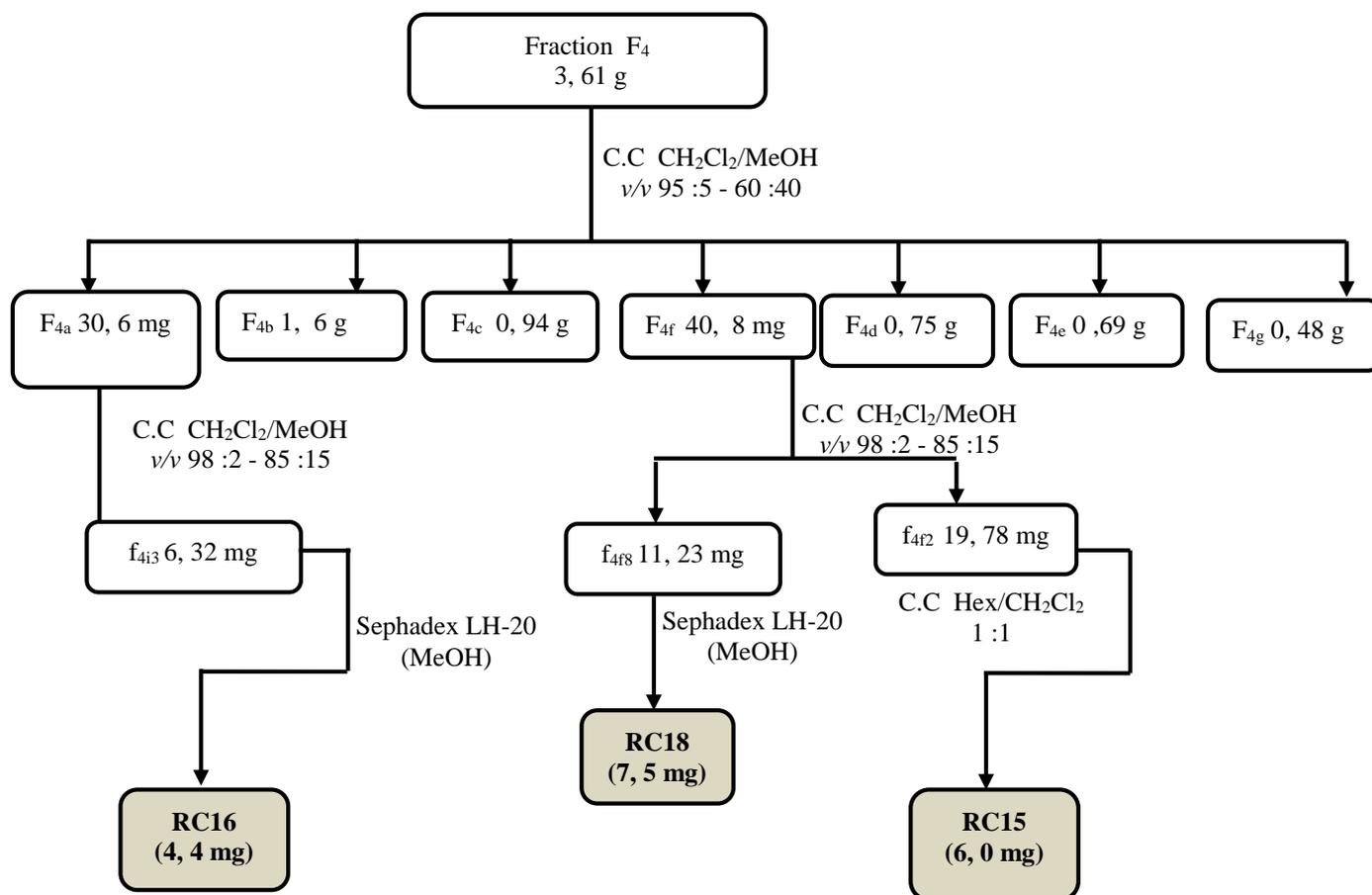
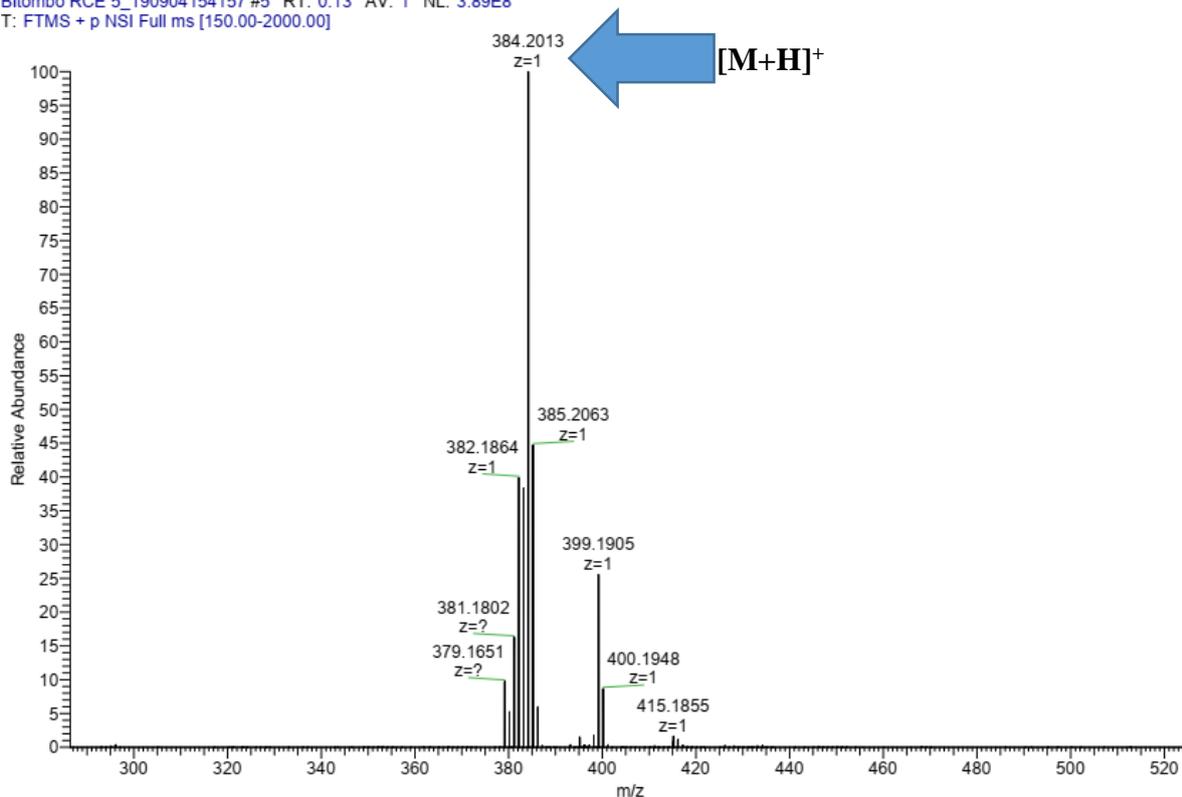


Figure 28. Schéma d'isolement des composés de la fraction F4

## 2.2.3. Caractérisation chimique des alcaloïdes isolés de *Rauvolfia caffra*

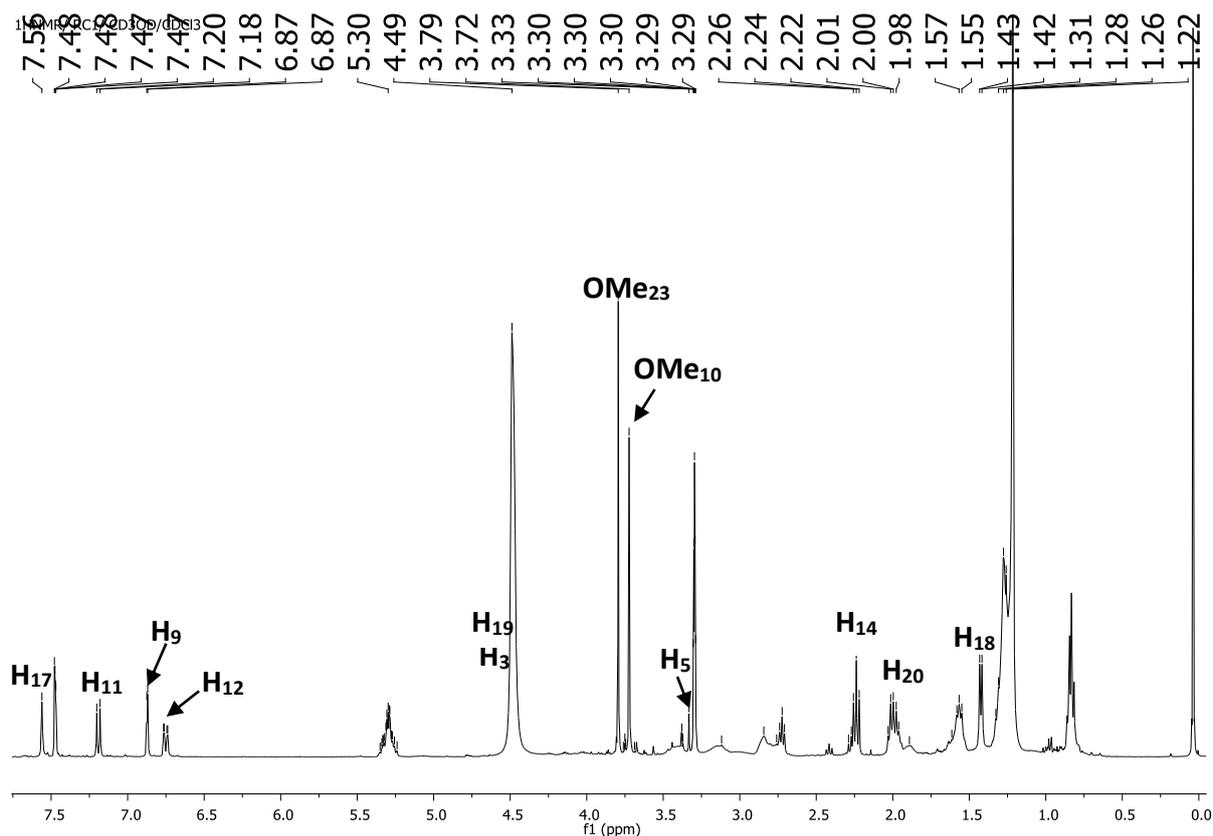
### 2.2.3.1. Détermination structurale du RC1

RC1 été obtenu sous la forme d'une poudre amorphe jaunâtre. Son spectre de masse HRESI-QTOF-SM+ montre un ion moléculaire à  $m/z$  384,2013  $[M+H]^+$  (figure 29), correspondant à la formule brute  $C_{22}H_{28}N_2O_4$ , [calculée pour  $C_{22}H_{28}N_2O_4$  : 384,2035, erreur = -0,0022] ce qui correspond à 10 degrés d'insaturations. Les spectres UV et IR, sont similaires à ceux de l'ajmalicine (69). C'est un composé optiquement actif avec un pouvoir rotatoire spécifique d'une valeur de  $[\alpha]_D^{21} - 5,4$  ( $c$  0,02,  $CHCl_3/MeOH$ ).



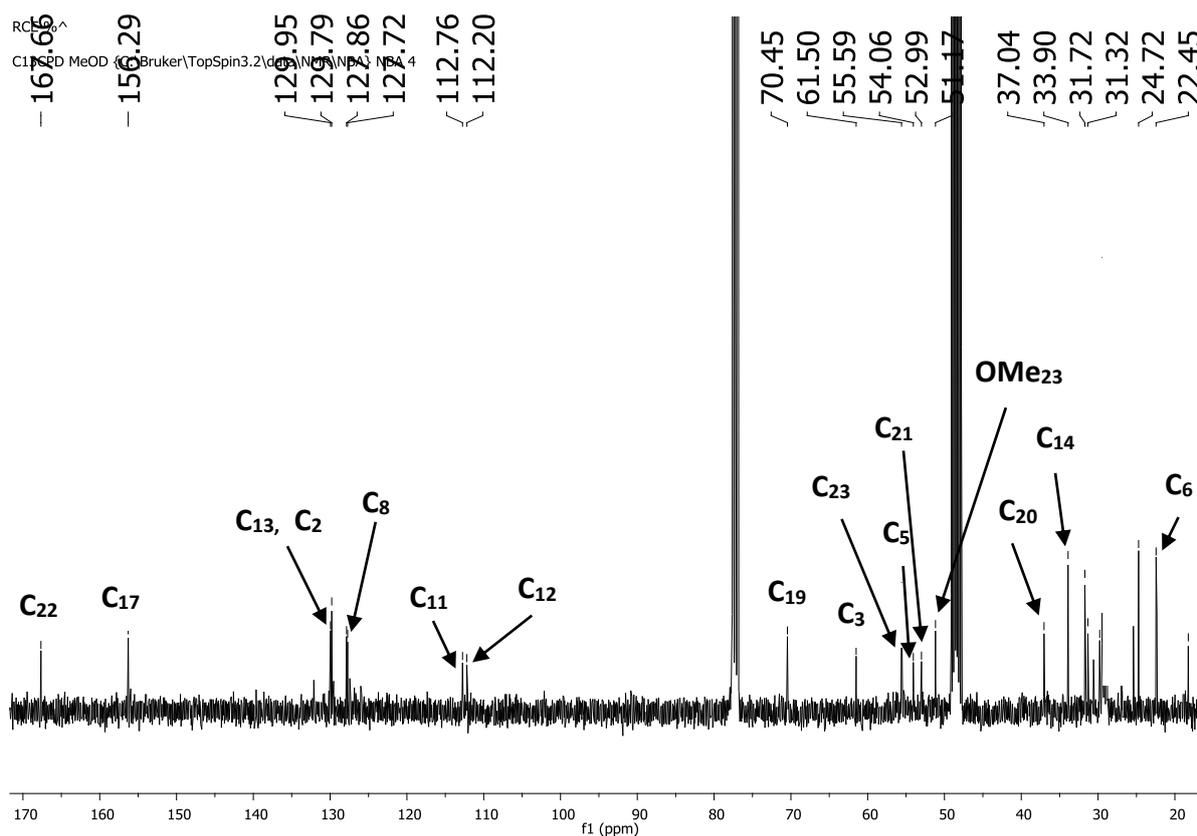
**Figure 29. Spectre de masse HRESI-MS du composé RC1**

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure 30) de **RC1** indique la présence de trois signaux de protons aromatique à  $\delta_{\text{H}}$  7, 18 (d,  $J = 8, 8$  Hz, H-12); 6,79 (dd,  $J = 8, 8; 2,1$  Hz, H-11) et 6, 92 (d,  $J = 2, 1$  Hz, H-9) caractéristiques d'un système ABX. De plus sur ce spectre on observe dans les champs faibles le signal d'un proton oléfinique à  $\delta_{\text{H}}$  7, 56 (s, H-17) ainsi que deux signaux singulet à  $\delta_{\text{H}}$  3, 76, s et  $\delta_{\text{H}}$  3, 67 s, caractéristiques de deux groupes méthoxyles.



**Figure 30. Spectre de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de RC1**

Son spectre RMN <sup>13</sup>C (Fig. 31) montre 22 signaux de carbone, avec les signaux à  $\delta_c$  132, 1 (C-13) et 107, 1 (C-7) caractéristiques d'une double liaison tétrasubstituée ; un signal du carbonyle de l'ester à  $\delta_c$  167, 7 (C-22) ; deux resonances de carbones methoxy à  $\delta_c$  55, 6 et 51, 2 confirmant la presence de deux groupes methoxy ; un carbone d'un methyle resonnant à  $\delta_c$  18, 1 ; deux resonances de carbones methylene lié à l'atome d'azote à  $\delta_c$  54, 1 et 53, 0 ; deux carbones oxyméthines resonnant à  $\delta_c$  156, 3 (C-17) et 70, 5 (C-19) ; un carbone methine lié à l'atome d'azote à  $\delta_c$  61, 5 (C-3) ; deux carbones methylene à  $\delta_c$  33, 9 et 22, 4 ainsi que deux carbones methines à  $\delta_c$  37, 1 et 29, 9.



**Figure 31. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC1**

L'analyse des spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans du  $\text{CD}_3\text{OD}$  de **RC1** montre qu'il est très similaire à l'ajmalicine excepté le déblindage de certains protons et carbones caractéristiques de la présence d'un groupement  $N_4\text{-H}$  et/ou dû à la stéréochimie. Ces déblindages ont été observés sur les positions C-3 ( $\delta_{\text{H}}$  4,56,  $\delta_{\text{C}}$  61,5), C-5 ( $\delta_{\text{H}}$  3,88 et 3,40,  $\delta_{\text{C}}$  54,1) et C-21 ( $\delta_{\text{H}}$  3,75 et 3,56,  $\delta_{\text{C}}$  53,0) du composé **RC1** en comparaison avec l'ajmalicine (Amer et Court, 1980). Pour confirmer la présence du groupement  $N_4\text{-H}$ , nous avons comparé le déplacement chimique de H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  4,56) avec celui de deux ajmalicinoïdes ( $\delta_{\text{H}} \approx 2, 90 - 3, 50$ ). Il s'agit de 19-*epi*-ajmalicine et la rauniticine (Wenkert et *al.*, 1976). Les constantes de couplage observées sur le RMN  $^1\text{H}$  des protons H-3, dd,  $J(\text{H-}3\beta, \text{H-}14\alpha : 14\beta) = 12, 1$  et 8, 4 Hz, puis de H-20 ( $\delta_{\text{H}}$  2,01 - 2,29),  $J(\text{H-}20\beta, \text{H-}19\beta : 21\alpha) = 6, 5$  et 11, 4 Hz confirment ainsi l'orientation des protons H-3, H-19 et H-20 en équatorial (Wenkert et Wickberg, 1962 ; Debruyn et Anteunis, 1976 ; Tourwé et Van Binst, 1978 ; Staerk et *al.*, 2000).

L'analyse combinée des données RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC et ROESY) de **RC1** va confirmer sa similarité avec *allo* 3-isoajmalicine. Ainsi l'analyse couplée des spectres COSY et ROESY (figures 32 et 33) a permis de confirmer la stéréochimie de **RC1** comme étant  $\beta, \beta, \beta, \beta$ -configuration pour H-3, H-15, H-19 et H-20 respectivement ; H-3, H-15 et H-20 forment une configuration *epiallo*. La configuration relative du composé **RC1** a été déduite des

corrélations observées sur le spectre ROESY. Les corrélations observées entre H-3/H-19, H-15, H-20 ainsi qu'entre H-15 et H-20 indiquent que ces protons sont cofaciaux (figure 33).

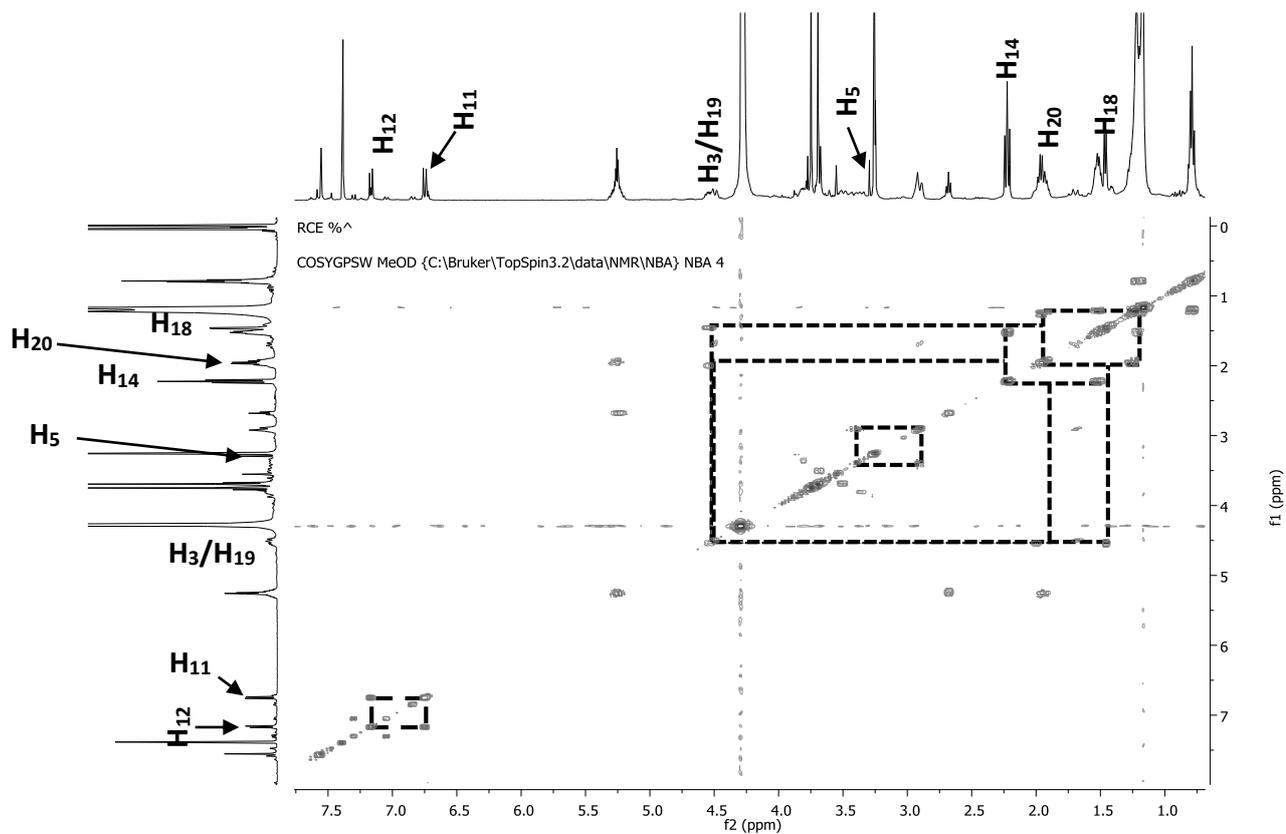
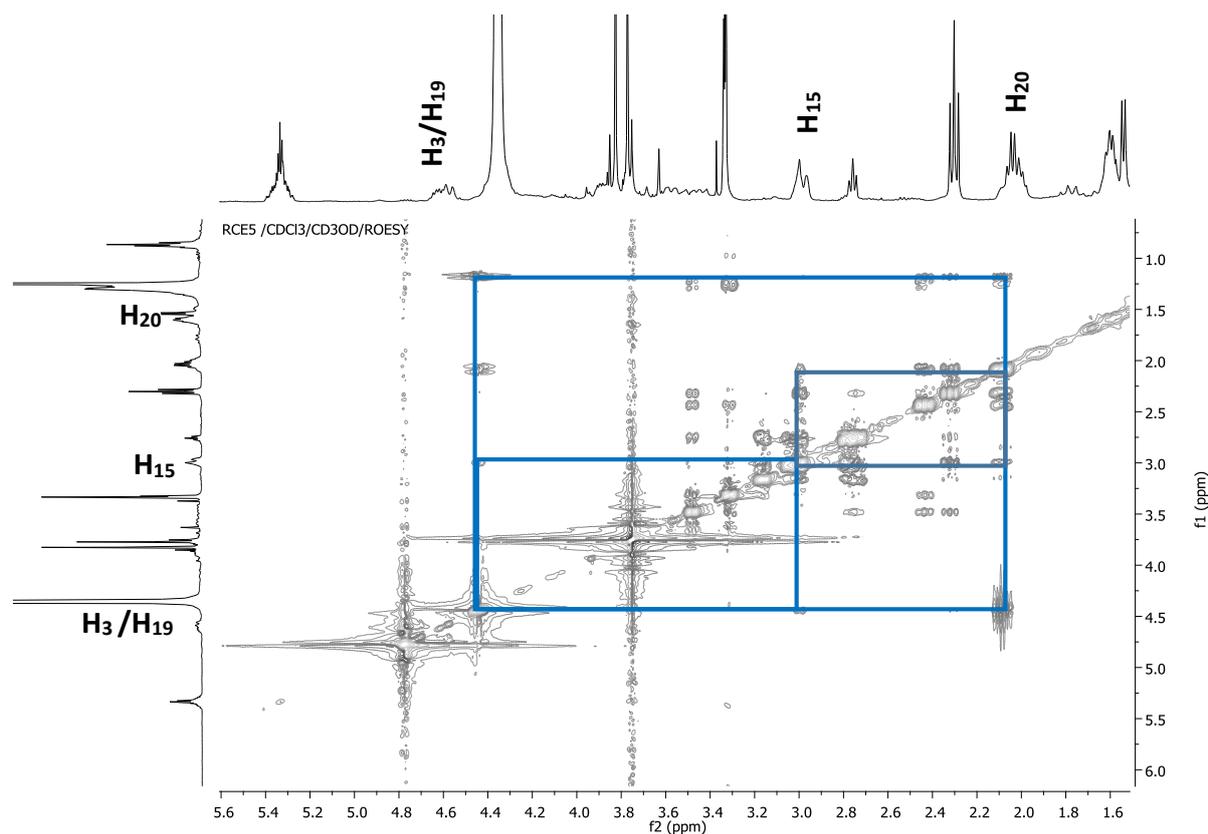
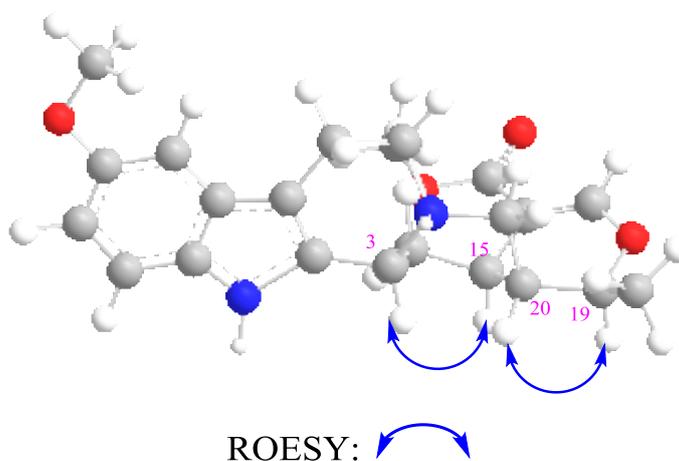


Figure 32. Spectre COSY (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de RC1



**Figure 33. Spectre ROESY (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de RC1**



**Figure 34. Corrélation ROESY du composé RC1**

Sur son spectre HMBC (figure 35) on note en plus des corrélations hétéronucléaires de l'hétéroyohimbine parent (3-isoajmalicine), des corrélations entre un carbone quaternaire C—10 ( $\delta_c$  156,3) et les protons H—9, H—11, H—12 et OMe ( $\delta_H$  3, 76,  $\delta_c$  55, 6) indiquant la présence d'un groupe méthoxyle en C—10 du noyau indole.

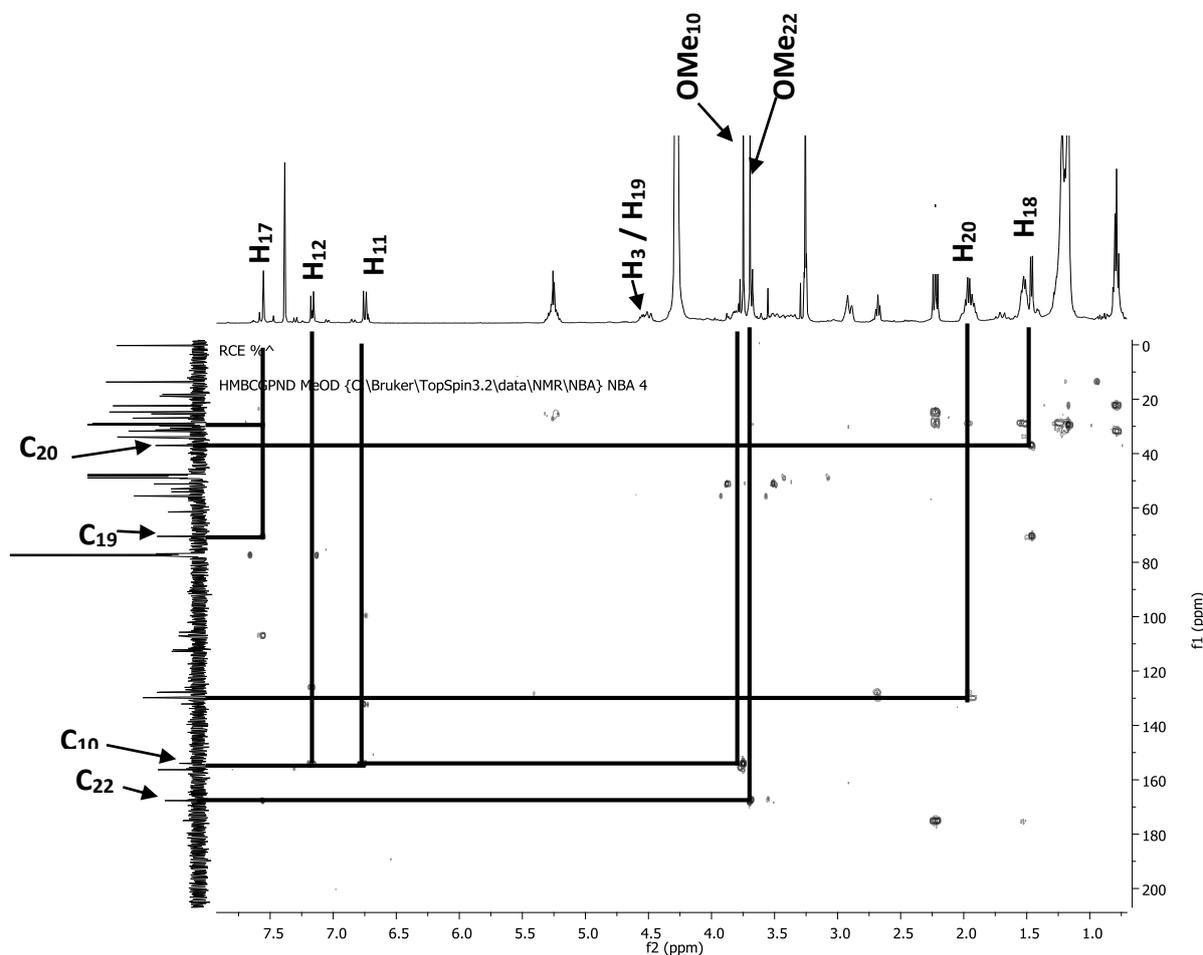


Figure 35. Spectre HMBC (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de RC1

Les configurations absolues des carbones asymétriques de **RC1** ont été déterminées par l'emploi du dichroïsme circulaire électronique par la méthode dite *exciton chirality* en comparant les données expérimentales et celles obtenues par la DFT, une technique de la chimie computationnelle. Sa configuration absolue a été déterminée comme (3*R*, 15*R*, 19*S*, 20*R*).

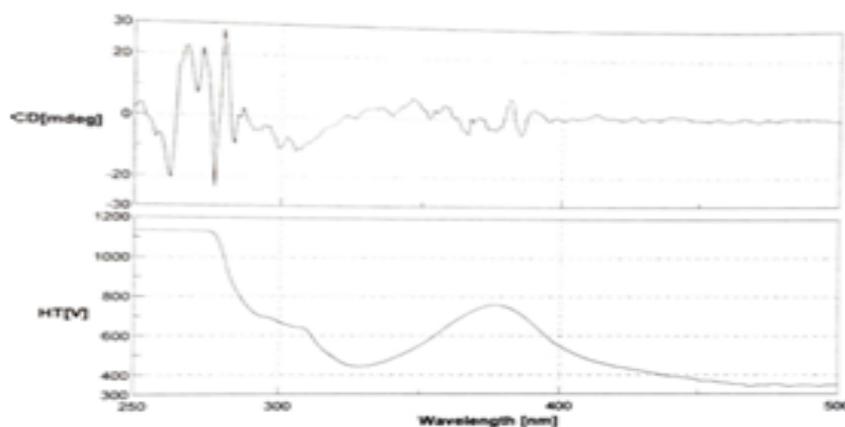
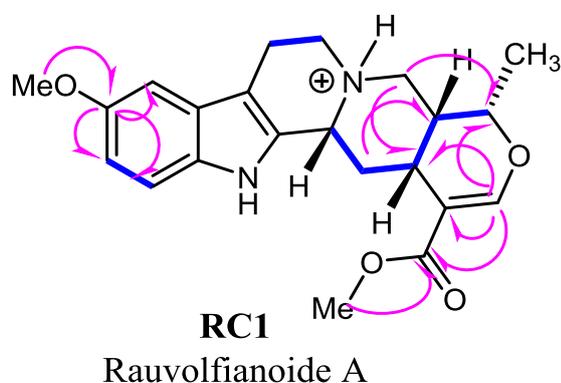


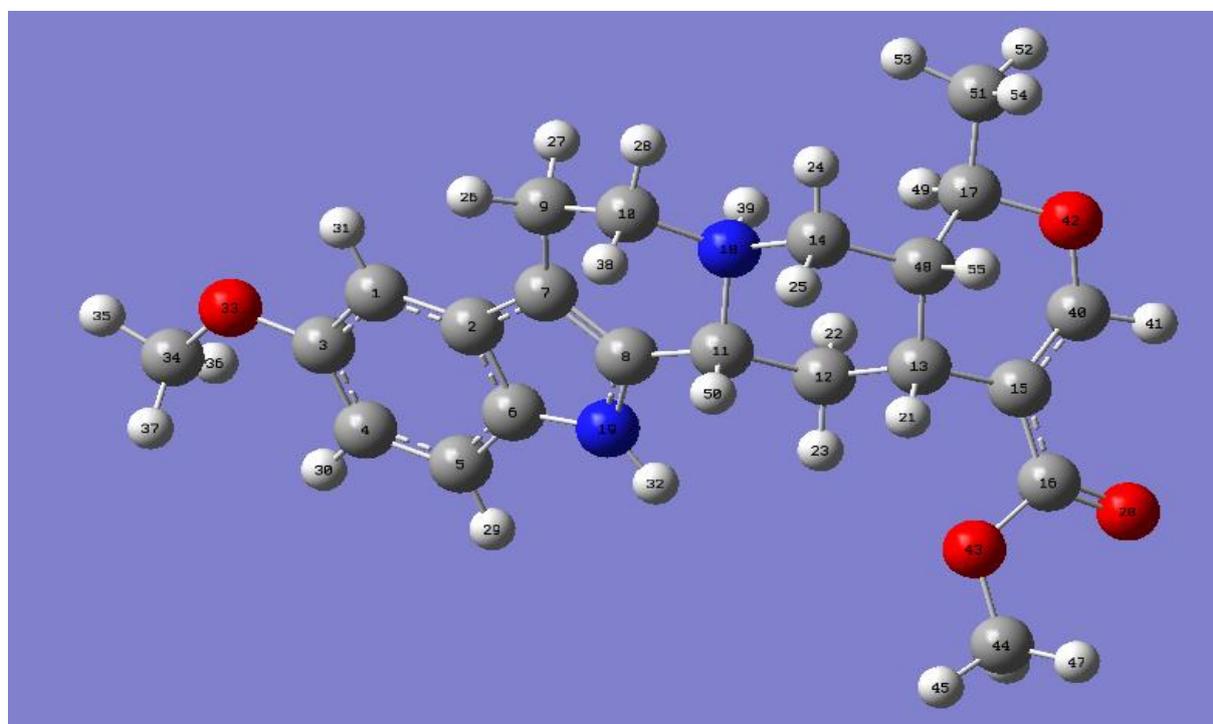
Figure 36. Spectre CD combiné au spectre UV-Vis de RC1 dans le methanol.

L'ensemble de ces observations, combinées à l'analyse des données RMN, et spectrométrie de masse, a permis de confirmer la structure de **RC1** et l'identifier comme étant la Rauvolfianoïde A isolé ici pour la première fois (Bitombo et *al.*, 2021).



HMBC:  COSY: 

L'optimisation géométrique de **RC1** (figure 37) a été obtenue par application de la DFT à l'aide de la fonctionnelle B3LYP et B3PW91 dans les différents solvants combinés au jeu de base 6-31 G+ (d, p), 6-31 G (d, p) et 6-31 G (d). La structure a été optimisée avec la fonctionnelle B3LYP 6-31 G (d) est :



**Figure 37. Optimisation géométrique de la Rauvolfianoïde A dans Gaussian 09 et Gauss view.5**

**Tableau 4: Données spectrales RMN du composé RC1 (CDCl<sub>3</sub> + CD<sub>3</sub>OD, 400 et 100 MHz)**

position	$\delta_{\text{H}}$ (mult, $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$	DEPT	HMBC (C $\rightarrow$ H)
<b>2</b>	-	133,3	C	
<b>3</b>	4,56 dd (12, 1 ; 8,4)	61,5	CH	C-2
<b>5</b>	3,88 d (4, 3) 3,40 m	54,1	CH <sub>2</sub>	C-6, C-21, C-3
<b>6</b>	1,38 m 2,75 t	22,4	CH <sub>2</sub>	C-3, C-5
<b>7</b>	-	108,2	C	
<b>8</b>	-	126,2	C	
<b>9</b>	6,93 brd (2, 1)	99,6	CH	C-7, C-10, C-13, C-11
<b>10</b>	-	154,2	C	
<b>11</b>	6,79 dd (8, 8 ; 2, 1)	112,8	CH	C-9, C-10, C-13
<b>12</b>	7,18 d (8, 8)	112,3	CH	C-11, C-10, C-8, C-13
<b>13</b>	-	132,1	C	
<b>14</b>	2,28 t (7, 5) 1,46 m	33,9	CH <sub>2</sub>	C-15, C-20, C-3
<b>15</b>	3,02 d (6, 8)	29,9	CH	C-14, C-20, C-3, C-19
<b>16</b>	-	107,0	C	
<b>17</b>	7,56 s	156,4	CH	C-15, C-16, C-19, C-22
<b>18</b>	1,46 d (6, 3)	18,1	CH <sub>3</sub>	C-19, C-20
<b>19</b>	4,62 dd (11, 4 ; 5, 3)	70,6	CH	C-18, C-15, C-20
<b>20</b>	2,09 dd (13, 5 ; 3, 5)	37,1	CH <sub>2</sub>	C-21
<b>21</b>	3,75 m 3,56 m	53,0	CH <sub>2</sub>	C-15, C-20, C-3, C-19
<b>22</b>	-	167,2	C	
<b>NH</b>	9,73 s	-		
<b>OMe-10</b>	3,76 s	55,6		
<b>OMe-23</b>	3,67 s	50,4		C-22

### 2.2.3.2. Détermination structurale du RC2

**RC2** a été obtenue sous la forme d'une poudre amorphe jaunâtre. Son spectre UV a montré des absorptions à 245, 268 et 295 nm, caractéristique des chromophores indolique (Gunatilaka et al., 1989) Le spectre IR (figure 38) indique la présence d'une fonction ester-conjugué à 1701  $\text{cm}^{-1}$  et l'absence du signal du groupe  $\text{N}_1\text{H}$  du noyau pyrrole à 3200  $\text{cm}^{-1}$ . Le spectre HRESI-QTOF-SM+ (figure 31) a montré un ion pseudomoléculaire à  $m/z$  397,1748  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , correspondant à la formule brute  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ , [calculée pour  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$  : 397, 1771, erreur =  $-0,0023$ ]. Elle possède 11 degrés insaturation. C'est un composé optiquement actif avec un pouvoir rotatoire d'une valeur de  $[\alpha]_{\text{D}}^{21} -90$  ( $c$  0, 1,  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ ).

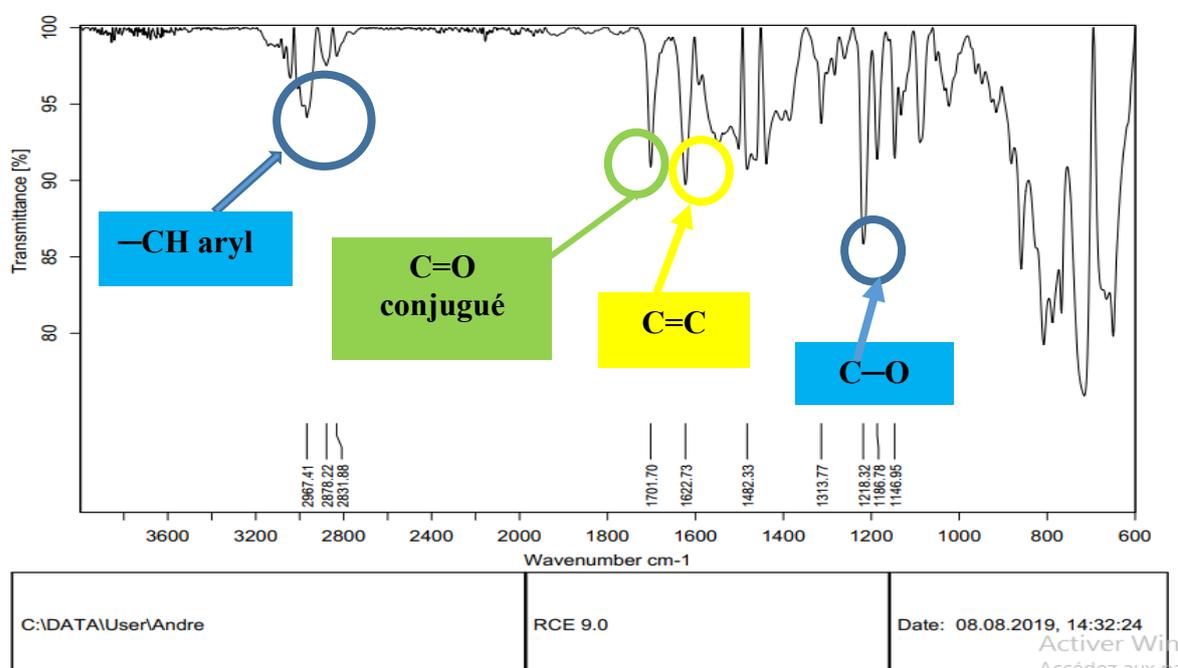


Figure 38. Spectre Infrarouge sur disque de AgCl de RC2

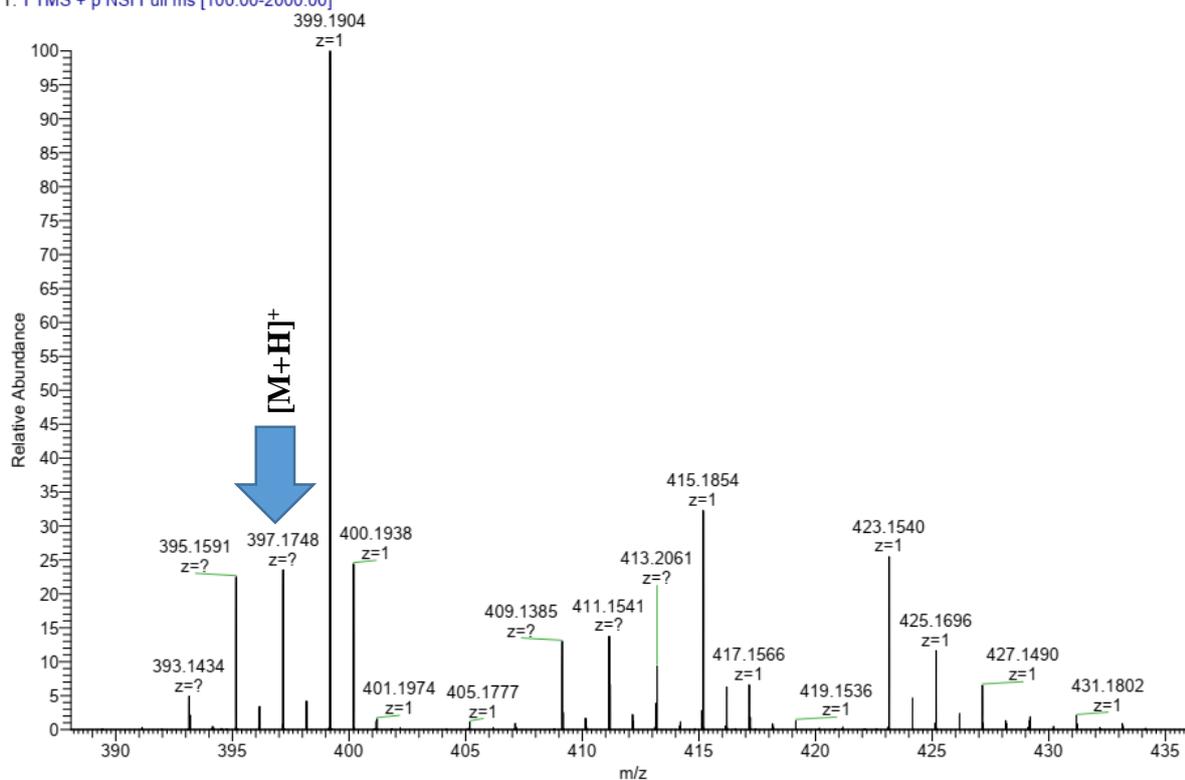


Figure 39. Spectre de masse HRESI-MS du composé RC2

L'analyse de son spectres RMN  $^1\text{H}$  (figure 40) dans le methanol deutéré indique la presence de trois signaux de protons aromatique à  $\delta_{\text{H}}$  7, 10 (d,  $J = 8, 7$  Hz, H-12); 6,68 (dd,  $J = 8, 7 ; 2, 4$  Hz, H-11) et 6, 82 (d,  $J = 2, 4$  Hz, H-9) caractéristiques d'un système ABX. De plus sur ce spectre on observe dans les champs faibles le signal d'un proton oléfinique à  $\delta_{\text{H}}$  7, 49 (s, H-17) ainsi que deux signaux singulet à  $\delta_{\text{H}}$  3, 83 s et  $\delta_{\text{H}}$  3, 76 s, caractéristiques de deux groupes methoxyles.

Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  découplé large bande (figure 41) et DEPT de **RC2** ont indiqué 23 signaux de carbones comprenant deux atomes de carbone insaturés à  $\delta_{\text{C}}$  108,9 (C-16) et 156,0 (C-17) ; huit atomes de carbone insaturés liés à un cycle indole  $\delta_{\text{C}}$  111,0 (C-11) ; 153,6 (C-10) ; 127,0 (C-8) ; 106,6 (C-7) ; 100, 2 (C-9) ; 131, 8 (C-13) ; 127,0 (C-2) ; 111, 7 (C-12) et 09 atomes de carbone aliphatiques à  $\delta_{\text{C}}$  60,5 (C-3) ; 55, 5 (C-5) ; 20,4 (C-6) ; 33,0 (C-14) ; 31,0 (C-15) ; 38,1 (C-20) ; 53,7 (C-21) et 18,0 (C-18) .

La majorité des déplacements chimiques protons et carbones de **RC2** ont montré une similarité avec ceux observés chez la rauwolfianoïde A, mais à une seule différence : la présence du méthyle dans les spectres carbone et proton ( $\delta_{\text{H}}$  3, 28 ;  $\delta_{\text{C}}$  49, 3) qui montre une corrélation HMBC (figure 42) avec le carbone C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  60, 5) indiquant que **RC2** est un dérivé *N*-méthylé de la 10-methoxyajmalicine (Brown et Charalambides, 1974). De plus la présence

de certains carbones déblindés (C-3, C-5) indiquant l'effet  $\beta$  du méthyle sur les carbones en  $\alpha$  et d'autres faiblement blindés (C-2, C-6, C-20, C-14) indiquant l'effet  $\gamma$  de ce méthyle sur les carbones en  $\beta$  appartenant à la 10-méthoxyajmalicine confirme que **RC2** est un dérivé  $N_4$ -méthylé (Srinivasan et Lichter, 1976). Enfin la présence d'une charge négative sur l'atome d'azote  $N_I$ . La présence de la charge négative sur  $N_I$  implique l'absence du proton porté par cet atome et induit par conséquent un léger blindage du proton H-3 ( $\delta_H$  3, 45) et carbone C-3 ( $\delta_C$  60, 5) comparativement à la rauwolfianoïde A [H-3 ( $\delta_H$  4, 56) et C-3 ( $\delta_C$  61, 5)]. Ce qui a été confirmée par la différence observée sur les spectres HRESI-SM+ et IR de **RC2** en comparaison avec celui de la  $N_4$ -méthylaricine (Rola *et al.*, 2019)

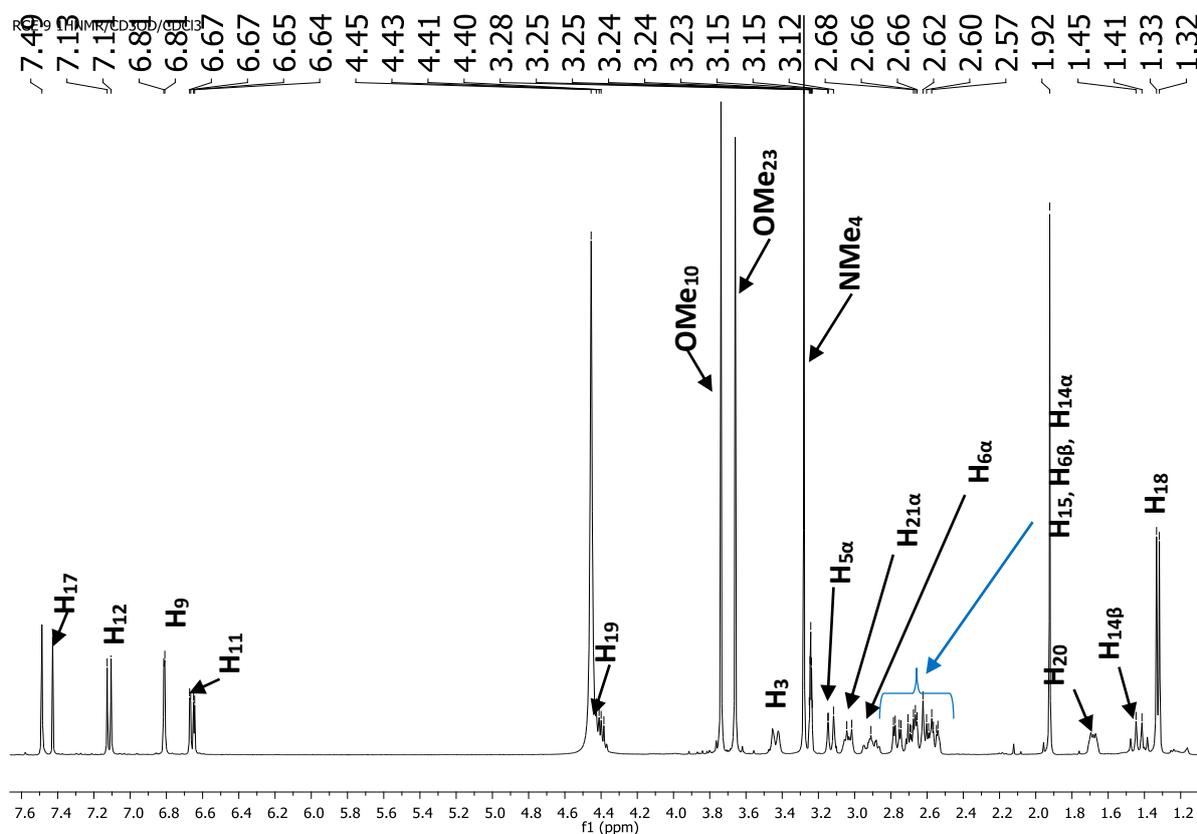


Figure 40. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **RC2**

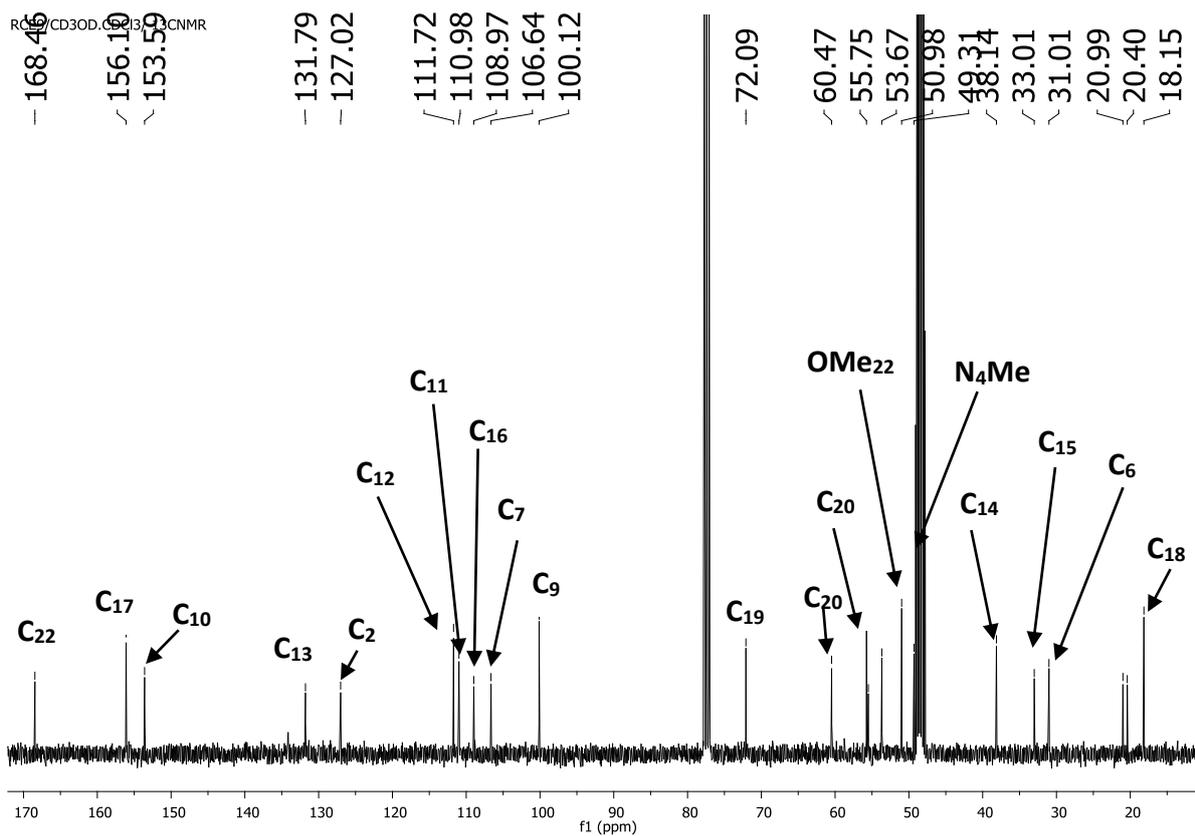


Figure 41. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC2

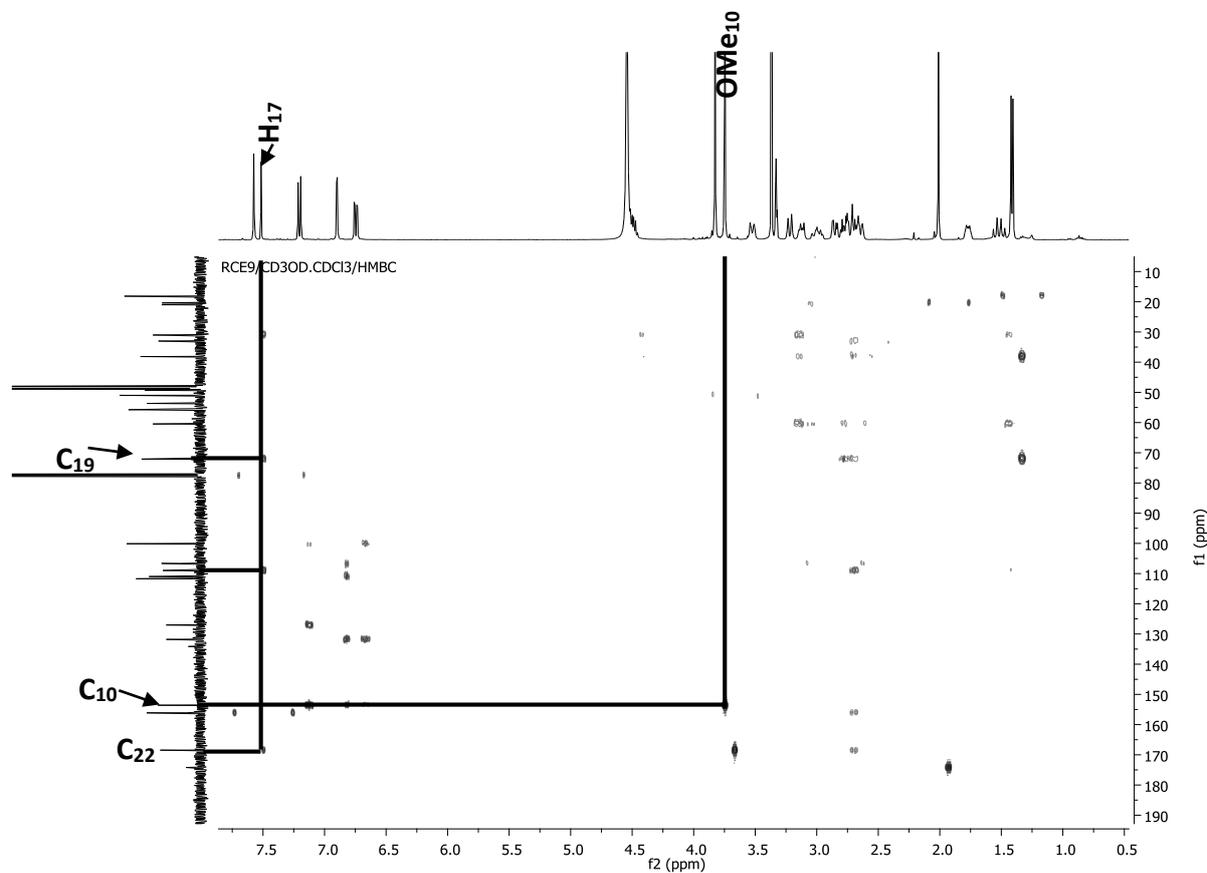
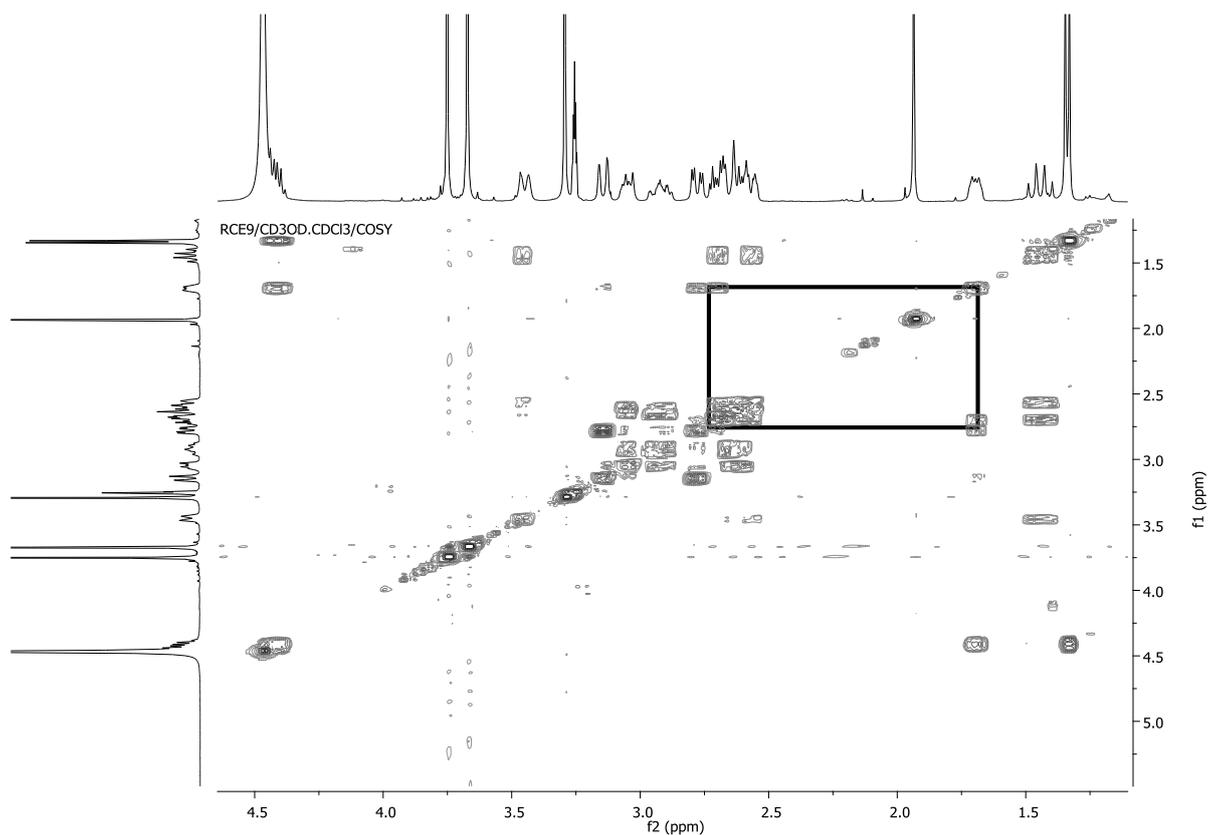


Figure 42. Spectre HMBC (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC2

La configuration relative de **RC2** a été déduite du calcul des constantes de couplage  $J$  ( $H-3\alpha, H-14\beta$ ) = 12, 9 Hz,  $J$  ( $H-19\beta, H-20\beta$ ) = 5, 3 Hz et  $J$  ( $H-15\alpha, H-20\beta$ ) = 11, 0 Hz indiquant une configuration  $\alpha, \alpha, \beta, \beta$  pour  $H-3, H-15, H-20$  et  $H-19$  respectivement (Staerk et al. 2000). Les corrélations observées sur le spectre ROESY (figure 33) entre;  $H-19$  ( $\delta_H$  4, 66) et  $H-20$  ( $\delta_H$  1, 70); Me-18 ( $\delta_H$  1, 33) et  $H-15$  ( $\delta_H$  2, 70), ont permis de confirmer cette configuration. De plus sur ce spectre, on observe une corrélation entre  $N_4$ -Me ( $\delta_H$  3, 28) et Me-18 ( $\delta_H$  1, 33) confirmant la présence du groupe méthyle sur l'atome d'azote  $N_4$ .



**Figure 43.** Spectre COSY (400 MHz,  $CD_3OD$ ) de **RC2**

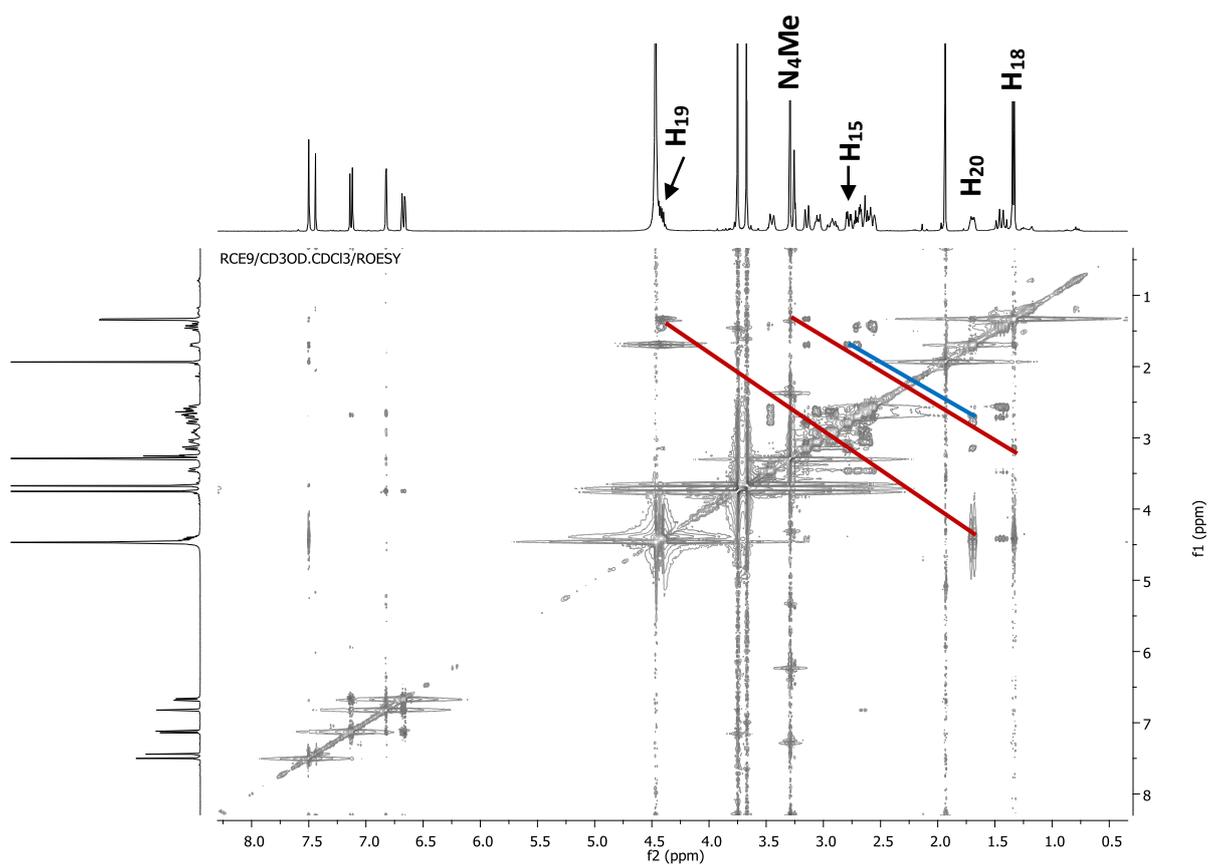


Figure 44. Spectre ROESY (400 MHz, CD3OD) de RC2

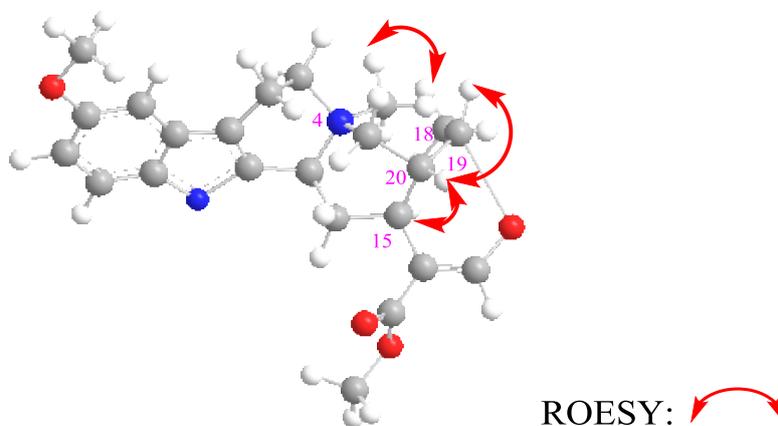
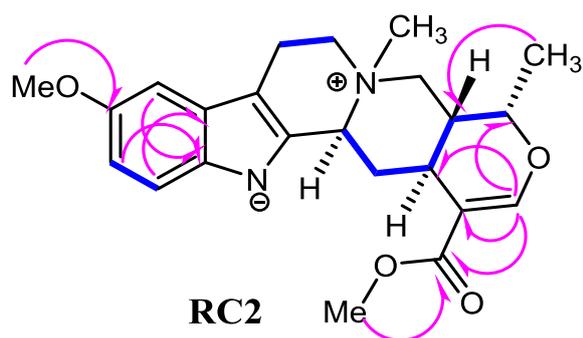


Figure 45. Corrélation ROESY du composé RC2

L'ensemble de ces observations, combinées à l'analyse des données COSY, HSQC et HMBC, a permis de confirmer la structure de **RC2** comme étant la  $3\alpha, 15\alpha, 19\beta, 20\beta-N_4-$

methyl-10-methoxyajmalicine de nom trivial rauwolfianoïde B isolé pour la première fois.



Rauwolfianoïde B

HMBC:  COSY: 

La configuration absolue de **RC2** a été déterminée par l'emploi du dichroïsme circulaire électronique comme (3*S*, 15*S*, 19*S*, 20*R*).

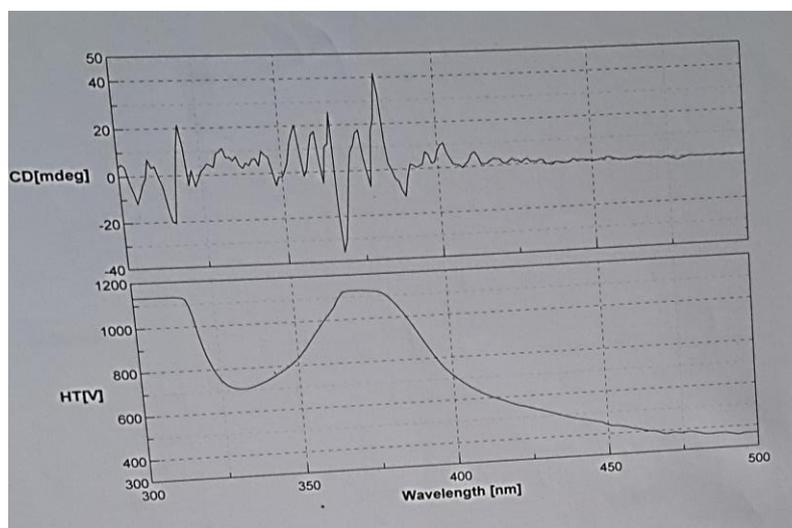


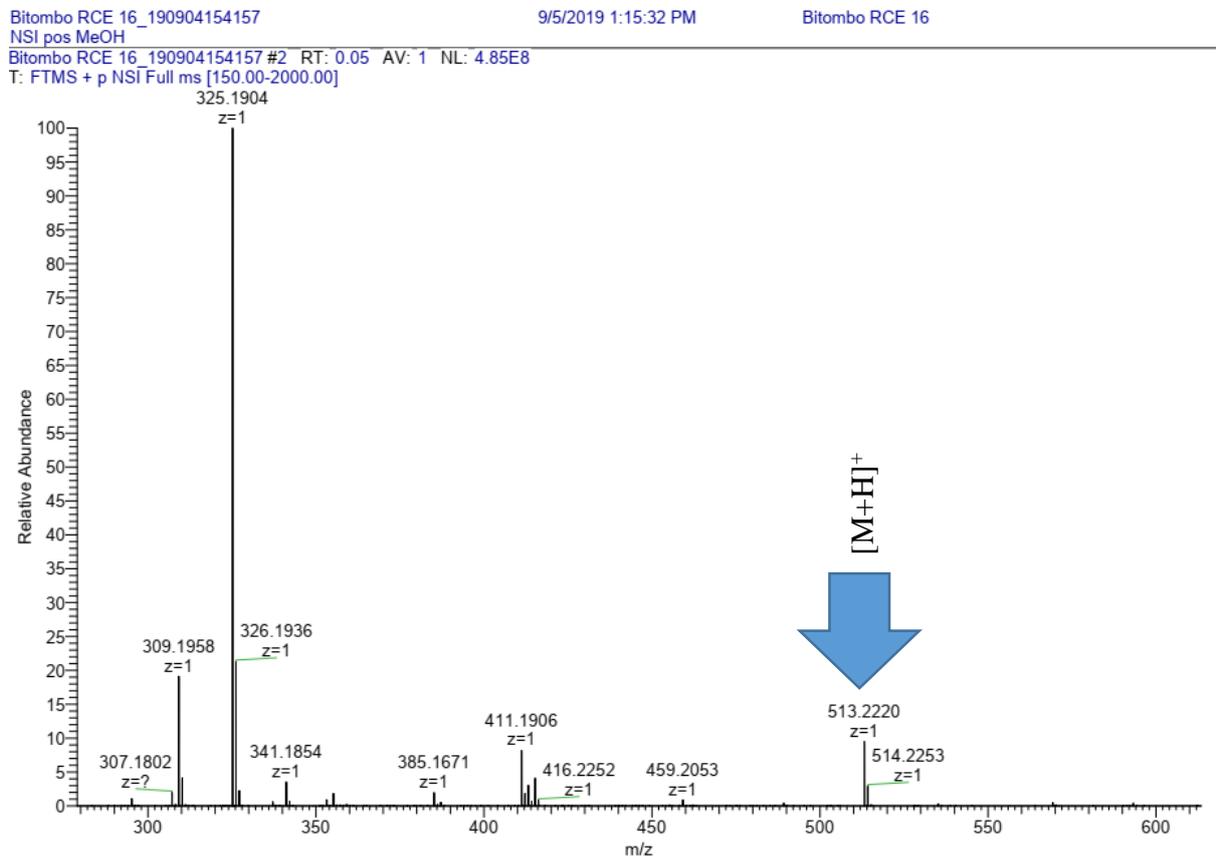
Figure 46. Spectre CD combiné au spectre UV-Vis de RC2 dans le méthanol.

**Tableau 5: Données spectrales RMN du composé RC2 (CDCl<sub>3</sub> + CD<sub>3</sub>OD, 400 et 100 MHz)**

position	$\delta_{\text{H}}$ (mult, $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$ DEPT	HMBC (C $\rightarrow$ H)
<b>2</b>	-	127,0 C	C-2
<b>3</b>	3,45 dd (12, 9 ; 3, 9)	60,5 CH	
<b>5</b>	3,18 dd (15, 0 ; 3, 5) 2,76 m	55,5 CH <sub>2</sub>	C-6, C-21, C-3
<b>6</b>	2,86 m 2,66 m	20,4 CH <sub>2</sub>	C-3, C-5
<b>7</b>	-	106,6 C	
<b>8</b>	-	127,0 C	
<b>9</b>	6,82 brd (2, 4)	100,2 CH	C-7, C-10, C-13, C-11
<b>10</b>	-	153,6 C	
<b>11</b>	6,68 dd (8, 7 ; 2, 4)	111,0 CH	C-9, C-10, C-13
<b>12</b>	7,10 d (8, 7)	111,7 CH	C-11, C-10, C-8, C-13
<b>13</b>	-	131,8 C	
<b>14</b>	2,48 d (3, 5) 1,43 m	33,0 CH <sub>2</sub>	C-15, C-20, C-3
<b>15</b>	2,70 t (11, 0)	31,0 CH	C-14, C-20, C-3, C-19
<b>16</b>	-	108,9 C	
<b>17</b>	7,49 s	156,0 CH	C-15, C-16, C-19, C-22
<b>18</b>	1,33 d (6, 3)	18,0 CH <sub>3</sub>	C-19, C-20
<b>19</b>	4,66 dd (11, 4 ; 5, 3)	72,1 CH	C-18, C-15, C-20
<b>20</b>	1,70 m	38,1 CH <sub>2</sub>	C-21
<b>21</b>	3,12 dd (11, 4 ; 4, 2) 2,60 dd (11, 0 ; 2, 3)	53,7 CH <sub>2</sub>	C-15, C-20, C-3, C-19
<b>22</b>	-	168,0 C	
<b>OMe-10</b>	3,83 s	55,8	C-22
<b>OMe-23</b>	3,76 s	51,0	
<b>N<sub>4</sub>-Me</b>	3,28 s	49,2	

### 2.2.3.3. Identification du composé RC3

**RC3** a été isolé sous forme de poudre blanche soluble dans le méthanol. Sa formule moléculaire  $C_{27}H_{32}N_2O_8$  a été obtenue grâce à l'analyse de son spectre de masse HRESI-SM+ sur lequel on observe le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z$  513, 2220  $[M+H]^+$ .



**Figure 47. Spectre de masse HRESI-MS du composé RC3**

Son spectre IR a montré des fréquences de vibrations caractéristiques à 3312, 90, 2942, 44 et 2831,  $65\text{ cm}^{-1}$  typiques des vibrations des liaisons O-H, C-H et C-H, respectivement (Tlhapi et *al.*, 2020). Cela a été soutenu par l'apparition de 27 signaux carbone dans son spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (figure 37), dont six carbones quaternaires, quinze méthines, quatre méthylènes et deux groupes méthyle à  $\delta_{\text{C}}$  24, 3 (C-23) et  $\delta_{\text{C}}$  11, 7 (C-18), respectivement. Le spectre RMN  $^1\text{H}$  a montré un cycle aromatique *ortho*-disubstitué avec  $\delta_{\text{H}}$  7, 57 –7, 20, contenant deux doublets à  $\delta_{\text{H}}$  7, 55 et 7, 49 correspondant à des protons H–9 et H–12, un doublet de doublets à  $\delta_{\text{H}}$  7, 39 correspondant à un proton H–10 et un autre doublet de doublets à  $\delta_{\text{H}}$  7, 23 correspondant à un proton H–11. Le spectre a également montré l'existence d'un groupe éthylidène avec un doublet à  $\delta_{\text{H}}$  1, 67 attribué à H–18 et un quartet à  $\delta_{\text{H}}$  5, 80 attribué à H–19. La RMN  $^1\text{H}$  a également révélé plusieurs autres caractéristiques importantes, y compris un signal méthyle à  $\delta_{\text{H}}$  2,17 (s) correspondant à  $\text{OCOCH}_3$  et trois signaux méthylène à  $\delta_{\text{H}}$  4, 43,  $\delta_{\text{H}}$  1, 87 et  $\delta_{\text{H}}$  1,77, et  $\delta_{\text{H}}$  2, 68

et  $\delta_H$  1, 45, correspondant respectivement à 6'-H, 14-H ( $\alpha$  et  $\beta$ ) et 6-H ( $\beta$  et  $\alpha$ ). De plus, un fragment glucopyranosyl a été indiqué par le signal du proton anomérique à  $\delta_H$  5, 09 (1'-H,  $d$ ,  $J = 7, 6$  Hz) et en accord avec les signaux de carbone à  $\delta_C$  99, 9 (CH, C-1'), 77, 3 (CH, C-3'), 76, 8 (CH, C-5'), 73, 8 (CH, C-2'), 70, 1 (CH, C-4') et 61, 4 (CH<sub>2</sub>, C-6'). L'analyse détaillée des données RMN 1D et RMN 2D (COSY, HSQC et HMBC) et celles de la littérature nous ont permis d'identifier **RC3** à la raucaffricine précédemment isolée de *R. caffra* Sonder (Khan *et al.*, 1965).

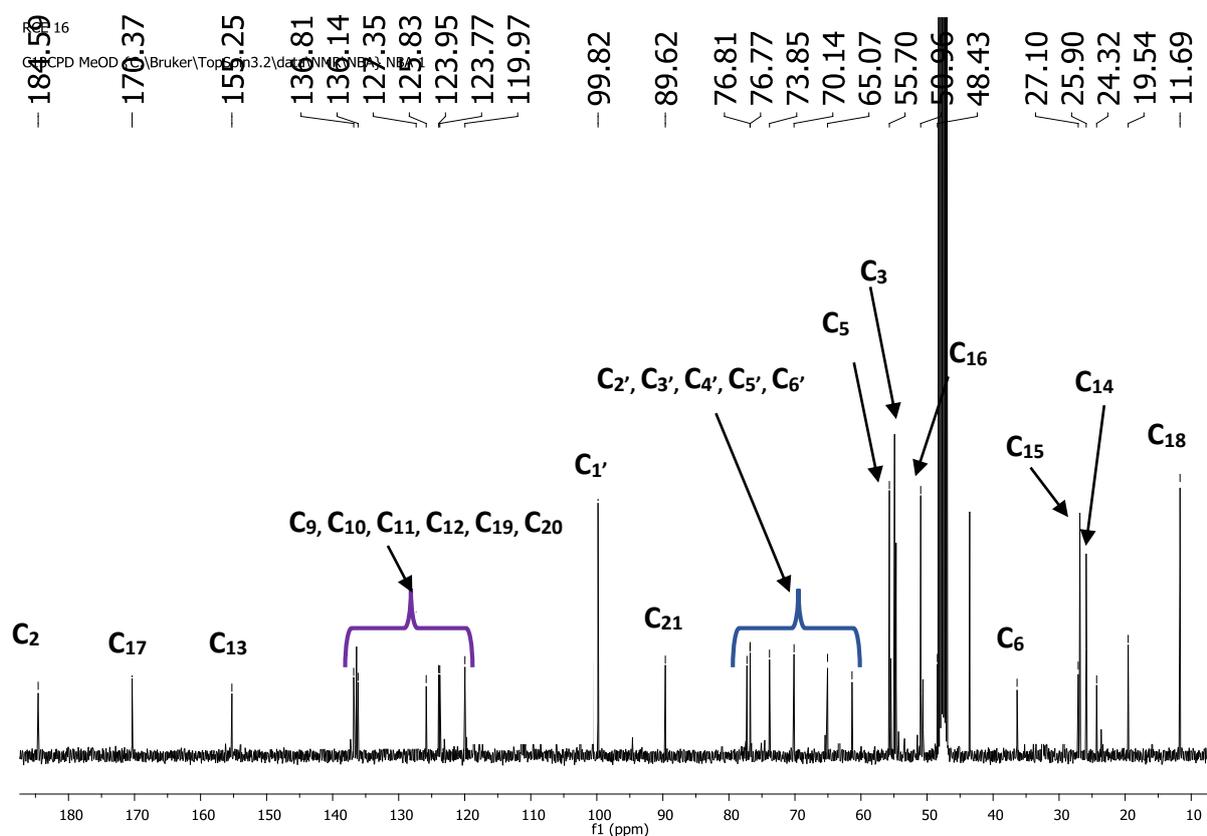
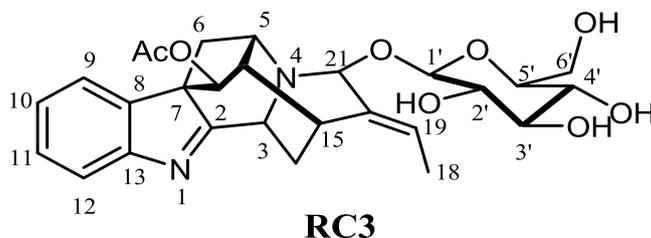


Figure 48. Spectre de RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de RC3



**RC3**

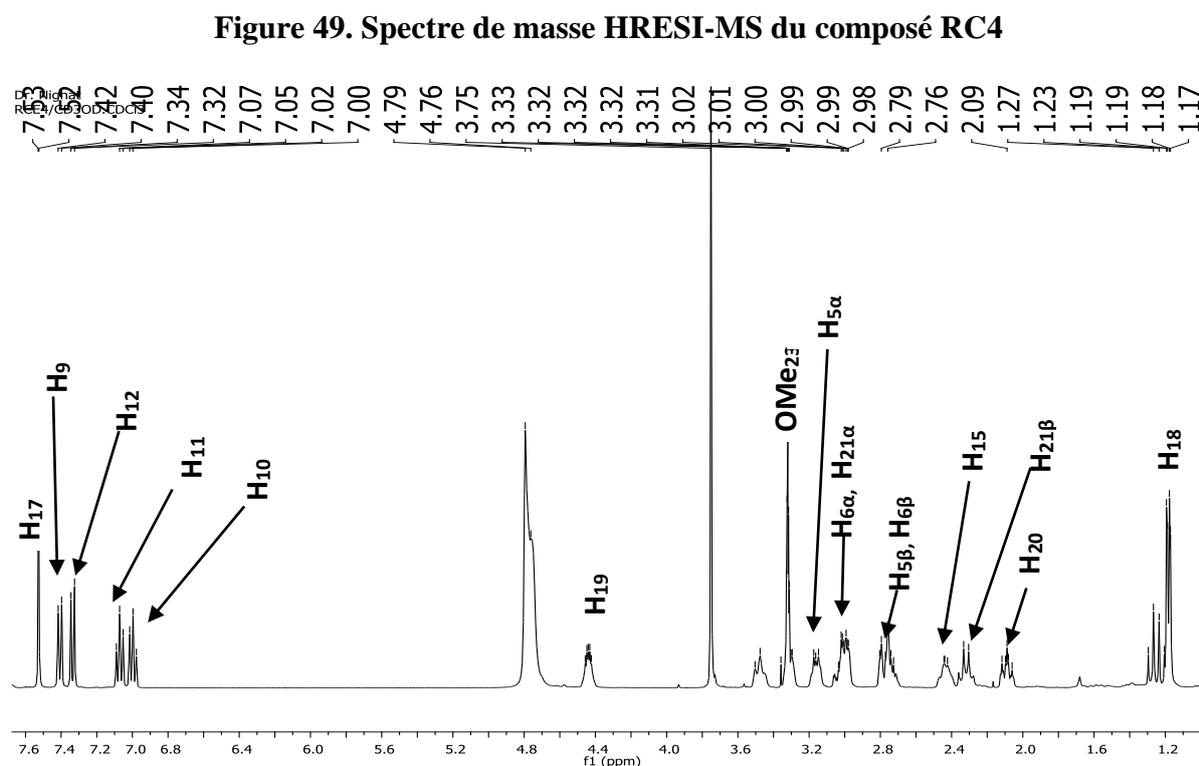
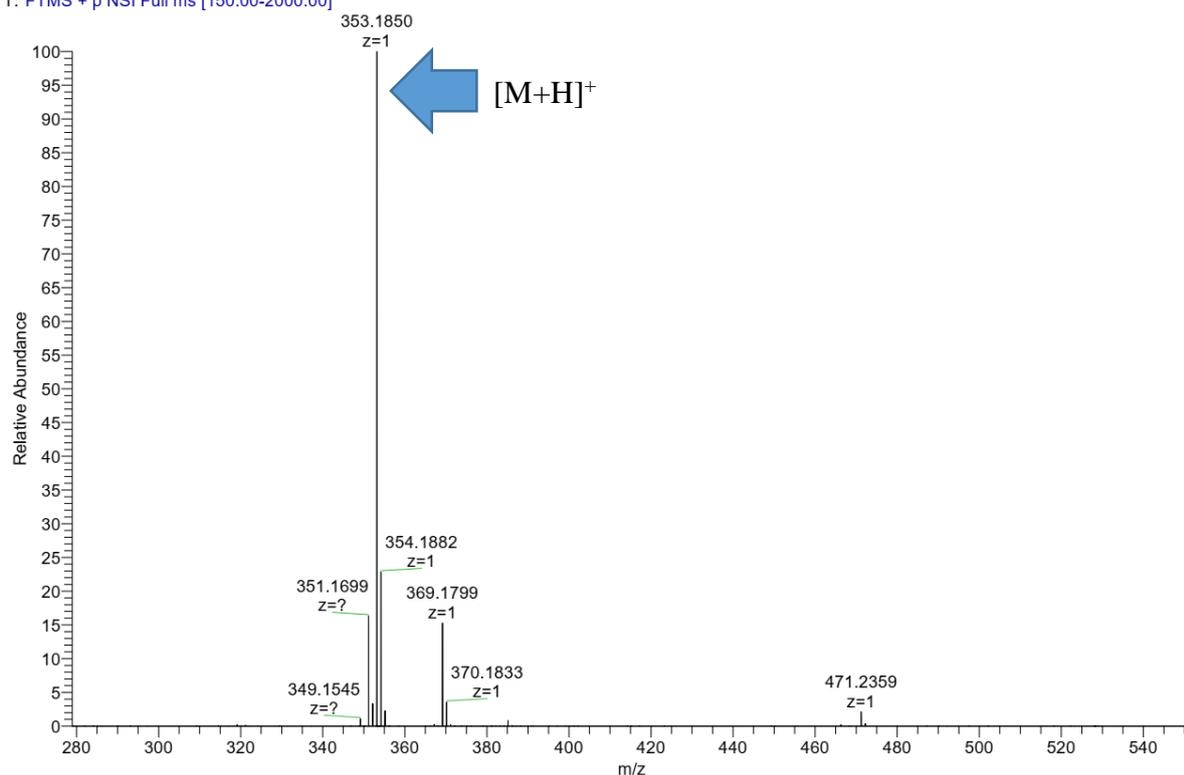
Raucaffricine

**Tableau 6: Données spectrales RMN du composé RC3 (CD<sub>3</sub>OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$
			(Khan et al., 1965)	
2	—	184, 6	—	184, 4
3	4, 62 d (7, 7)	51, 0	5, 14 d (9, 5)	50, 5
5	3, 18 dd (6, 0 ; 5, 6)	55, 7	3,30 t (6,0)	55, 2
6	2, 68 dd (4, 8 ; 4, 4) 1, 45 d (6, 8)	36, 4	2, 74 dd (11, 5 ; 4, 5)	37, 3
7	—	65, 1	—	65, 1
8	—	136, 1	—	137, 1
9	7, 55 d (7, 6)	123, 9	7,81 d (8,2)	124, 3
10	7, 39 dd (7, 6 ; 7, 6)	125, 8	7,42 t (8,2)	125, 8
11	7, 23 dd (7, 2 ; 7, 6)	127, 4	7,28 t (8,2)	127, 1
12	7, 49 d (7, 2)	120, 0	7,66 d (8,2)	120, 9
13	—	155, 3	—	156, 9
14	1, 87 dd (12, 0 ; 4, 0) 1, 77 dd (4, 8 ; 4, 8)	25, 3	2, 26 dd (13, 5 ; 9, 5) 1, 84 dd (13, 5 ; 5, 0)	24, 7
15	3, 08 m	27, 1	3, 35 t (5, 0)	27, 5
16	2, 34 dd (6, 4 ; 6, 0)	48,4	2, 40 t (6, 0)	48, 9
17	4, 57 s	76, 7	5, 23 s	77, 2
18	1, 67 d (11, 6)	11, 7	1, 50 d (6, 5)	13, 3
19	5, 65 q (6, 8)	123, 8	5, 86 q (6, 5)	122, 8
20	—	136,8	—	137, 9
21	5, 17 s	89, 6	5, 43 brs	88, 2
1'	5, 09 d (4, 4)	99,8	5, 29 d (8, 0)	99, 2
2'	3, 89 dt (12, 0 ; 2, 8)	73,8	4, 10 t (8, 0)	74, 3
3'	4, 44 t (10, 0)	77, 3	4, 20 m	77, 5
4'	4, 60 dd (13, 0 ; 8, 5)	70, 1	4, 35 m	70, 6
5'	3, 90 — 3, 60 m	76,8	3, 94 m	77, 5
6'	4, 42 dd (7, 6 ; 8, 8)	61, 4	4, 52 dd (12, 0 ; 2, 0) 4, 33 dd (12,0 ; 5,0)	61, 6
CH <sub>3</sub> COO—	—	170, 4	—	170, 1
CH <sub>3</sub> COO—	2, 16 s	24, 3	2, 16 s	21, 3

#### 2.2.4.2.4. Identification du composé RC4

Le composé **RC4** se présente sous forme de cristaux blanc soluble dans le  $\text{CHCl}_3$ . Il réagit positivement au test de Dragendorff, caractéristique des alcaloïdes. Son spectre de masse HRESI-MS<sup>+</sup> (figure 49) montre le pic de l'ion *pseudo* moléculaire  $[\text{M}+\text{H}]^+$  à  $m/z$  353,1850 suggérant la formule moléculaire  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$  possédant 11 degrés d'insaturations. Son spectre RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 50) présente des signaux de protons aromatiques d'un noyau indole à  $\delta_{\text{H}}$  7,41 (1H, d,  $J = 7,7$  Hz ; H-9) ; 7,33 (1H, d,  $J = 8,8$  Hz ; H-12) ; 7,07 (1H, t,  $J = 7,5$  Hz ; H-11) ; 7,00 (1H, t,  $J = 7,4$  Hz ; H-10) ; quatre méthylènes à  $\delta_{\text{H}}$  3,16 (1H, m, H-5 $\alpha$ ) et 2,75 (1H, dd,  $J = 12,6 ; 5,9$  Hz ; H-5 $\beta$ ), 3,01 (1H, m, H-6 $\alpha$ ) et 2,77 (1H, d,  $J = 5,6$  Hz ; H-6 $\beta$ ) ; 3,32 ppm (1H, dt,  $J = 3,3 ; 1,6$  Hz ; H-14 $\alpha$ ) ; 1,27 (1H, t,  $J = 12,2$  Hz ; H-14 $\beta$ ) ; 3,01 (1H, m, H-21 $\alpha$ ) et 2,32 (1H, d,  $J = 11,2$  Hz ; H-21 $\beta$ ) ; des méthines respectifs à  $\delta_{\text{H}}$  4,62 (1H, d,  $J = 7,7$  Hz ; H-3) ; 2,40 (1H, m, H-15) et 2,09 (1H, m, H-20), deux méthines oxy à  $\delta_{\text{H}}$  4,44 (1H, m, H-19) et 7,52 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz ; H-17) ; un méthyl à  $\delta_{\text{H}}$  1,18 (3H, dd,  $J = 6,6 ; 2,3$  Hz, H-18). Le spectre  $^{13}\text{C}$  (figure 51) a confirmé la présence de 21 signaux de carbones non équivalents, ce qui est cohérent avec le résultat du spectre de masse HRESI. L'attribution totale effectuée (Tableau 8) par un examen approfondi de la RMN 1D (RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$ ), 2D (COSY, HSQC et HMBC) et en comparaison avec les données de la littérature a permis d'identifier le composé **RC4** à la 19-*epi*-ajmalicine isolée précédemment des racines de *Rauvolfia nitida* (Amer et Court, 1981).



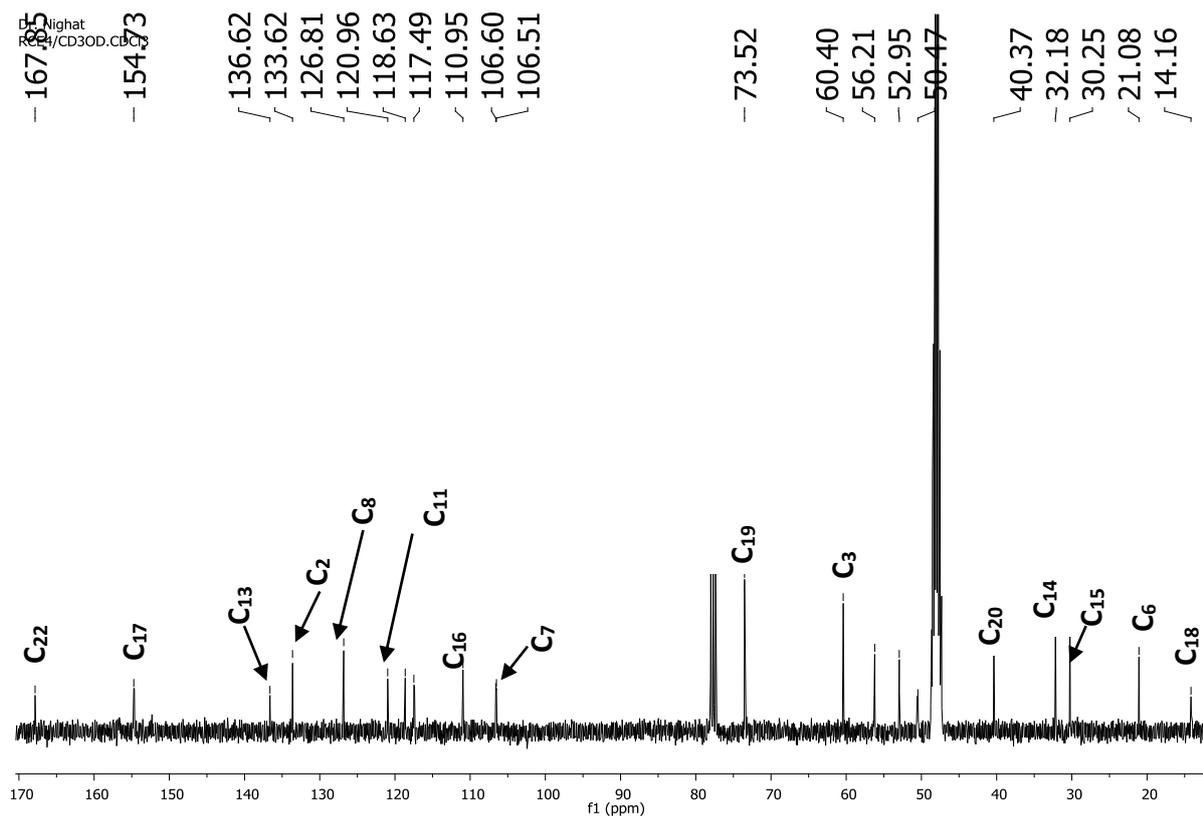
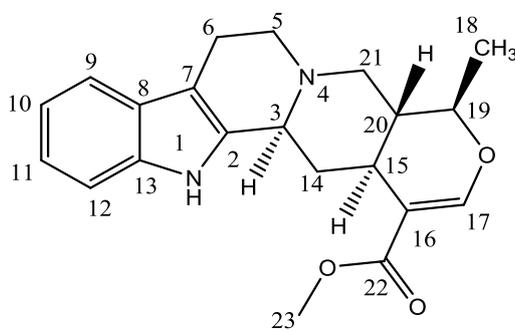


Figure 51. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD} + \text{CDCl}_3$ ) de RC4



RC4

19-*epi*-ajmalicine

**Tableau 7: Données spectrales RMN du composé RC4 (CD<sub>3</sub>OD+ CDCl<sub>3</sub>, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$
			(Amer et Court, 1981)	
2	—	133, 6	—	134, 4
3	3, 47 d (11, 2)	60, 4	3, 39 <i>dbr</i> (11, 0; 2,5)	60, 1
5	3, 16 m 2, 75 dd (12, 6 ; 5, 9)	53, 0	3, 18 m	53, 2
6	3, 01 m 2, 77 d (5, 6)	21, 1	2, 70 m	21, 8
7	—	106, 5	—	106, 6
8	—	126, 8	—	127, 3
9	7, 41 d (7, 7)	117, 5	7, 47 d (7, 5)	118, 0
10	7, 00 t (7, 4)	118, 6	7, 08 m	119, 3
11	7, 07 t (7, 5)	121, 0	7, 13 m	121, 4
12	7, 33 d (8, 8)	111, 0	7, 30 d (7, 5)	110, 8
13	—	136, 6	—	135, 9
14	3, 32 dt (3, 3 ; 1, 6) 1, 27 t (12, 2)	32, 2	3, 20 dt (12, 5) 1, 26 q (11, 0)	32, 9
15	2, 40 m	30, 3	2, 39 <i>tbr</i> (3, 0)	30, 6
16	—	106, 6	—	107, 8
17	7, 52 d (1, 8)	154, 7	7, 56 d (1, 5)	154, 7
18	1, 18 dd (6, 6 ; 2, 3)	14, 2	1, 36 d (6, 5)	73, 7
19	4, 44 m	73, 5	3, 90 dq (10, 0)	14, 9
20	2, 09 m	40, 4	1, 75 dq (11, 0)	41, 0
21	3, 01 m 2, 32 d (11, 2)	56, 2	3, 15 d (11, 0) 2, 22 t (3, 0)	56, 9
CH <sub>3</sub> OCO—	—	167, 9	—	167, 7
CH <sub>3</sub> OCO—	3, 75 s	50, 5	3, 75 s	50, 9

#### 2.2.4.2.5. Identification du composé RC5

Le composé **RC5** a été isolé sous forme d'un solide brun amorphe soluble dans le MeOH et est alcalino-positif au réactif de Dragendorff. L'analyse du spectre HREI-MS<sup>+</sup> (figure 52) a montré le pic de l'ion *pseudo* moléculaire [M+H]<sup>+</sup> à *m/z* 413, 2060 vérifiant la formule moléculaire C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> et possédant 11 degrés d'insaturation.

La RMN <sup>1</sup>H (Fig. 53) présente des signaux de protons aromatiques d'un noyau indole orthodisubstitué dont : des doublets à δ<sub>H</sub> 7,02 (1H, s,) et 7,00 (1H, s,) correspondant aux protons H-9 et H-12 respectivement, un singulet à δ<sub>H</sub> 7,64 correspondant à un proton en position 17 ; deux groupes méthoxyles à δ<sub>H</sub> 3,86 (3H, s) en position 10 et 11, un méthoxyle à δ<sub>H</sub> 3,76 (3H, s) en position 22, un doublet à δ<sub>H</sub> 1,50 (1H, q, *J* = 5,7 Hz) affecté à un méthyle en position 18. Le spectre RMN <sup>13</sup>C (Fig. 53) présente 23 signaux de carbone, dont deux atomes de carbone insaturés à δ<sub>C</sub> 107,7 (C-16) et 156,0 (C-17) ; huit atomes de carbone insaturés liés à un cycle indole δ<sub>C</sub> 147,1 (C-11) ; 144,7 (C-10) ; 119,1 (C-8) ; 106,0 (C-7) ; 100,5 (C-9) ; 131,6 (C-13) ; 131,7 (C-2) ; 95,1 (C-12) et 09 atomes de carbone aliphatiques à δ<sub>C</sub> 60,8 (C-3) ; 52,5 (C-5) ; 18,8 (C-6) ; 30,8 (C-14) ; 31,0 (C-15) ; 36,9 (C-20) ; 53,3 (C-21) ; 17,6 (C-18) et 70,5 (C-19) ; sur la base de ces données spectrales ajoutées à celles révélées par les spectres RMN 2D (Tableau 8) et à celles de la littérature, le composé a été identifié à la 3-*epi*-rauvanine préalablement isolée des écorces de *Rauvolfia vomitoria* (Iwu et Court, 1982).

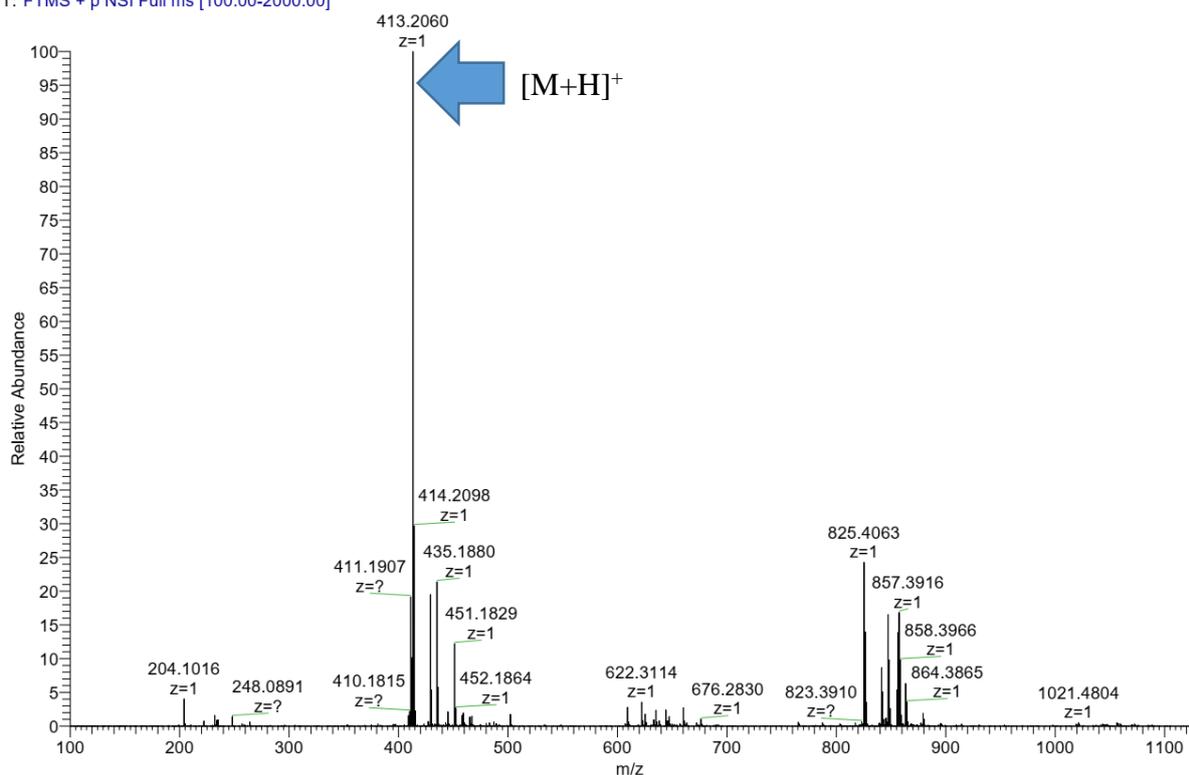


Figure 52. Spectre de masse HRESI-MS du composé RC5

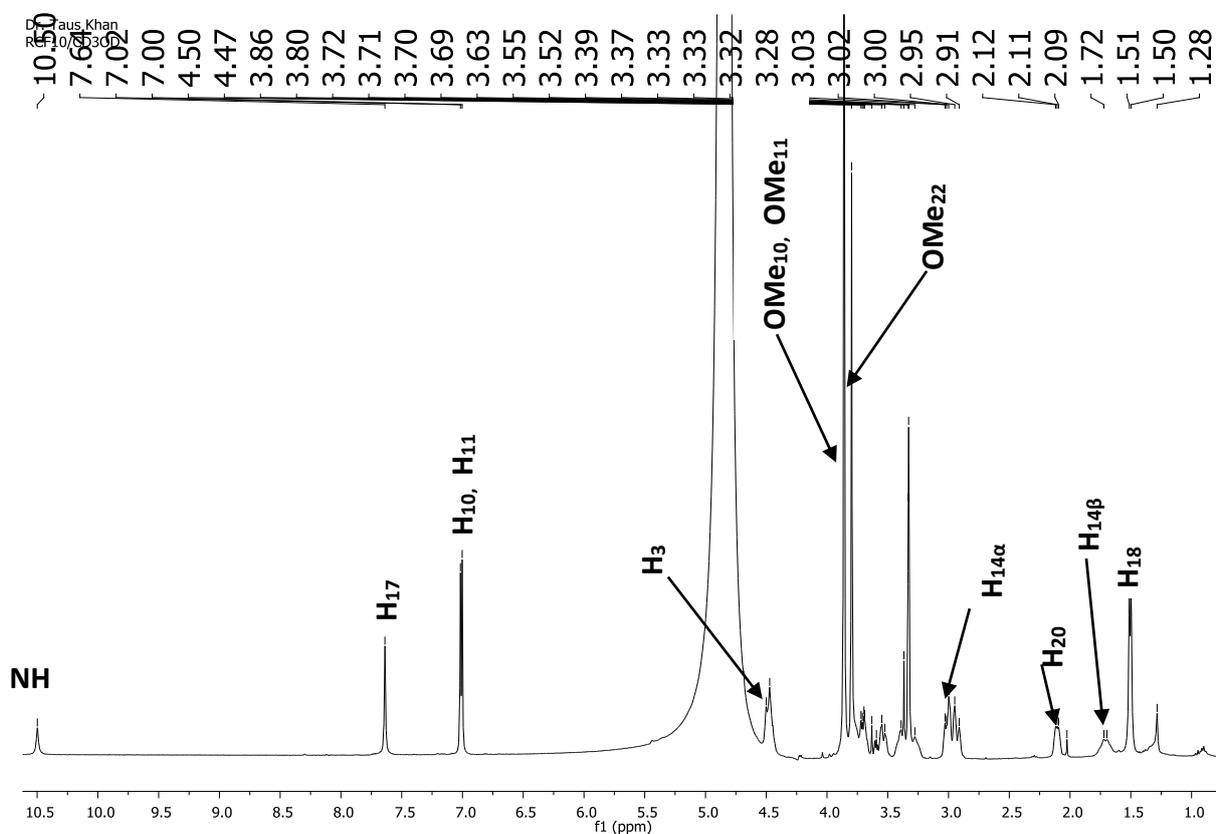


Figure 53. Spectre de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de RC5

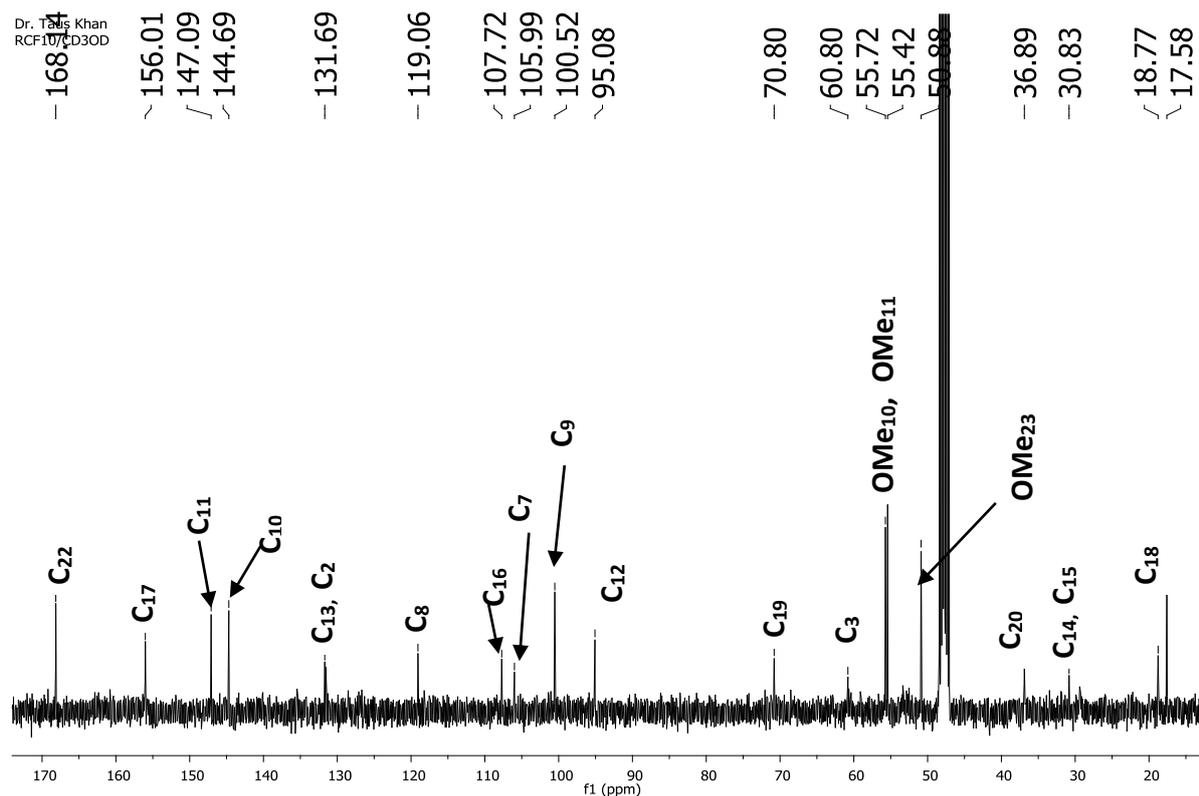
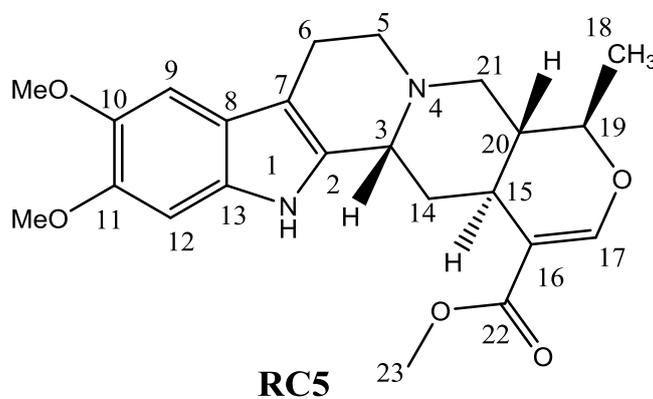


Figure 54. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC5



3-*epi*-rauvanine

**Tableau 8: Données spectrales RMN du composé RC5 (CD<sub>3</sub>OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz) $\delta_C$	
			(Iwu et Court, 1982)	
2	—	131, 7	—	131, 9
3	4, 49 d (11, 3)	60, 8	4, 62 dd (11, 0 ; 3, 0)	57, 8
5	3, 68 d (2, 5) 3, 54 d (10, 0)	52, 5	3, 45 m 3, 12 m	52, 6
6	3, 27 m	18, 8	3, 35 m	19, 2
7	—	106, 0	—	106, 2
8	—	119, 1	—	119, 9
9	7, 02 s	100, 5	6, 77 s	100, 2
10	—	144, 7	—	144, 9
11	—	147, 1	—	147, 7
12	7, 00 s	95, 1	6, 95 s	98, 9
13	—	131, 6	—	130, 6
14	3, 19 m 1, 28 s	30, 8	3, 45 d (3, 8) 2, 08 d (12, 5)	34, 3
15	2, 11 m	30, 8	2, 37 m	31, 3
16	—	107, 7	—	107, 1
17	7, 64 s	156, 0	7, 55 d (1, 5)	155, 8
18	1, 50 d (5, 7)	17, 6	1, 40 d (6, 2)	18, 8
19	4, 46 d (11, 3)	70, 8	4, 50 d (7, 0)	73, 2
20	2, 03 s	36, 9	1, 76 dd (10, 0 ; 3, 5)	36, 4
21	3, 76 m 3, 39 d (9, 3)	53, 3	3, 09 d (2, 0) 2, 71 d (3, 5)	56, 3
CH <sub>3</sub> OCO—	—	168, 1	—	168, 0
CH <sub>3</sub> OCO—	3, 80 s	50, 9	3, 74 s	51, 5
MeO—10	3, 86 s	55, 4	3, 88 s	56, 3
MeO—11	3, 86 s	55, 7	3, 88 s	56, 4
NH	10, 50 s	—	10, 80 brs	—

#### 2.2.4.2.6. Identification du composé RC6

**RC6** a l'aspect d'un solide brun amorphe, soluble dans le MeOH et est positif au test de Dragendorff. L'analyse de son spectre EI-MS<sup>+</sup> (figure 55) a montré le pic de l'ion *pseudo* moléculaire [M+H]<sup>+</sup> à  $m/z$  413,0 corroborant avec la formule moléculaire C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> et ayant 11 degrés d'insaturation. La comparaison des spectres RMN <sup>1</sup>H (Fig. 56) et <sup>13</sup>C (Fig. 57) du composé **RC6** avec ceux du composé **RC5** indique que la seule différence entre ces deux composés reside au niveau de la stéréochimie autour des carbones C-3, C-19 et C-20 ; ayant pour corrolaire le blindage des protons portés par ces carbones dans le cas du composé **RC6** : H-3 ( $\delta_H$  3,19, s) ; H-19 ( $\delta_H$  4,51, m) et H-20 ( $\delta_H$  1,73, m). L'exploitation des spectres 1D et 2D (Tableau 10) et la comparaison des valeurs des déplacements chimiques des <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C du composé **RC6** avec celles de la littérature nous a permis de l'identifier à l'isoreserpiline, précédemment isolé de *Rauvolfia tetraphylla* (Maurya et al., 2013).

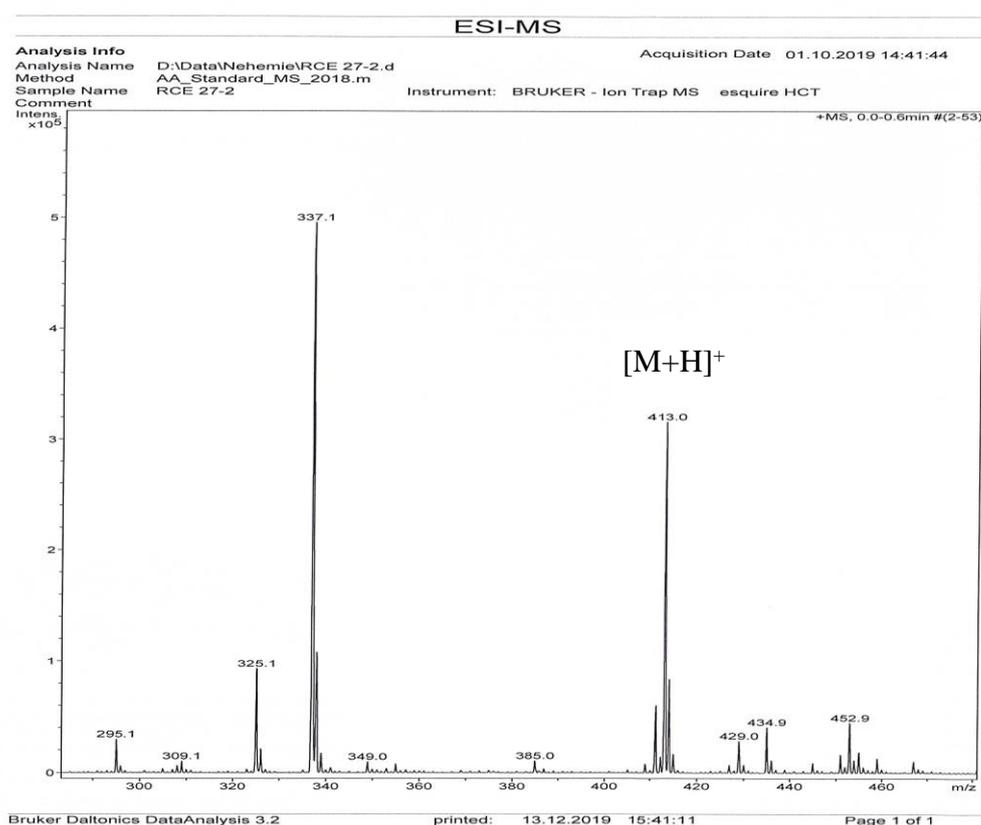


Figure 55. Spectre de masse ESI-MS du composé RC6

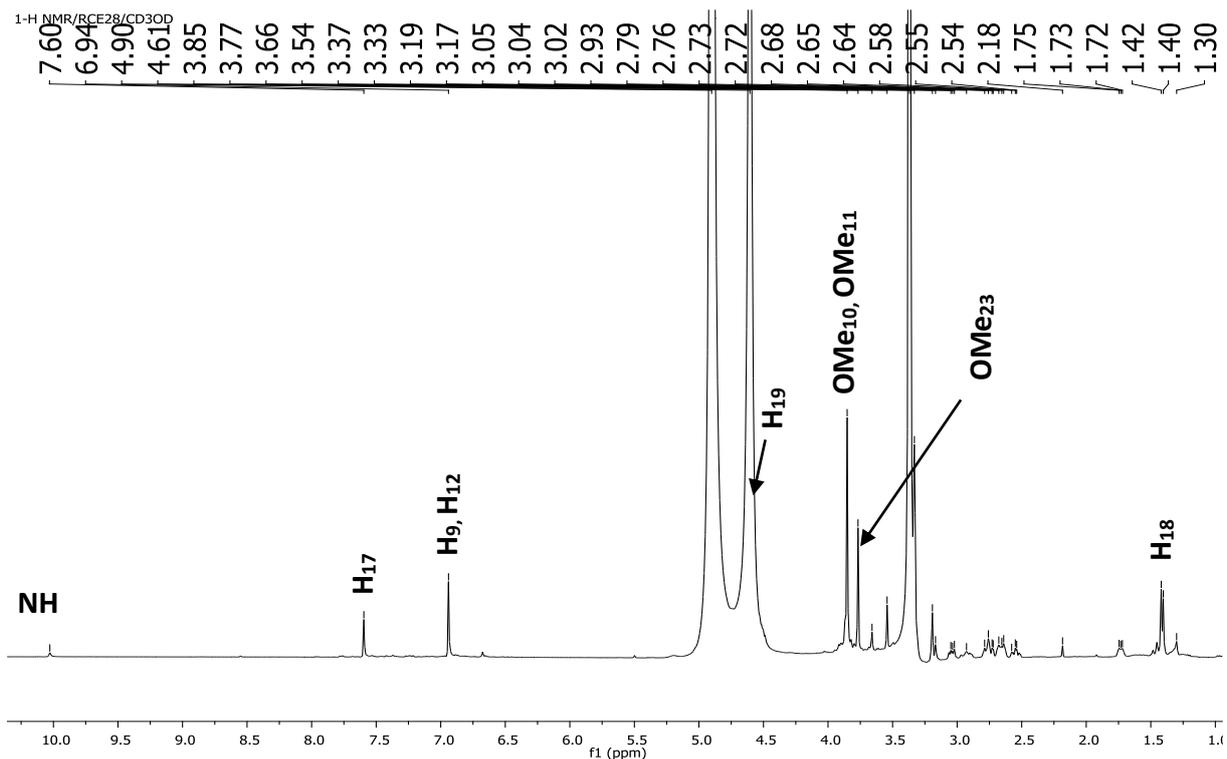


Figure 56. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC6

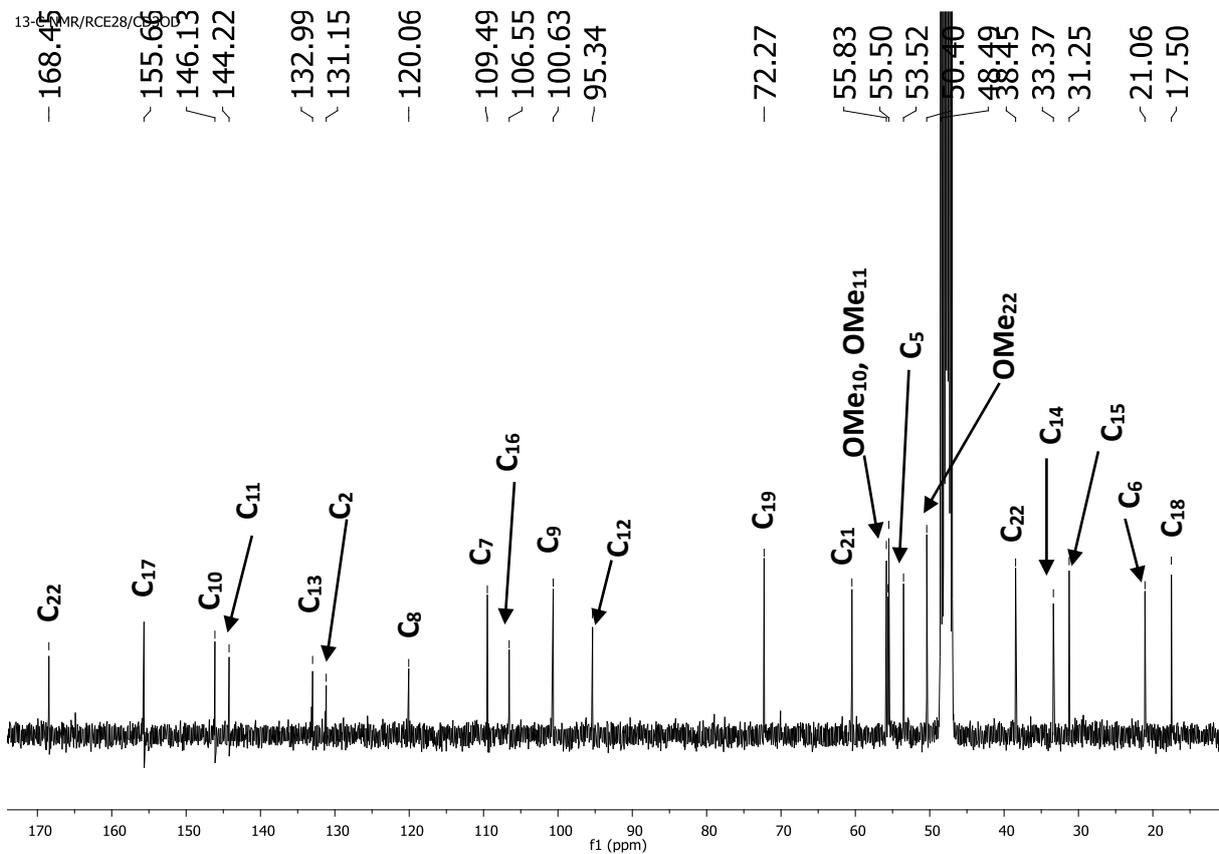
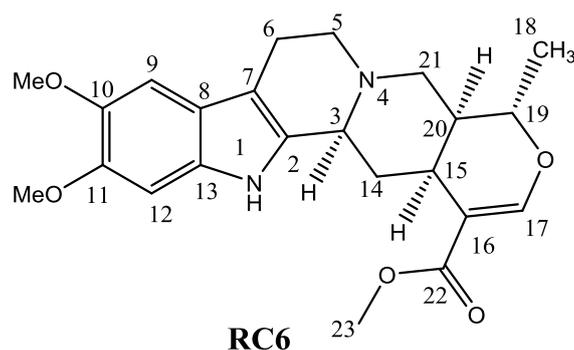


Figure 57. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC6



Isoreserpiline

**Tableau 9: Données spectrales RMN du composé RC6 (CD<sub>3</sub>OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_{\text{H}}$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ ppm (m, J en Hz)		$\delta_{\text{C}}$
			(Maurya et al., 2013)		
2	—	133, 0	—		134, 1
3	3, 33 s	60, 5	3, 32 dd (12, 2 ; 3, 3)		60, 4
5	3, 04 m 2, 56 m	53, 5	2, 91 m 2, 53 m		53, 9
6	2, 92 s 2, 66 m	21, 1	2, 88 m 2, 60 m		22, 4
7	—	109, 5	—		108, 2
8	—	120, 1	—		120, 9
9	6, 94 s	100, 6	6, 82 s		101, 9
10	—	146, 1	—		147, 3
11	—	144, 2	—		145, 6
12	6, 94 s	95, 3	6, 89 s		96, 4
13	—	131, 2	—		131, 2
14	2, 65 m 1, 47 d (12, 1)	33, 4	2, 48 d (4, 5) 1, 52 d (11, 9)		34, 9
15	2, 75 dd (12, 1 ; 7, 5)	31, 3	2, 72 d (12, 5)		31, 9
16	—	106, 6	—		110, 1
17	7, 64 s	155, 7	7, 55 s		156, 1
18	1, 41 d (6, 2)	17, 5	1, 40 d (6, 3)		18, 8
19	4, 51 m	72, 3	4, 50 d (10, 2)		72, 9
20	1, 73 m	38, 5	1, 68 dd (2, 0 ; 3, 5)		39, 1
21	3, 18 d (9, 6) 2, 73 d (3, 4)	55, 6	3, 09 d (2, 0) 2, 71 d (3, 5)		56, 6
CH <sub>3</sub> OCO—	—	168, 5	—		168, 4
CH <sub>3</sub> OCO—	3, 77 s	50, 4	3, 74 s		51, 3
MeO—10	3, 85 s	55, 8	3, 84 s		57, 3
MeO—11	3, 85 s	55, 5	3, 89 s		57, 0
NH	10, 03 s	—	8, 19 s		—

### 2.2.4.2.7. Identification du composé RC7

Le composé **RC7** possède des données physico-chimiques et spectrales qui se rapprochent de celles du composé **RC6**. Il se présente sous forme de solide brun amorphe. Sa formule brute  $C_{24}H_{32}N_2O_5$  ayant 11 insaturations est déduite de l'analyse de son spectre de masse HRESI-MS<sup>+</sup> (Fig. 58) qui a présenté le pic de l'ion *pseudo* moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  429, 2011. La comparaison des spectres RMN 1D et 2D du composé **RC7** avec ceux du composé **RC6** indique que la seule différence entre ces deux composés se trouve au niveau de l'existence de la liaison  $N_4-Me$  ( $\delta_H$  3,36 et  $\delta_C$  48,5) ainsi que le delindage du proton H-3 ( $\delta_H$  3,83 m) indiquant qu'il est orienté en  $\beta$  dans le cas du composé **RC7**, contrairement au composé **RC6** qui n'en possède pas et dont H-3 est orienté en  $\alpha$ .

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques des spectres RMN  $^1H$  (Fig. 59) et RMN  $^{13}C$  (Fig. 60) du composé **RC7** avec celles de la littérature (Tableau 10) nous a permis de l'identifier à la melinonine A, déjà isolé de *Strychnos guianensis* (Battersby et Hodson, 1960)

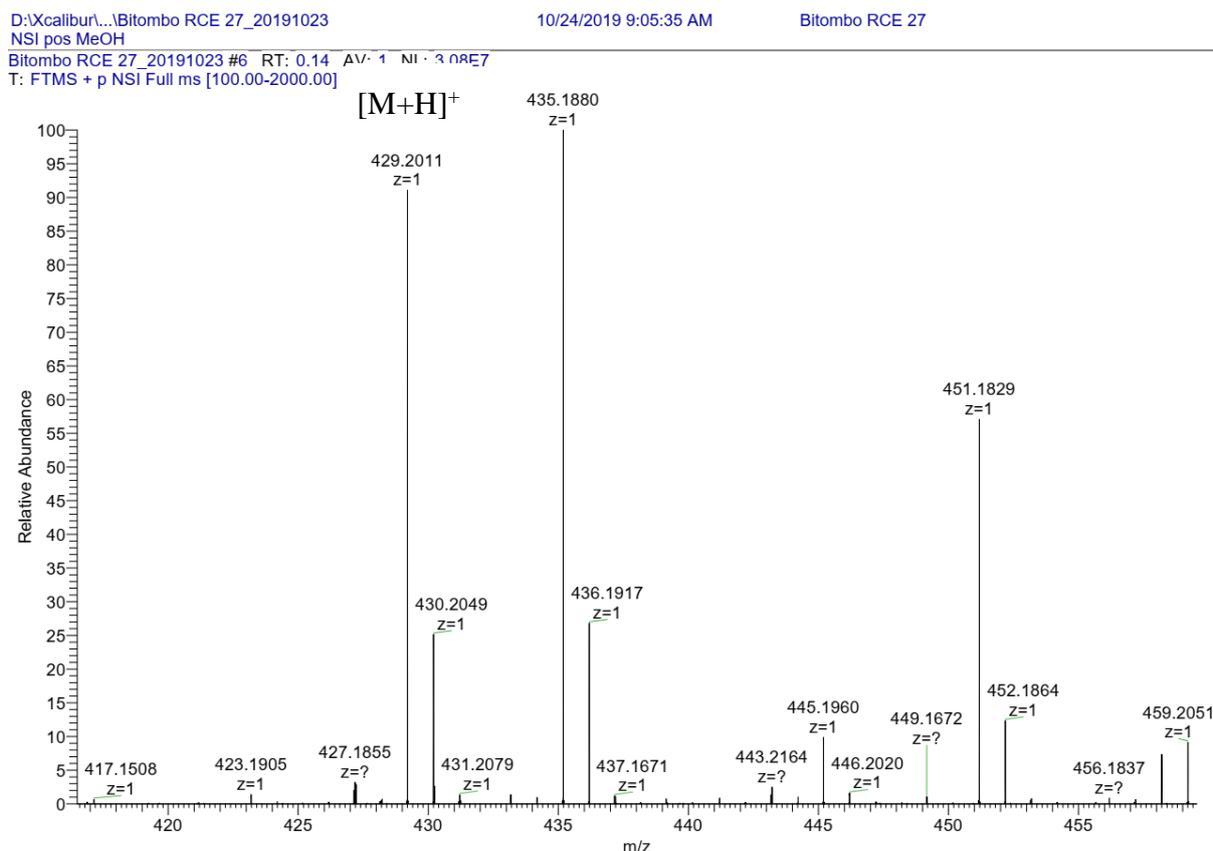


Figure 58. Spectre de masse HRESI-MS du composé RC7

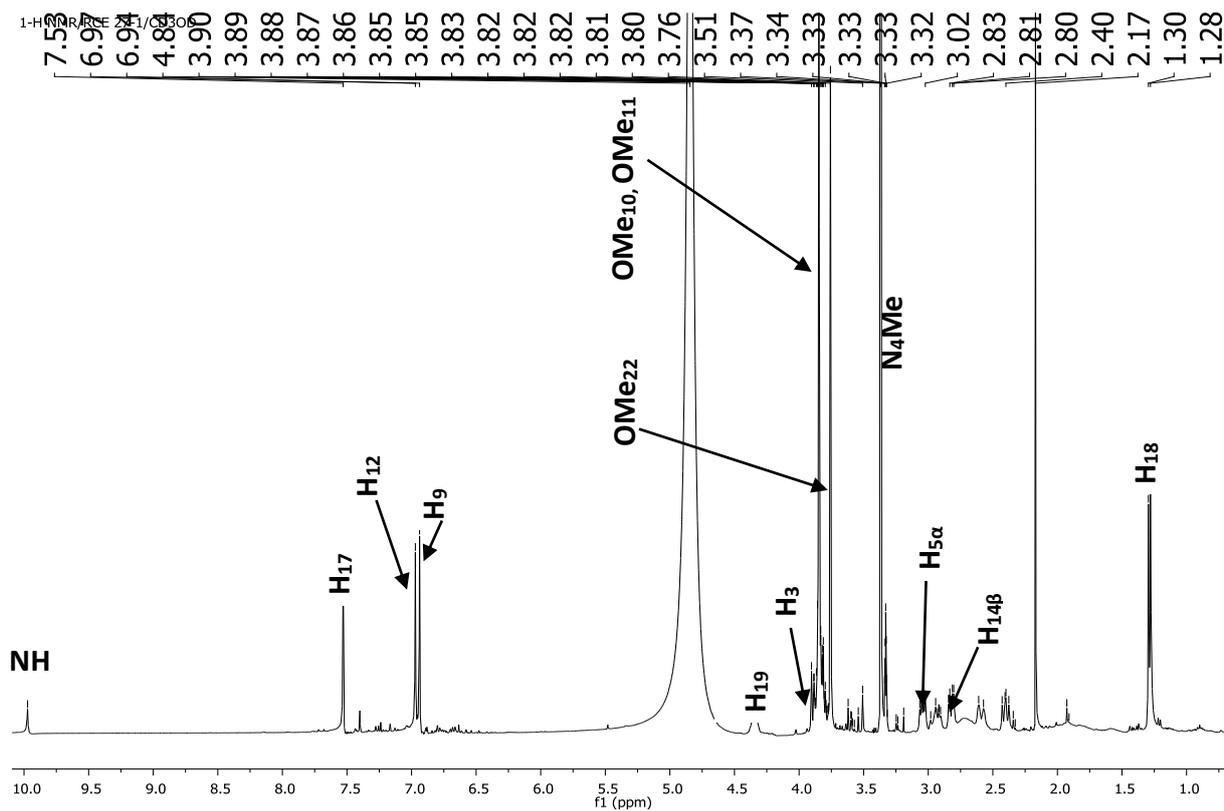


Figure 59. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC7

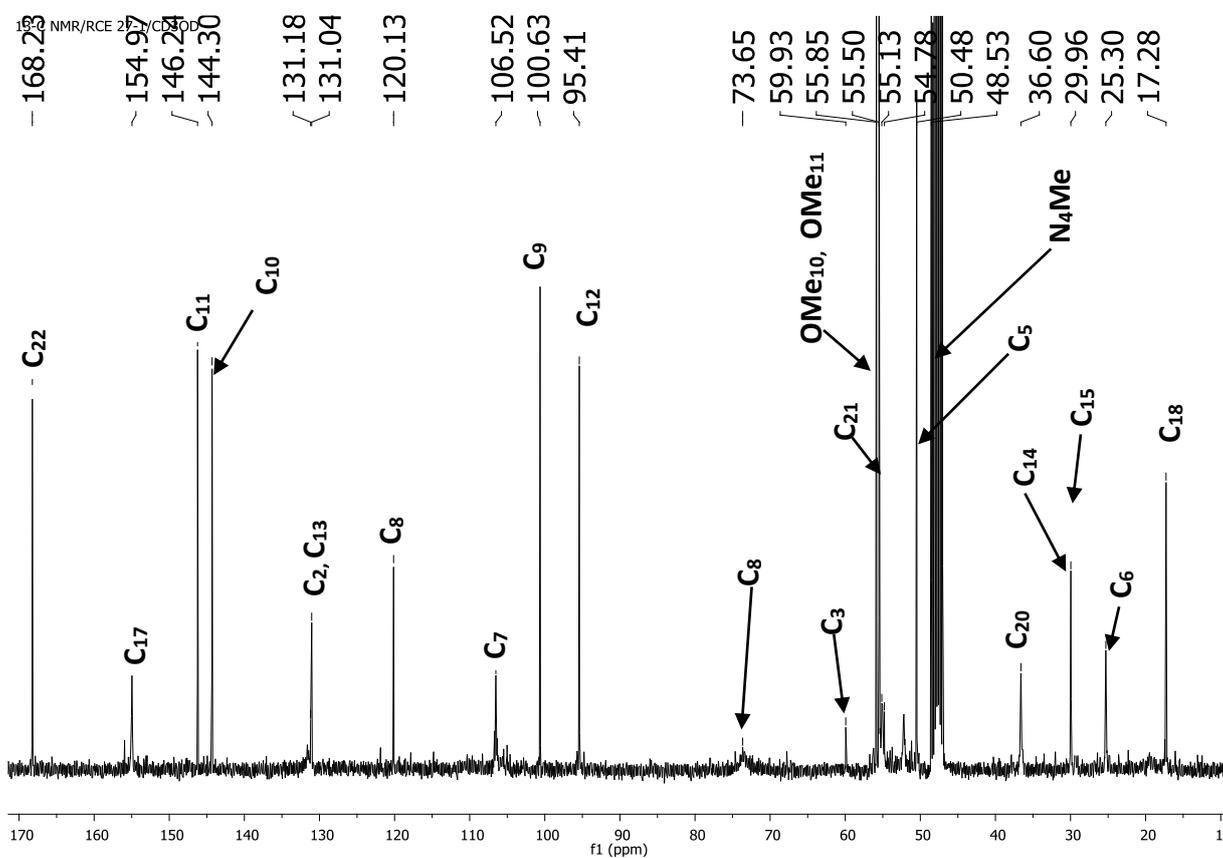
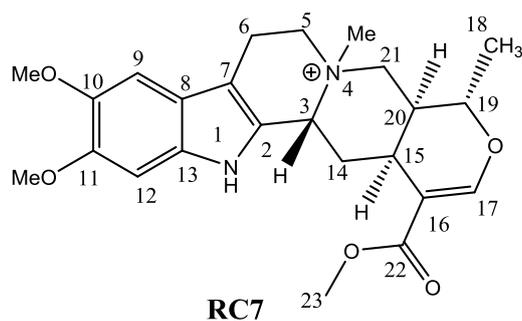


Figure 60. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC7



Melinonine A

**Tableau 10: Données spectrales RMN du composé RC7 (CD<sub>3</sub>OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$
			(Battersby et Hodson, 1960)	
2	—	131, 2	—	131, 9
3	3, 82 m	59, 9	3, 93 dd (11, 0 ; 3, 0)	57, 8
5	3, 04 dd (11, 5 ; 5, 8) 2, 82 dd (12, 0 ; 4, 1)	54, 8	3, 45 m 3, 12 m	52, 7
6	1, 92 s	22, 3	3, 35 m 2, 90 m	21, 4
7	—	106, 5	—	104, 7
8	—	120, 1	—	120, 9
9	6, 94 s	100, 6	6, 77 s	99, 9
10	—	144, 3	—	145, 0
11	—	146, 2	—	147, 3
12	6, 97 s	95, 4	6, 95 s	96, 8
13	—	131, 0	—	130, 1
14	2, 33 d (6, 1) 2, 01 m	30, 0	2, 53 d (3, 8) 2, 08 d (4, 0)	28, 5
15	2, 70 m	25, 3	2, 37 d (6, 0)	25, 5
16	—	106, 5	—	107, 1
17	7, 53 s	155, 0	7, 36 s	154, 8
18	1, 29 d (6, 4)	17, 3	1, 45 d (6, 5)	17, 8
19	4, 33 m	73, 7	4, 78 d (10, 8)	73, 2
20	1, 44 m	36, 6	1, 45 dd (11, 7)	34, 5
21	3, 84 m 3, 24 d (4, 9)	55, 1	3, 40 m 3, 07 d (11, 7)	53, 6
CH <sub>3</sub> OCO—	—	168, 2	—	167, 5
CH <sub>3</sub> OCO—	3, 75 s	50, 5	3, 74 s	51, 5
MeO—10	3, 85 s	55, 9	3, 90 s	56, 1
MeO—11	3, 85 s	55, 5	3, 90 s	56, 0
NH	10, 00 s	—	10, 8 brs	—
MeN—4	3, 36 s	48, 5	3, 23 s	49, 2

### 2.2.4.2.8. Identification du composé RC8

Le composé **RC8** a été obtenu sous la forme d'une poudre amorphe pourpre. Les spectres UV et IR, se sont montrés similaires à ceux de **RC7** décrit précédemment. Le spectre HRESI-QTOF-SM+ (fig. 61) a indiqué un ion pseudomoléculaire à  $m/z$  413,2061  $[M+H]^+$ , correspondant à la formule brute  $C_{23}H_{28}N_2O_5$ , pour 11 insaturations .

L'analyse des données RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  (fig. 62 et 63) dans le chloroforme deutéré du composé **RC8** indique qu'ils sont étroitement similaires à ceux de **RC7**, mais à une seule différence : l'absence du méthyle dans le spectre carbone (Figure 52) du composé **RC8**. Cette observation combinée à l'analyse des spectres 2D ainsi que la comparaison avec les données de la littérature a permis d'identifier **RC8** à la reserpiline, précédemment isolée des feuilles de *Rauvolfia vomitoria* (Amer et Court, 1980).

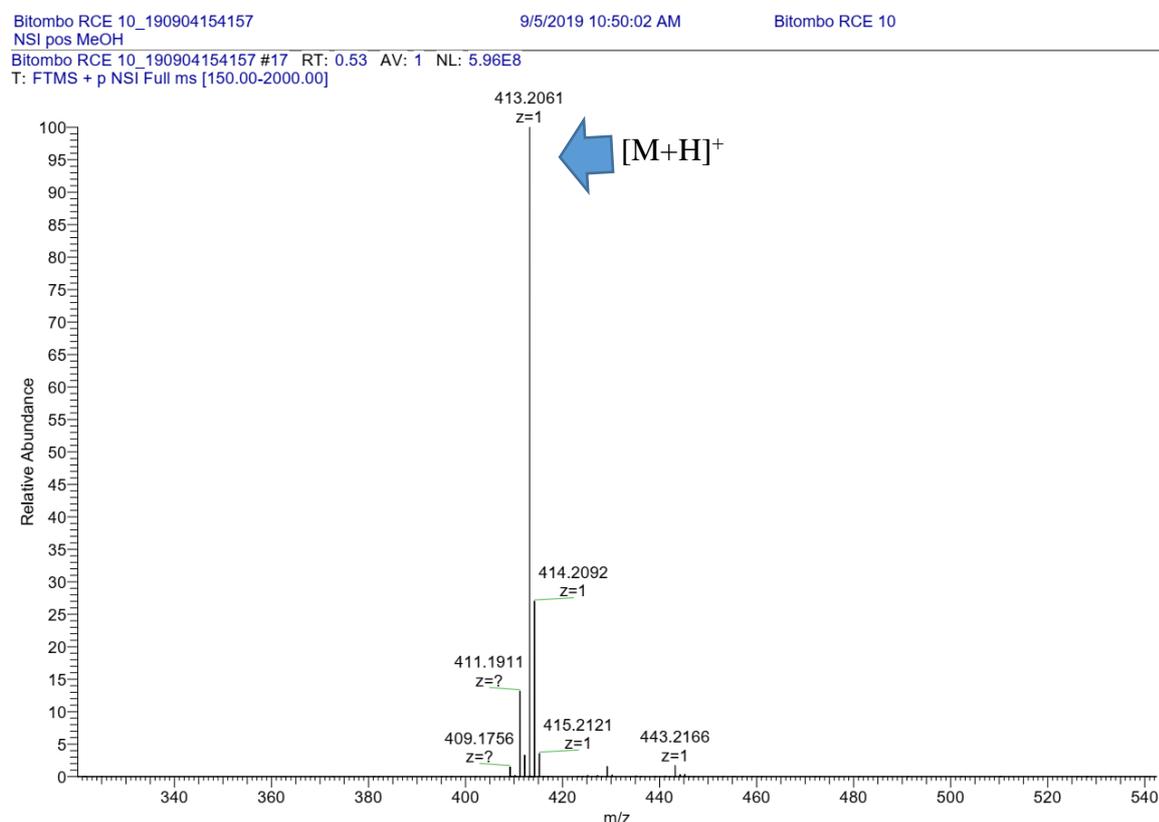
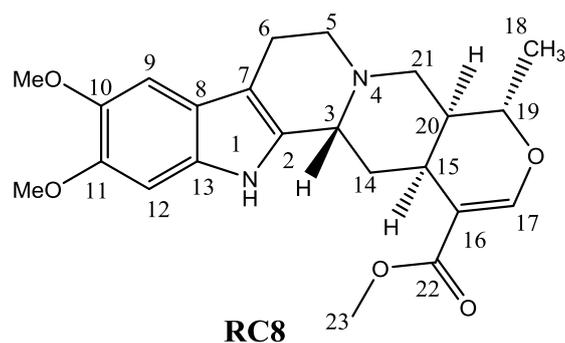


Figure 61. Spectre de masse HRESI-MS du composé RC8





Reserpiline

**Tableau 11: Données spectrales RMN du composé RC8 (CDCl<sub>3</sub>, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)		$\delta_C$
			(Amer et Court, 1980)		
<b>2</b>	—	131, 6	—	131, 7	
<b>3</b>	3, 88 d (3, 6)	56, 2	3, 93 dd (11, 0 ; 3, 0)	55, 1	
<b>5</b>	3, 33 d (4, 9)	51, 4	3, 45 m 3, 12 m	52, 5	
<b>6</b>	3, 14 s 2, 69 m	20, 2	3, 35 m 2, 90 m	19, 4	
<b>7</b>	—	106, 4	—	107, 8	
<b>8</b>	—	119, 3	—	120, 9	
<b>9</b>	6, 81 s	100, 0	6, 90 s	101, 4	
<b>10</b>	—	147, 0	—	147, 3	
<b>11</b>	—	145, 0	—	145, 6	
<b>12</b>	6, 94 s	95, 4	6, 90 s	96, 2	
<b>13</b>	—	130, 8	—	131, 0	
<b>14</b>	1, 23 m	29, 3	2, 53 d (3, 8) 2, 08 d (4, 0)	31, 0	
<b>15</b>	2, 48 m	25, 0	2, 37 d (6, 0)	26, 2	
<b>16</b>	—	107, 6	—	107, 8	
<b>17</b>	7, 50 s	155, 6	7, 55 s	155, 6	
<b>18</b>	1, 32 d (6, 4)	18, 4	1, 33 d (6, 5)	18, 8	
<b>19</b>	4, 43 m	72, 6	4, 43 m	73, 5	
<b>20</b>	1, 52 m	37, 2	1, 45 dd (11, 7)	37, 8	

<b>21</b>	3, 33 d (4, 9) 3, 24 d (4, 9)	51, 4	3, 40 m 3, 07 d (11, 7)	50, 8
<b>CH<sub>3</sub>OCO—</b>	—	167, 7	—	168, 2
<b>CH<sub>3</sub>OCO—</b>	3, 71 s	51, 4	3, 73 s	51, 3
<b>MeO—10</b>	3, 86 s	56, 4	3, 91 s	56, 9
<b>MeO—11</b>	3, 86 s	56, 4	3, 88 s	57, 0
<b>NH</b>	8, 96 s	—	9, 82 s	—

#### 2.2.4.2.9. Identification du composé RC9

**RC9** obtenu sous la forme d'un solide amorphe jaunâtre, possède de données spectrales qui se rapprochent étroitement de celles du composé **RC8**. Sa formule brute C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ayant 12 insaturations est déduite de l'analyse de son spectre de masse HREI-MS<sup>-</sup> (fig. 64) qui a présenté le pic de l'ion *pseudo* moléculaire [M-H]<sup>-</sup> à *m/z* 409, 1750.

Le spectre d'absorption UV montre deux maxima à 226 et 299 nm, suggérant la présence d'un noyau indolique substitué (Verpoorte, 1986). En outre, le spectre IR indique la présence de groupes amine (3366 cm<sup>-1</sup>), carbonyle d'ester conjugué (1701 cm<sup>-1</sup>) et methoxyl indole (1570 cm<sup>-1</sup>) (Verpoorte, 1986).

La comparaison des spectres RMN 1D et 2D du composé **RC9** avec ceux du composé **RC8** indique que la seule différence entre ces deux composés se trouve au niveau de l'existence d'une double liaison exocyclique entre le carbone C-19 ( $\delta_C$  155,9) et CH<sub>2</sub>-18 ( $\delta_H$  4,63 ; d ; *J* = 1,5 Hz ; H-18a ;  $\delta_H$  4,50 ; d ; *J* = 1,5 Hz ; H-18b et  $\delta_C$  95,5).

Cette observation combinée à l'analyse des spectres 2D ainsi que la comparaison avec les données de la littérature a permis d'identifier **RC9** à la darcyribéirine, précédemment isolé des racines de *Rauwolfia grandiflora* (Cancelieri *et al.*, 2002).

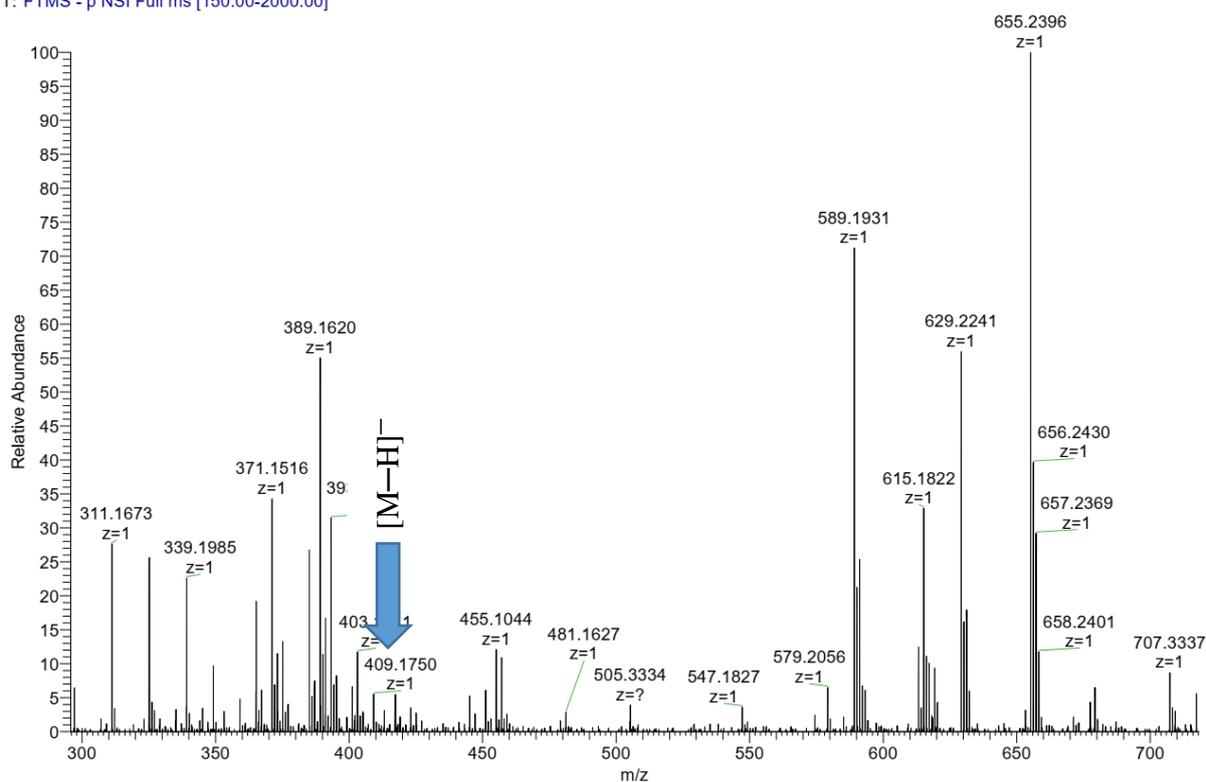
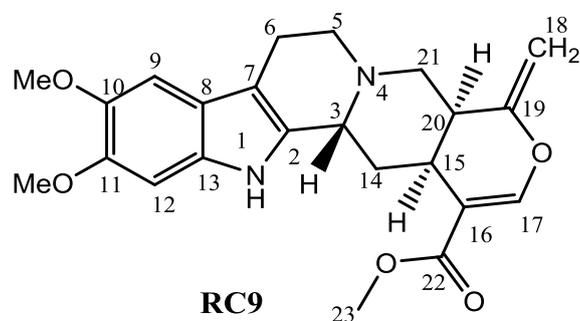


Figure 64. Spectre de masse HRESI-MS du composé RC9



Darcyibeirine

**Tableau 12: Données spectrales RMN du composé RC9 (DMSO-d6, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$
			(Cancelieri et al., 2002)	
<b>2</b>	—	132,7	—	131,7
<b>3</b>	3,36 dddd (9,4 ; 3,1 ; 2,4 ; 1,5)	54,2	3,33 dd (11,0 ; 3,0)	59,9
<b>5</b>	3,02 ddd (11,6 ; 5,8 ; 1,5) 2,61 ddd (11,6 ; 11,2 ; 4,5)	51,5	3,45 m 3,12 m	52,5
<b>6</b>	2,80 dddd (14,8 ; 11,2 ; 5,8 ; 2,4) 2,51 dddd (14,8 ; 4,5 ; 1,5 ; 1,5)	19,8	3,35 m 2,90 m	19,4
<b>7</b>	—	106,2	—	107,8
<b>8</b>	—	120,0	—	120,9
<b>9</b>	6,88 s	100,0	6,81 s	101,4
<b>10</b>	—	144,3	—	144,9
<b>11</b>	—	145,9	—	146,4
<b>12</b>	6,94 s	96,6	6,89 s	96,2
<b>13</b>	—	130,6	—	131,0
<b>14</b>	2,69 ddd (13,6 ; 5,1 ; 3,1) 1,77 ddd (13,6 ; 9,4 ; 4,3)	29,5	2,53 d (3,8) 2,08 d (4,0)	31,0
<b>15</b>	2,80 ddd (5,1 ; 4,5 ; 4,3)	28,4	2,37 d (6,0)	26,2
<b>16</b>	—	108,4	—	107,8
<b>17</b>	7,44 s	151,0	7,46 s	152,6
<b>18</b>	4,63 d (1,5) 4,50 d (1,5)	95,5	4,53 d (3,5) 4,25 d (3,5)	93,8
<b>19</b>	—	155,9	—	155,6
<b>20</b>	2,90 ddd (8,9 ; 4,6 ; 4,5)	35,9	2,45 dd (11,7)	37,8
<b>21</b>	2,84 dd (11,4 ; 4,6) 2,62 dd (11,4 ; 8,9)	51,7	2,70 m 2,53 d (11,5)	50,8
<b>CH<sub>3</sub>OCO—</b>	—	165,7	—	168,0
<b>CH<sub>3</sub>OCO—</b>	3,74 s	50,6	3,73 s	51,3
<b>MeO—10</b>	3,77 s	56,4	3,78 s	56,9
<b>MeO—11</b>	3,76 s	56,1	3,75 s	56,3
<b>NH—1</b>	10,12 s	—	9,82 s	—

#### 2.2.4.2.10. Identification du composé RC10

Le composé **RC10** a été obtenu sous la forme d'une poudre amorphe brune foncée. Son spectre de masse HRESI-SM<sup>+</sup> (fig. 65) a indiqué un ion moléculaire à  $m/z$  383, 1954 [M+H]<sup>+</sup>, correspondant à la formule brute C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, indiquant 11 insaturations et 30 unités de masse en moins que **RC6**. Les spectres UV et IR, sont similaires à ceux des rauwolfianoides (A–B) décrites précédemment.

L'analyse des spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans le chloroforme deutéré du composé **RC10** indique qu'il est très proche de **RC6**. Toutefois on note l'absence d'un groupement méthoxy en position 11 du noyau indole du composé **RC10**.

L'ensemble de ces observations combinées à l'analyse des spectres 2D ainsi que la comparaison avec les données de la littérature a permis d'identifier **RC10** à la 10-méthoxytétrahydroalstonine, précédemment isolée des feuilles de *Rauvolfia tetraphylla* L. (Gupta et al., 2012)

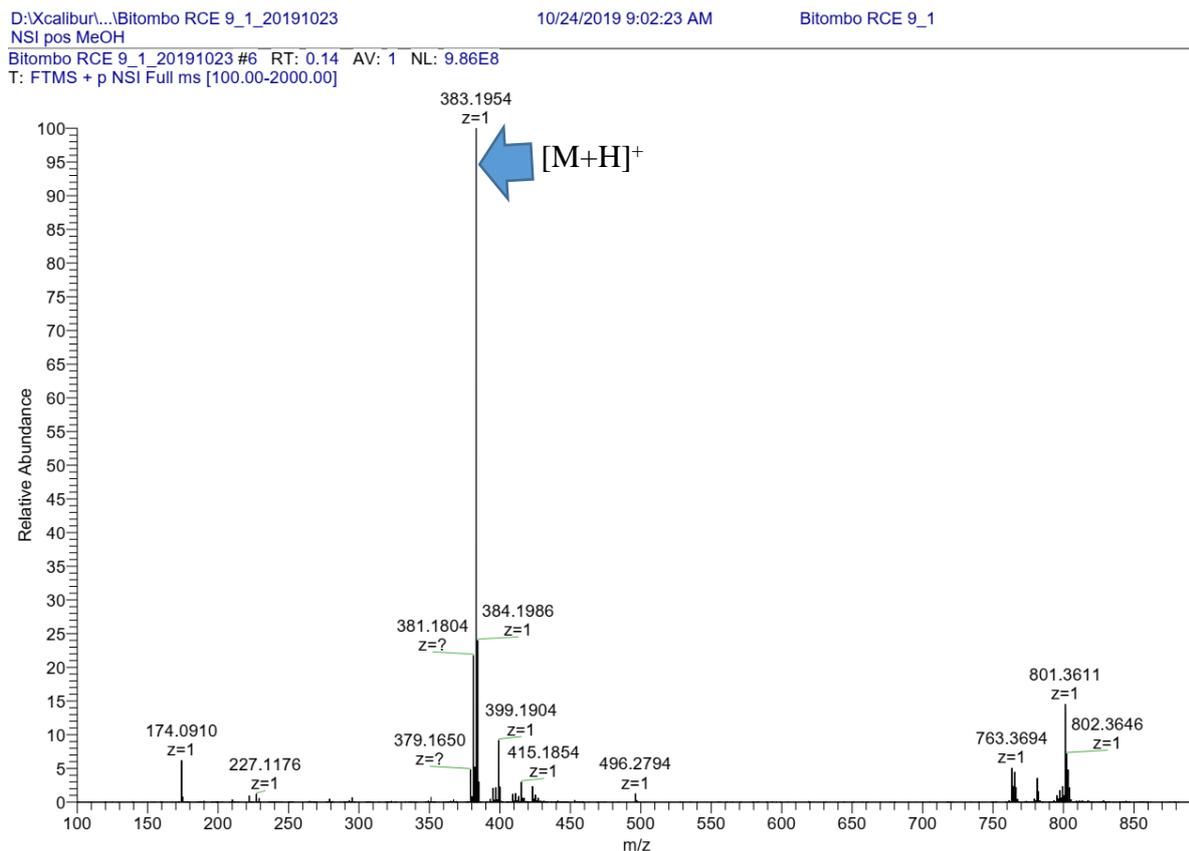
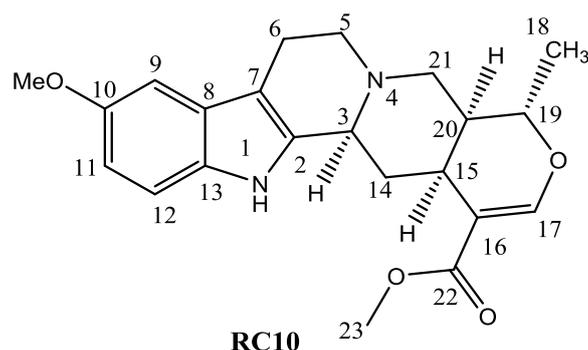


Figure 65. Spectre de masse HRESI-MS du composé RC10



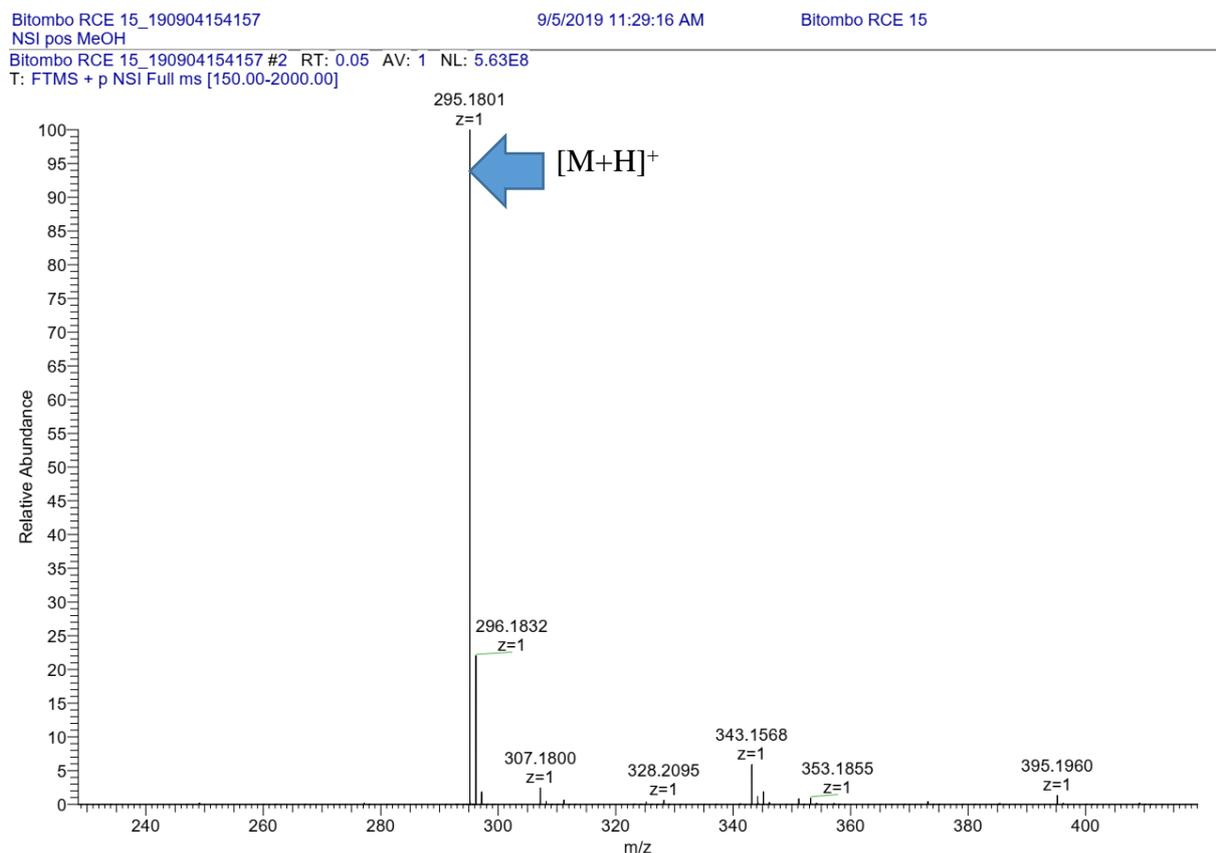
10-Methoxytetrahydroalstonine

**Tableau 13: Données spectrales RMN du composé RC10 (CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$
			(Gupta et al., 2012)	
<b>2</b>	—	136, 7	—	134, 1
<b>3</b>	3, 34 d (10, 8)	60, 4	3, 32 dd (12, 2 ; 3, 3)	60, 4
<b>5</b>	2, 50 m 2, 90 m	53, 5	2, 91 m 2, 53 m	53, 9
<b>6</b>	2, 62 m 2, 93 m	22, 1	2, 88 m 2, 60 m	22, 4
<b>7</b>	—	109, 5	—	108, 3
<b>8</b>	—	127, 4	—	128, 2
<b>9</b>	6, 91 d (2, 1)	100, 6	6, 82 s	101, 4
<b>10</b>	—	154, 2	—	154, 6
<b>11</b>	6, 79 dd (8, 1 ; 2, 1)	111, 0	—	111, 4
<b>12</b>	7, 12 d (8, 7)	111, 4	6, 89 s	111, 8
<b>13</b>	—	131, 2	—	131, 9
<b>14</b>	2, 55 m 1, 50 ddd (12, 3 ; 12, 3 ; 12, 0)	33, 4	2, 48 d (4, 5) 1, 52 d (11, 9)	34, 8
<b>15</b>	2, 75 m	31, 3	2, 72 d (12, 5)	31, 9
<b>16</b>	—	106, 6	—	110, 1
<b>17</b>	7, 59 s	155, 7	7, 55 s	156, 1
<b>18</b>	1, 39 d (6, 0)	17, 5	1, 40 d (6, 3)	18, 8
<b>19</b>	4, 49 dq (10, 2 ; 6, 0)	72, 3	4, 50 d (10, 2)	72, 9
<b>20</b>	1, 66 d (9, 3)	38, 5	1, 68 dd (2, 0 ; 3, 5)	39, 1
<b>21</b>	2, 66 m 3, 06 d (12, 0)	55, 6	3, 09 d (2, 0) 2, 71 d (3, 5)	56, 7
<b>CH<sub>3</sub>OCO—</b>	—	168, 5	—	168, 4
<b>CH<sub>3</sub>OCO—</b>	3, 75s	50, 4	3, 74 s	51, 3
<b>MeO—10</b>	3, 83 s	55, 8	3, 84 s	56, 5
<b>NH—1</b>	8, 2 s	—	8, 19 s	—

### 2.2.4.2.11. Identification du composé RC11

**RC11** se présente sous forme de solide brun amorphe soluble dans le MeOH et répond positivement au test de Dragendorff. Son spectre de masse (Fig. 66) en ESI haute résolution révèle le pic de l'ion moléculaire à  $m/z$  295,1801  $[M+H]^+$ , suggérant la formule moléculaire  $C_{19}H_{22}N_2O$  avec 10 degrés d'insaturation.

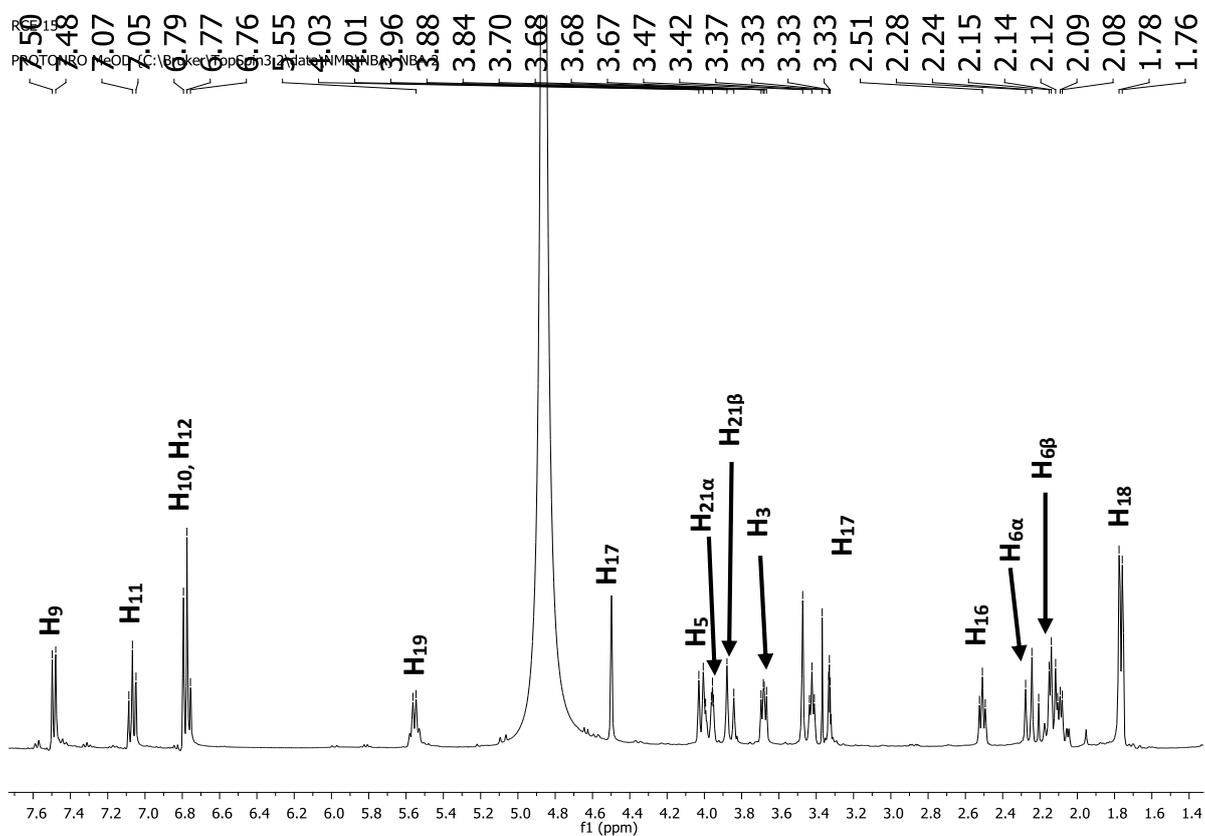


**Figure 66. Spectre de masse HRESI-MS du composé RC11**

Son spectre RMN  $^1H$  (Fig. 67) présente des signaux de protons aromatiques d'un noyau indole dont : deux doublets à  $\delta_H$  7,48 (1H, d,  $J = 7,4$  Hz) et 6,79 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz) correspondant aux protons H-9 et H-10 respectivement, deux triplets à  $\delta_H$  7,07 (1H, t,  $J = 7,8$  Hz) et 6,77 (1H, t,  $J = 7,8$  Hz) correspondant aux protons H-11 et H-12 respectivement; un groupe éthylidène à  $\delta_H$  1,77 (3H, dd,  $J = 6,8 ; 1,4$  Hz) en position 18 et un quadruplet à  $\delta_H$  5,54 (1H, q,  $J = 6,7$  Hz) affecté à un proton en position 19. Le signal à  $\delta_H$  4,50 (1H, s) indique la présence d'un groupe hydroxyle attaché au carbone C-17 ( $\delta_C$  75,0).

Sur le spectre de RMN  $^{13}C$  (Fig. 68), on observe 19 signaux de carbone non équivalents, ce qui est en accord avec le résultat du spectre de masse HRESI. L'attribution totale effectuée (Tableau 14) par un examen approfondi de la RMN 1D (RMN  $^1H$  et RMN  $^{13}C$ ), 2D (COSY, HSQC et HMBC) et en comparaison avec les données de la littérature a permis d'identifier le composé

**RC11** à la nortetraphyllicine isolée précédemment des feuilles et branches de *Rauvolfia verticillata* (Beng-Jie *et al.*, 2013).



**Figure 67.** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC11

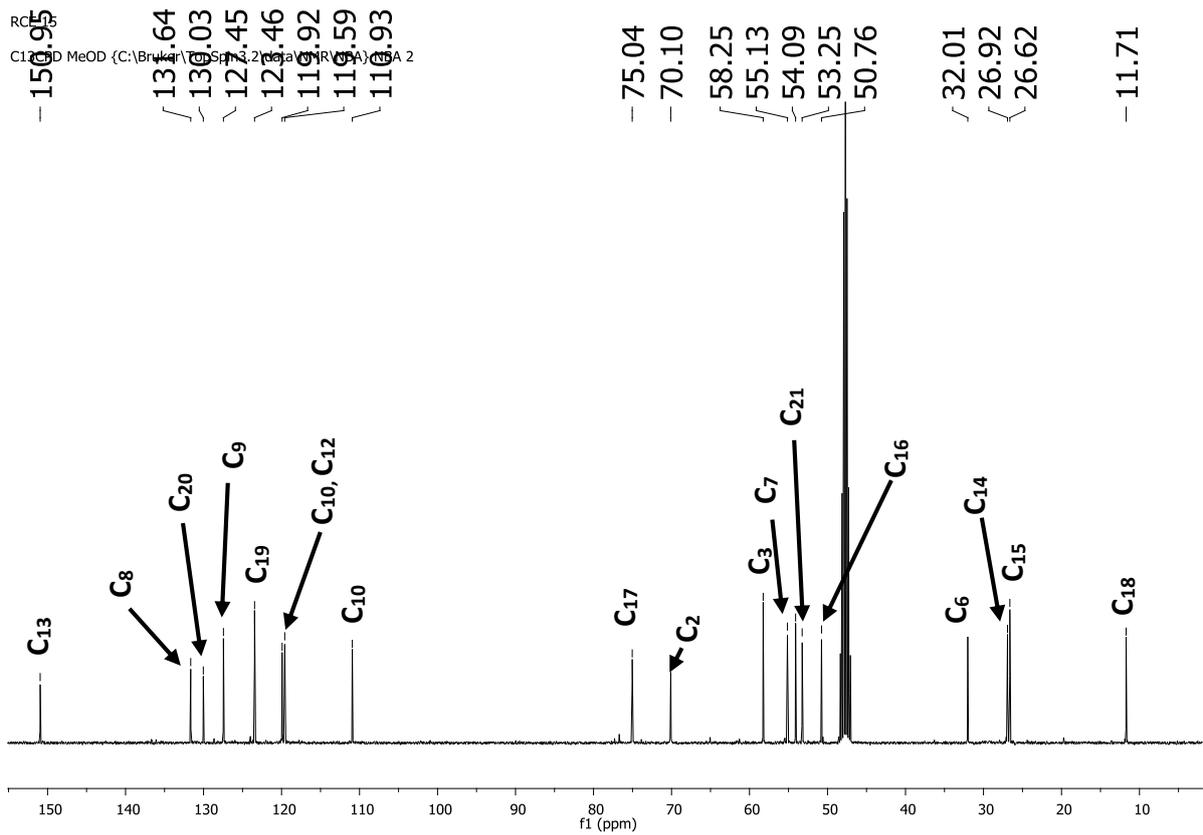
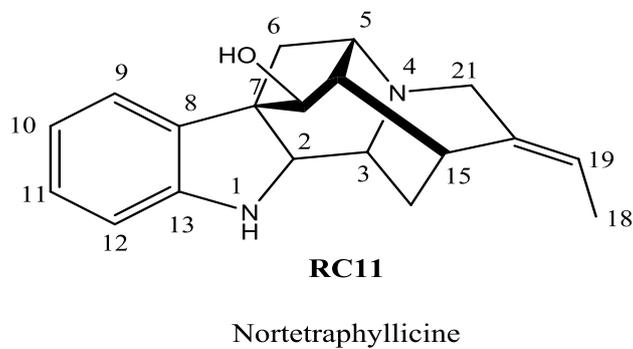


Figure 68. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC11



**Tableau 14: Données spectrales RMN du composé RC11 (CD<sub>3</sub>OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_{\text{H}}$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ ppm	$\delta_{\text{C}}$
			(m, J en Hz)	(Beng-Jie et al., 2013)
2	3, 47 s	70, 1	3, 50 s	71, 2
3	3, 68 dd (6, 9 ; 4, 9)	58, 3	3, 73 dd (11, 0 ; 3, 0)	58, 4
5	4, 02 d (9, 5)	54, 1	4, 00 m	53, 5
6	2, 26 d (13, 4) 2, 13 m	32, 0	2, 50 m 2, 33 m	32, 4
7	—	55, 1	—	54, 8
8	—	131, 6	—	130, 9
9	7, 48 d (7, 4)	123, 5	7, 26 d (7, 2)	124, 4
10	6, 79 d (7, 8)	110, 9	6, 80 d (7, 8)	111, 0
11	7, 07 t (7, 8)	127, 4	7, 08 t (7, 8)	128, 6
12	6, 77 t (7, 8)	119, 6	6, 76 d (7, 5)	120, 2
13	—	151, 0	—	152, 0
14	2, 12 m	26, 9	2, 29 d (3, 8) 2, 10 d (4, 0)	27, 0
15	2, 48 m	26, 6	2, 37 d (6, 0)	26, 5
16	2, 51 t (6, 5)	50, 8	2, 55 t (6, 0)	50, 9
17	4, 50 s	75, 0	4, 49 s	74, 8
18	1, 77 dd (6, 8 ; 1,4)	11, 7	1, 76 d (6, 4)	11, 6
19	5, 54 q (6, 7)	119, 9	5, 43 q (6, 6)	119, 8
20	—	130, 0	—	130, 4
21	3, 96 m 3, 85 m	53, 3	3, 90 m 3, 87 d (11, 7)	53, 8

### 2.2.4.2.12. Identification du composé RC12

Le composé **RC12** a été obtenu sous la forme d'une poudre amorphe brune. Les spectres UV et IR, se sont montrés similaires à ceux de la nortetraphyllicine (**RC11**) décrite précédemment. Le spectre HRESI-SM<sup>+</sup> (Fig. 69) a indiqué un ion pseudomoléculaire à  $m/z$  309,1955  $[M+H]^+$ , correspondant à la formule brute  $C_{20}H_{24}N_2O$ . Il possède 14 unités de masse en plus que la nortetraphyllicine

L'analyse des données RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  dans le méthanol deutéré du composé **RC12** (Tableau 15) indique qu'elles sont étroitement similaires à celles de **RC11**, mais à une seule différence: la présence du groupe  $N_1-Me$  ( $\delta_H$  2,81 ; s et  $\delta_C$  33,8) dans les spectres proton et carbone (Figure 59 et 60) du composé **RC12**. Cette observation combinée à l'analyse du spectre HSQC suggère que le proton porté par l'atome d'azote  $N_1$  a été remplacé par un méthyle.

L'analyse détaillée des données RMN 2D (COSY et HMBC) et en comparaison avec les données de la littérature a permis de révéler que le composé **RC12** est la tetraphyllicine isolée précédemment des feuilles de *Rauvolfia oreogiton* (Akinloye et Court, 1980).

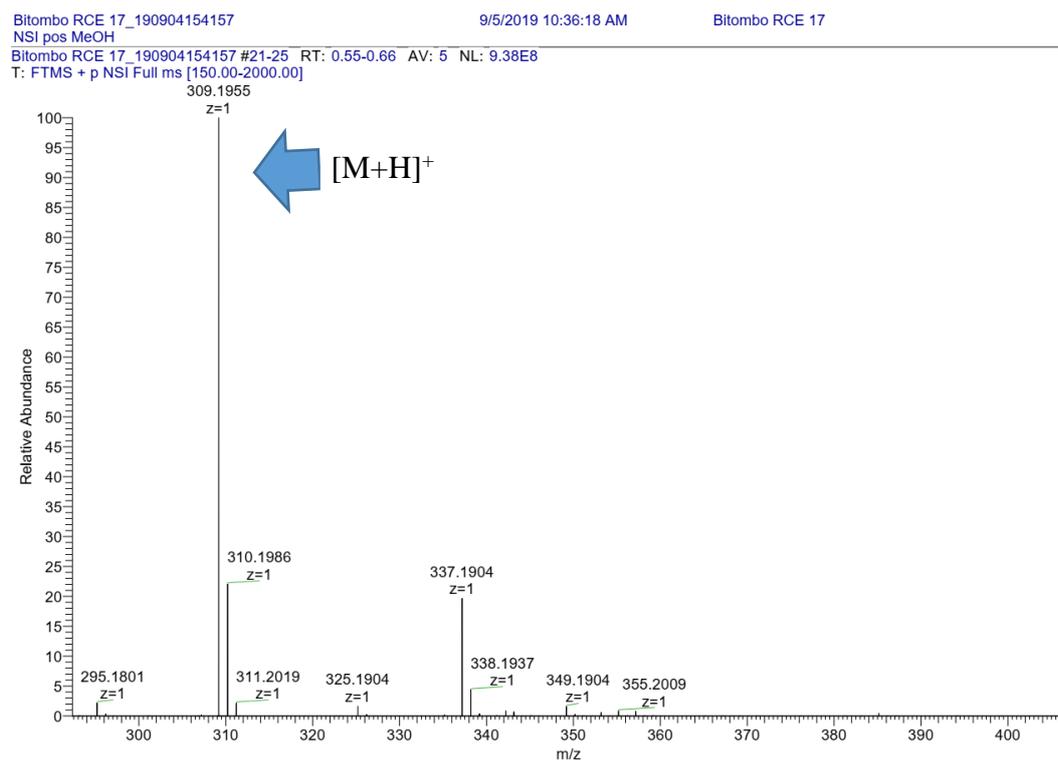


Figure 69. Spectre de masse HRESI-MS du composé RC12

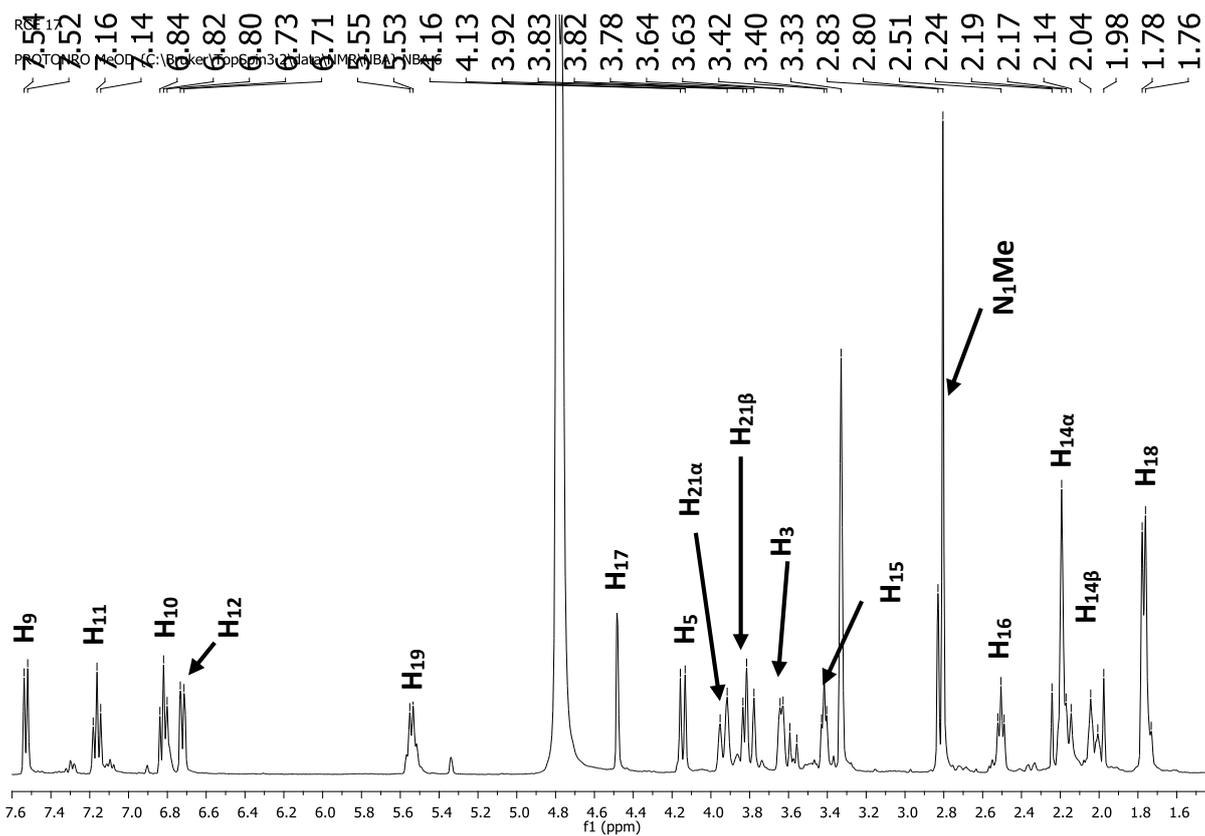


Figure 70. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC12

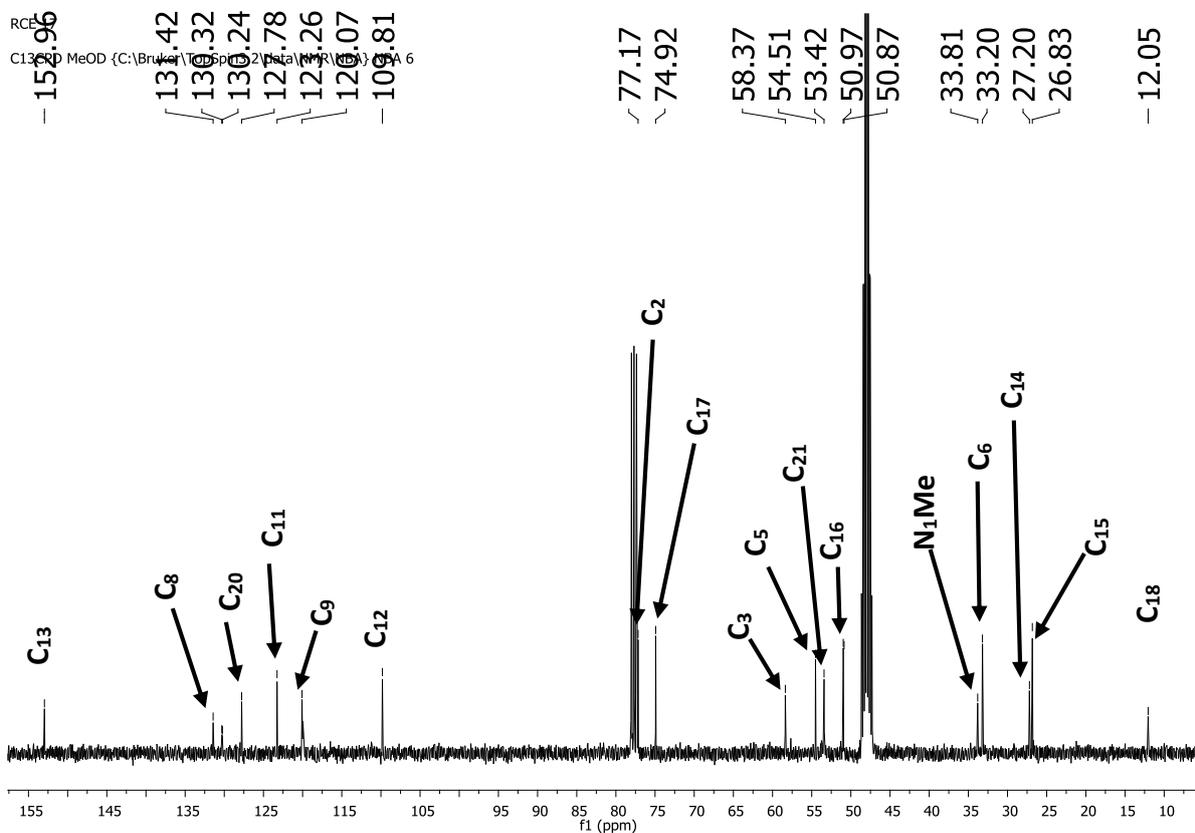
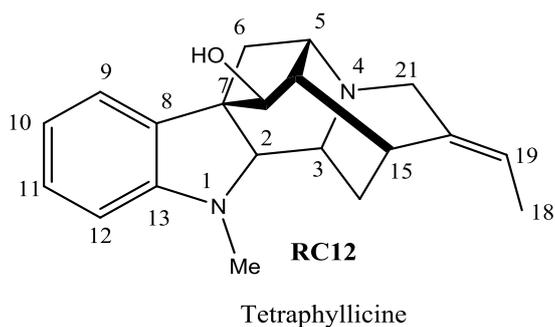


Figure 71. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC12



**Tableau 15: Données spectrales RMN du composé RC12 (CD<sub>3</sub>OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_C$	
			$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	(Akinloye et Court, 1980)
2	2, 82 d (10, 3)	77, 2	3, 50 s	79, 2
3	3, 64 d (6, 2)	58, 4	3, 73 dd (11, 0 ; 3, 0)	59, 5
5	3, 83 d (7, 6)	54, 5	4, 00 m	53, 5
6	2, 19 s	33, 2	2, 50 m 2, 33 m	32, 4
7	—	55, 1	—	56, 3
8	—	131, 4	—	132, 1
9	7, 52 d (7, 8)	123, 3	7, 50 d (7, 8)	123, 8
10	6, 81 t (7, 3)	120, 1	6, 80 t (7, 4)	117, 8
11	7, 16 t (7, 3)	127, 8	7, 14 t (7, 4)	126, 7
12	6, 71 d (8, 1)	109, 8	6, 74 d (8, 0)	109, 7
13	—	153, 0	—	153, 6
14	2, 16 m 2, 02 m	27, 2	2, 29 d (3, 8) 2, 10 d (4, 0)	27, 0
15	3, 42 t (5, 7)	26, 8	3, 37 d (6, 0)	26, 5
16	2, 51 t (6, 4)	50, 9	2, 52 t (6, 0)	51, 8
17	4, 48 s	74, 9	4, 49 s	76, 8
18	1, 77 dd (6,7)	12, 1	1, 76 d (6, 4)	12, 7
19	5, 54 q (6, 7)	120, 0	5, 48 q (6, 6)	117, 6
20	—	130, 3	—	130, 4
21	3, 93 d (14, 5) 3, 80 d (15, 1)	53, 4	3, 96 m 3, 83 d (11, 7)	53, 8
NMe-1	2, 81 s	33, 8	2, 79 s	35, 3

### 2.2.4.2.13. Identification du composé RC13

Le composé **RC13** a été isolé sous forme d'une poudre brune amorphe et est positif au test de Dragendorff. Ses données spectrales de masse EI-MS + ( $m/z$  337,0) (Fig. 72) suggèrent la formule moléculaire  $C_{21}H_{24}N_2O_2$ . Le spectre de RMN  $^1H$  (Fig. 73) montre un singulet de méthyle à  $\delta_H$  2, 21 suggérant la présence d'un groupe acyle, un proton oléfinique à  $\delta_H$  5,48 (q,  $J = 6, 7$  Hz, H-19) représentant la double liaison exocyclique trisubstituée. De plus, les signaux de protons apparaissant à  $\delta_H$  3,50 (s, H-2), 5, 24 (s, H-17), 2, 49 (t,  $J = 6, 2$  Hz, H-16) et 3, 44 (m, H-15) sont caractéristiques d'un alcaloïde de type ajmaline (Atta-ur-Rahman et Basha, 1983). L'apparition du signal à  $\delta_C$  170, 6 dans le spectre de RMN  $^{13}C$  (Fig. 74) du composé **RC13**, suggère la présence d'un groupe ester dans sa structure. Par ailleurs les signaux à  $\delta_C$  128,7 (C-20) ; 121,7 (C-19) confirment la présence de la double liaison exocyclique. Sur la base des données spectrales (Tableau 16) ci-dessus et celles rapportées dans la littérature, la structure de **RC13** a été attribuée en tant que 17-*O*-acetylnortétraphyllicine, déjà isolé des racines de *Rauvolfia nitida* par Amer et Court (1981).

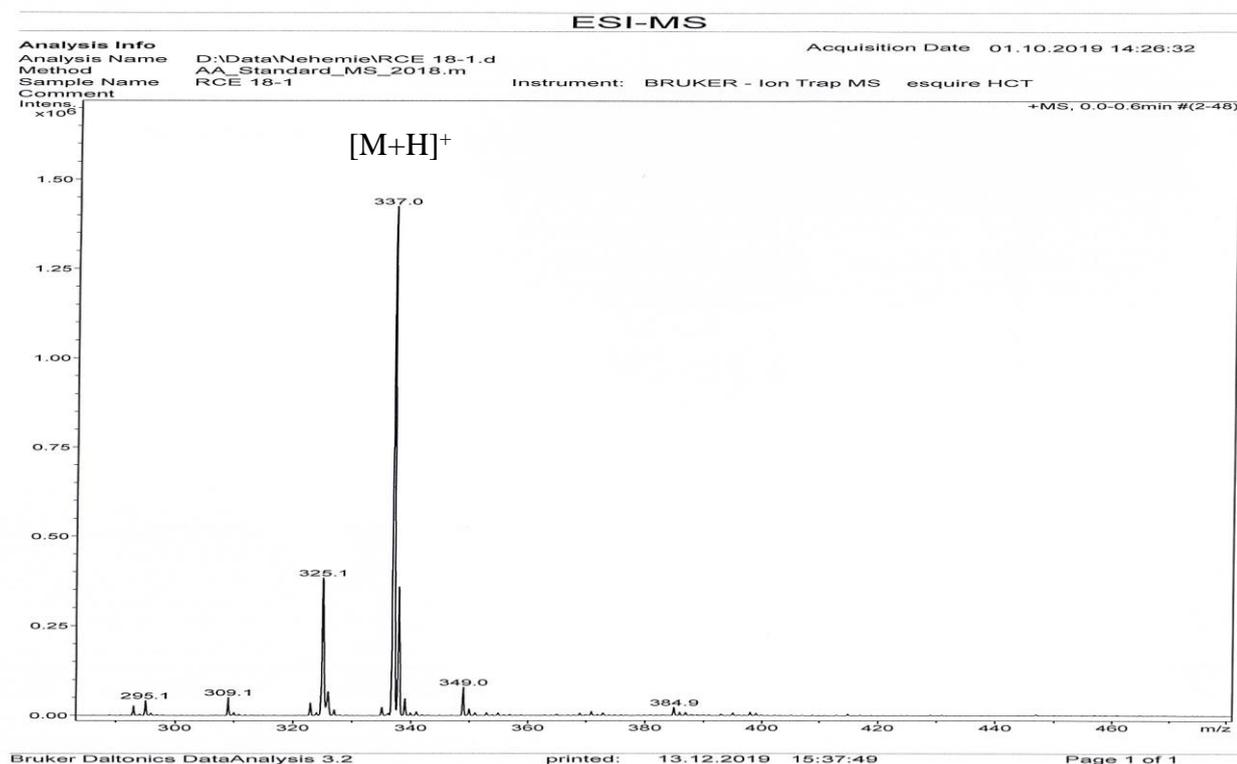


Figure 72. Spectre de masse ESI-MS du composé RC13

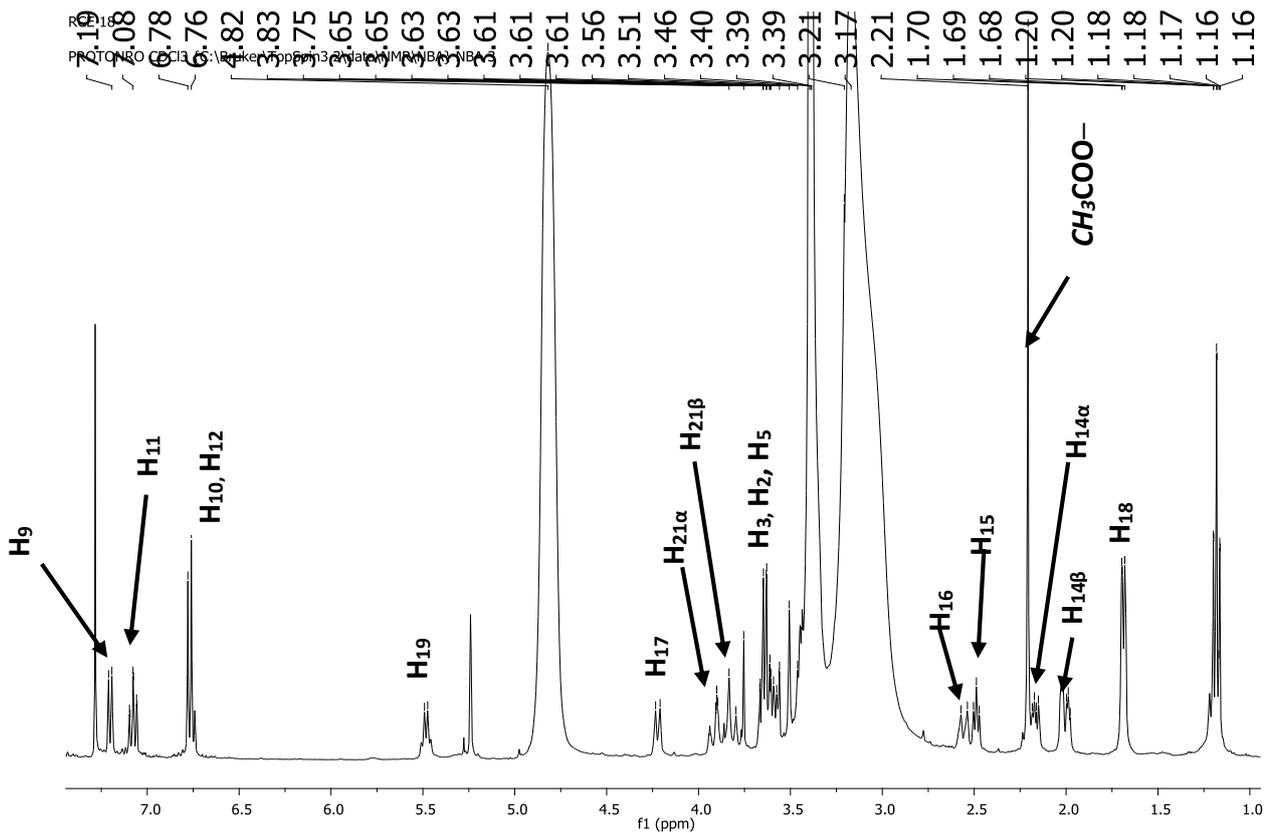


Figure 73. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de RC13

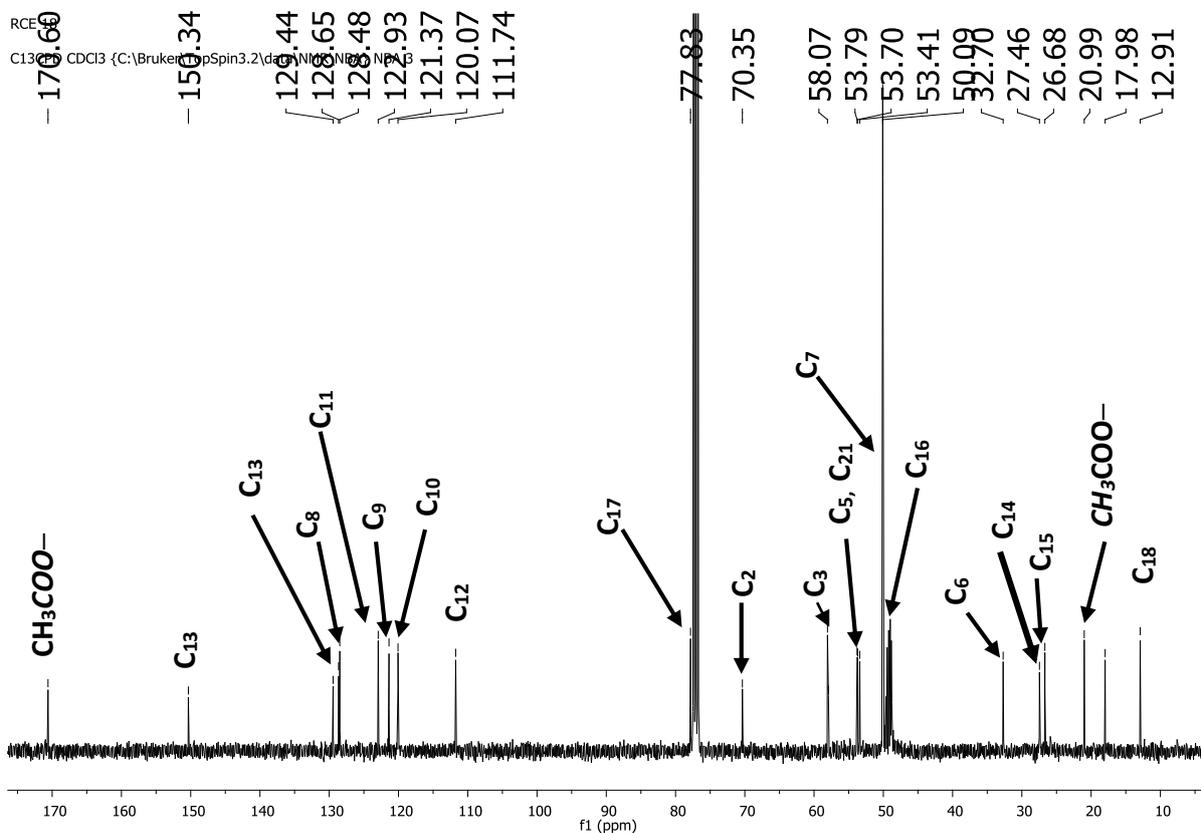
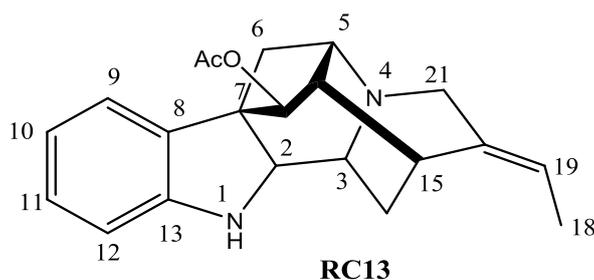


Figure 74. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de RC13



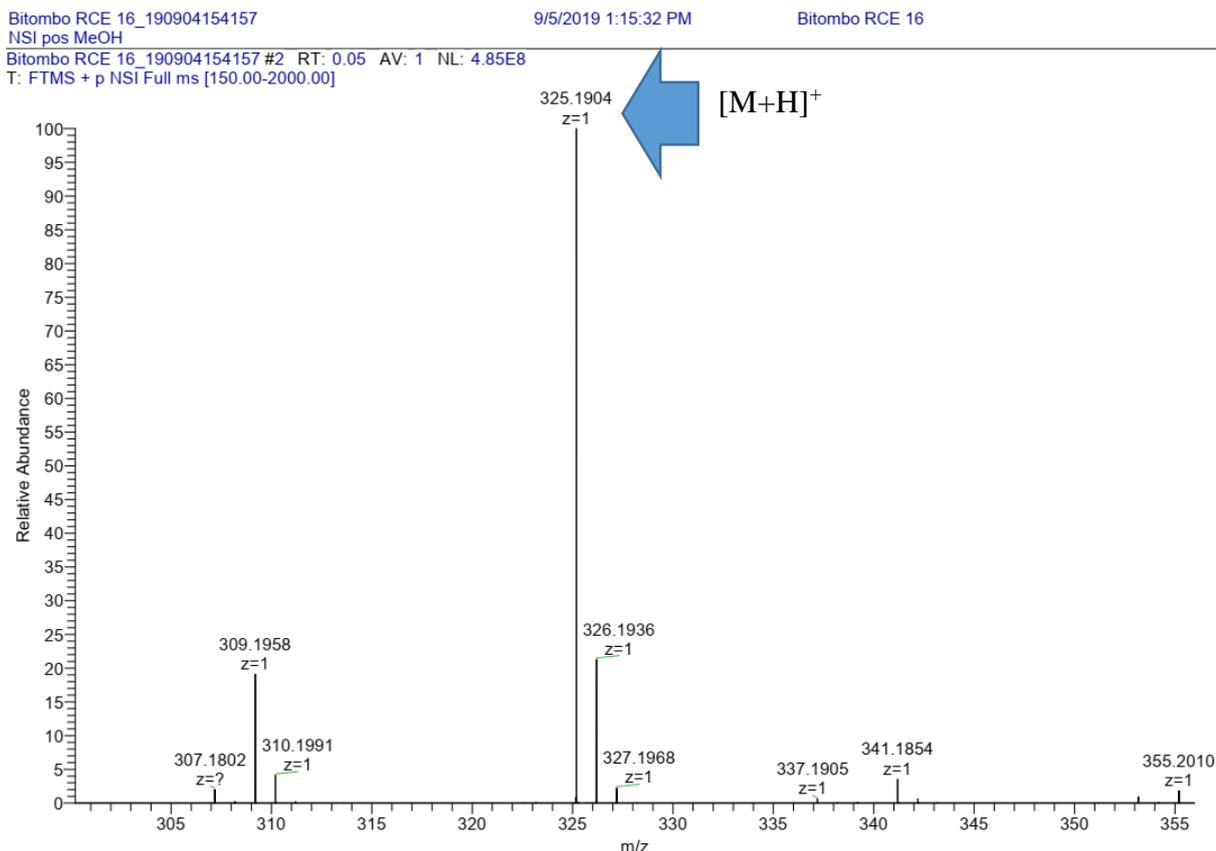
17-*O*-acetylnortetraphyllicine

**Tableau 16: Données spectrales RMN du composé RC13 (CDCl<sub>3</sub>, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, <i>J</i> en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, <i>J</i> en Hz)	$\delta_C$
			(Amer et Court, 1980)	
2	3, 50 s	70, 4	3, 48 s	71, 2
3	3, 58 m	58,1	3, 53 dd (11, 0)	58, 5
5	4, 22 d (9, 8)	53, 7	4, 00 m	53, 5
6	2, 52 d (13, 9) 1, 99 m	32, 7	2, 50 m 2, 33 m	32, 4
7	—	50,1	—	56, 3
8	—	129, 4	—	132, 1
9	7, 20 d (7, 2)	122, 9	7, 22 d (7, 3)	123, 8
10	6, 77 d (7, 7)	120, 1	6, 78 t (7, 4)	117, 8
11	7, 08 t (7, 8)	128, 5	7, 11 t (7, 4)	126, 7
12	6, 76 t (7, 5)	111, 7	6, 75 d (8, 0)	109, 7
13	—	150, 3	—	153, 6
14	2, 16 dd (8, 8 ; 4, 4) 2, 02 m	27, 5	2, 29 d (3, 4) 2, 10 d (4, 5)	27, 0
15	3, 44 m	26, 7	3, 46 d (6, 5)	26, 5
16	2, 49 t (6, 2)	48, 9	2, 55 t (6, 3)	51, 8
17	5, 24 s	77, 8	5, 21 s	76, 8
18	1, 69 d (6, 7)	12, 1	1, 70 d (6, 4)	12, 7
19	5, 48 q (6, 7)	121, 4	5, 48 q (6, 6)	117, 6
20	—	128, 7	—	130, 4
21	3, 92 m 3, 83 d (13, 0)	53, 8	3, 95 m 3, 83 d (11, 7)	53, 8
CH <sub>3</sub> COO—17	—	170, 6	—	170, 2
CH <sub>3</sub> COO—17	2, 21 s	21, 0	2, 10 s	21, 0

#### 2.2.4.2.14. Identification du composé RC14

**RC14** se présente sous forme de solide brun amorphe soluble dans le MeOH et répond positivement au test de Dragendorff. Son spectre de masse (Fig. 75) en ESI haute résolution en mode positif révèle le pic de l'ion moléculaire à  $m/z$  325,1904  $[M+H]^+$ , suggérant la formule moléculaire  $C_{20}H_{26}N_2O_2$  avec 10 degrés d'insaturation.



**Figure 75. Spectre de masse HRESI-MS du composé RC14**

Le spectre RMN  $^1H$  (Fig. 76) montre des atomes d'hydrogène liés à un cycle indole monosubstitué à  $\delta_H$  7,24 (1H, d,  $J = 8,8$  ; H-12) ; 6,95 (1H, d,  $J = 2,4$  Hz ; H-9) ; 6,80 (1H, dd,  $J = 8,8$  ; 2,4 Hz ; H-11) ; trois méthylènes à  $\delta_H$  1,95 (1H, d,  $J = 14,8$  Hz H-14 $\beta$ ) et 2,30 (1H, t,  $J = 11,6$  ; H-14 $\alpha$ ) , 3,95 (1H, d,  $J = 15,8$  Hz ; H-21 $\alpha$ ) et 3,86 (1H, d,  $J = 15,8$  Hz ; H-21 $\beta$ ) ; 3,14 (1H, dd,  $J = 16,1$  ; 4,6 Hz ; H-6 $\alpha$ ) et 2,83 (1H, d,  $J = 16,1$  Hz ; H-6 $\beta$ ) ; un méthylène hydroxylé à  $\delta_H$  3,48 (2H, dd,  $J = 11,4$  ; 4,8 Hz H-17) ; des méthines respectifs à  $\delta_H$  5,53 (1H, m ; H-19) indiquant à la présence d'une double liaison ; 4,51 (1H, d,  $J = 9,3$  ; H-3) ; 3,28 (1H, m, H-5) ; 2,03 (1H, d,  $J = 7,2$  Hz, H-16) et 3,00 (1H, m, H-15) ; un méthyl terminal à  $\delta_H$  1,66 (3H, d,  $J = 6,7$ Hz, H-18) et un groupe methoxy à  $\delta_H$  3,81 (3H, s).

Le spectre RMN  $^{13}C$  (Fig. 77) présente 20 signaux de carbone, dont deux atomes de carbone saturés à  $\delta_C$  119,5 (C-19) et 130,2 (C-20) ; huit atomes de carbone insaturés liés à un cycle

indole à  $\delta_c$  127,2 (C-8) ; 100,0 (C-9) ; 154,0 (C-10) ; 111,4 (C-11) ; 111,7 (C-12) ; 132,2 (C-13) ; 135,4 (C-2) ; 102,4 (C-7) et 10 atomes de carbone aliphatiques à  $\delta_c$  51,1 (C-3) ; 54,3 (C-5) ; 25,6 (C-6) ; 32,1 (C-14) ; 26,7 (C-15) ; 43,3 (C-16) ; 63,1 (C-17) ; 11,9 (C-18) ; 54,9 (C-21) et 56,1 (OMe) sur la base de ces données spectrales ajoutées à celles révélées par les spectres RMN 2D (Tableau 17) et à celles de la littérature, le composé a été identifié à la lochnerine préalablement isolée de *Rauvolfia lochnera* (Satish et Sadagopan, 2019).

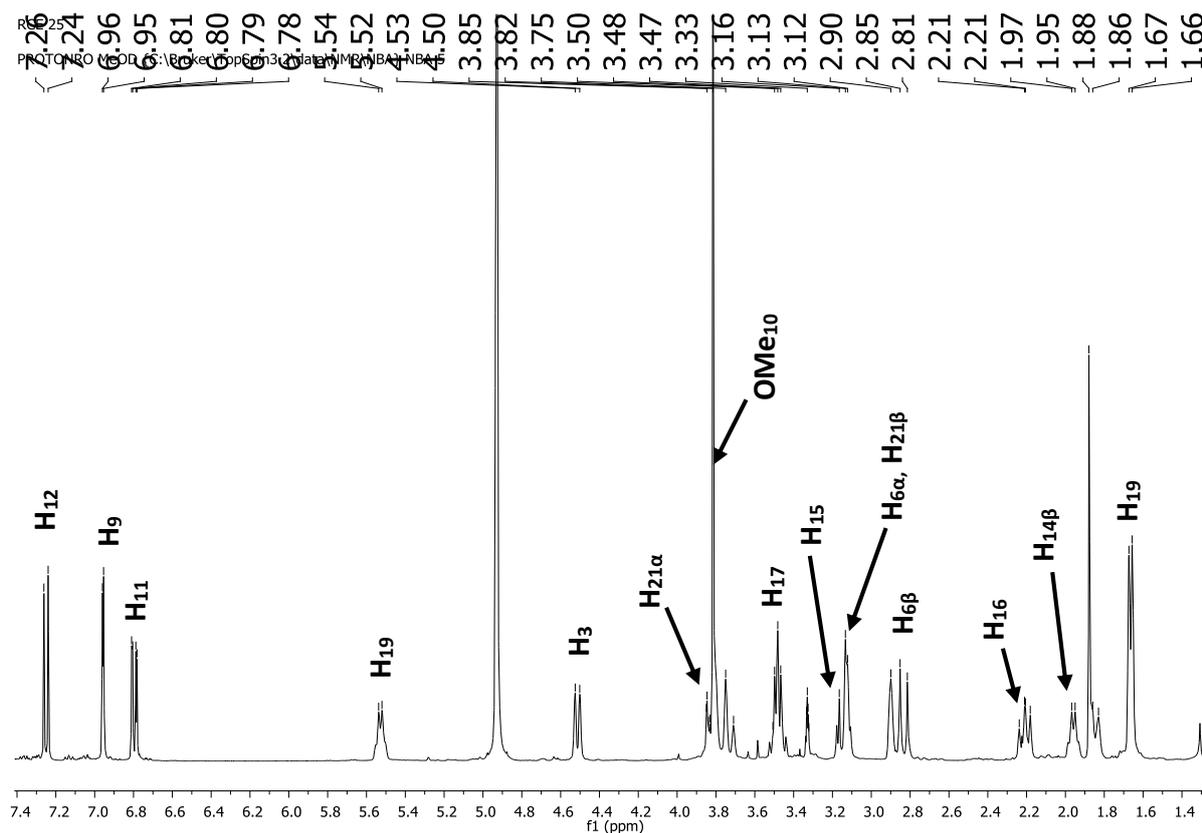


Figure 76. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC14

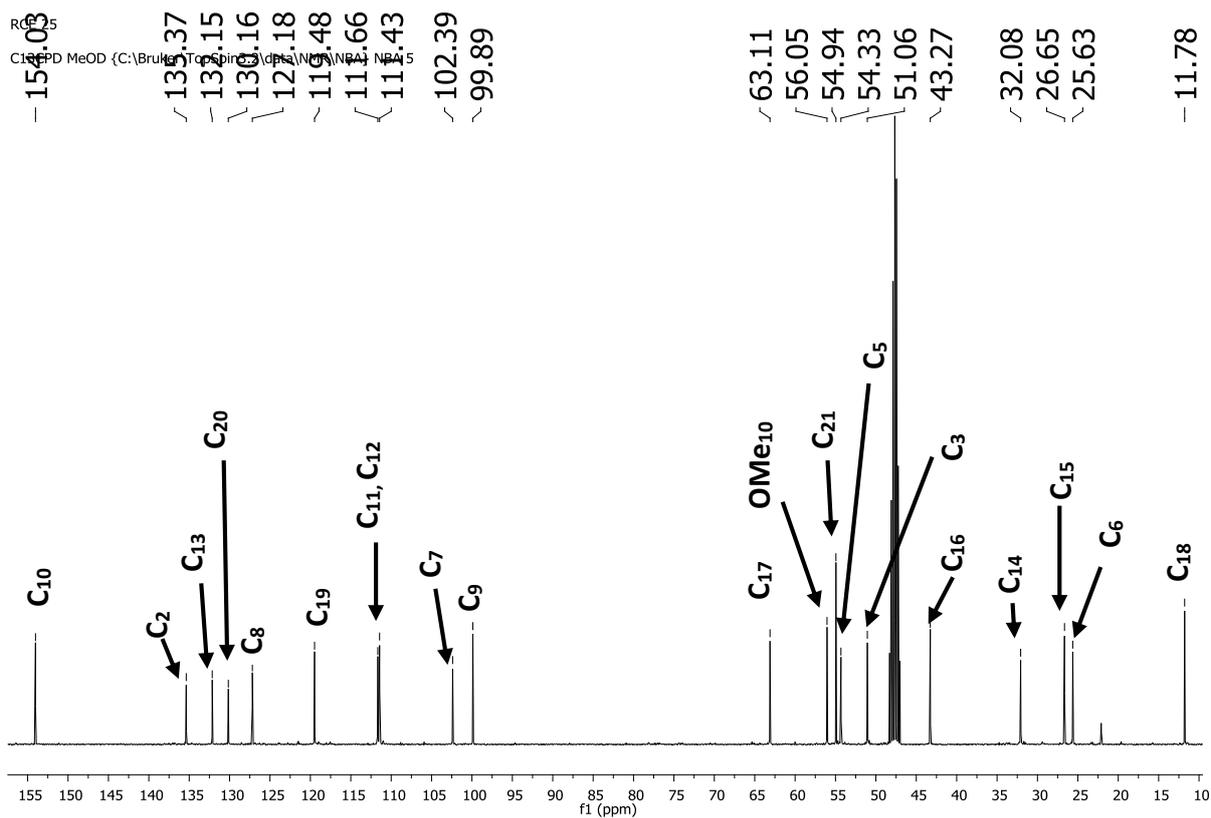
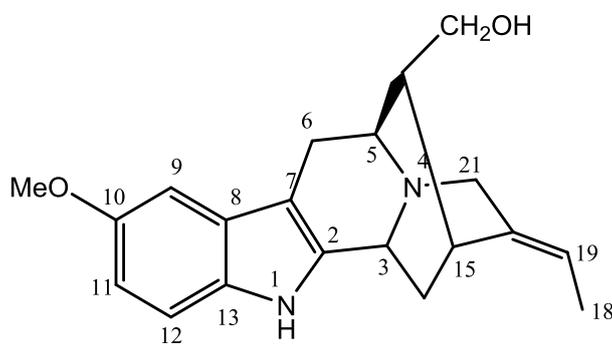


Figure 77. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC14



RC14

Lochnerine

**Tableau 17: Données spectrales RMN du composé RC14 (CD<sub>3</sub>OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_{\text{H}}$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
			(Satish et Sadagopan, 2019)	
2	—	135, 4	—	135, 4
3	4, 51 d (9, 3)	51, 1	4, 63 d (9, 6)	50, 0
5	3, 28 m	54, 3	3, 21 m	54, 5
6	3, 14 dd (16, 1 ; 4, 6) 2, 83 d (16, 1)	25, 6	2, 94 m	26, 8
7	—	102, 4	—	102, 9
8	—	127, 2	—	128, 1
9	6, 96 d (2, 4)	100, 0	6, 81 s	103, 3
10	—	154, 0	—	151, 6
11	6, 80 dd (8, 8 ; 2, 4)	111, 4	6, 68 d (8, 6)	112, 7
12	7, 25 d (8, 8)	111, 7	7, 15 d (8, 6)	112, 9
13	—	132, 2	—	133, 1
14	2, 21 m 1, 84 m	32, 1	2, 30 t (11, 6) 1, 95 d (14, 8)	33, 0
15	3, 00 m	26, 7	2, 73 m	27, 7
16	1, 95 q (7, 2)	43, 3	2, 03 d (7, 2)	44, 2
17	3, 48 dd (11, 4 ; 4, 8)	63, 1	3, 97 d (9, 3)	63, 6
18	1, 66 d (6, 7)	11, 9	1, 67 d (5, 6)	12, 5
19	5, 53 m	119, 5	5, 59 d (6, 4)	121, 7
20	—	130, 2	—	133, 3
21	3, 81 m 3, 13 m	54, 9	3, 26 m 3, 07 d (11, 7)	54, 9
NH	7, 82 s	—	8, 51 s	—
MeO—10	3, 82 s	56, 1	3, 82 s	55, 3

### 2.2.4.2.15. Identification du composé RC15

**RC15** a l'aspect d'une poudre brune foncée amorphe soluble dans le MeOH. Comme **RC14**, **RC15** a pour formule moléculaire  $C_{19}H_{22}N_2O_2$  possédant 10 insaturations et a présenté le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z$  311,1748 sur son spectre de masse ESI-HR (Fig. 78) en mode positif.

L'étude comparative des spectres RMN 1D et 2D du composé **RC15** avec ceux du composé **RC14**, montre que **RC15** ne diffère de **RC14** que par l'absence du signal singulet du groupe methoxy à  $\delta_H$  3,82 (3H, s). Cependant la perte de 14 unités de masse observée sur le spectre de masse (Fig. 78) ainsi que le signal à  $\delta_C$  150,1 (C-10) observé sur le spectre de RMN  $^{13}C$  (Fig. 79) de **RC15** indique la présence d'un groupe hydroxyle en C-10 de ce composé. La comparaison des valeurs des déplacements chimiques des  $^1H$  et  $^{13}C$  (Tableau 17) du composé **RC15** avec celles de la littérature nous a permis de l'identifier à la sarpagine, précédemment isolé des feuilles et branches de *Rauvolfia tetraphylla* par Gao *et al.* (2015)

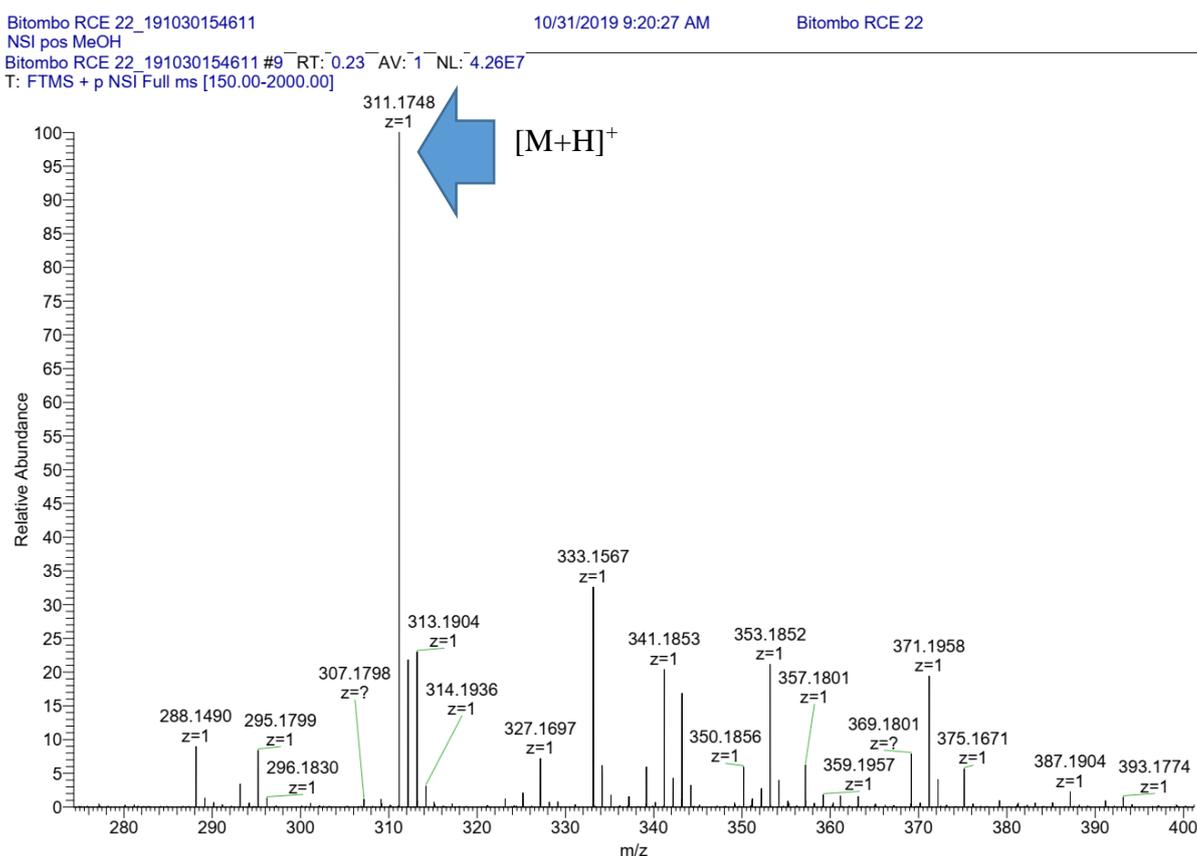


Figure 78. Spectre de masse HRESI-MS du composé RC15

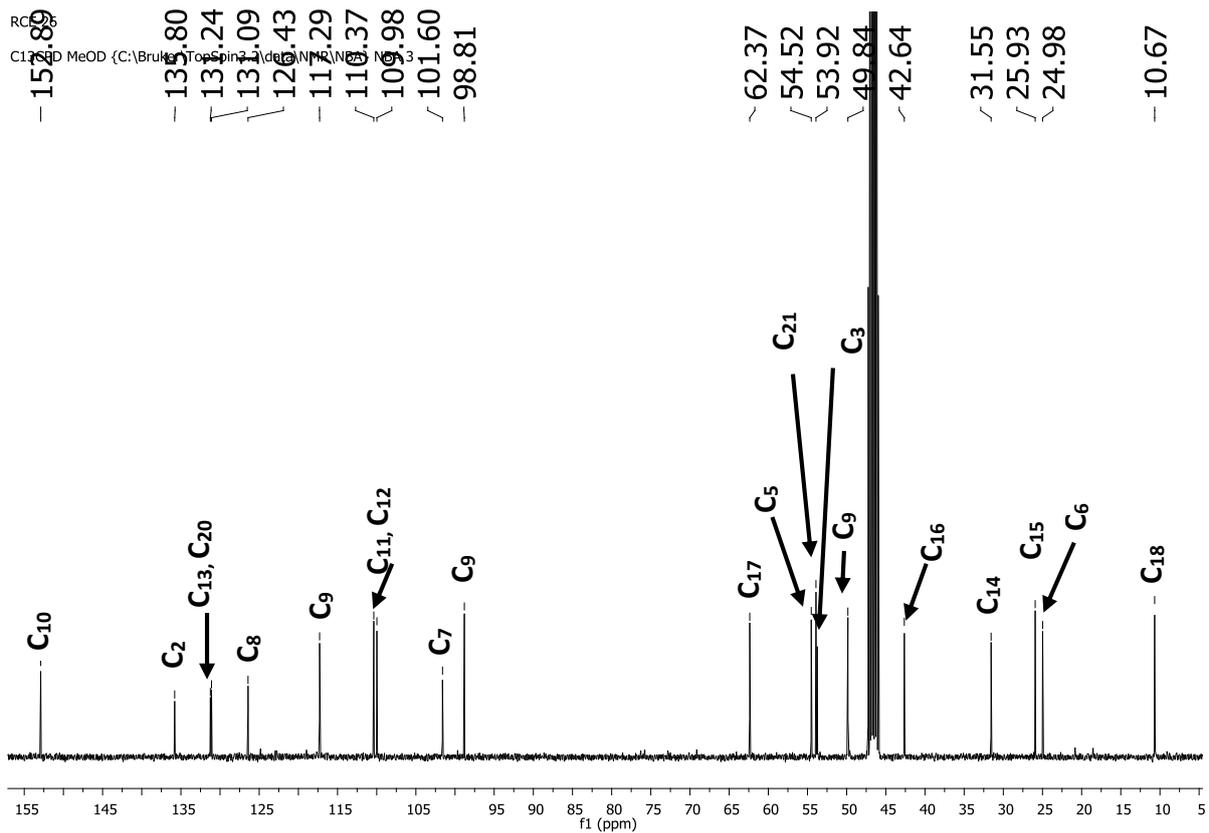


Figure 79. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC15

**Tableau 18: Données spectrales RMN du composé RC15 (CD<sub>3</sub>OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_{\text{H}}$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
			(Gao et al., 2015)	
2	—	135, 8	—	135, 4
3	3, 43 d (9, 6)	49, 8	3, 34 m	50, 0
5	3, 28 m	54, 5	3, 21 m	54, 5
6	3, 14 dd (16, 1 ; 4, 6) 2, 83 d (16, 1)	25, 0	2, 94 m	26, 8
7	—	101, 6	—	102, 9
8	—	126, 4	—	128, 1
9	6, 95 d (2, 4)	98, 8	6, 97 s	103, 3
10	—	150, 1	—	151, 6
11	6, 77 dd (8, 8 ; 2, 4)	110, 0	6, 83 d (8, 3)	112, 7
12	7, 22 d (8, 8)	110, 4	7, 18 d (8, 3)	112, 9
13	—	131, 1	—	133, 1
14	2, 30 t (11, 6) 1, 95 d (14, 8)	31, 6	2, 40 m	33, 0
15	3, 00 m	25, 9	2, 73 m	27, 7
16	2, 03 d (7, 2)	42, 6	1, 90 m	44, 2
17	3, 50 d (7, 2)	62, 4	3, 77 d (9, 3)	63, 6
18	1, 67 d (5, 6)	10, 7	1, 66 d (5, 7)	12, 5
19	5, 54 dt (9, 5 ; 4, 8)	117, 3	5, 40 d (6, 0)	121, 7
20	—	131, 2	—	133, 3
21	3, 95 d (15, 8) 3, 86 d (15, 8)	53, 9	3, 80 m 3, 75 d (11, 7)	55, 5
NH	7, 82 s		8, 51 s	

#### 2.2.4.2.16. Identification du composé RC16

Le composé **RC16** a été isolé sous forme de solide jaune amorphe soluble dans le  $\text{CHCl}_3$ . Son spectre de masse ESI basse résolution (Fig. 80) a montré le pic de l'ion *pseudomoléculaire* à  $m/z$  355,0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , correspondant à la formule moléculaire  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$  et ayant 10 degrés d'insaturation. Une bande à  $1732\text{ cm}^{-1}$  visible sur son spectre IR indique la présence du groupe ester carboxylique. L'analyse des données RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 81 et Tableau 17) indique la présence d'un noyau benzénique *ortho*-disubstitué à  $\delta_{\text{H}}$  7,45 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$  ; H-9) ; 7,06 (t,  $J = 7,6\text{ Hz}$  ; H-10) ; 7,11 (t,  $J = 7,6\text{ Hz}$  ; H-11) ; 7,29 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$  ; H-12) et un groupe méthoxy à  $\delta_{\text{H}}$  3,75 (3H, s). Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  montre 21 signaux de carbone distincts avec : cinq carbones  $\text{sp}^2$  quaternaires à  $\delta_{\text{C}}$  (108,1 ; 127,4 ; 134,6 ; 136,1 et 175,7), quatre carbones  $\text{sp}^2$  méthines à  $\delta_{\text{C}}$  (110,9 ; 118,2 ; 119,4 et 121,4) ; cinq carbones  $\text{sp}^3$  méthines à  $\delta_{\text{C}}$  (36,7 ; 40,2 ; 52,1 ; 60,0 et 67,1) ; six méthylènes à  $\delta_{\text{C}}$  (21,7 ; 23,4 ; 31,6 ; 34,1 ; 52,9 et 61,3) et un méthyle à  $\delta_{\text{C}}$  (52,3) respectivement ; indiquant que **RC16** possède un squelette de type Yohimbine (Wenkert et al., 1976).

L'exploitation de tous les spectres de RMN 1D (Tableau 17) et 2D nous a ainsi permis d'identifier **RC16** à la yohimbine, précédemment isolés des feuilles et tiges de *Rauwolfia verticillata* par Beng-Jie et al. (2013).

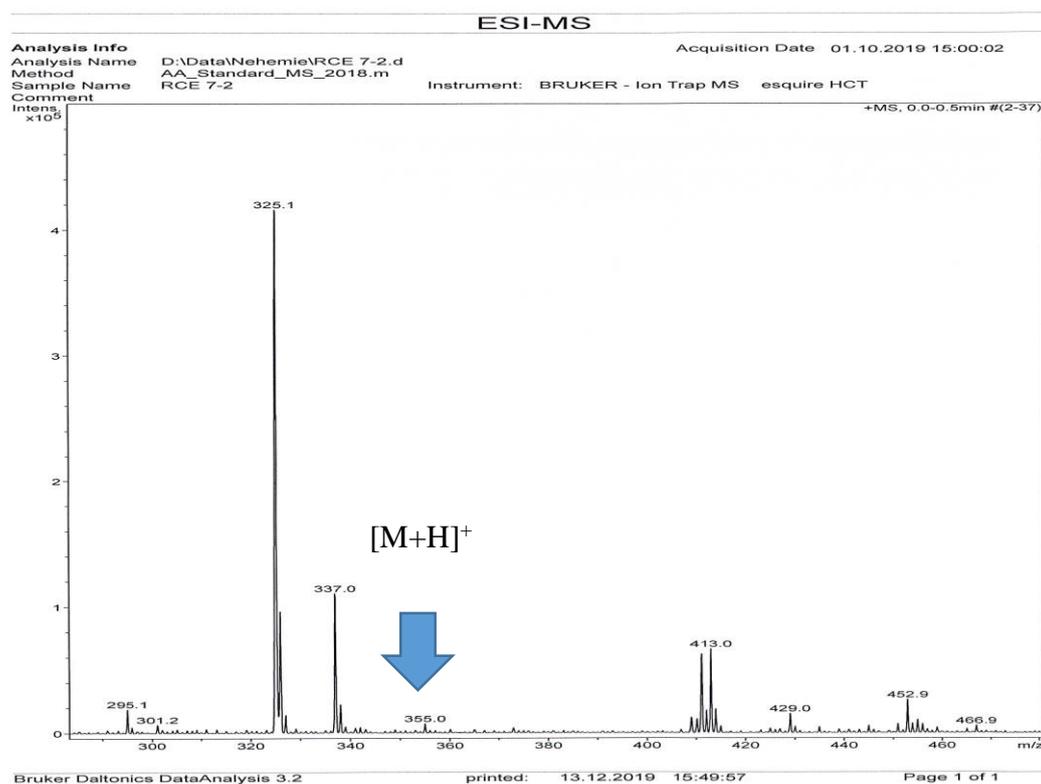


Figure 80. Spectre de masse ESI-MS du composé RC16

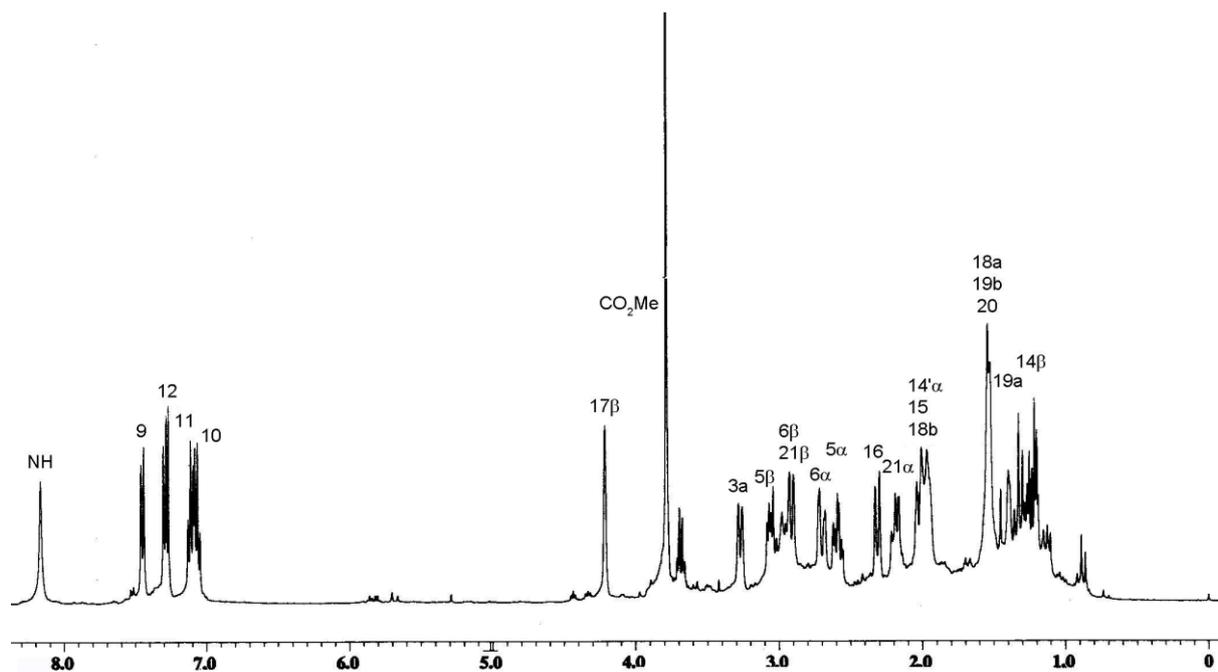
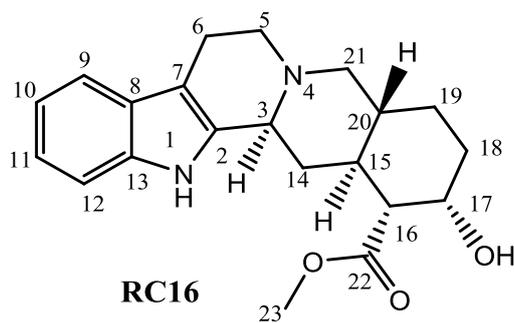


Figure 81. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de RC16



Yohimbine

**Tableau 19: Données spectrales RMN du composé RC16 (CDCl<sub>3</sub>, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	
			$\delta_C$	
(Beng-Jie et al., 2013)				
2	—	134, 6	—	135, 7
3	3, 27 d (11, 0)	60, 0	3, 34 m	59, 9
5	3, 06 dd (11, 5) 2, 58 dd (11, 4)	52, 9	3, 21 m	53, 5
6	2, 70 dd (15, 4) 2, 98 m	21, 7	2, 94 m	21, 8
7	—	108, 1	—	107, 8
8	—	127, 4	—	128, 3
9	7, 45 d (7, 6)	118, 2	7, 47 d (7, 5)	118, 7
10	7, 06 t (7, 6)	119, 4	7, 07 m	119, 8
11	7, 11 t (7, 6)	121, 4	7, 12 m	121, 4
12	7, 29 d (7, 6)	110, 9	7, 31 d (7, 5)	112, 2
13	—	136, 1	—	138, 0
14	2, 04 m 1, 33 m	34, 1	3, 04 m	34, 6
15	2, 01 m	36, 7	2, 36 m	37, 8
16	2, 31 d (12, 0)	52, 1	2, 97 m	54, 3
17	4, 22 s	67, 1	4, 23 m	66, 9
18	1, 55 m 1, 97 m	31, 6	2, 26 m	34, 1
19	1, 40 m 1, 55 m	23, 4	1, 36 m	25, 3
20	1, 55 m	40, 2	2, 02 m	40, 7
21	2, 19 t (11, 0) 2, 91 d (11, 0)	61, 3	3, 06 m	62, 2
NH	8, 17 s	—	7, 77 s	—
CH <sub>3</sub> OCO—	—	175, 7	—	176, 9
CH <sub>3</sub> OCO—	3, 75 s	52, 3	3, 74 s	52, 9

### 2.2.4.2.17. Identification du composé RC17

**RC17** se présente sous forme de solide blanc amorphe soluble dans le méthanol. Sa formule moléculaire  $C_{19}H_{19}N_3$  (12 degrés d'insaturations) a été déduite de l'analyse de son spectre de masse ESI basse résolution en mode positif (Fig. 82) sur lequel on observe le pic de l'ion *pseudomoléculaire* à  $m/z$  290,3  $[M+H]^+$ . Son spectre RMN  $^1H$  indique la présence d'un noyau benzénique *ortho*-disubstitué à  $\delta_H$  7,57 (m, H-9) ; 7,38 (m, H-10) ; 7,22 (m, H-11) ; 7,29 (dt,  $J = 17,5 ; 6,4$  Hz ; H-12) ; deux singulets à  $\delta_H$  8,42 (1H, s) et 8,47 (1H, s) caractéristiques d'un noyau pyridine trisubstitué et un groupe éthyle à  $\delta_H$  1,48 (2H, m) ; 0,86 (3H, m). Le spectre de RMN  $^{13}C$  (Fig. 72) montre 19 signaux de carbone distincts avec : sept carbones  $sp^2$  quaternaires à  $\delta_C$  (104,2 ; 128,2 ; 134,4 ; 136,2 ; 137,9 ; 138,3 et 141,3), six carbones  $sp^2$  méthines à  $\delta_C$  (111,3 ; 122,6 ; 123,8 ; 125,9 ; 145,3 et 145,8) ; deux carbones  $sp^3$  méthines à  $\delta_C$  (45,2 et 47,7) ; deux méthylènes à  $\delta_C$  (21,1 et 30,2) et un méthyle à  $\delta_C$  (13,0) respectivement.

Sur la base des données spectrales (Tableau 19) ci-dessus et celles rapportées de la littérature, la structure de **RC17** a été attribuée en tant que la norsuaveoline, déjà isolé des écorces de *Rauvolfia caffra* par Nasser et Court. (1976).

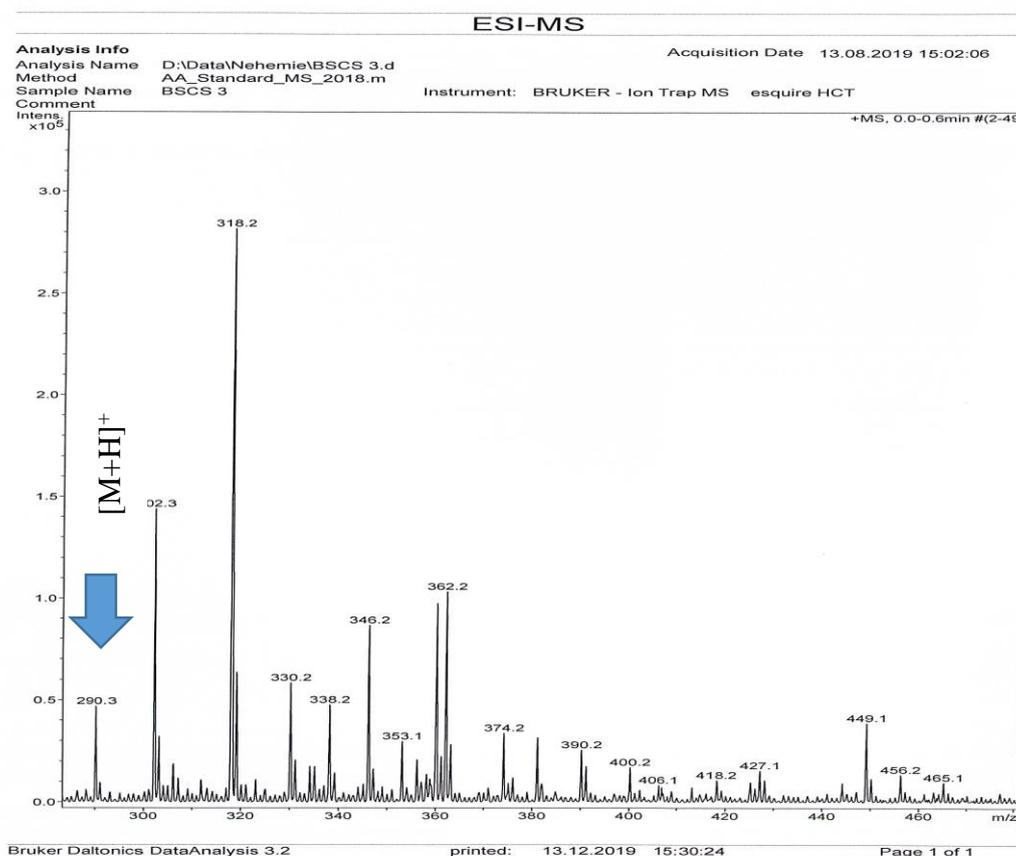


Figure 82. Spectre de masse ESI-MS du composé RC17

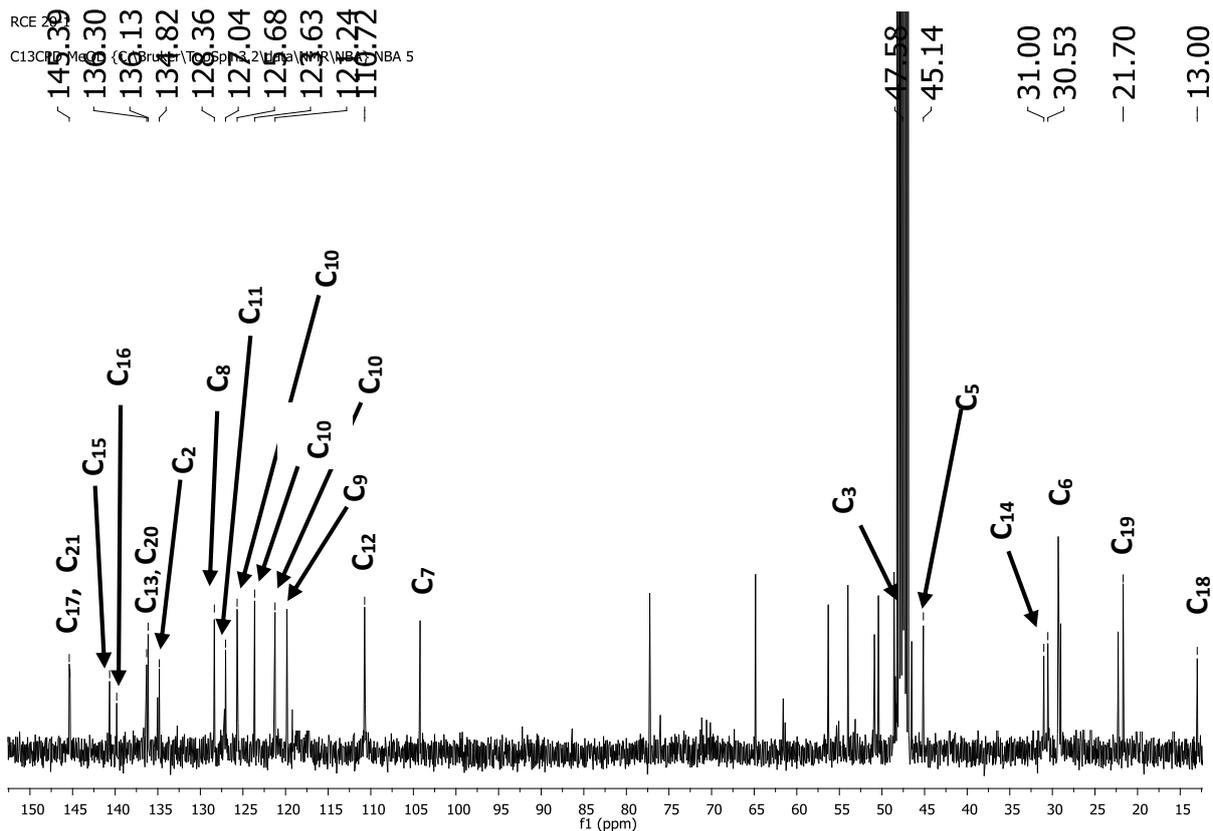
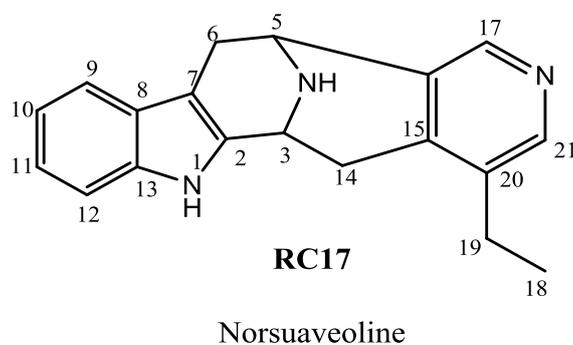


Figure 83. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de RC17



**Tableau 20: Données spectrales RMN du composé RC17 (CD<sub>3</sub>OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$
			(Nasser et Court, 1984)	
2	—	134, 4	—	134, 3
3	4, 75 m	47, 6	4, 66 d (5, 4)	48, 4
5	4, 72 m	45, 1	4, 60 d (5, 4)	45, 8
6	3, 01 m	30, 5	3, 38 dd (15, 5 ; 5, 3) 2, 80 dd (15, 5 ; 1, 0)	31, 2
7	—	104, 2	—	106, 0
8	—	128, 4	—	127, 3
9	7, 57 m	121, 1	7, 29 d (7, 9)	118, 2
10	7, 38 m	123, 6	7, 28 ddd (7, 9 ; 7, 2 ; 0, 9)	119, 7
11	7, 22 m	125, 7	7, 00 ddd (8, 1 ; 7, 2 ; 0, 9)	123, 0
12	7, 29 dt (17, 5 ; 6, 4)	110, 7	7, 24 d (8, 1)	111, 0
13	—	136, 1	—	136, 1
14	3, 04 m 2, 70 m	31, 0	3, 33 dd (17, 4 ; 5, 4) 3, 13 dd (17, 4 ; 1, 0)	31, 9
15	—	141, 3	—	139, 9
16	—	138, 3	—	135, 1
17	8, 42 s	145, 3	8, s	147, 0
18	0, 86 m	13, 0	0, 88 m	13, 9
19	1, 48 m	21, 7	2, 05 m	22, 8
20	—	137, 9	—	137, 1
21	8, 47 s	145, 8	8, 49 s	146, 2
HN—1	10, 43 s	—	9, 77 s	—

#### 2.2.4.2.18. Identification du composé RC18

Le composé **RC18** possède des données physico-chimiques et spectrales semblables de celles du composé **RC17**. Il se présente sous forme de solide blanc amorphe, soluble dans le méthanol. Il répond positivement au test de Dragendorff caractéristique des alcaloïdes et particulièrement au test de Ehrlich caractéristique des alcaloïdes indoliques. Sa formule brute C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub> ayant 13 insaturations a été déduite de l'analyse de son spectre de masse ESI-MS (figure 84) qui a présenté l'ion *pseudo*-moléculaire [M+H]<sup>+</sup> à m/z 304, 2. La comparaison des spectres RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C du composé **RC18** avec ceux du composé **RC17** montre que les deux composés ont un

squelette de base identique. Cependant le groupement méthyle ( $-\text{CH}_3$ ) précédemment absent en position  $N_1$  dans le composé **RC17** est présent dans le composé **RC18**. Ceci a été confirmé par, l'apparition d'un singulet resonnant à  $\delta_{\text{H}}$  3, 00 /  $\delta_{\text{C}}$  30, 9 les RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  respectivement. Sur la base des données spectrales de RMN 1D (Tableau 20) et 2D et en comparaison avec celle de la littérature, le composé **RC18** s'identifie comme étant la suaveoline précédemment isolé de l'écorce du tronc de *Rauvolfia suaveolens* (Majumdar *et al.*, 1972).

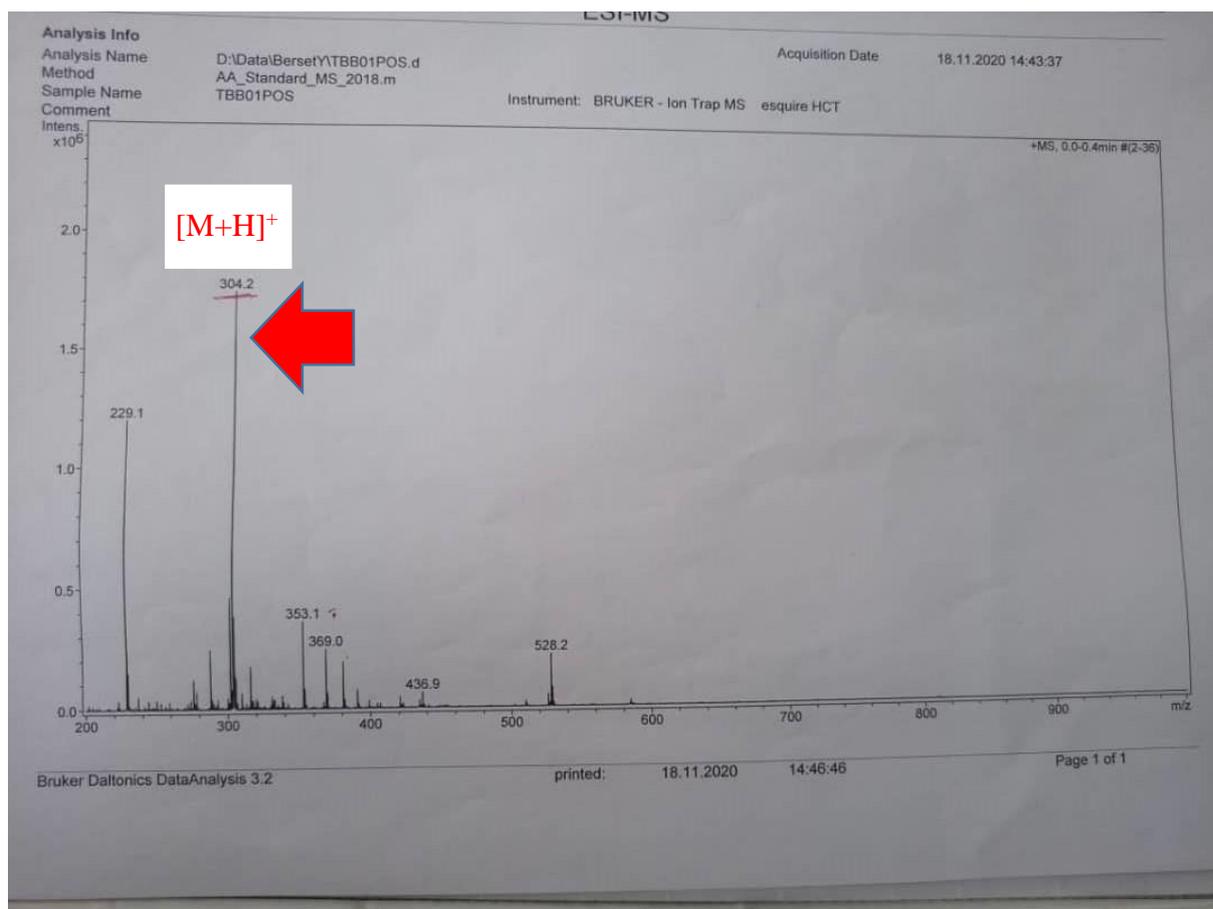
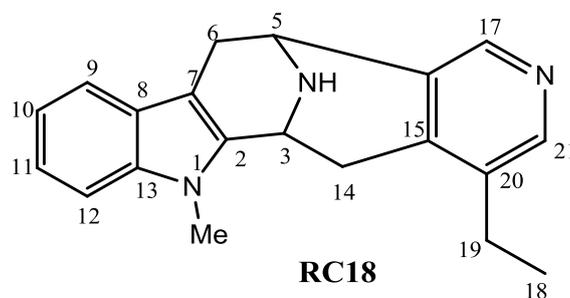


Figure 84. Spectre de masse ESI-MS du composé **RC18**



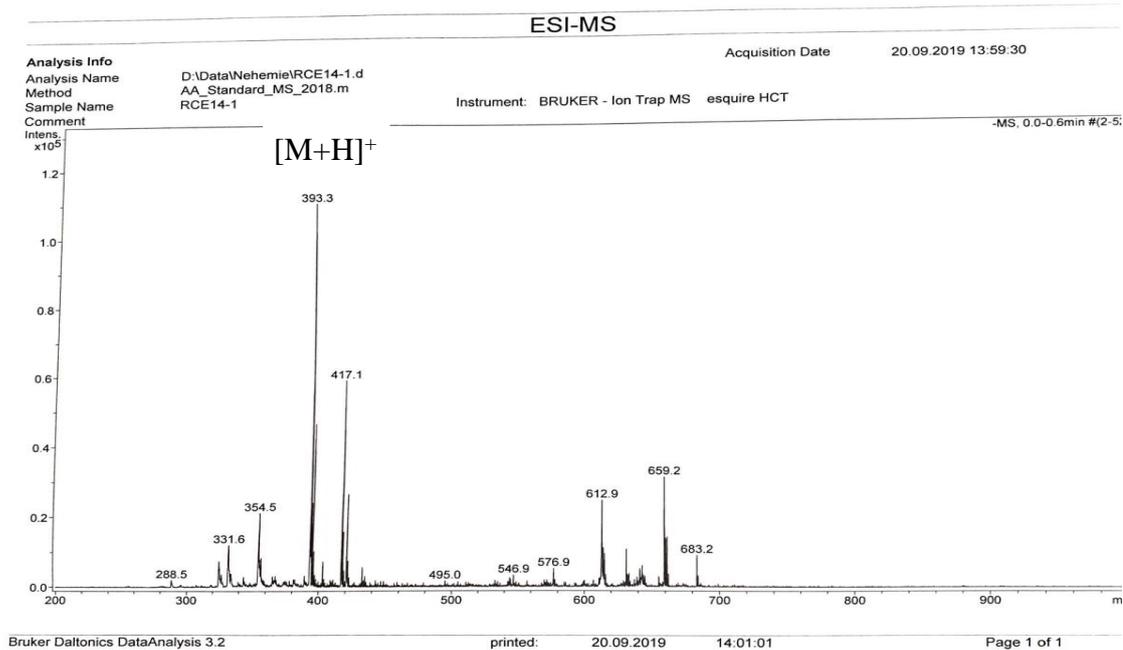
Suaveoline

**Tableau 21: Données spectrales RMN du composé RC18 (CD<sub>3</sub>OD, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_{\text{H}}$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
			(Endreß et al., 1993)	
2	—	134, 4	—	136, 3
3	4, 75 m	47, 7	4, 68 d (6, 0)	44, 5
5	4, 72 m	45, 2	4, 70 d (6, 2)	48, 3
6	3, 01 m	30, 1	3, 35 dd (15, 7 ; 6, 2) 2, 90 dd (15, 7 ; 1, 0)	31, 4
7	—	104, 2	—	105, 2
8	—	128, 2	—	126, 9
9	7, 57 m	122, 6	7, 4 d (7, 8)	118, 1
10	7, 38 m	123, 8	7, 05 ddd (7, 8 ; 6, 5 ; 1, 0)	119, 2
11	7, 22 m	125, 9	7, 16 ddd (8, 0 ; 6, 5 ; 1, 3)	121, 4
12	7, 50 m	111, 3	7, 25 d (8, 0)	108, 8
13	—	136, 2	—	137, 0
14	3, 04 m 2, 70 m	30, 2	3, 28 dd (17, 1 ; 6, 0) 2, 83 dd (17, 1 ; 1, 2)	31, 2
15	—	141, 3	—	139, 6
16	—	138, 3	—	134, 5
17	8, 42 s	145, 3	8, 33 s	146, 2
18	0, 86 m	13, 0	0, 88 t (7, 6)	13, 8
19	1, 48 m	21, 1	2, 49 d (7, 6)	22, 9
20	—	137, 9	—	136, 9
21	8, 47 s	145, 8	8, 14 s	147, 0
MeN-1	3, 68 s	30, 9	3, 71 s	29, 4

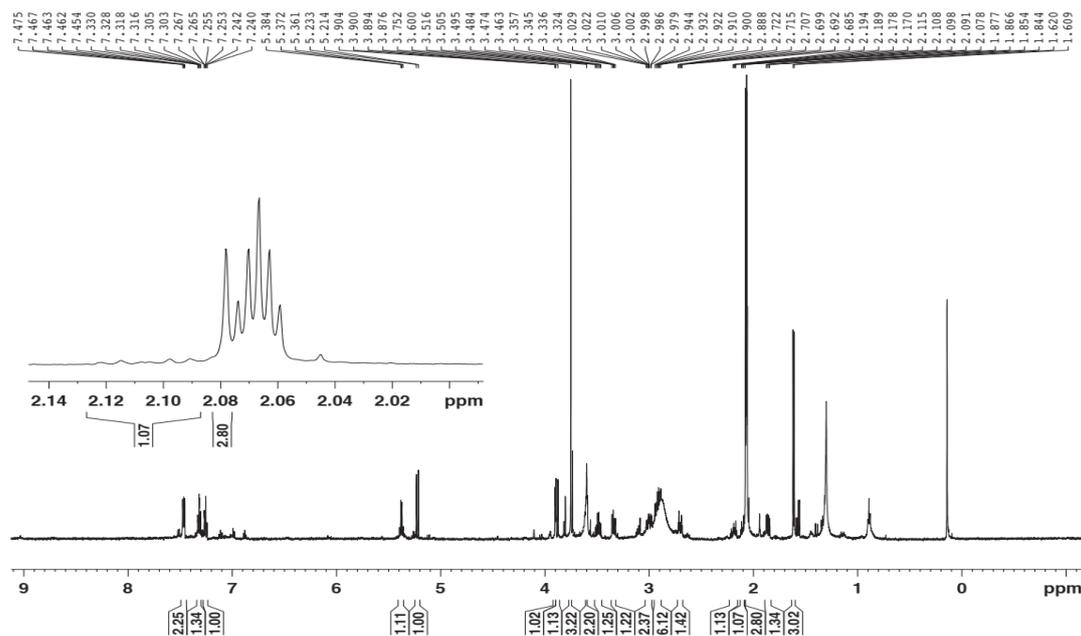
#### 2.2.4.2.19. Identification du composé RC19

**RC19** a l'aspect d'une huile jaune soluble dans le CHCl<sub>3</sub>. Il répond positivement au test de Dragendorff caractéristique des alcaloïdes. Sa formule brute C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ayant 10 insaturations a été déduite de l'analyse de son spectre de masse ESI-MS en mode négatif (figure 85) qui a présenté le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire [M-H]<sup>-</sup> à *m/z* 393, 3.



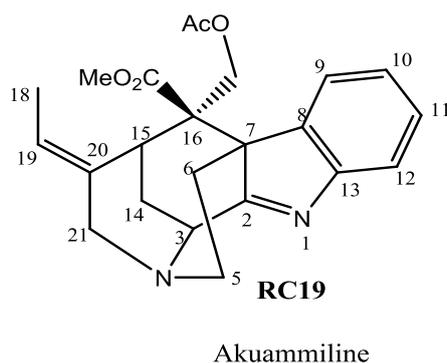
**Figure 85. Spectre de masse ESI-MS du composé RC19**

Son spectre UV a présenté des maxima d'absorption à  $\lambda_{\text{max}}$  210, 220 et 265 nm suggérant la présence d'un noyau indolenine non substitué (Subramaniam et *al.*, 2007). Par ailleurs son spectre IR indique un pic de vibration de valence à  $1738\text{ cm}^{-1}$  caractéristique d'une fonction ester. Le spectre RMN  $^1\text{H}$  présente les signaux de quatre protons aromatiques à  $\delta_{\text{H}}$  7,57 (1H, d,  $J = 7,5\text{ Hz}$ , H-9) ; 7, 16 (1H, td,  $J = 7,5 ; 1,0\text{ Hz}$ , H-10) ; 7,31 (1H, td,  $J = 7,5 ; 1,0\text{ Hz}$  ; H-11) 7, 61 (1H, d,  $J = 7,5\text{ Hz}$ , H-12), un groupe éthylidène à  $\delta_{\text{H}}$  1,73 (3H, dd,  $J = 7,0 ; 2,5\text{ Hz}$ ) en position 18 et un doublet à  $\delta_{\text{H}}$  5,61 (1H, q,  $J = 7,0\text{ Hz}$ ) affecté à un proton en position 19, deux singulets à  $\delta_{\text{H}}$  3,09 ppm (3H, s) et 2,10 ppm (3H, s) attribuable aux methyles des fonction ester et acyle.



**Figure 86. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de RC19**

Sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$ , on observe 23 signaux de carbone non équivalents, ce qui est cohérent avec le résultat du spectre de masse ESI. L'attribution totale effectuée (Tableau 21) par un examen approfondi de la RMN 1D (RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$ ), 2D (COSY, HSQC et HMBC) et en comparaison avec les données de la littérature a permis d'identifier le composé **RC19** à l'akuamiline isolée précédemment des fruits de *Tabernaemontana litoralis* (Yang *et al.*, 2016).



**Tableau 22: Données spectrales RMN du composé RC19 (CDCl<sub>3</sub>, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$
			(Yang et al., 2016)	
2	—	188, 9	—	187, 9
3	4, 64 d (5, 0)	54, 6	3, 90 d (2, 3)	48, 2
5	2, 65 m 2, 65 m	51, 1	3, 34 dd (12, 7 ; 7, 3) 3, 49 ddd (12, 7 ; 12, 7 ; 6, 3)	54, 4
6	1, 88 dd (14, 0 ; 4, 0) 3, 02 ddd (14, 0 ; 12,5 ; 7, 0)	35, 3	1, 87 dd (13, 4 ; 6, 3) 2, 90 ddd (13, 4 ; 12, 8 ; 7, 3)	38, 4
7	—	57, 2	—	68, 4
8	—	138, 9	—	138, 3
9	7, 57 d (7, 5)	124, 2	7, 45 d (7, 5)	120, 3
10	7, 16 td (7,5 ; 1,0)	125, 0	7, 25 dd (7, 4 ; 1, 1)	126, 1
11	7, 31 td (7,5 ; 1,0)	127, 8	7, 32 dd (7, 6 ; 1, 2)	127, 3
12	7, 61 d (7, 5)	120, 7	7, 47 d (7, 5)	120, 3
13	—	155, 6	—	153, 0
14	2, 45 ddd (14, 5 ; 5, 0 ; 2, 5) 2, 56 dd (14, 5 ; 2, 5)	31, 8	2, 09 ddd (10, 1 ; 4, 3 ; 4, 3) 2, 19 m	30, 9
15	3, 39 m	34, 9	3, 61 m	33, 4
16	—	60, 8	—	59, 0
17	4, 77 d (11, 5) 4, 83 d (11, 5)	65, 2	3, 89 d (11, 3) 5, 23 d (11, 3)	66, 4
18	1, 73 dd (7, 0 ; 2, 5)	13, 9	1, 61 d (6, 8)	12, 6
19	5, 61 q (7,0)	121, 3	5, 38 d (6, 8)	122, 7
20	—	146, 0	—	136, 9
21	3, 15 d (17, 5) 4, 15 dt (17,5 ; 2,5)	53, 3	2, 70 ddd (13, 8 ; 4, 3 ; 4, 3) 3, 00 ddd (13, 8 ; 11, 5 ; 4, 3)	62, 1
CH <sub>3</sub> COO—	2, 10 s	21, 0	2, 08 s	20, 1
—COOCH <sub>3</sub>	3, 09 s	51, 5	3, 75 s	51, 7
CH <sub>3</sub> COO—	—	170, 4	—	169, 7
—COOCH <sub>3</sub>	—	171, 2	—	170, 9

## 2.2.5. Etude phytochimique des tiges de *Tabernaemontana penduliflora*

### 2.2.5.1. Extraction et isolement des alcaloïdes

La poudre des tiges de *T. penduliflora* K. Schum (2,31 kg) a été obtenue après séchage et broyage. L'extraction a été faite à température ambiante en agitant le mélange pendant 48 heures environ, dans  $3 \times 10$  L, du mélange EtOH-H<sub>2</sub>O (9:1, v/v). Après filtration, évaporation du solvant l'extrait brut obtenu (87,5 g) a été ensuite dissout partiellement dans de l'eau acidifiée (300mL, 5%) puis basifiée (NH<sub>4</sub>OH pH  $\approx$  9-10), enfin partitionnés avec l'hexane et le chloroforme pour donner 4,36 g d'un extrait au chloroforme enrichi en alcaloïdes. 3,86 g de cet extrait ont été soumis à une chromatographie sur colonne ouverte sur gel de silice (63-230 mesh) avec un gradient d'élution de *n*-Hex/AcOEt puis AcOEt/MeOH pour donner quatre fractions principales (A - D). La fraction A (0,63 g) a été de nouveau soumise à une CC sur de gel de silice (63-230 mesh) en éluant avec *n*-Hex/AcOEt (v/v 95 : 5 à 70 : 30) et a conduit à l'isolement de deux composés indexé **TP1** (13,4 mg) et **TP3** (20,3 mg). La fraction B (0,82 g) obtenue à partir du regroupement de la serie *n*-Hexane/AcOEt (v/v 90 : 10 à 80 : 20) a été soumise à une CC sur gel de silice éluee en utilisant le système CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 95 : 5 à 70 : 30) pour donner deux composés indexé **TP10** (8,4 mg) et **TP4** (7,3 mg). La fraction C (0,37 g) a été séparée par CC de Sephadex LH-20 répétée avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 50 : 50) et a conduit à l'isolement de deux composés indexés **TP5** (6,8 mg) et **TP6** (5,2 mg). La fraction D (0,75 g) obtenue à partir de la série *n*-hexane/AcOEt (v/v 75 : 25 à 50 : 50) a été soumise à une CC sur gel de silice éluee avec le système CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 90 : 10 à 70 : 30) pour donner six sous-fractions (D1 – D6). La sous-fraction D4 (112,3 mg) a ensuite été soumise à CC sur gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, v/v 98 : 2 à 85 : 15) pour obtenir les composés **TP7** (6,7 mg) et **TP9** (8,5 mg). La sous-fraction D3 (17,6 mg) a été purifiée par Sephadex LH-20 répétée avec le MeOH pour donner le composé **TP8** (7,3 mg). Le Composé **TP2** (8,4mg), a été isolé de la sous-fraction D5 (96,6 mg) par Chromatographie sur colonne de gel de silice successive (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, v/v 98 : 2 à 85 : 15) et Sephadex LH-20 (MeOH) respectivement

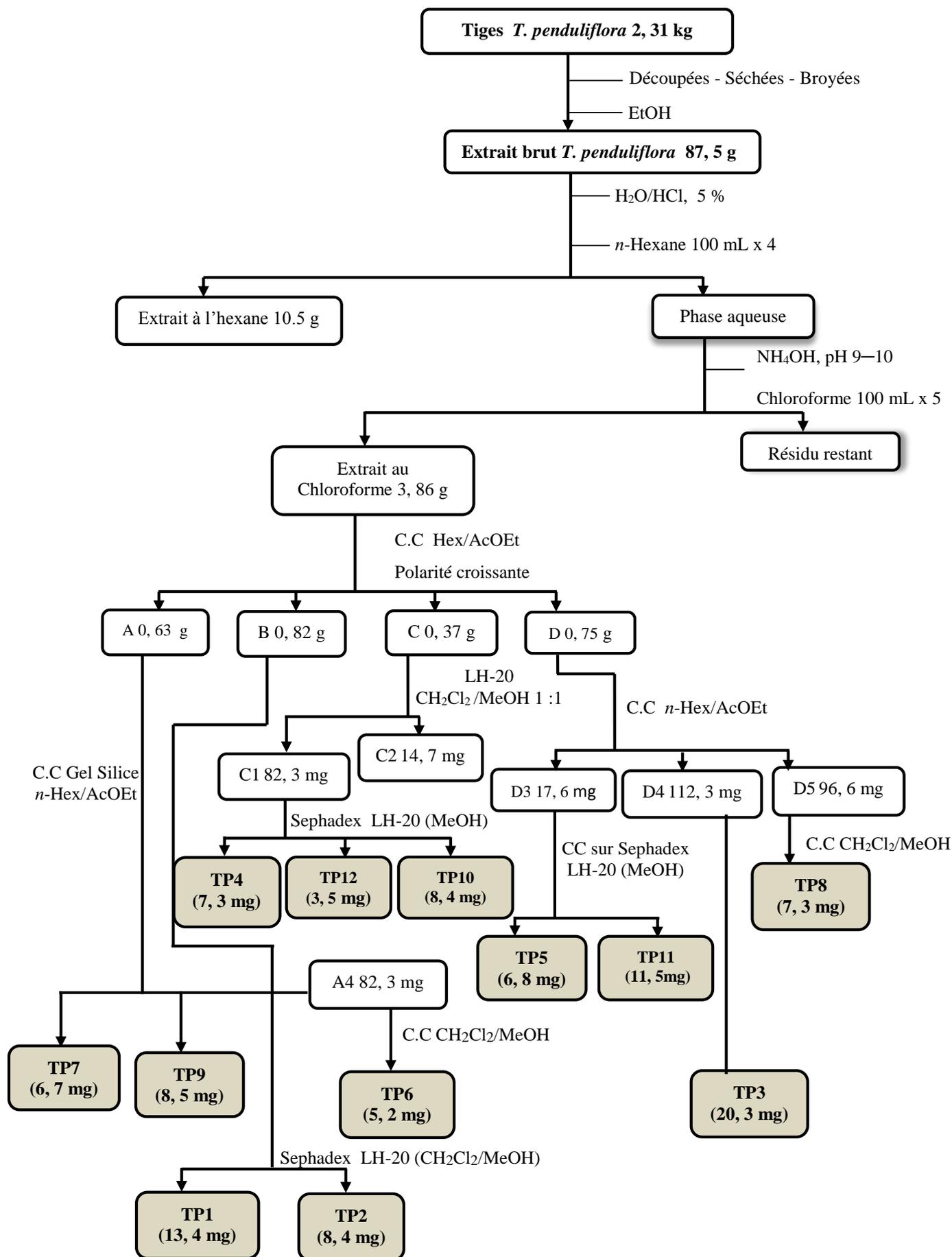


Figure 87. Schéma d'extraction et d'isolement des alcaloïdes des tiges de *T. penduliflora*

## 2.2.5.2. Caractérisation chimique des alcaloïdes isolés des tiges de *Tabernaemontana penduliflora*

### 2.2.5.2.1. Détermination structurale du composé TP1

Le composé **TP1** a été obtenu sous la forme d'une poudre amorphe brune foncée. Il répond positivement au test de Dragendorff caractéristique des alcaloïdes. Ses spectres de masse HRESI-QTOF-SM+ (Fig. 88) et ESI-SM+ (Fig. 89) ont montré un ion *pseudomoléculaire* à  $m/z$  353,1924  $[M+H]^+$ , correspondant à la formule brute  $C_{21}H_{24}N_2O_3$ , [calculée pour  $C_{21}H_{25}N_2O_3$  : 353,1938, erreur = -1,4 ppm] ce qui correspond à 11 degrés d'insaturations. C'est un composé optiquement actif avec un pouvoir rotatoire d'une valeur de  $[\alpha]_D^{25} - 23,7$  ( $c$  0,07,  $CHCl_3$ ).

Son spectre UV a montré des bandes d'absorptions à 222,6, 283,0 et 290,0 nm, caractéristique des chromophores indolique (Brown et Charalambides, 1974 ; Geng et *al.*, 2017). Le spectre IR indique la présence d'une fonction amine à  $3426\text{ cm}^{-1}$  et carbonyle conjugué à  $1684\text{ cm}^{-1}$ . Son profil UHPLC-HRMS a montré un seul pic intense (Fig. 21). L'analyse des spectres RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  (Figs. 90 et 91), indique la présence d'un ensemble deux de signaux à ( $\delta_H$  2,59 /  $\delta_C$  42,3) et ( $\delta_H$  2,64 /  $\delta_C$  50,4) a des proportions quasi-similaires (1 : 1) et attribuable au *N*<sub>4</sub>-*Me*. Ce qui suggère que **TP1** est un mélange de deux composés inséparables, **TP1a** et **TP1b** épimère en *N*<sub>4</sub>. Ainsi, des analyses spectroscopiques approfondies ont été effectuées pour déterminer la structure de ces deux composés indissociables.

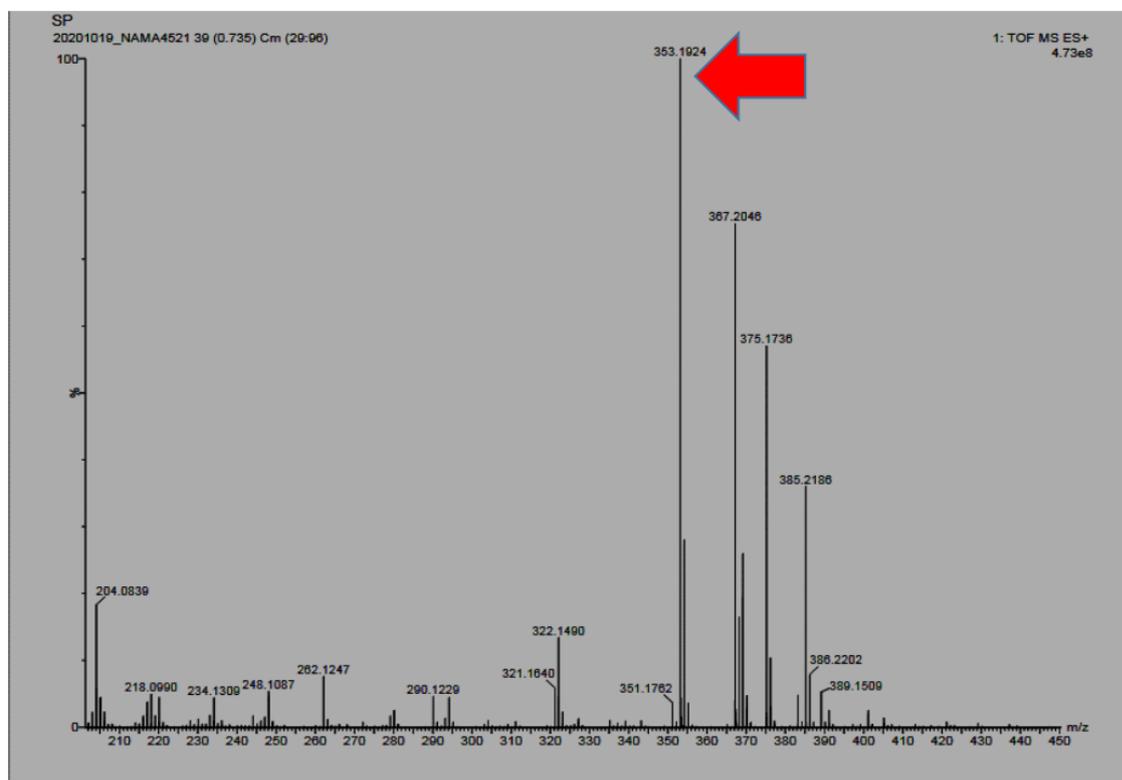
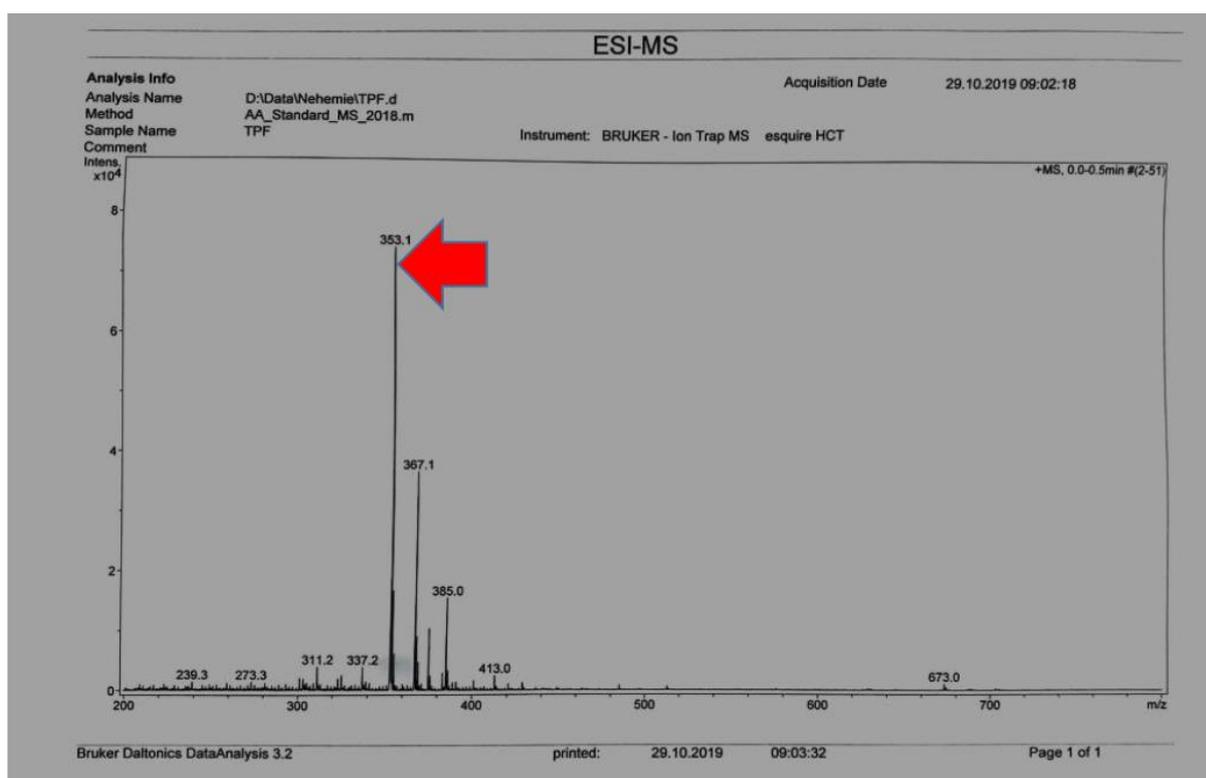


Figure 88. Spectre de masse HRESI-MS des composés TP1a et TP1b



**Figure 89. Spectre de masse ESI-MS des composés TP1a et TP1b**

#### 2.2.5.2.1.1. Détermination structurale du composé TP1a

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  de **TP1a** (Fig. 90) présente des signaux de protons aromatiques caractéristiques d'un noyau indole à  $\delta_{\text{H}}$  7,71 (1H, d,  $J = 8,1$  Hz, H-9), 7,36 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-12), 7,32 (1H, t,  $J = 8,4; 7,6$  Hz, H-11) et 7,15 (1H, t,  $J = 8,0; 6,8$  Hz, H-10); un proton oléfinique à  $\delta_{\text{H}}$  5,47 (1H, q,  $J = 6,5$  Hz, H-19); un groupe éthylidène à  $\delta_{\text{H}}$  1,70 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-18); trois méthines à  $\delta_{\text{H}}$  3,98 (1H, dd,  $J = 10,4; 3,6$  Hz, H-5), 2,82 (1H, dd,  $J = 8,5; 4,5$  Hz, H-3) et 3,77 (1H, m, H-15); quatre méthylènes à  $\delta_{\text{H}}$  3,80 (1H, d,  $J = 14,0, 7,6$  Hz, H-21 $\alpha$ ), 3,76 (2H, m, H-6 $\alpha$  et H-14 $\alpha$ ), 3,40 (1H, m, H-6 $\beta$ ), 3,31 (1H, m, H-14 $\beta$ ), 3,27 (1H, m, H-16 $\alpha$ ), 2,99 (1H, d,  $J = 14,0$  Hz, H-21 $\beta$ ) et 2,69 (1H, m, H-16 $\beta$ ); un méthyle à  $\delta_{\text{H}}$  2,59 (3H, s) correspondant au groupe  $N_4$ -Me et un proton d'une amine secondaire à  $\delta_{\text{H}}$  9,40 (1H, s).

Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 91) indique que **TP1a** possède 21 atomes de carbones comprenant; six carbones  $\text{sp}^2$  quaternaires à  $\delta_{\text{C}}$  (109,7; 128,6; 134,2; 135,9; 136,5 et 171,3), six carbones  $\text{sp}^2$  méthines à  $\delta_{\text{C}}$  (111,9; 120,3; 120,8; 120,9; 126,6 et 190,3), trois carbones  $\text{sp}^3$  méthines à  $\delta_{\text{C}}$  (30,5; 46,5 et 57,3), quatre méthylènes à  $\delta_{\text{C}}$  (20,5; 30,5; 43,1 et 51,8) et deux méthyles à  $\delta_{\text{C}}$  (12,3 et 42,3) respectivement indiquant que **TP1a** est apparenté au geissoschizol (**128**) (Dastoor et al., 1967). Les principales différences ont été observées sur les cycles C et D avec

des signaux supplémentaires pour un groupe carboxyle attaché en C-5 ( $\delta_C$  171,3), un groupe aldéhyde en C-17 ( $\delta_C$  190,3) et un signal N<sub>4</sub>-Me ( $\delta_H$  2,59/  $\delta_C$  42,3).

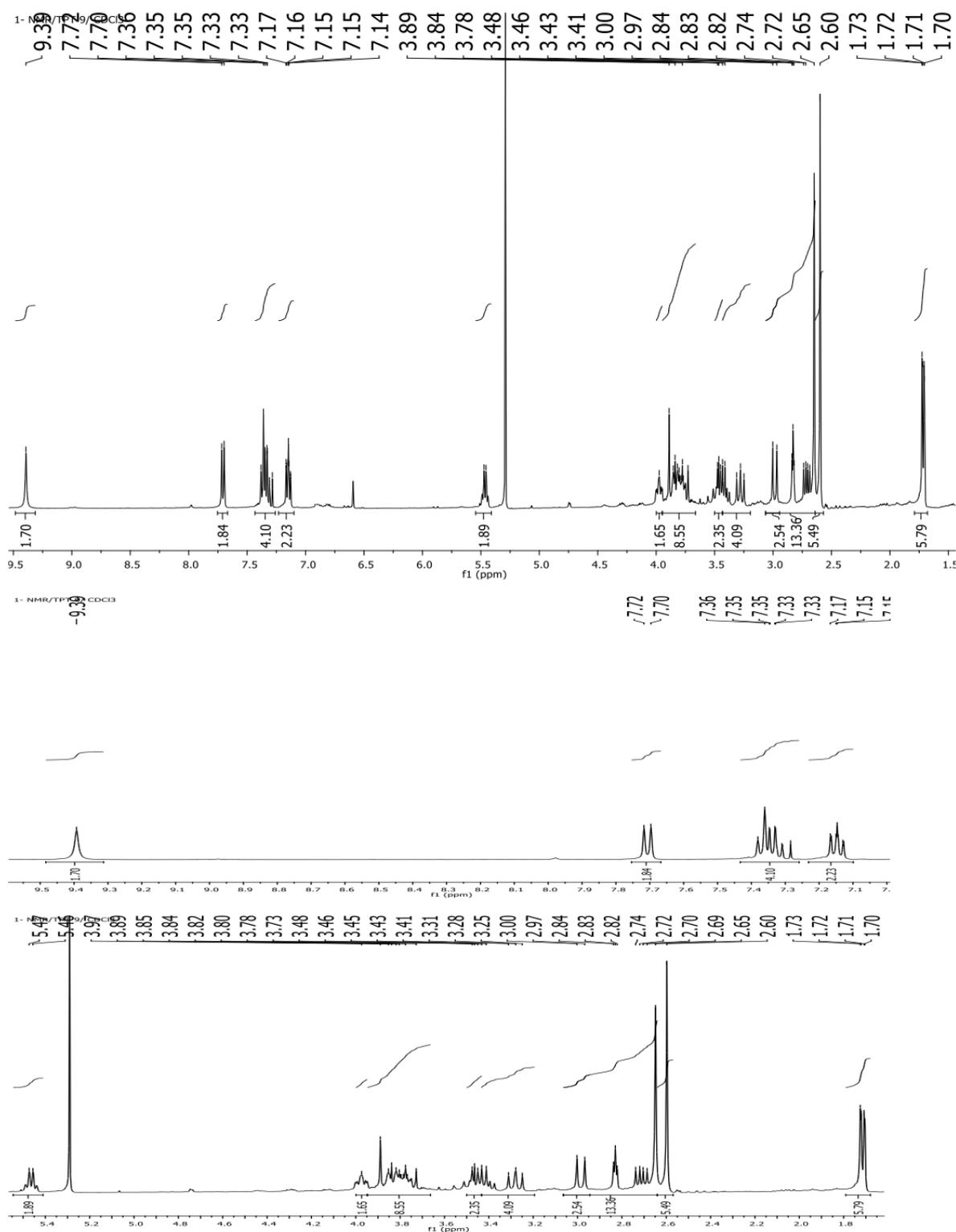
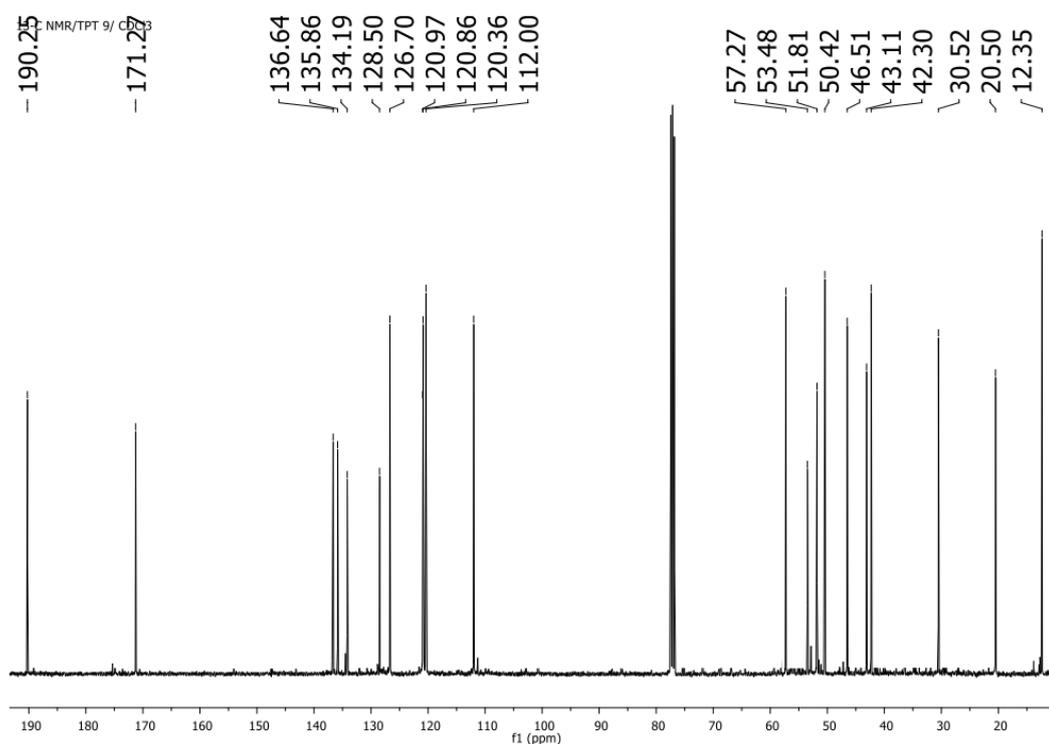


Figure 90. Spectre de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de TP1a et TP1b

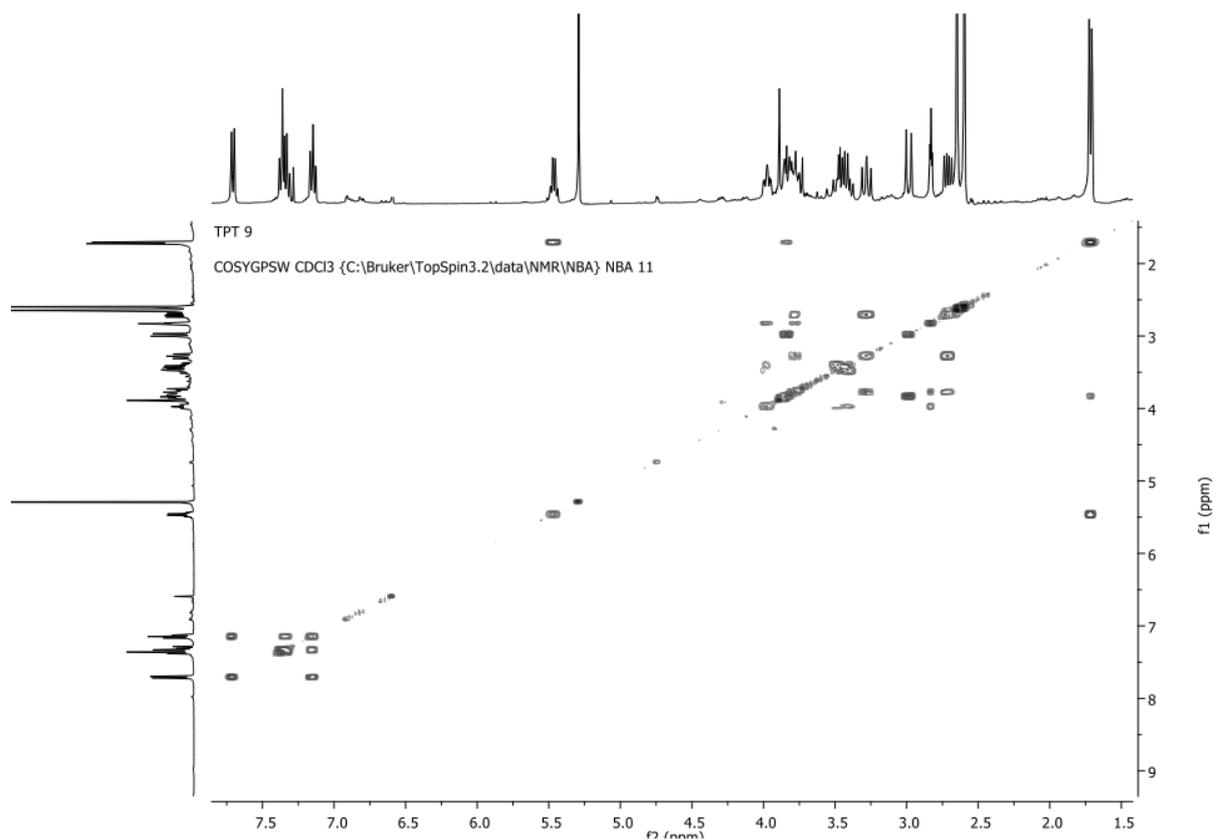


**Figure 91. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de TP1a et TP1b**

L'analyse du spectre de corrélations hétéronucléaires, observées à longue distance et celui du spectre de corrélations homonucléaires a permis d'établir les liaisons entre les sous structures sus citées (Tableau 22). En effet dans le spectre HMBC (Fig. 93), le H-21 ( $\delta_{\text{H}}$  3,80 et 2,99) montre des corrélations  $^3J$  avec les carbones C-22 ( $\delta_{\text{C}}$  42,3)/ C-3( $\delta_{\text{C}}$  46,5)/ C-15 ( $\delta_{\text{C}}$  30,5)/ C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  57,3)/ C-20 ( $\delta_{\text{C}}$  135,9)/ C-19 (120,9). De même, H-22( $\delta_{\text{H}}$  2,59) corréle en  $^3J$  avec les carbones C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  46,5)/C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  57,3)/C-21 ( $\delta_{\text{C}}$  51,8) ; H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  3,98) corréle avec les carbones C-23 ( $\delta_{\text{C}}$  171,3)/C -21 ( $\delta_{\text{C}}$  51,8)/C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  46,5)/C-14 ( $\delta_{\text{C}}$  30,5)/C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  20,5) ; H-16 ( $\delta_{\text{H}}$  3,27 et 2,69) corréle avec les carbones C-20 ( $\delta_{\text{C}}$  135,9)/C-17 ( $\delta_{\text{C}}$  190,3)/C-14 ( $\delta_{\text{C}}$  30,5) et H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  2,82) avec les carbones C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  57,3)/C-22 ( $\delta_{\text{C}}$  42,3)/C-14 ( $\delta_{\text{C}}$  30,5). Ce qui a permis de confirmer les caractéristiques structurales et les groupes fonctionnels (C(5)-CO<sub>2</sub> et C(15)-CH<sub>2</sub>-CHO) ainsi que les signaux caractéristiques d'une partie  $\beta$ -carboline (Xiao et al., 2011).

Sur son spectre COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (Fig. 92), on observe des corrélations entre H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  3,98) et H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3,79 – 3,77et 3,40 – 3,42) ; H-19 ( $\delta_{\text{H}}$  5,47) et H-18 ( $\delta_{\text{H}}$  1,70) ; H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  3,79 – 3,77) et H-14 ( $\delta_{\text{H}}$  3,79 – 3,77 et 3,31 – 3,29) enfin entre H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  2,82) et H-14 ( $\delta_{\text{H}}$  3,79 – 3,77 et 3,31 – 3,29) . L'exploitation de ces corrélations combinées à celles observées sur le spectre HSQC (Fig. 83) a permis de déduire les liaisons et sous-structures ci-dessous C-5/C-6 (-CH-CH<sub>2</sub>-), C-3/C-14/C-15/C-20/C-19 (-CH-CH<sub>2</sub>-CH-C=CH-), C-18/C-19/C-20 (CH<sub>3</sub>-CH=C-) et

C-15/C-16 (-CH-CH<sub>2</sub>-) respectivement. De plus, un déblindage notable des protons H-5, et H-21 par rapport au 17-*O*-acétyl-10-hydroxycorynanthéol à savoir :  $\delta_{\text{H}}$  2,82 (H-5) et  $\delta_{\text{H}}$  2,99 / 3,80 (H-21) pour **TP1a** ;  $\delta_{\text{H}}$  2,62 / 3,09 (H-5), et 2,29 / 2,97 (H-21) pour le 17-*O*-acétyl-10-hydroxycorynanthéol a été observé, indiquant que **TP1a** est un ammonium quaternaire (Cao et al., 2011)



**Figure 92.** Spectre COSY (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de TP1a et TP1b

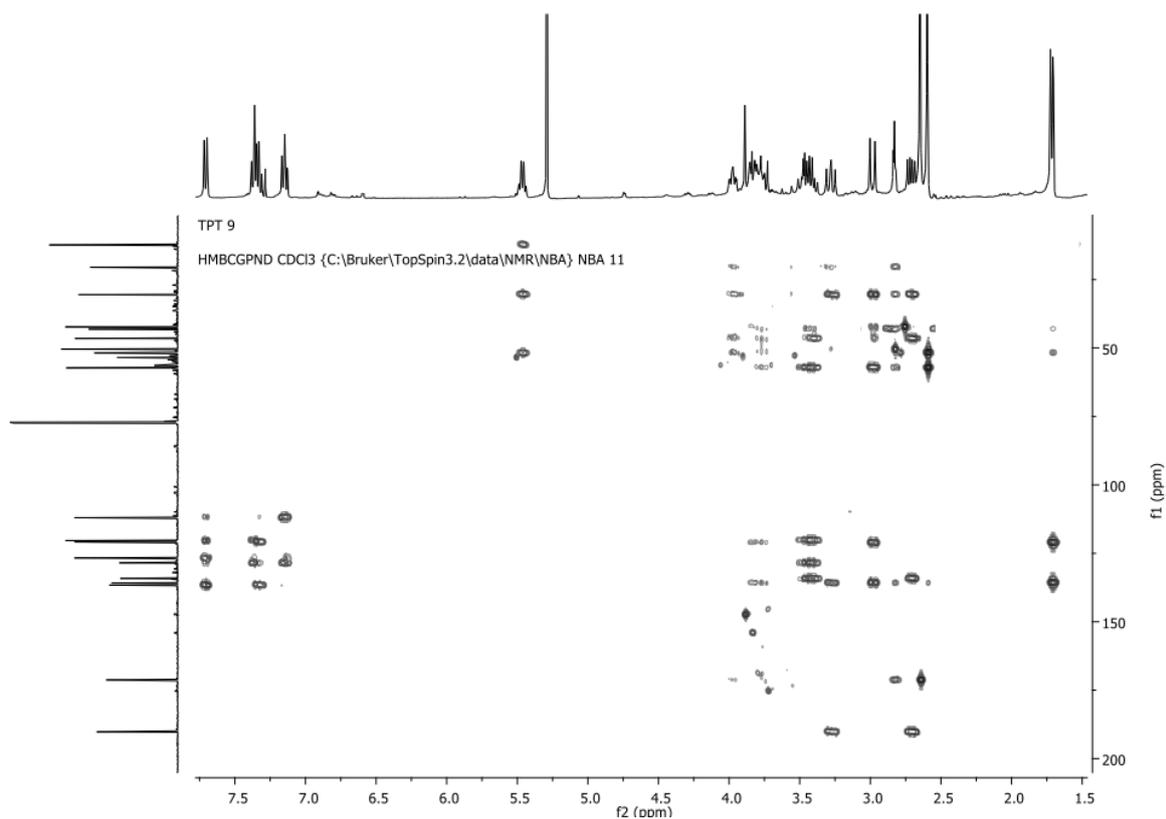


Figure 93. Spectre HMBC (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de TP1a et TP1b

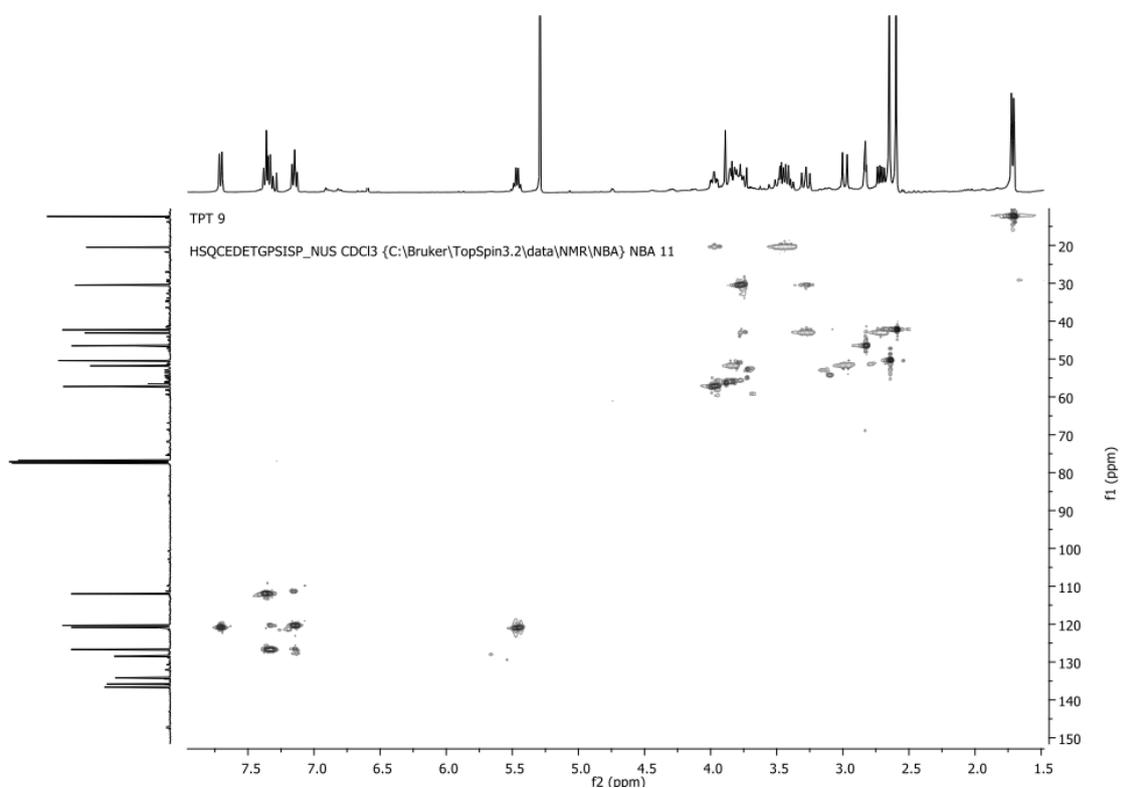


Figure 94. Spectre HSQC (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de TP1a et TP1b

Dans le spectre ROESY (Fig. 95), les corrélations de H-3 ( $\delta_H$  2,82)/H-5 ( $\delta_H$  3,98) et H-22 ( $\delta_H$  2,59)/H-3/H-5/H-15 suggèrent qu'ils sont du même côté et arbitrairement assigné à orientation  $\alpha$  (Brown et Duckworth 1976) ; et cela a été compatible avec la plupart des AIM (Brown et *al.*, 1972). Ainsi, la stéréochimie de **TP1a** a été établie comme  $3\alpha$ ,  $5\alpha$ ,  $15\alpha$ ,  $22\alpha$  (Fi. 4). De plus, les déplacements chimiques à C-3 ( $\delta_C$  46,5) et le groupe *N*-méthyle ( $\delta_C$  42,3) étaient très proches de ceux rapportés pour les fragments *cis-N*-méthylquinolizidinium avec des déplacements chimiques à  $\delta_C$  49,6 et 48,9 (Coune et *al.*, 1980 ; Asher et *al.*, 1962). Sur la base de l'analyse ci-dessus, le composé **1a** a été déduit comme un zwitterion, soutenu par les preuves des déplacements chimiques significatifs vers les champs faibles de H-3, H-5 et H-21 par rapport à un analogue, l'adribine (Brown et *al.*, 1972). De plus, le déplacement chimique du proton du groupe *N*-méthyle est également conforme à une jonction cyclique *cis*-C/D (Moynihan, 1962) connue comme la conformation la plus stable (Bisset et Phillipson, 1974).

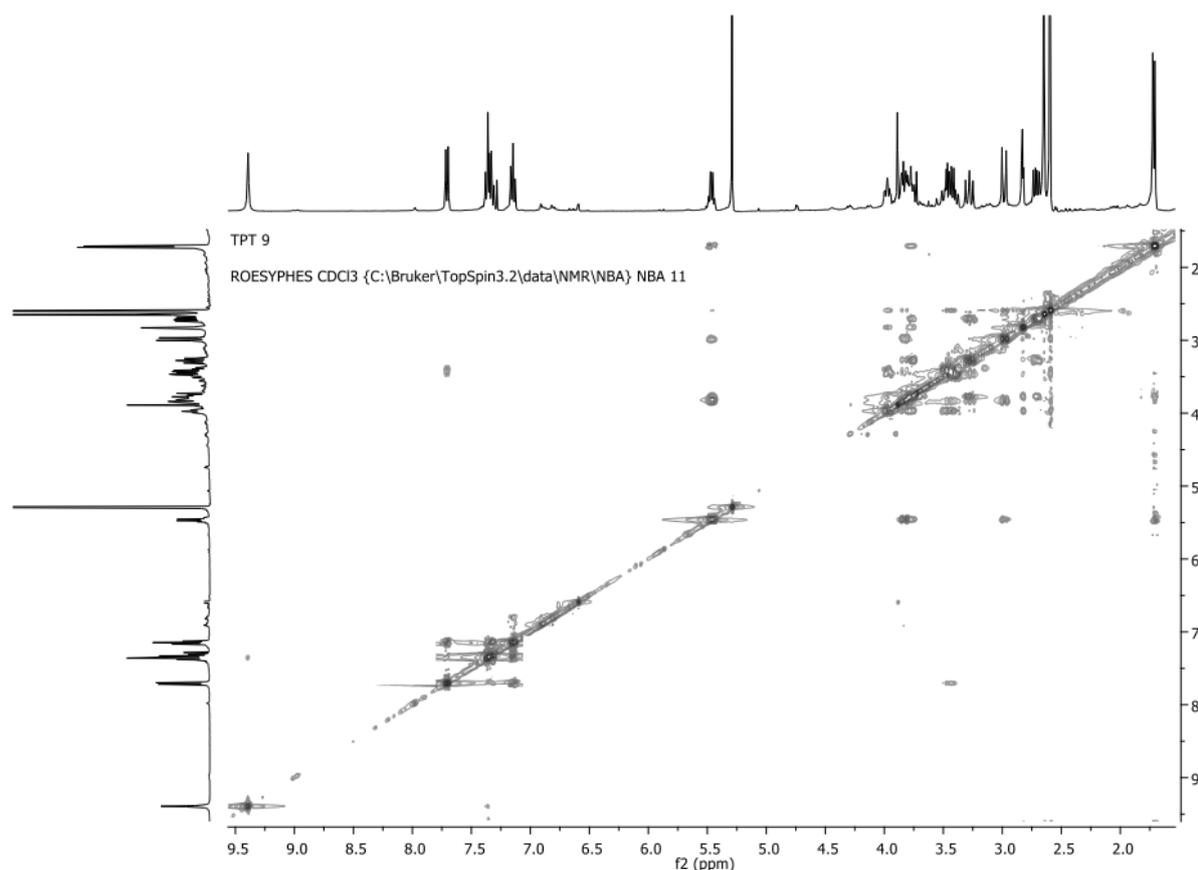
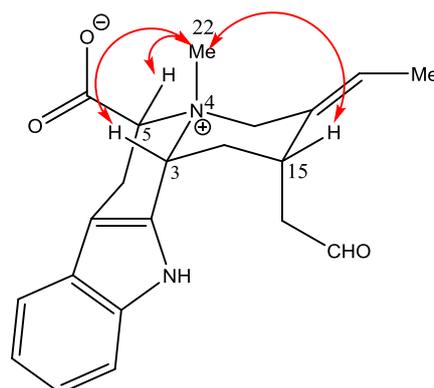
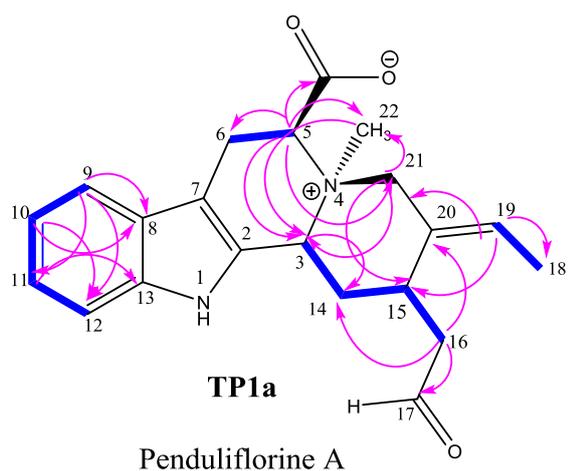


Figure 95. Spectre ROESY (400 MHz,  $CDCl_3$ ) de TP1a et TP1b

Basé sur les informations susmentionnées, **TP1a** apparaît comme un dérivé de la 5'-carboxycorynanthéal. De plus, la corrélation ROESY de H-19 ( $\delta_H$  5,47)/H-21 ( $\delta_H$  3,83 et 2,99) implique une double liaison  $\Delta^{19(20)}$  de configuration *E*. Ainsi, **TP1a** a été attribué à la penduliflorine A, (Bitombo *et al.*, 2021).



HMBC:  COSY:  ROESY 

**Tableau 23: Données spectrales RMN du composé TP1a (CDCl<sub>3</sub>, 400 et 100 MHz)**

position	$\delta_H$ (mult, $J_{Hz}$ )	$\delta_C$	DEPT	HMBC (C $\rightarrow$ H)
2	–	134,2	C	
3	2,82 dd (8, 5 ; 4, 5)	46,5	CH	C-14, C-5, C-22
5	3,98 dd (10, 4 ; 3, 6)	57,3	CH	C-3, C-23, C-6, C-21
6	3,79 – 3,76 m 3,40 – 3,42 m	20,5	CH <sub>2</sub>	
7	–	109,7	C	
8	–	128,6	C	
9	7,71 d (8, 1)	120,8	CH	C-8, C-11, C-12
10	7,15 dd (8, 0 ; 6, 8)	120,3	C	C-8, C-12
11	7,32 dd (8, 4 ; 7, 6)	126,6	CH	C-13
12	7,36 d (8, 4)	111,9	CH	
13	–	136,5	C	
14	3,79 – 3,76 m 3,31 – 3,29 m	30,5	CH <sub>2</sub>	
15	3,79 – 3,77 m	30,5	CH	
16	3,27 – 3,25 m 2,69 m	43,1	CH <sub>2</sub>	C-14, C-17, C-20
17	–	190,3	CH	
18	1,70 d (6, 8)	12,3	CH <sub>3</sub>	
19	5,47 q (6, 5)	120,9	CH	C-18, C-21
20	–	135,9	C	
21	3,80 d (14, 0) 2,99 d (14, 0)	51,8	CH <sub>2</sub>	C-15, C-3, C-22, C-5, C-20, C-19
NMe-4	2,59 s	42,3	CH <sub>3</sub>	C-3, C-5, C-21
NH-1	9,40 s	–	–	
– COO <sup>–</sup>	–	171,3	C	

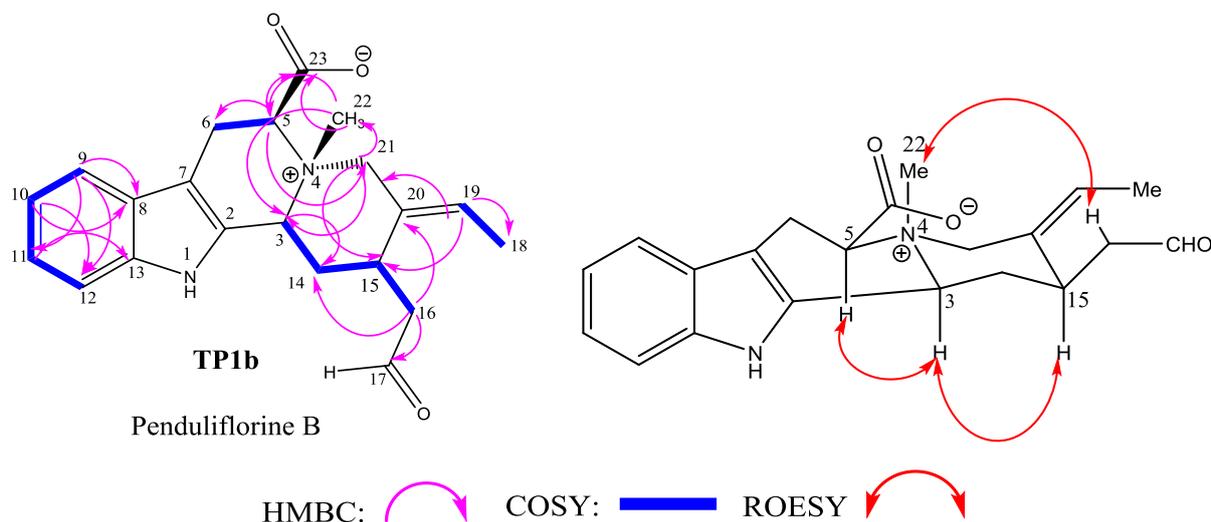
### 2.2.5.2.1.2. Détermination structurale du composé TP1b

L'analyse des spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (Figs.90 et 91) dans le  $\text{CDCl}_3$  de **TP1b** montre qu'il est très similaire à **TP1a**, excepté le déblindage des protons et carbone du groupe  $N_4\text{-CH}_3$  ( $\delta_{\text{H}}$  2,64/ $\delta_{\text{C}}$  50,4), suggérant que **TP1b** pourrait être un épimère  $N$ -méthyle de **TP1a**. Ceci se justifie par le fait le groupe  $N_4\text{-CH}_3$  se trouve dans le cône d'anisotropie du groupe carboxyle en C-5 par rapport aux dérivés *trans*- $N$ -méthylquinolizidinium ( $\delta_{\text{C}} \sim 38,7$ ) (Sugiura et al., 1977).

Sur son spectre HMBC (Fig. 93) on observe les corrélations hétéronucléaires longue distance  $^3J$  entre le H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  2,82) et le carbone C-22 ( $\delta_{\text{C}}$  50,4), le H-22 ( $\delta_{\text{H}}$  2,64) et les carbones C-5 (57,3) / C-23 (171,3) confirmant les caractéristiques structurales de **TP1b**.

L'analyse de son spectre ROESY (Fig. 95) montre l'absence de corrélations homonucléaire entre H-22 ( $\delta_{\text{H}}$  2,64) et les autres protons appartenant aux stéréocentres C-3, C-5 et C-15 déjà décrits pour **TP1a** et révèle que le groupe  $N_4\text{-CH}_3$  adopte une configuration  $\beta$  avec H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  2,82) ; les deux étant diaxiaux (Zhang et al., 2018).

Toutes ces informations sont cohérente avec celles rapportés dans la littérature pour la jonction *trans* des cycles C/D (Trager et al., 1966). La stéréochimie de **TP1b** a été déduite comme étant  $3\alpha$ ,  $5\alpha$ ,  $15\alpha$ ,  $22\beta$  pour les protons des stéréocentres et  $N$ -méthyle (Sawa et al., 1969; Moynehan et al., 1962). La structure du composé **TP1b** a ainsi été caractérisé en tant qu'analogue  $N(4)$ -méthylpipéridine épimère de **TP1a** ; trivialement appelé la penduliflorine B (Bitombo et al., 2021).



**Tableau 24: Données spectrales RMN du composé TP1b (CDCl<sub>3</sub>, 400 et 100 MHz)**

position	$\delta_{\text{H}}$ (mult, $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$	DEPT	HMBC (C $\rightarrow$ H)
2	–	134,3	C	
3	2,82 dd (8, 5 ; 4, 5)	46,5	CH	C-14, C-5, C-22
5	3,97 dd (10, 4 ; 3, 6)	57,3	CH	C-21
6	3,79 – 3,76 m 3,42 – 3,40 m	20,5	CH <sub>2</sub>	
7	–	109,7	C	
8	–	128,7	C	
9	7,71 d (8, 1)	120,9	CH	C-8, C-11, C-12
10	7,15 dd (8, 0 ; 6, 8)	120,3	C	C-8, C-12
11	7,32 dd (8, 4 ; 7, 6)	126,6	CH	C-13
12	7,36 d (8, 4)	111,9	CH	
13	–	136,5	C	
14	3,79 – 3,76 m 3,31 – 3,29 m	30,5	CH <sub>2</sub>	
15	3,79 – 3,77 m	30,5	CH	
16	3,27 – 3,25 m 2,67 m	43,1	CH <sub>2</sub>	C-14, C-17, C-20
17	–	190,3	CH	
18	1,70 d (6, 8)	12,3	CH <sub>3</sub>	
19	5,47 q (6, 5)	120,9	CH	C-18, C-21
20	–	135,9	C	
21	3,80 d (14, 0) 2,99 d (14, 0)	53,5	CH <sub>2</sub>	C-15, C-3, C-22, C-5, C-20, C-19
NMe-4	2,64 s	50,4	CH <sub>3</sub>	C-5, C-23
NH-1	9,40 s	–	–	
– COO <sup>–</sup>	–	171,3	C	

### 2.2.5.2.2. Détermination structurale du composé TP2

TP2 a été isolé sous forme de poudre amorphe jaune et répond positivement au test de Dragendorff. Sa formule moléculaire a été déterminée comme  $C_{21}H_{25}N_2O_4$ , sur la base de l'analyse de ses spectres de masse ESI-MS<sup>+</sup> et HRESI-QTOF-SM<sup>+</sup> (Figs. 96 et 97) qui ont montré le pic de l'ion pseudomoléculaire à  $m/z$  369,1 et 369,2022 ( $[M+H]^+$  [calculée pour  $C_{21}H_{25}N_2O_4$ : 369.2218, erreur = -19,6 ppm] respectivement, indiquant 11 degrés d'insaturation. C'est un composé optiquement actif avec un pouvoir rotatoire spécifique d'une valeur de  $[\alpha]_D^{25} - 14,4$  (c 0,02, MeOH).

Son spectre IR indique la présence d'une fonction ester à  $1724\text{ cm}^{-1}$  et d'un carbonyle conjugué à  $1625\text{ cm}^{-1}$ . Le spectre UV a montré des maxima d'absorption à 206, 274 et 311 nm, caractéristiques des chromophores indolique (Cong et al., 2014).

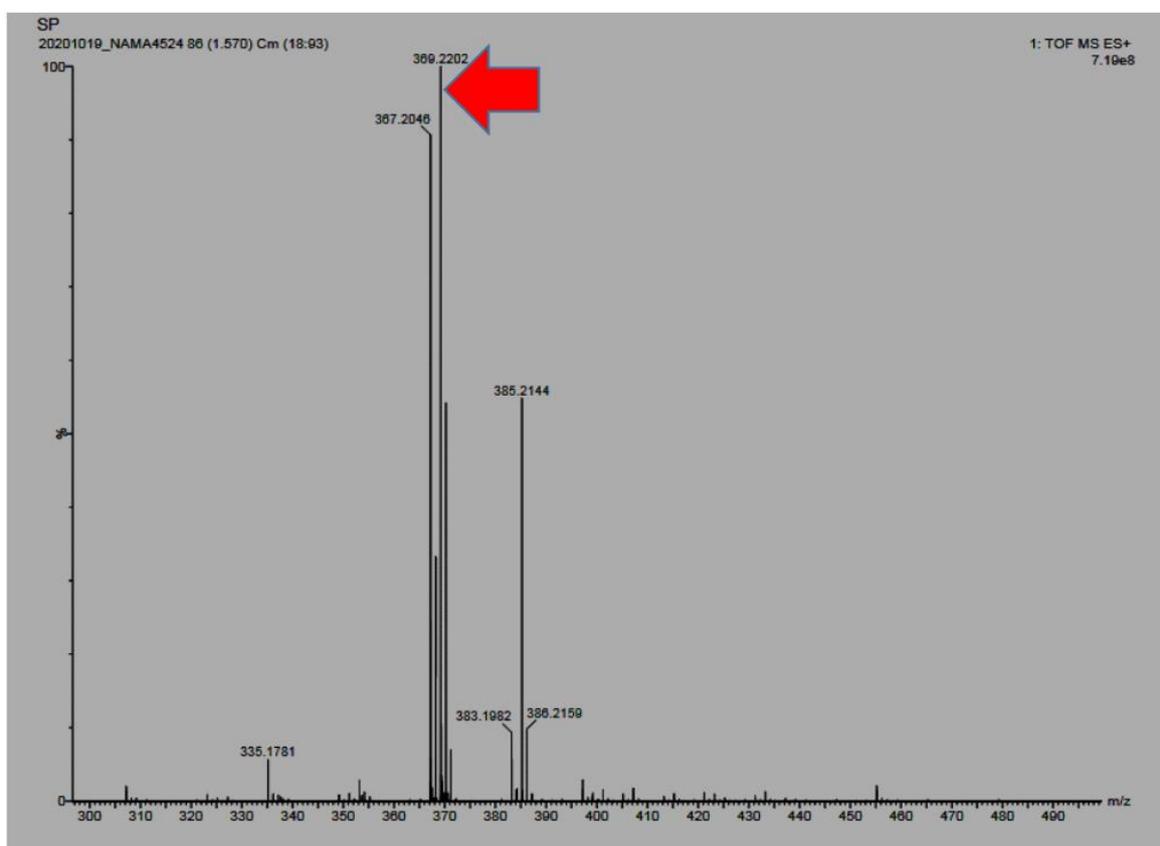
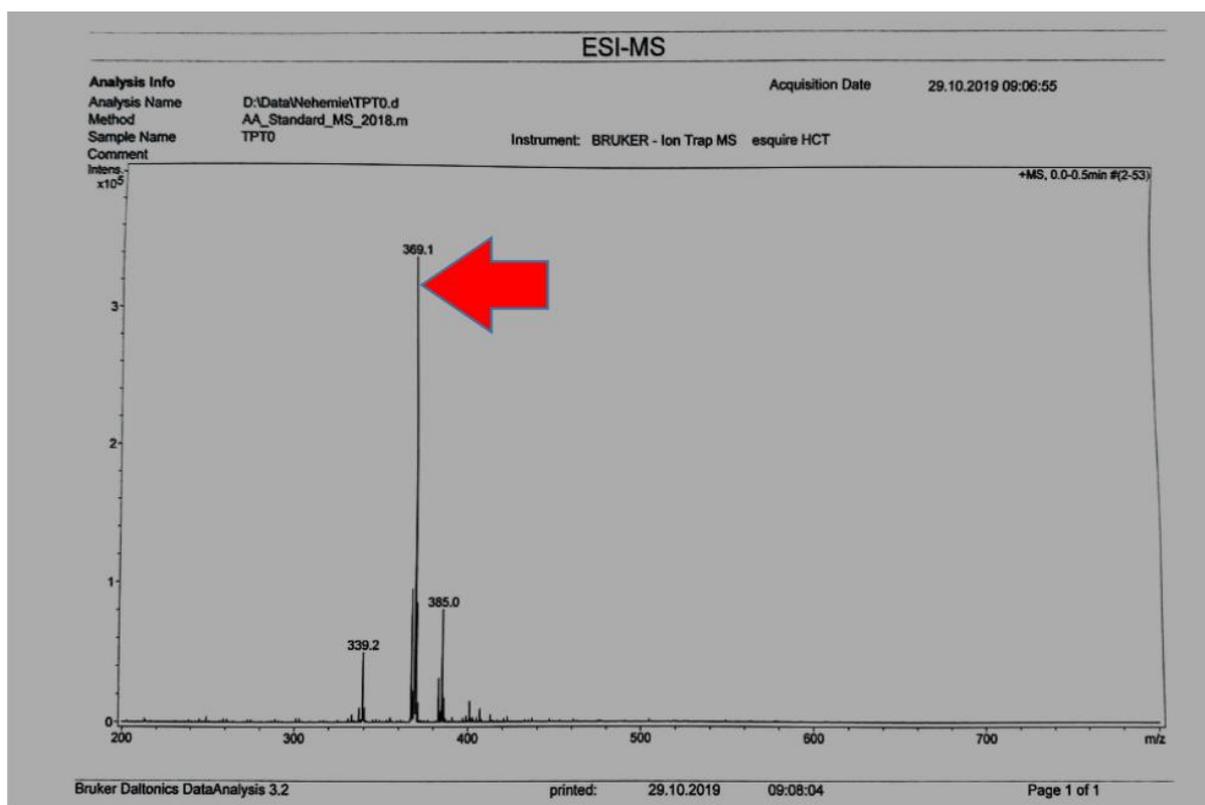


Figure 96. Spectre de masse HRESI-MS du composé TP2



**Figure 97. Spectre de masse ESI-MS du composé TP2**

Le spectres RMN <sup>1</sup>H de **TP2** (Fig.98) indique des signaux de protons d'un cycle aromatique 1,2-disubstitué à  $\delta_H$  7,57 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-9), 7,01 (1H, dd,  $J = 8,0, 7,5$  Hz, H-11), 7,00 (1H, dd,  $J = 8,4, 7,5$  Hz, H-10) et 7,15 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-12); un proton oléfinique à  $\delta_H$  5,28 (1H, q,  $J = 6,5$  Hz, H-19); un groupe éthylidène à  $\delta_H$  1,67 (3H, d,  $J = 6,8$  Hz, H-18) ; trois méthines à  $\delta_H$  3,98 (1H, dd,  $J = 10,4 ; 3,6$  Hz, H-5), 2,64 (1H, m, H-3) et 3,74 (1H, m, H-15) ; quatre méthylènes à  $\delta_H$  3,68 (1H, m, H-21 $\alpha$ ), 3,50 (1H, m, H-6 $\alpha$ ), 3,26 (1H, m, H-6 $\beta$ ), 1,98 (1H, m, H-14 $\beta$ ), 2,64 (1H, m, H-16 $\alpha$ ), 2,84 (1H, d,  $J = 14,0$  Hz, H-21 $\beta$ ) et 2,69 (1H, m, H-16 $\beta$ ), 2,53 (1H, m, H-14 $\alpha$ ) et 1,78 (1H, m, H-16 $\beta$ ) ; un groupe methoxy à  $\delta_H$  3,63 (3H, s) et un proton d'une amine secondaire à  $\delta_H$  9,29 (1H, s).

Son spectre RMN <sup>13</sup>C (Fig.99) indique que **TP2** possède 21 atomes de carbones non équivalents comprenant; sept carbones sp<sup>2</sup> quaternaires à  $\delta_C$  (109,8 ; 130,1 ; 136,5 ; 137,2 ; 139,3 ; 170,6 et 174,1), cinq carbones sp<sup>2</sup> methines à  $\delta_C$  (110,3 ; 116,7 ; 117,2 ; 118,0 et 120,8), trois carbones sp<sup>3</sup> methines à  $\delta_C$  (33,9 ; 47,1 et 59,4), quatre méthylènes à  $\delta_C$  (18,8 ; 36,2 ; 36,8 et 52,4), un méthyle à  $\delta_C$  (11,3) et un methoxy à  $\delta_C$  (51,7) respectivement.

L'analyse des données RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C de **TP2** indique qu'ils sont étroitement similaires à ceux de **TP1** (Dastoor et al., 1967), mais à une seule différence : l'absence du carbonyle de l'aldéhyde dans le spectre carbone (Fig.99) ; la présence du carbonyle de la fonction ester ainsi

que la présence de certains carbones déblindés C-15 et C-14 suggérant que la fonction aldéhyde a été remplacée par la fonction ester sur le carbone C-17.

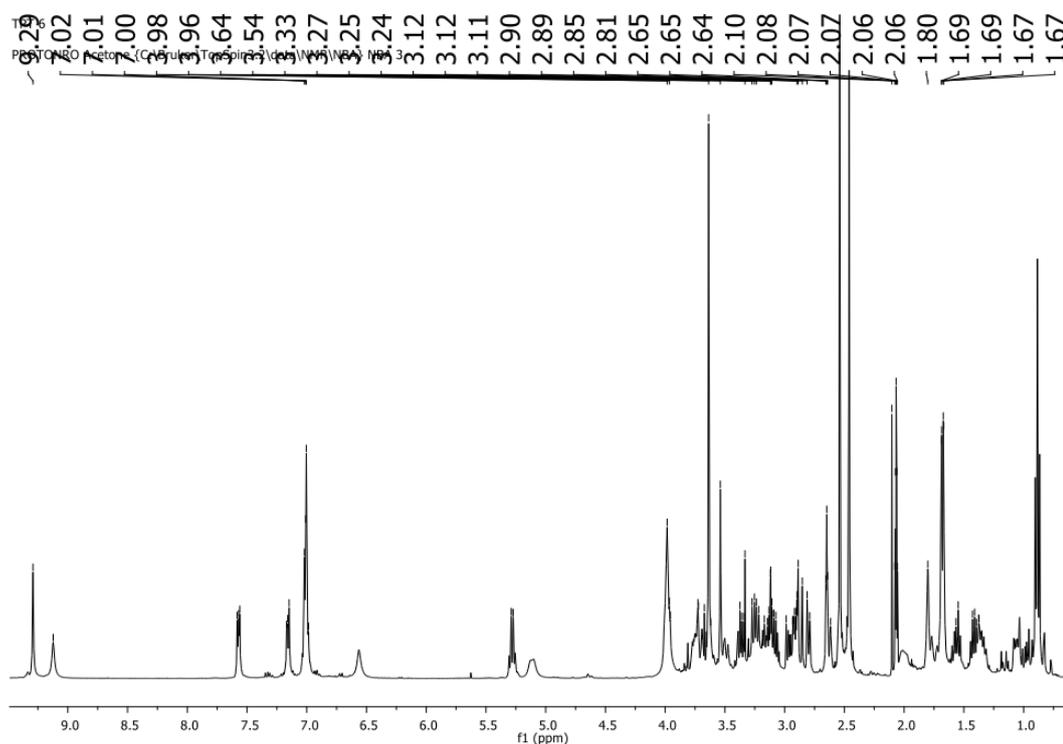


Figure 98. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, Acetone) de TP2

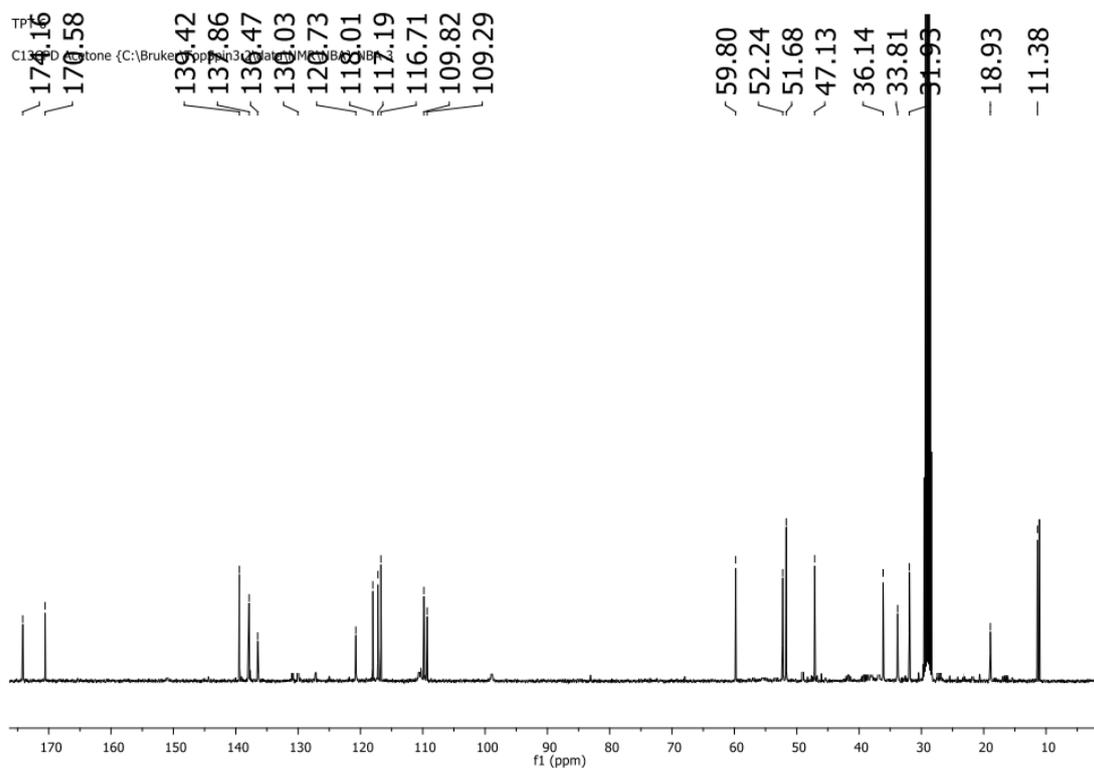
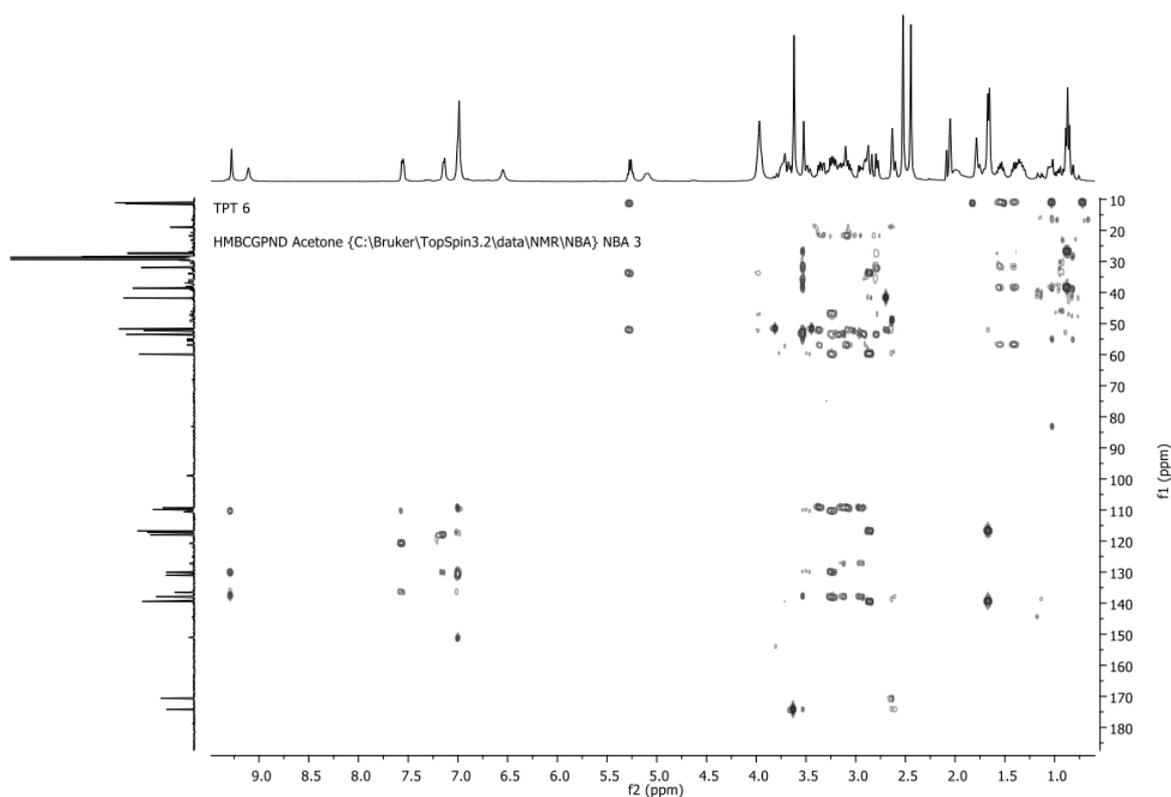
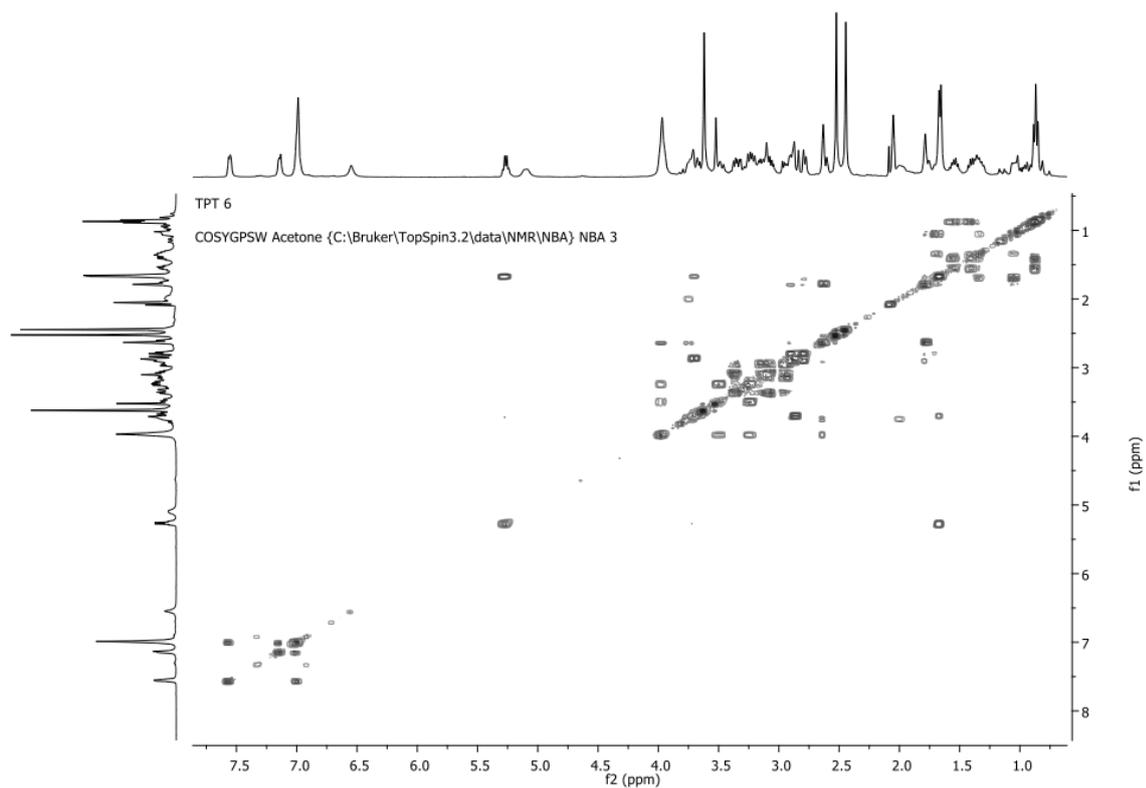


Figure 99. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, Acetone- $d_6$ ) de TP2

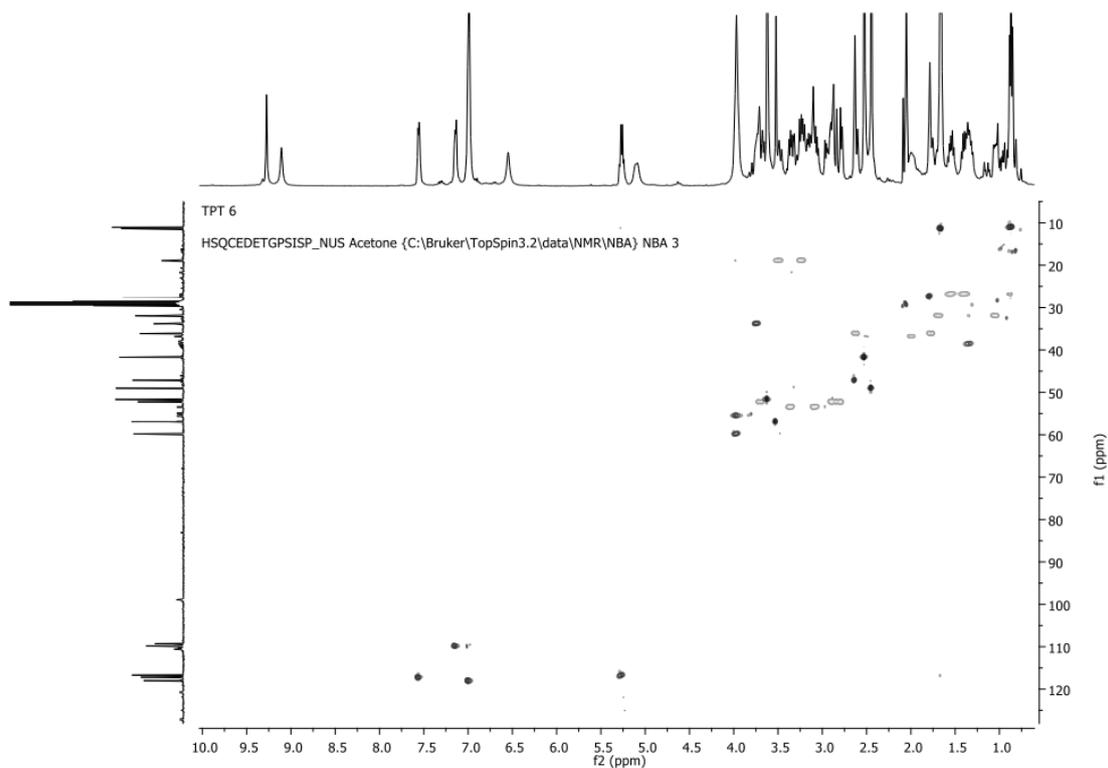
L'analyse détaillée des données RMN 2D (COSY et HMBC) (Figs.101 et 100) a révélé que le composé **TP2** est un analogue de **TP1**, possédant un atome d'oxygène en plus. Ceci a été particulièrement soutenu par les corrélations HMBC du proton H-15 ( $\delta_H$  3,74) vers les carbones C-20 ( $\delta_C$  139,3)/C-3( $\delta_C$  47,1)/C-21 ( $\delta_C$  52,4) ; du proton H-16 ( $\delta_H$  2,64), vers les carbones C-17 ( $\delta_C$  174,1)/ C-20 ( $\delta_C$  139,3)/C-15 ( $\delta_C$  33,9) ; du proton H-5 ( $\delta_H$  3,98) vers le carbone C-23 ( $\delta_C$  170,6) et du OMe ( $\delta_H$  3,65) vers le carbone C-17 ( $\delta_C$  174,2), permettant ainsi de positionner le groupe carboxyle en C-5 et le groupe méthoxycarboxyle en C-16. Le reste des corrélations COSY, HMBC et ROESY sont similaires à celles observées chez le composé **TP1b**.



**Figure 100.** Spectre de HMBC (400 MHz, Acetone-d6) de TP2

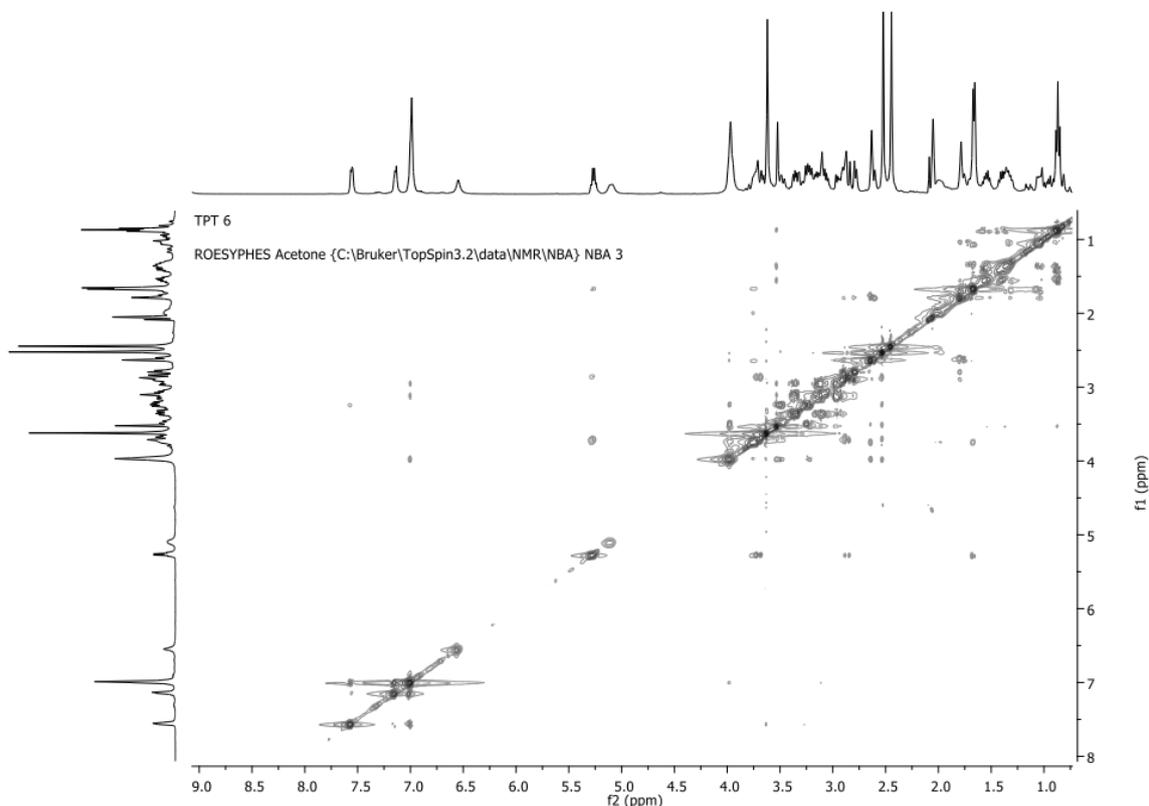


**Figure 101. Spectre de COSY (400 MHz, Acetone-d6) de TP2**



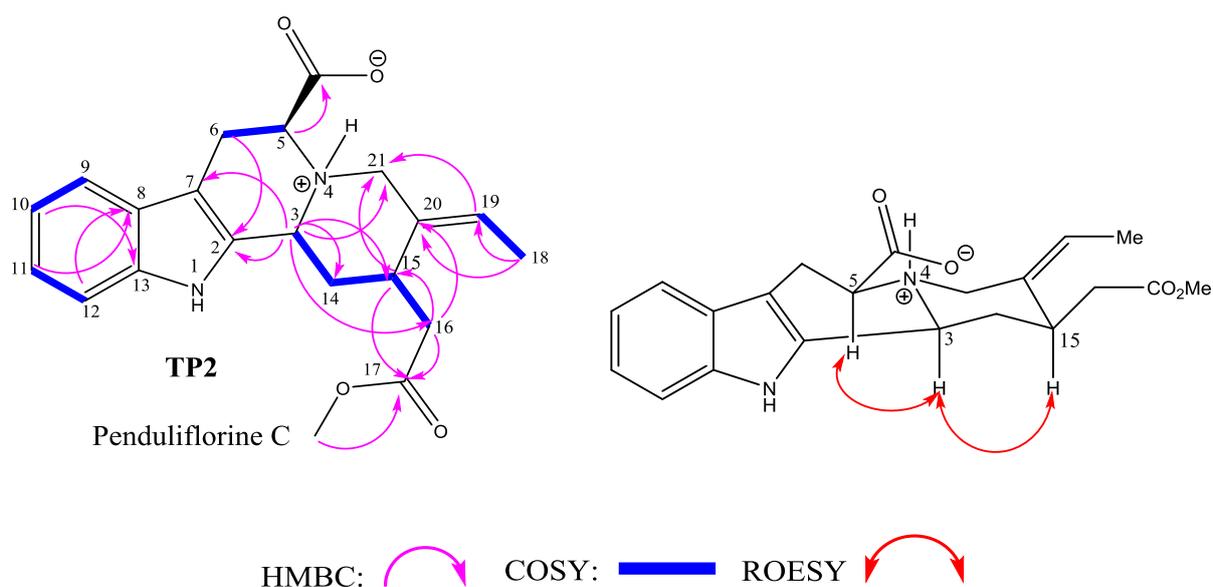
**Figure 102. Spectre de HSQC (400 MHz, Acetone-d6) de TP2**

Les corrélations ROESY (Fig. 103) du composé **TP2** montrent de très fortes similarités avec celles de **TP1b**. La configuration relative de **TP2** a donc été déduite de celle de **TP1b**.



**Figure 103. Spectre de ROESY (400 MHz, Acetone-d6) de TP2**

La structure de **TP2** a ainsi été caractérisée comme le 15- méthylèncarbométhoxy analogue de **TP1**, trivialement appelé penduliflorine C (Bitombo et *al.*, 2021).



**Tableau 25: Données spectrales RMN du composé TP2 (Acetone-d6, 400 et 100 MHz)**

position	$\delta_{\text{H}}$ (mult, $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$	DEPT	HMBC (C $\rightarrow$ H)
2	–	137,2	C	
3	2,64 m	47,1	CH	C-14, C-15, C-16, C-7, C-2, C-21
5	3,98 dd (10, 4 ; 3, 6)	59,4	CH	C-23
6	3,50 m 3,26 m	18,8	CH <sub>2</sub>	C-2
7	–	109,8	C	
8	–	130,1	C	
9	7,57 d (8, 0)	117,2	CH	
10	7,01 dd (8, 0 ; 7, 5)	118,0	CH	C-13
11	7,00 dd (8, 4 ; 7, 5)	120,8	CH	C-8
12	7,15 d (8, 4)	110,3	CH	C-8
13	–	136,5	C	
14	2,53 m 1,98 m	36,8	CH <sub>2</sub>	
15	3,74 m	33,9	CH	C-21
16	2,64 m 1,78 m	36,2	CH <sub>2</sub>	C-15, C-17, C-20
17	–	174,1	C	
18	1,67 d (6, 8)	11,3	CH <sub>3</sub>	C-19, C-20
19	5,28 q (6, 5)	116,7	CH	C-21
20	–	139,3	C	
21	3,68 m 2,84 m	52,4	CH <sub>2</sub>	
OMe –17	3,63 s	51,7	CH <sub>3</sub>	C-17
NH-1	9,29 s	–	–	
–COO <sup>–</sup>	–	170,6	C	

### 2.2.5.2.3. Détermination structurale du composé TP3

**TP3** a été obtenu sous forme de poudre amorphe blanche soluble dans le MeOH et répond positivement au test de Dragendorff caractéristique des alcaloïdes. Les spectres UV et IR sont similaires à ceux des penduliflorines décrites précédemment. Son spectre HRESI-QTOF-SM+ (Fig. 104) a montré un ion moléculaire à  $m/z$  385.2101  $[M+H]^+$  correspondant à la formule brute  $C_{22}H_{29}N_2O_4$  [calculée pour  $C_{22}H_{29}N_2O_4$  : 385.2109, erreur = -0,8 ppm]. Il possède 10 degrés d'insaturations, une de moins que les penduliflorines **A–C**. C'est un composé optiquement actif avec un pouvoir rotatoire spécifique d'une valeur de  $[\alpha]_D^{25} - 18,3$  ( $c$  0,01,  $CHCl_3$ ). Son profil UHPLC-HRMS a montré un seul pic intense (Fig.21). L'analyse des spectres RMN  $^1H$  et  $^1H-^1H$  COSY (Figs. 105 et 109), indique la présence d'un ensemble de deux signaux à ( $\delta_H$  2,50 /  $\delta_C$  49,5) et ( $\delta_H$  2,61 /  $\delta_C$  41,1) caractéristiques du groupe **N<sub>4</sub>-Me** dans les proportions 1:1, suggérant une relation isomérique similaire à celles de **TP1a** et **TP1b**. Ainsi, des analyses spectroscopiques approfondies ont été effectuées pour déterminer la structure de ces deux composés inséparables **TP3a** et **TP3b**.

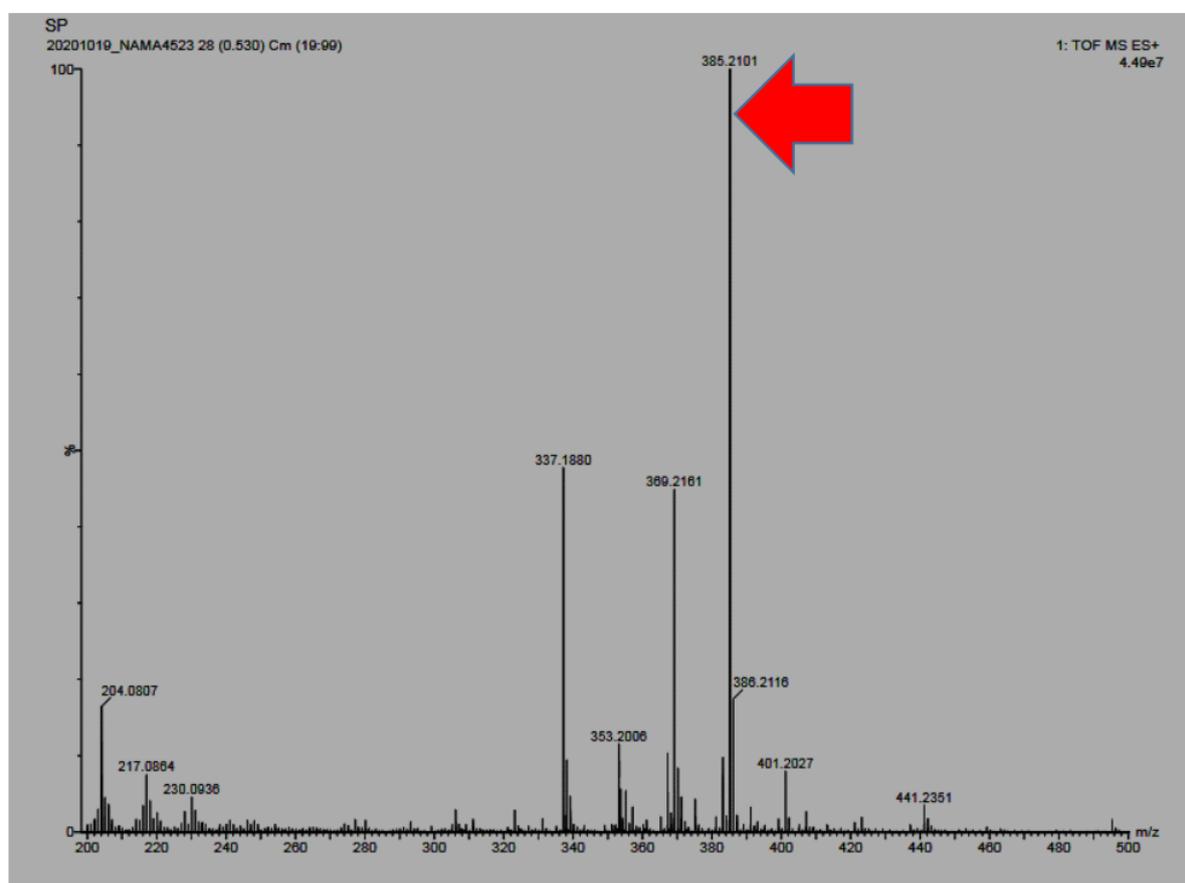


Figure 104. Spectre de masse HRESI-MS des composés TP3a et TP3b

### 2.2.5.2.3.1. Détermination structurale du composé TP3a

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  de **TP3a** (Fig. 105) indique des signaux de protons aromatiques d'un benzène *ortho*-disubstitué à  $\delta_{\text{H}}$  7,51 (1H, d,  $J = 8,1$  Hz, H-9), 7,00 (1H, dd,  $J = 8,0 ; 7,4$  Hz, H-10), 7,00 (1H, dd,  $J = 8,6 ; 7,4$  Hz, H-11) et 7,10 (1H, d,  $J = 8,6$  Hz, H-12); un groupe éthyle à  $\delta_{\text{H}}$  1,52 (1H, dt, H-19 $\alpha$ ), 1,40 (1H, m, H-19 $\beta$ ) et 0,89 (3H, t,  $J = 7,1$  Hz H-18); quatre méthines à  $\delta_{\text{H}}$  4,04 (1H, d,  $J = 10,4$ ; H-5), 2,65 – 2,63 (1H, m, H-3), 3,77– 3,75 (1H, m, H-15) et 1,31– 1,29 (1H, m, H-20); quatre méthylènes à  $\delta_{\text{H}}$  3,80 (1H, d,  $J = 14,0$  Hz, H-21 $\alpha$ ), 1,71 (1H, m, H-14 $\alpha$ ), 2,98 (1H, d,  $J = 13,8$  Hz H-6 $\beta$ ), 1,08 (1H, m, H-14 $\beta$ ), 3,02 (1H, d,  $J = 15,5$  Hz H-6 $\alpha$ ), 2,57 (1H, d,  $J = 15,7$  Hz, H-16 $\alpha$ ), 2,96 (1H, d,  $J = 14,0$  Hz, H-21 $\beta$ ) et 1,79 (1H, m, H-16 $\beta$ ); un méthyle à  $\delta_{\text{H}}$  2,61 (3H, s) correspondant au groupe  $N_4$ -Me; un methoxy  $\delta_{\text{H}}$  3,64 (3H, s) et un proton d'une amine secondaire à  $\delta_{\text{H}}$  7,76 (1H, s).

Son spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig.106) indique qu'il possède 22 atomes de carbones dont 6 carbones  $\text{sp}^2$  quaternaires à  $\delta_{\text{C}}$  (109,3; 129,6; 131,0; 137,2; 171,1 et 175,0), 4 carbones  $\text{sp}^2$  methines à  $\delta_{\text{C}}$  (109,7; 116,9; 118,2 et 120,9), 4 carbones  $\text{sp}^3$  methines à  $\delta_{\text{C}}$  (33,3; 38,6; 46,4 et 59,9), 5 méthylènes à  $\delta_{\text{C}}$  (21,7; 26,5; 31,8; 35,7 et 52,0) et 3 méthyles à  $\delta_{\text{C}}$  (10,9; 41,1 et 51,8) respectivement indiquant que **TP3a** est étroitement similaire à l'adirubine (Brown et al., 1972); excepté des signaux supplémentaires d'un méthylène à C-16 ( $\delta_{\text{H}}$  2,55 et 1,79 /  $\delta_{\text{C}}$  35,7) et l'apparition d'un signal méthyle ( $\delta_{\text{H}}$  2,61 /  $\delta_{\text{C}}$  41,1) fixé sur l'atome d'azote  $N_4$ .

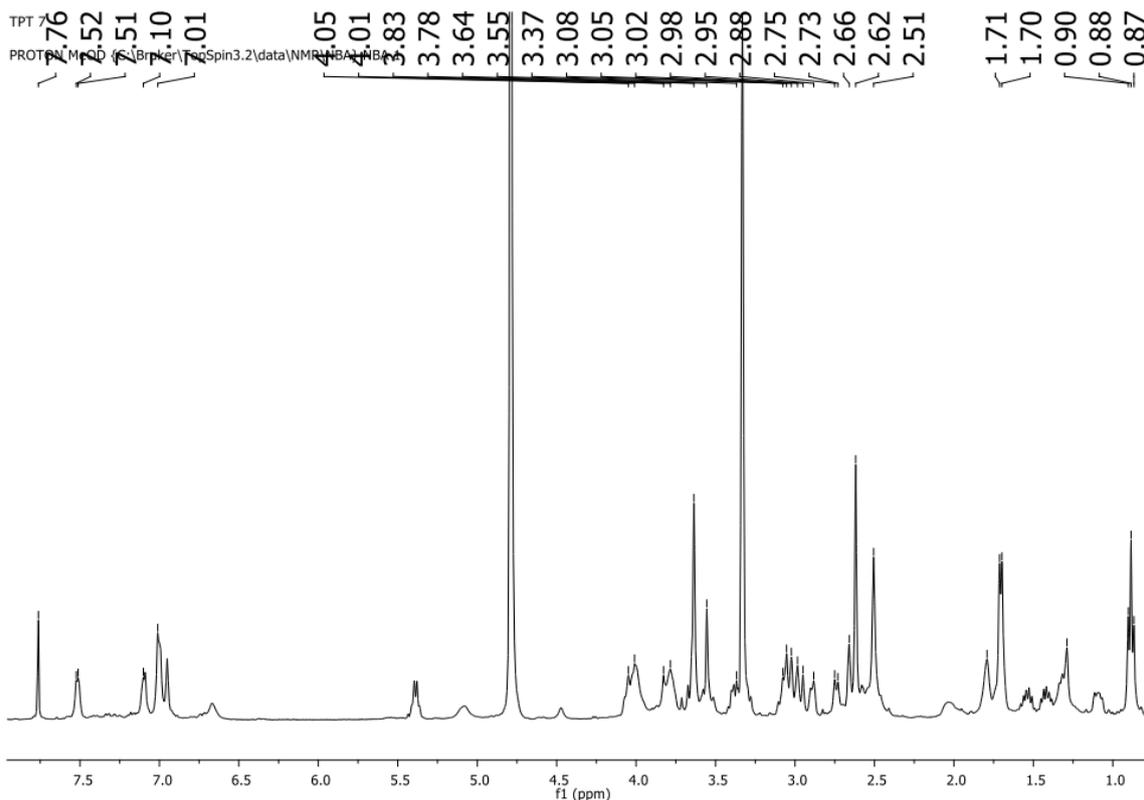


Figure 105. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de TP3a et TP3b

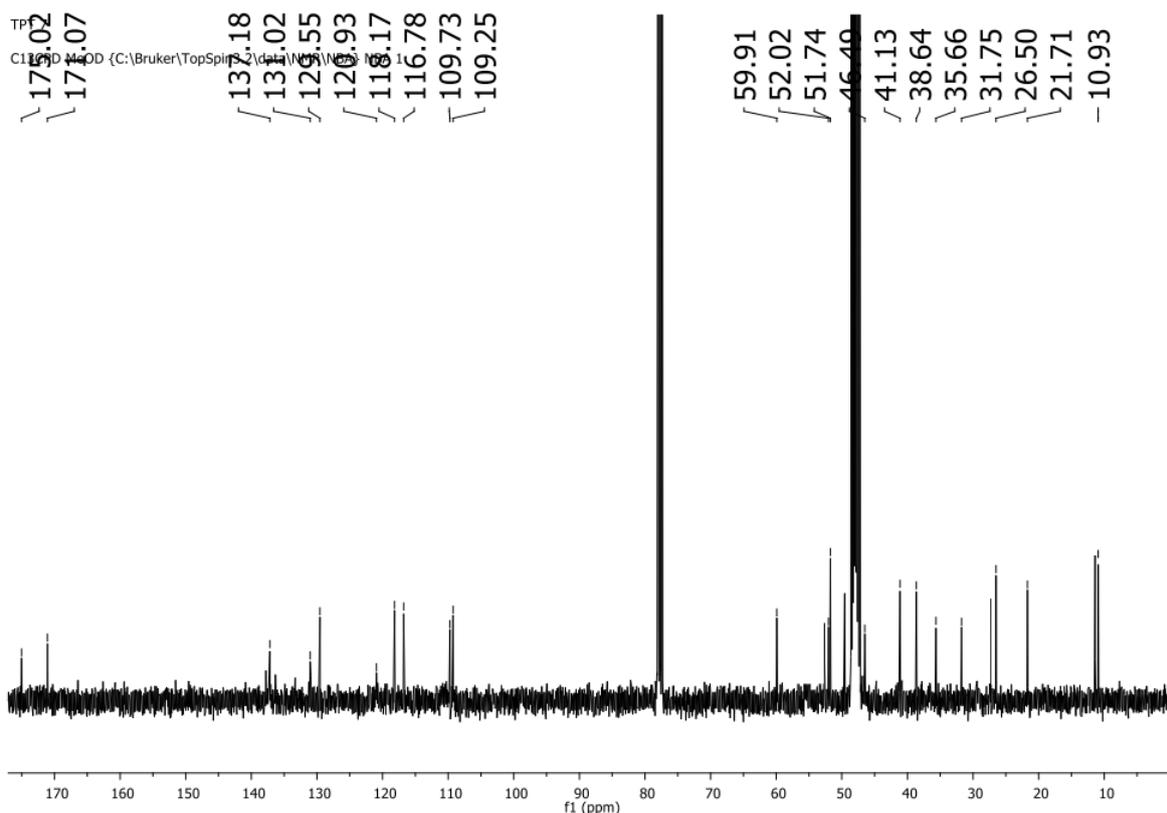
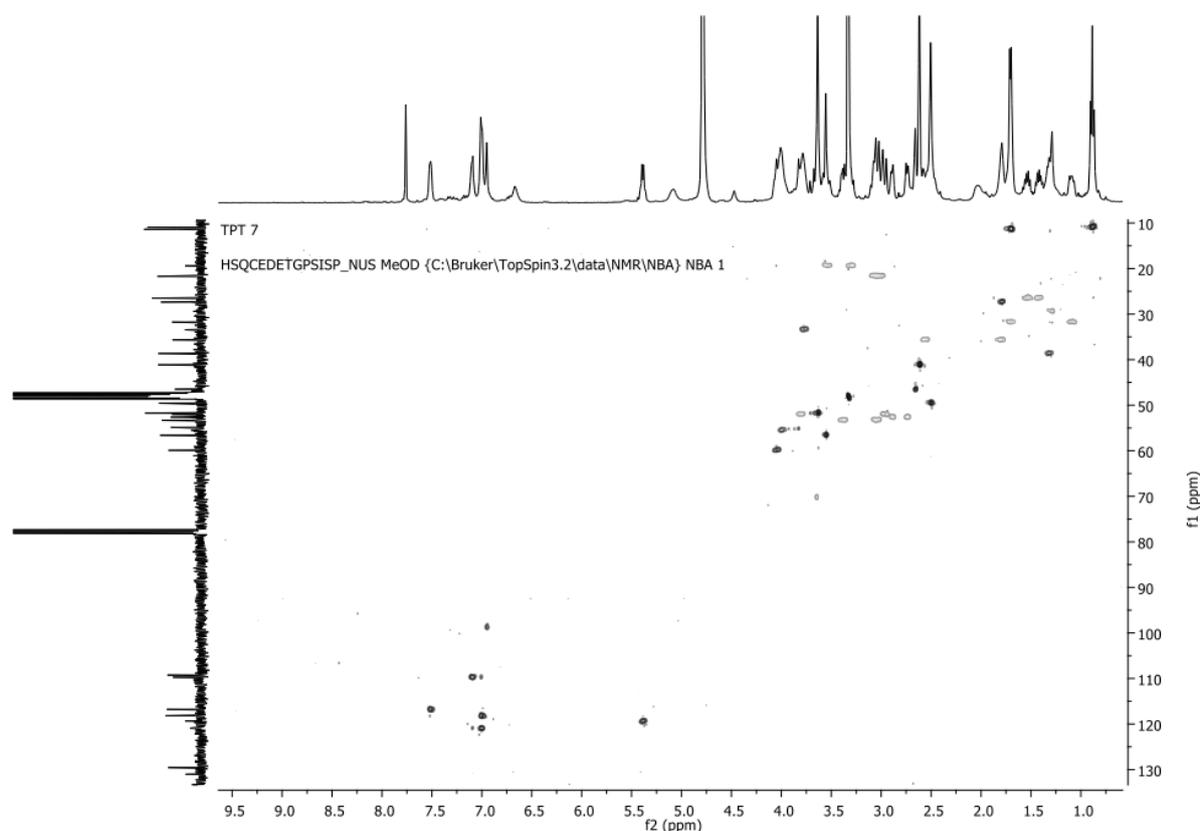


Figure 106. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de TP3a et TP3b

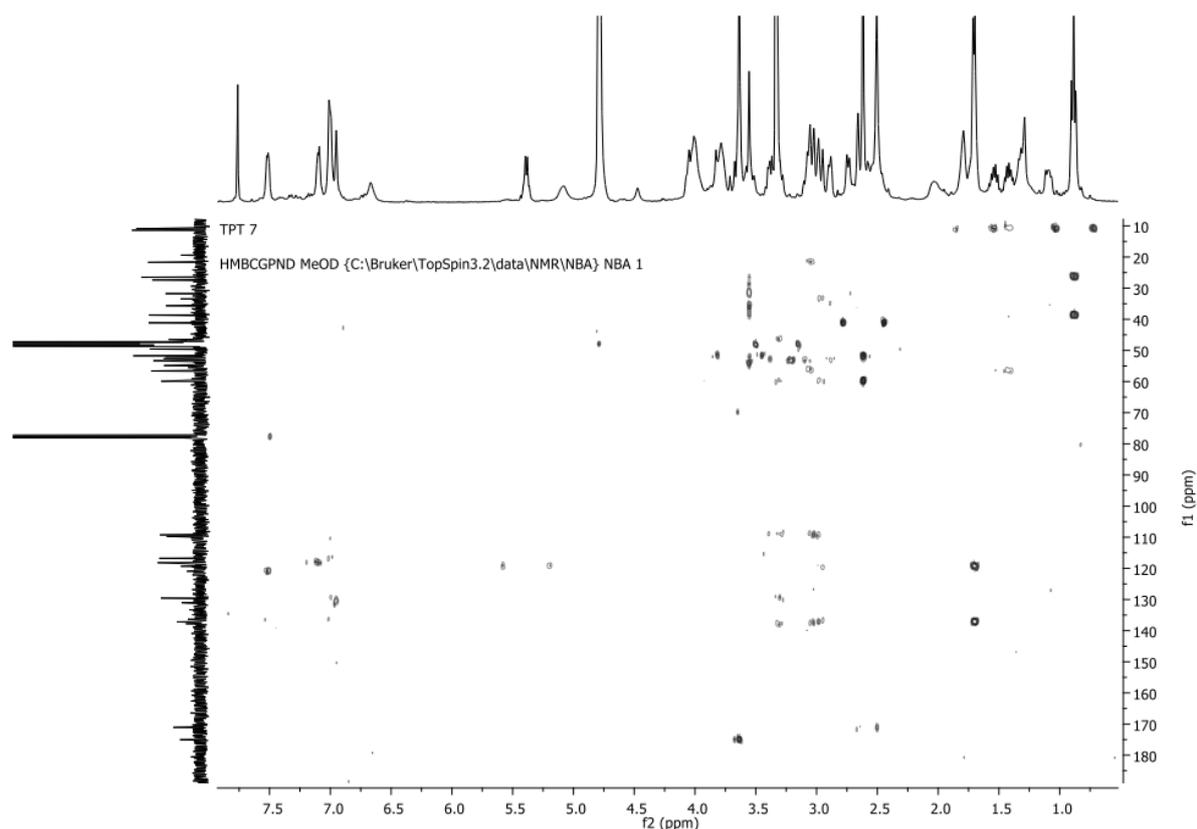
Toutefois on peut noter d'une part, le remplacement de la double liaison tétrasubstituée de **TP2** dans le spectre  $^{13}\text{C}$ , par les carbones  $\text{sp}^3$  (C-19 et C-20) et d'autre part la présence d'un groupe au niveau de l'azote  $N_4$  de **TP3a**.

La structure du composé **TP3a** a été élucidée par l'analyse détaillée et combinée des spectres COSY, HSQC, HMBC et ROESY. En effet les corrélations HMBC (Fig. 97) des protons H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3,02 et 2,98) et H-21 ( $\delta_{\text{H}}$  3,80 et 2,96) vers le carbone C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  59,9) ; du proton H-22 ( $\delta_{\text{H}}$  2,61) vers les carbones C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  59,9)/C-21 ( $\delta_{\text{C}}$  52,0)/C-23 ( $\delta_{\text{C}}$  171,1) et du proton H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  2,65) vers le carbone C-23 ( $\delta_{\text{C}}$  171,1) ont permis de justifier d'une part le squelette de type corynanthe tel que décrit pour **TP1** et de positionner le groupe carboxyle en C-5 d'autre part. (Brown et Charalambides, 1974). Ceci suggère que **TP3a** est un alcaloïde  $5\beta$ -carboxy.



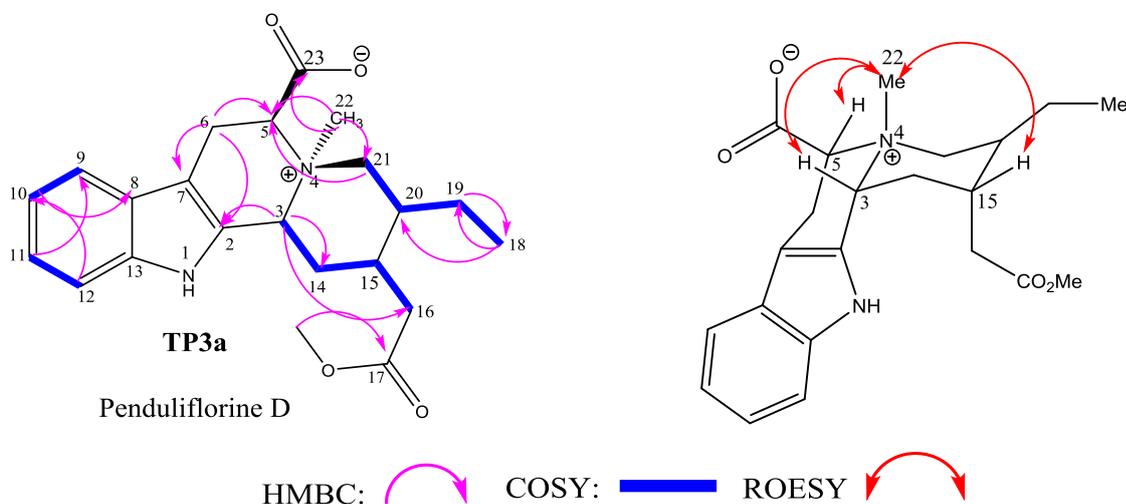
**Figure 107. Spectre HSQC (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de TP3a et TP3b**

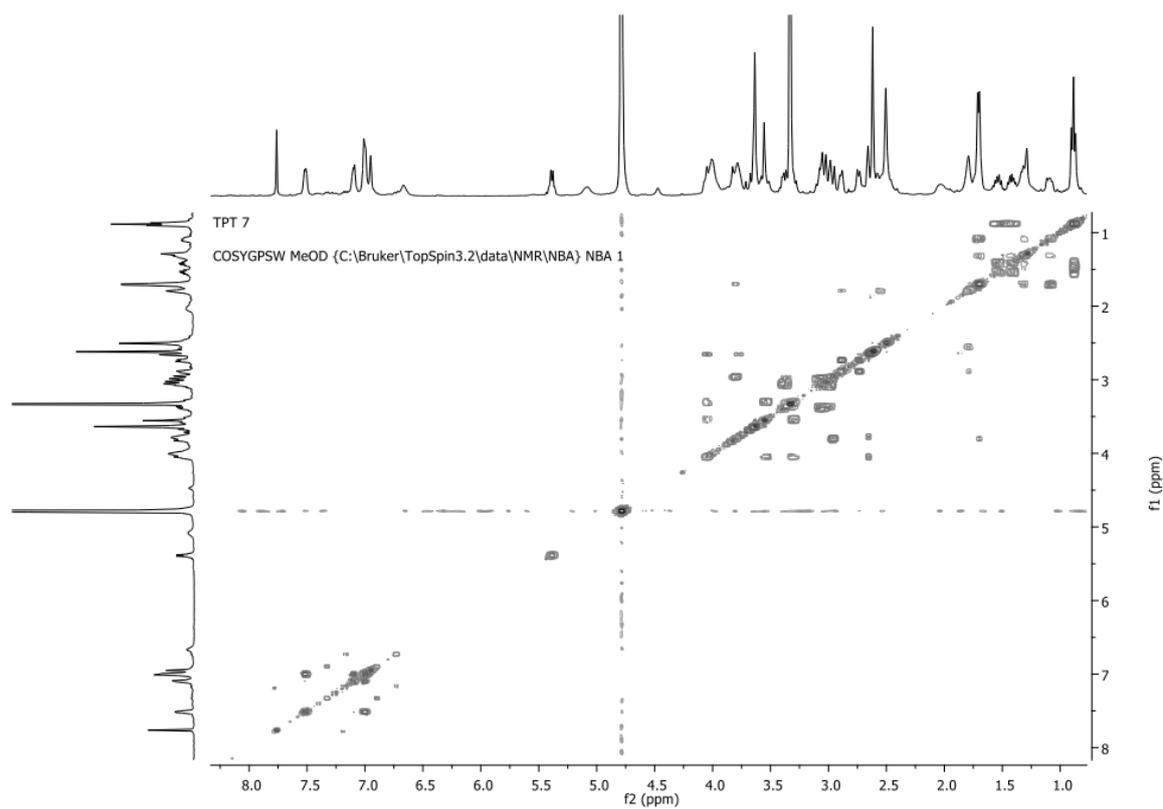
L'analyse de son spectre  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (Fig. 109) indique des corrélations homonucléaire entre H-18 ( $\delta_{\text{H}}$  0,89) et H-19 ( $\delta_{\text{H}}$  1,40 ; 1,52) ; H-20 ( $\delta_{\text{H}}$  1,31–1,29) et H-21 ( $\delta_{\text{H}}$  3,80 ; 2,96), justifiant la présence du groupe éthyle. Dans le Spectre ROESY (Fig. 99), les corrélations entre H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  2,65)/H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  4,04) et H-22 ( $\delta_{\text{H}}$  2,61)/H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  3,77), suggèrent qu'ils sont orientés  $\alpha$  (Brown et Duckworth 1976). Ainsi, la stéréochimie de **TP3a** a été établie comme  $3\alpha$ ,  $5\alpha$ ,  $15\alpha$ ,  $22\alpha$ .



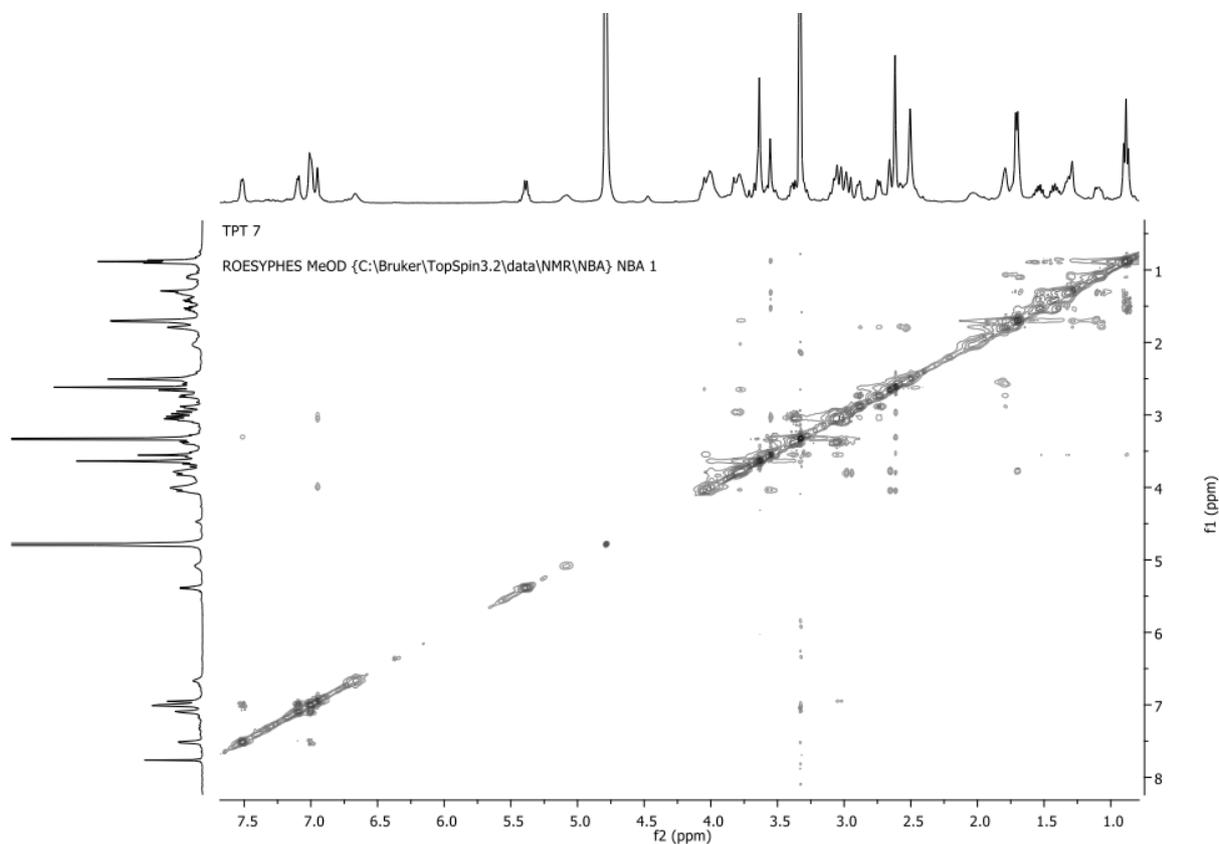
**Figure 108.** Spectre HMBC (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de TP3a et TP3b

De plus, les déplacements chimiques du carbone C-3 ( $\delta_C$  46,4) et le groupe *N*-méthyle ( $\delta_C$  41,1) sont très similaires de celui de **TP1a** et de ceux rapportés pour les fragments *cis*-*N*-méthylquinolizidinium (Coune et al., 1980; Asher et al., 1962). Le composé **TP3a** a également été déduit comme un zwitterion, soutenu par le déblindage des protons H-3, H-5 et H-22 par rapport à **TP1** et **TP2**. Par conséquent, la structure de **TP3a** a été établie et nommée penduliflorine D (Bitombo et al., 2021).





**Figure 109. Spectre COSY (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de TP3a et TP3b**



**Figure 110. Spectre ROESY (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de TP3a et TP3b**

**Tableau 26: Données spectrales RMN du composé TP3a (Methanol-d4, 400 et 100 MHz)**

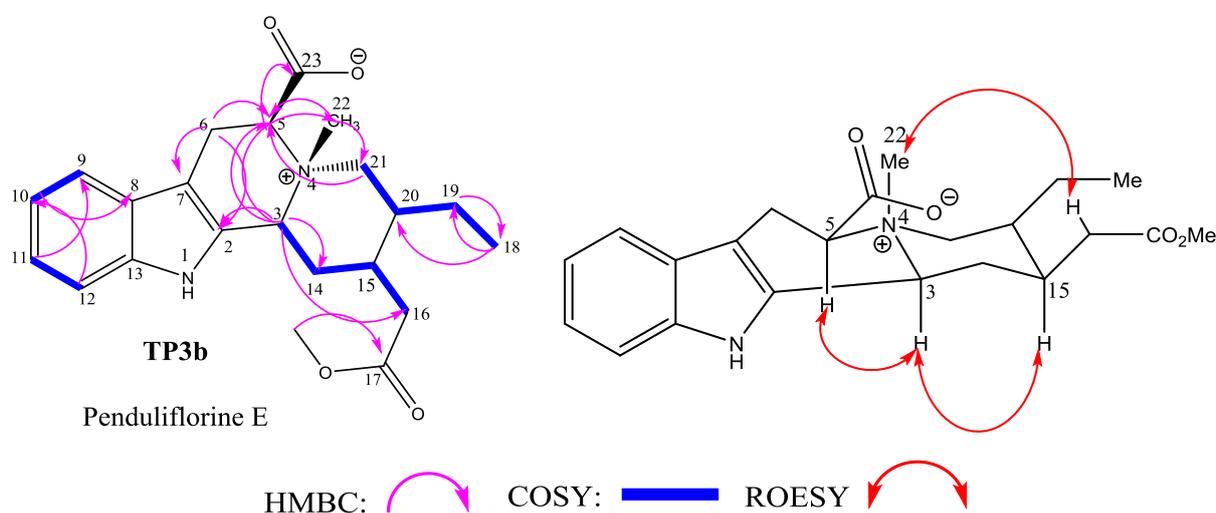
position	$\delta_{\text{H}}$ (mult, $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$	DEPT	HMBC (C $\rightarrow$ H)
2	–	137,2	C	
3	2,65 – 2,63 m	46,4	CH	C-14, C-16, C-2
5	4,04 d (10, 4)	59,9	CH	
6	3,02 d (15, 5) 2,98 d (13, 8)	21,7	CH <sub>2</sub>	C-2, C-7, C-5
7	–	109,3	C	
8	–	129,6	C	
9	7,51 d (8, 0)	116,9	CH	
10	7,00 dd (8, 0 ; 7, 4)	118,2	CH	C-8
11	7,00 dd (8, 6 ; 7, 4)	120,9	CH	C-9
12	7,10 d (8, 6)	109,7	CH	C-10
13	–	131,0	C	
14	1,71 m 1,08 m	31,8	CH <sub>2</sub>	
15	3,77 – 3,75 m	33,3	CH	
16	2,55 d (15, 7) 1,79 m	35,7	CH <sub>2</sub>	
17	–	175,0	C	
18	0,89 t (7, 1)	10,9	CH <sub>3</sub>	C-19, C-20
19	1,52 dt 1,40 m	26,5	CH <sub>2</sub>	C-18
20	1,31– 1,29 m	38,6	CH	
21	3,80 d (14, 0) 2,96 d (14, 0)	52,0	CH <sub>2</sub>	C-5
OMe –17	3,64 s	51,8	CH <sub>3</sub>	C-17
NMe – 4	2,61 s	41,1	CH <sub>3</sub>	C-5, C-21, C-23
NH-1	7,76 s	–	–	
– COO <sup>–</sup>	–	171,1	C	

### 2.2.5.2.3.2. Détermination structurale du composé TP3b

L'analyse des données RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (Figs. 105 et 106) dans le  $\text{CD}_3\text{OD}$  a révélé que **TP3b** est étroitement similaire à **TP3a**, excepté le déblindage des protons et carbone du groupe  $N_4\text{-CH}_3$  ( $\delta_{\text{H}}$  2, 50 /  $\delta_{\text{C}}$  49,5), indiquant que **TP3b** pourrait être un épimère  $N_4$ -méthyle de **TP3a**. Ceci est en accord avec les conclusions antérieures sur **TP1b** selon lesquelles les pics de  $N$ -méthyle des sels de *trans* quinolizidinium se trouvent à des champs plus forts que ceux des isomères *cis* (Sawa *et al.*, 1969; Moynehan *et al.*, 1962).

Sur son spectre HMBC (Fig. 97) on observe les corrélations hétéronucléaires longue distance  $^3J$  entre le proton H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  2,65 – 2,63) et le carbone C-22 ( $\delta_{\text{C}}$  49,5), le H-22 ( $\delta_{\text{H}}$  2,64) et le carbone C-5 (59,9) confirmant les caractéristiques structurales de **TP3b**.

L'analyse de son spectre ROESY (Fig. 99) révèle l'absence de corrélations homonucléaires entre H-3/H-5/H-15 et H-22 ( $\delta_{\text{H}}$  2,50) permettant de déterminer sans ambiguïté la stéréochimie de **TP3b** comme  $3\alpha$ ,  $5\alpha$ ,  $15\alpha$ ,  $22\beta$  pour les protons des stéréocentres et le  $N$ -méthyle. Il est à rappeler que, le groupement  $N$ -méthyle est fortement déblindé par la présence du groupe carboxyle fonctionnel situé sur la face avant. La structure de **TP3b** a été ainsi caractérisée comme un dérivé de  $N_4$ -méthyladirubine nommé penduliflorine E (Bitombo *et al.*, 2021).



**Tableau 27: Données spectrales RMN du composé TP3b (Methanol-d4, 400 et 100 MHz)**

position	$\delta_{\text{H}}$ (mult, $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$	DEPT	HMBC (C $\rightarrow$ H)
2	–	137,3	C	
3	2,65 – 2,63 m	46,4	CH	C-22, C-16, C-2
5	4,05 d (10, 4)	59,9	CH	
6	3,02 d (15, 5) 2,98 d (13, 8)	21,7	CH <sub>2</sub>	C-2, C-7, C-5
7	–	109,3	C	
8	–	129,6	C	
9	7,51 d (8, 0)	116,9	CH	
10	7,00 dd (8, 0 ; 7, 4)	118,2	CH	C-8
11	7,00 dd (8, 6 ; 7, 4)	120,9	CH	C-9
12	7,10 d (8, 6)	109,3	CH	C-10
13	–	131,0	C	
14	1,71 m 1,08 m	31,8	CH <sub>2</sub>	
15	3,77 – 3,75 m	33,4	CH	
16	2,55 d (15, 7) 1,79 m	35,7	CH <sub>2</sub>	
17	–	175,0	C	
18	0,89 t (7, 1)	10,9	CH <sub>3</sub>	C-19, C-20
19	1,52 dt 1,40 m	26,5	CH <sub>2</sub>	C-18
20	1,31– 1,29 m	38,6	CH	
21	3,80 d (14, 0) 2,96 d (14, 0)	52,0	CH <sub>2</sub>	C-5
OMe –17	3,64 s	51,8	CH <sub>3</sub>	C-17
NMe – 4	2,50 s	49,5	CH <sub>3</sub>	C-5, C-21, C-23
NH-1	7,76 s	–	–	
– COO <sup>–</sup>	–	171,1	C	

#### 2.2.5.2.4. Détermination structurale du composé TP4

Le composé **TP4** a été obtenu sous la forme d'une poudre amorphe brune et répond positivement au test de Dragendorff. Il a été déterminé comme étant un monomère d'alcaloïde indolomonoterpénique sur la base de ses données RMN, SM. Sa formule moléculaire a été déduite comme  $C_{22}H_{29}N_2O_4$  grâce à l'analyse de ces spectres de masse ESI-MS<sup>+</sup> et HRESI-QTOF-SM<sup>+</sup> (Figs.111 et 112) ; qui ont montré le pic de l'ion pseudomoléculaire à  $m/z$  385,0 et 385,2144  $[M+H]^+$  [calculée pour  $C_{22}H_{29}N_2O_4$  : 385,2142 ; erreur = -2,0 ppm] respectivement, indiquant 11 degrés d'insaturation. De plus, le fragment  $[M+H-16]^+$  à 369,1 en ESI-MS a été attribué à la perte d'un atome d'oxygène par la décomposition thermique d'un groupe N-oxyde (Phillipson et Hemingway, 1973). Cette molécule est optiquement active avec un pouvoir rotatoire spécifique d'une valeur de  $[\alpha]_D^{25} + 41,5$  (c 0,056,  $CHCl_3$ ).

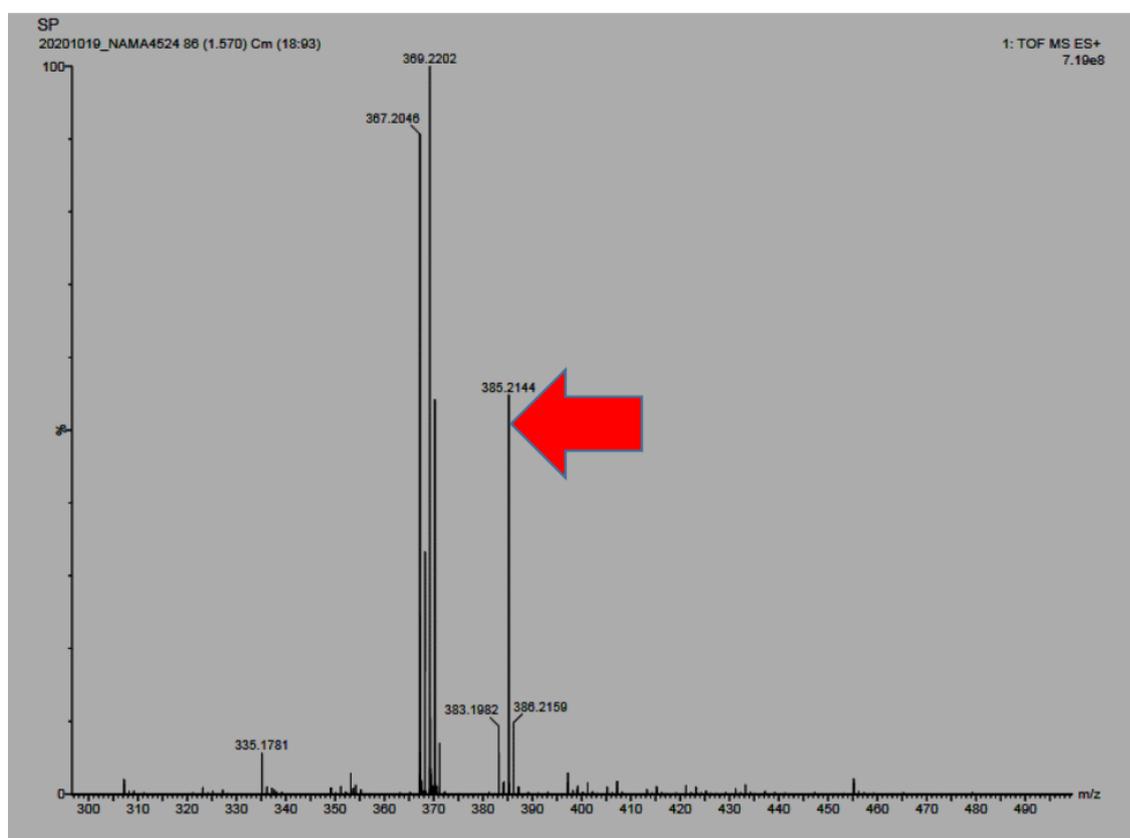
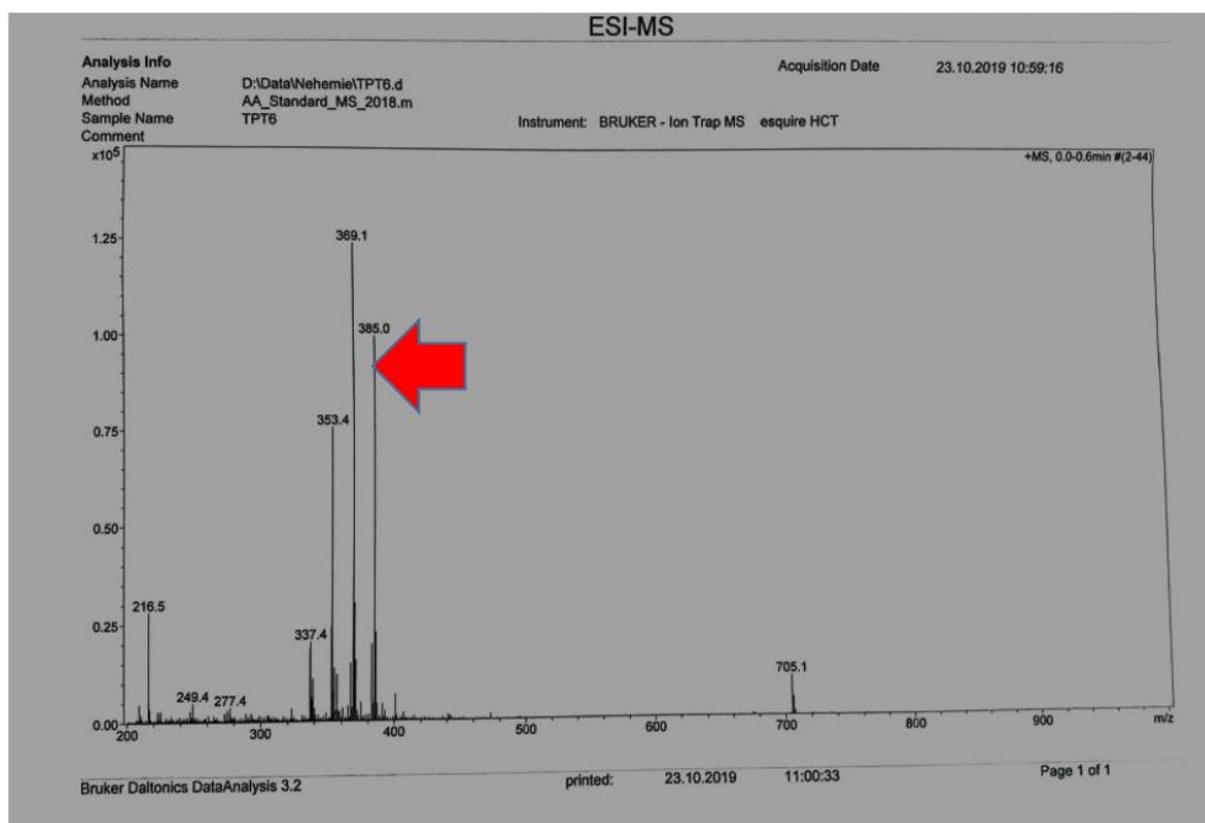


Figure 111. Spectre de masse HRESI-MS des composés TP4



**Figure 112. Spectre de masse ESI-MS des composés TP4**

Le spectre UV a montré des maxima d'absorption à  $\lambda_{\text{max}}$  224, 285 et 300 nm caractéristique des chromophores mono-indolique (Kam et Sim, 2002).

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  de **TP4** (Fig. 113) indique des signaux de protons aromatiques d'un benzène trisubstitué à  $\delta_{\text{H}}$  6,94 (1H, d,  $J = 2,4$  Hz, H-9), 6,84 (1H, dd,  $J = 8,7 ; 2,4$  Hz, H-11) et 7,16 (1H, d,  $J = 8,7$  Hz, H-12) ; un groupe éthyle à  $\delta_{\text{H}}$  1,91 (1H, m, H-19 $\alpha$ ), 1,32 (1H, m, H-19 $\beta$ ) et 0,91 (3H, t,  $J = 6,4$  Hz, H-18); trois méthines à  $\delta_{\text{H}}$  3,63 (1H, s, H-21), 2,07 (1H, m, H-20) et 1,28 (1H, m, H-14) ; cinq méthylènes à  $\delta_{\text{H}}$  4,13 (2H, q,  $J = 14,0 ; 6,8$  Hz, H-3), 3,45 (1H, d,  $J = 6,7$  Hz, H-5 $\alpha$ ), 3,23 (1H, dd,  $J = 11,7 ; 5,3$  Hz, H-5 $\beta$ ), 1,76 (1H, d,  $J = 9,1$  Hz, H-6 $\alpha$ ), 1,31 (1H, m, H-6 $\beta$ ), 1,75 (1H, m, H-15 $\alpha$ ), 1,29 (1H, m, H-15 $\beta$ ), 2,61 (1H, m, H-17 $\alpha$ ), 1,94 (1H, m, H-17 $\beta$ ) et 1,28 (2H, m, H-14) ; deux groupements méthoxy à  $\delta_{\text{H}}$  3,85 (3H, s) et 3,72 (3H, s).

Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  découplé large bande (Fig. 114) et DEPT de **TP4** ont indiqué 22 signaux de carbone attribués à un méthyle ( $\delta_{\text{C}}$  11,7), six méthylènes ( $\delta_{\text{C}}$  22,8, 27,2, 31,9, 36,5, 53,2 et 60,4), six méthines ( $\delta_{\text{C}}$  29,4, 39,1, 57,5, 100,7, 111,2 et 111,9), deux groupes méthoxy ( $\delta_{\text{C}}$  52,6 et 56,0) et sept carbones quaternaires ( $\delta_{\text{C}}$  54,9, 109,8, 129,0, 130,7, 137,5 et 154,2) parmi lesquels un atome de carbone carbonyle ( $\delta_{\text{C}}$  175,7).

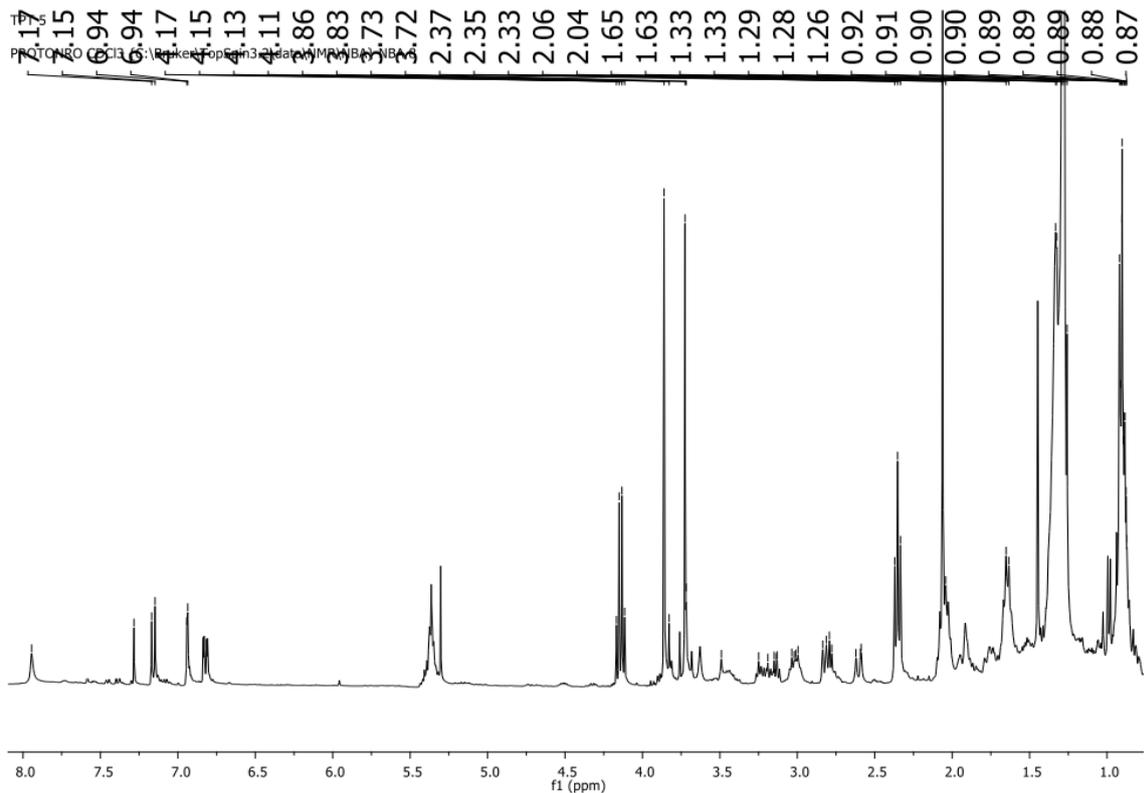


Figure 113. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de TP4

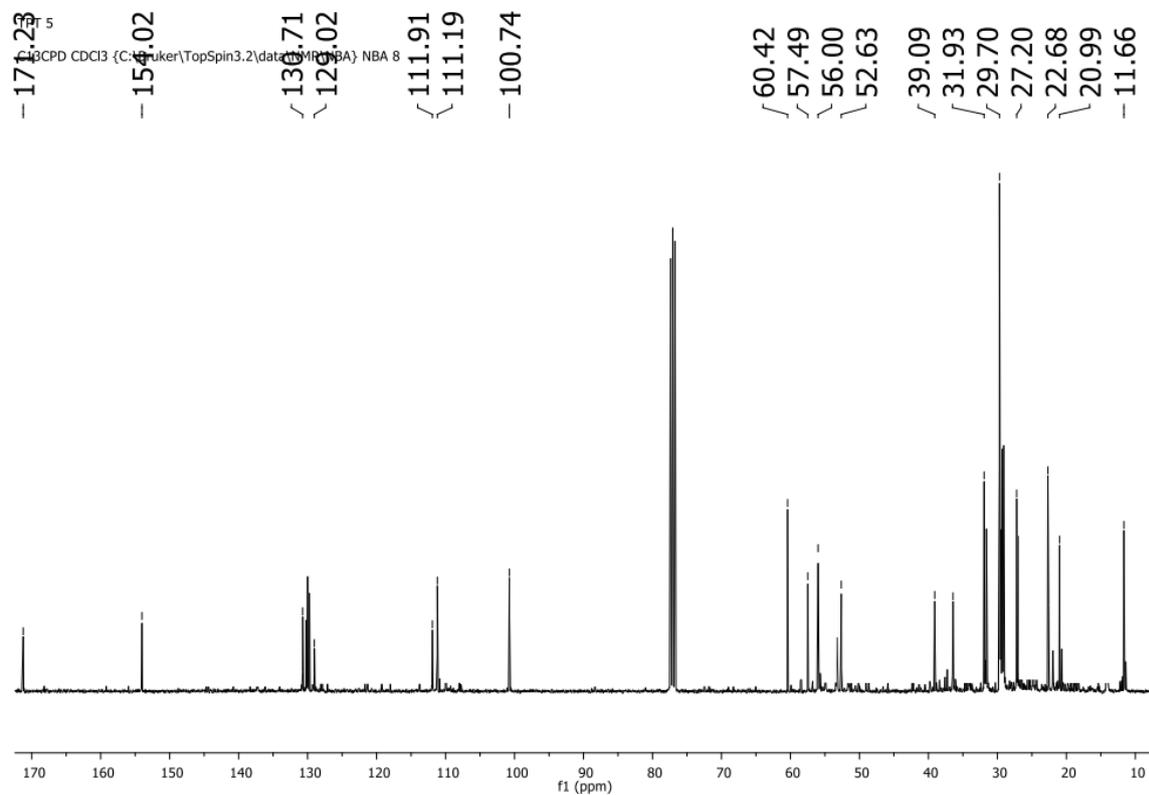
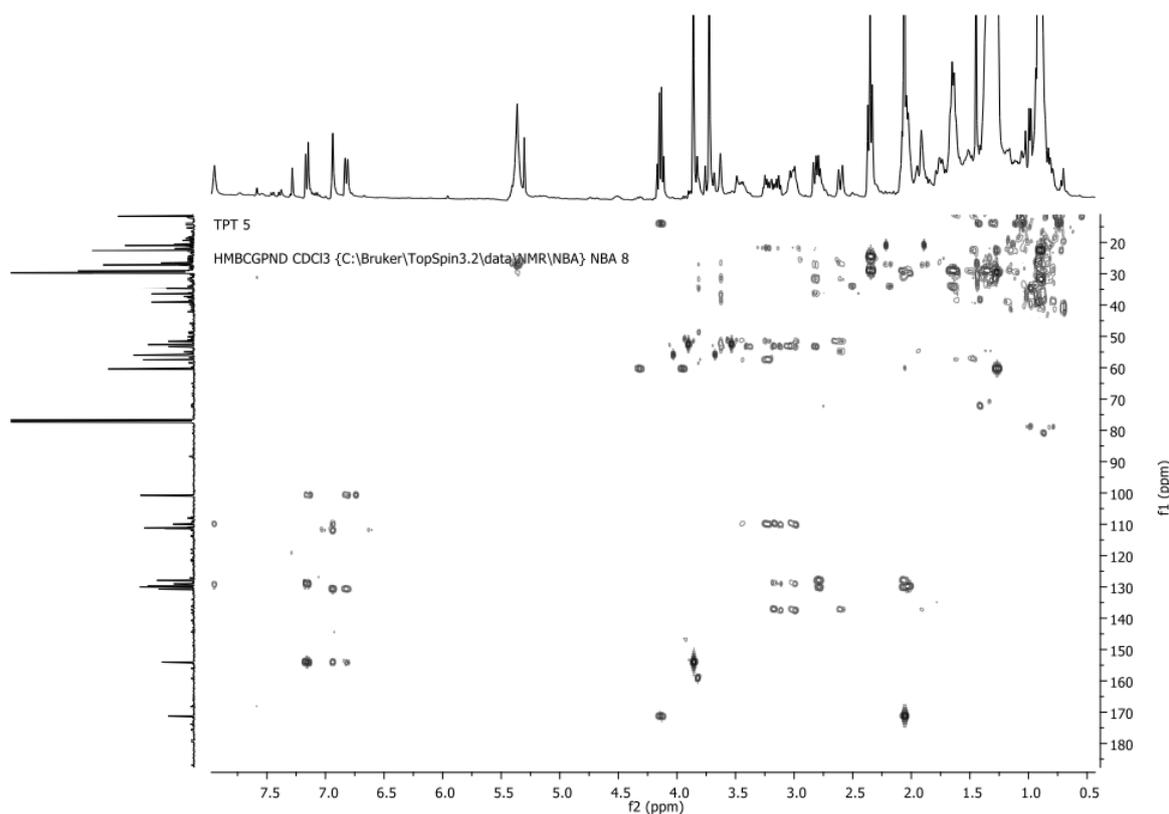


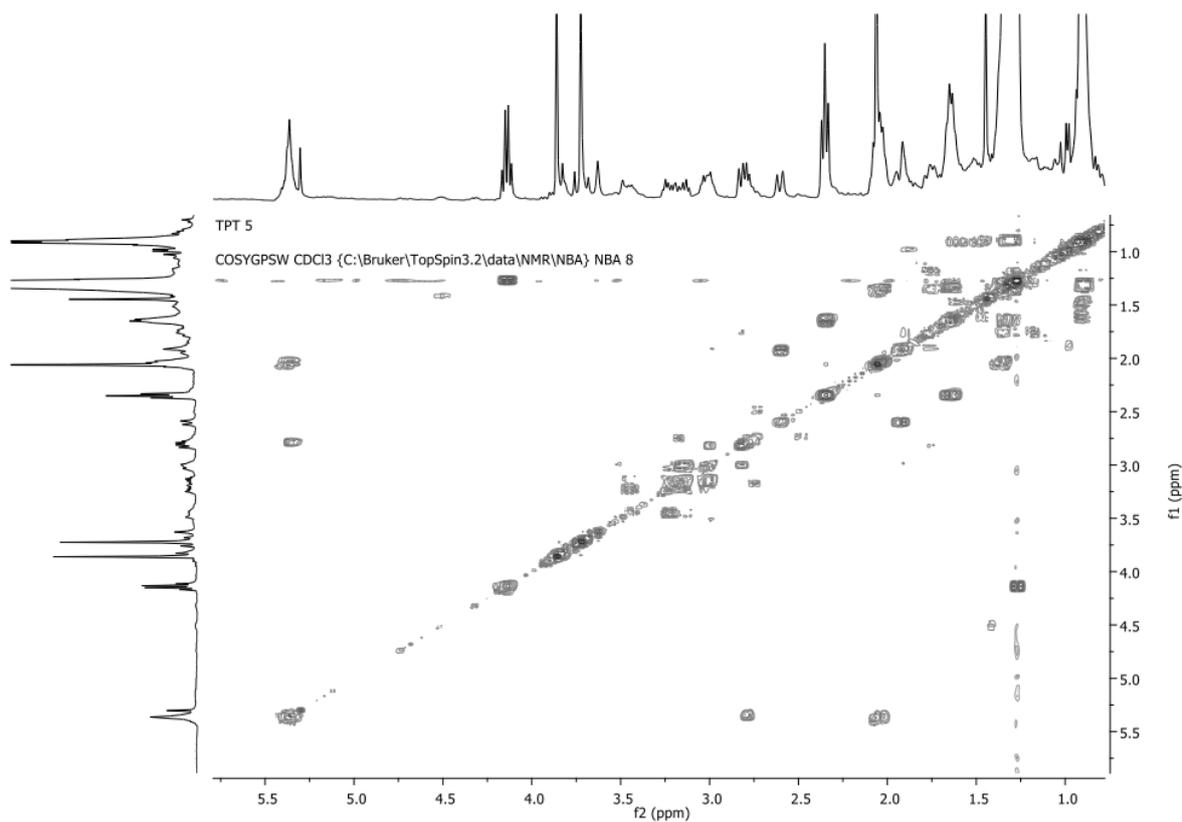
Figure 114. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de TP4

L'analyse des données RMN 1D de **TP4** dans le chloroforme deutéré indique qu'ils sont étroitement similaires à celles de la voacangine (Gunasekera et *al.*, 1980), mais à une seule différence : la présence de certains carbones déblindés d'environ 3,0 à 7,0 ppm appartenant au cycle C de ce composé.

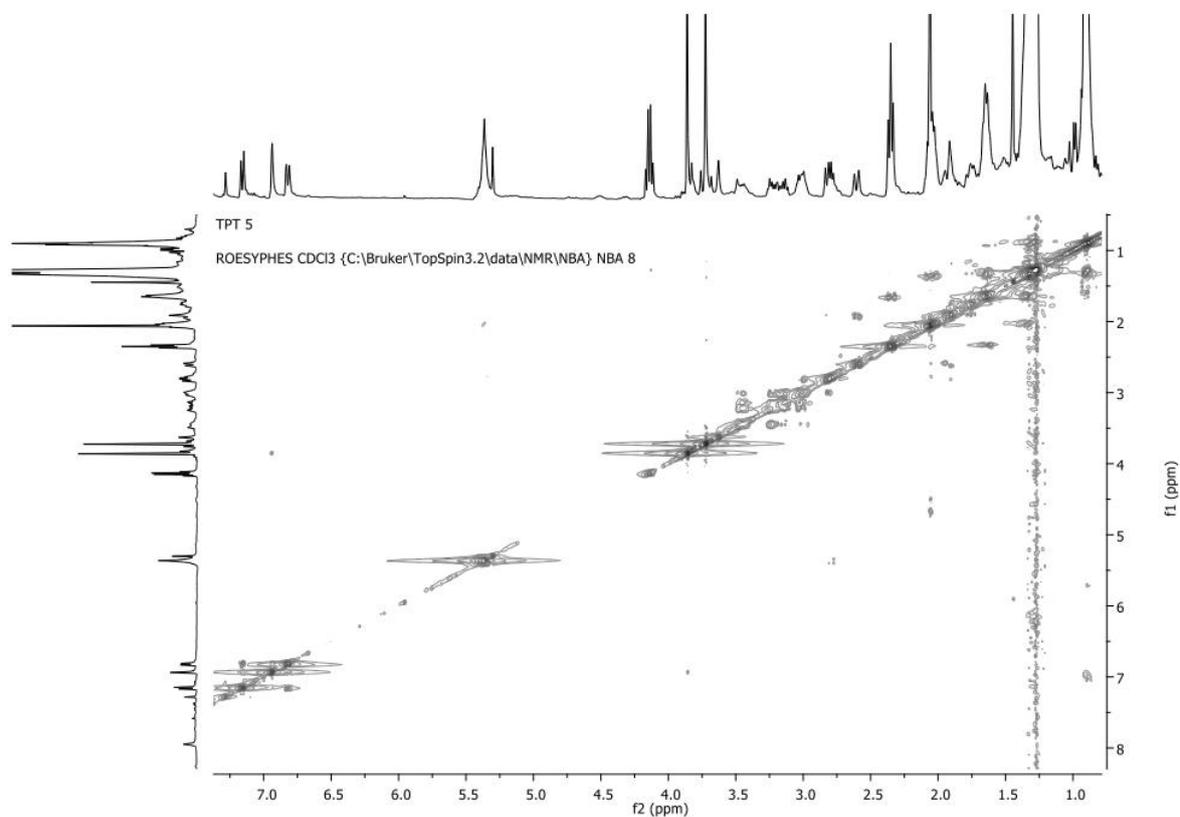
L'analyse détaillée des données RMN 2D (COSY et HMBC) (Figs. 116 et 115) a révélé que le composé **TP4** est un analogue de la voacangine, possédant un atome d'oxygène en plus. Ceci a été particulièrement soutenu par les valeurs des déplacements chimiques observées chez les carbones C-3( $\delta_C$  60,4) et C-5( $\delta_C$  53,2) comparés à ceux de la voacangine[C-3 ( $\delta_C \sim 53,4$ ) et C-5 ( $\delta_C \sim 50,2$ )], mais surtout par les corrélations HMBC des protons H-5 vers le carbone C-21 et de H-3 vers les carbones C-21, C-5 et C-14, permettant ainsi de positionner le *N*-oxyde. Toutefois on ne note aucune variation sur les déplacements chimiques des carbones C-21 ( $\delta_C$  57,5); C-14; C-16; C-17 et C-20, également proches de ceux rapportés par Pereira et *al.* (2008) qui sont très similaires à ceux de la voacangine.



**Figure 115. Spectre de HMBC (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de TP4**

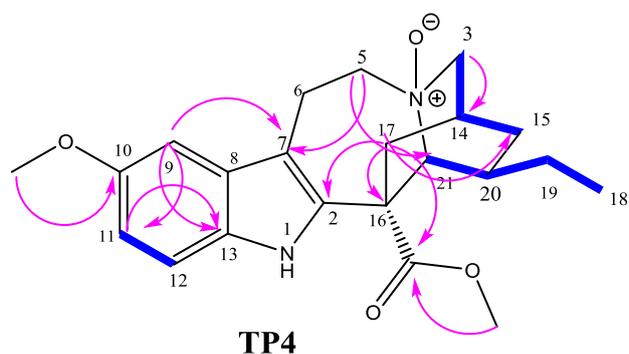


**Figure 116. Spectre de COSY (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de TP4**

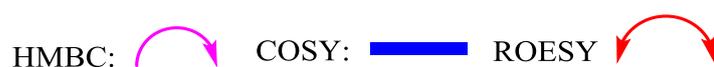
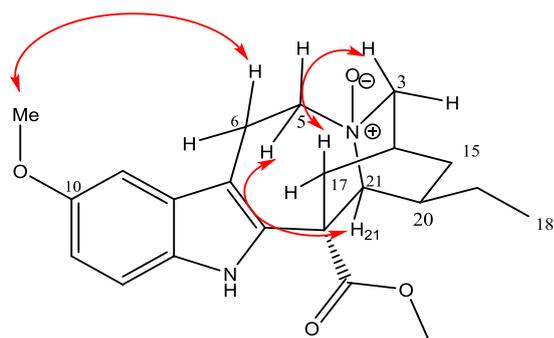


**Figure 117. Spectre de ROESY (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de TP4**

L'analyse approfondie du spectre ROESY (Fig. 117) de **TP4** a indiqué des corrélations similaires à celles observées pour la voacangine, avec les mêmes centres chiraux (C-14, C-17, C-20 et C-21). Cela suggère que le composé **TP4** présente la même configuration relative que la voacangine. Ces données ainsi que sa formule moléculaire suggèrent que le composé **TP4** est le dérivé  $N_4$ -oxyde de la voacangine. La structure du composé **TP4** a donc été établie comme étant la voacangine- $N$ -oxyde, de nom trivial tabernaemontine (Bitombo et *al.*, 2021).



Tabernaemontine



**Tableau 28: Données spectrales RMN du composé TP4 (Chloroforme-d1, 400 et 100 MHz)**

position	$\delta_{\text{H}}$ (mult, $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$	DEPT	HMBC (C $\rightarrow$ H)
2	–	137,5	C	
3	4,13 q (14,0 ; 6,8)	60,4	CH <sub>2</sub>	C-14
5	3,45 d (6,7) 3,23 dd (11,7 ; 5,3)	53,2	CH <sub>2</sub>	C-7, C-21
6	1,76 d (9,1) 1,31 m	22,8	CH <sub>2</sub>	C-2, C-7, C-5
7	–	109,8	C	
8	–	129,0	C	
9	6,94 d (2,4)	100,7	CH	C-11, C-13
10	–	154,2	C	
11	6,84 dd (8,7 ; 2,4)	111,9	CH	C-13
12	7,16 d (8,7)	111,2	CH	
13	–	130,7	C	
14	1,28 m	29,4	CH <sub>2</sub>	
15	1,75 m 1,29 m	31,9	CH	
16	–	54,9	C	
17	2,61 m 1,94 m	36,5	CH <sub>2</sub>	C-2, C-16, C-15, C-22
18	0,91 t (6,4)	11,7	CH <sub>3</sub>	
19	1,91 m 1,32 m	27,2	CH <sub>2</sub>	
20	2,07 m	39,1	CH	
21	3,63 s	57,5	CH	
OMe –10	3,85 s	56,0	CH <sub>3</sub>	C-10
– COOMe	3,72 s	52,6	CH <sub>3</sub>	C-22
– COOMe	–	175,7	C	

#### 2.2.5.2.5. Identification du composé TP5

Le composé **TP5** se présente sous forme de poudre jaunâtre, il est soluble dans le chloroforme et répond positif au test de Dragendorff caractéristique des alcaloïdes et particulièrement au test de Ehrlich caractéristique des alcaloïdes indoliques. Son spectre de masse en LC-HRESI-MS (Fig. 118) montre l'ion pseudomoléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z = 385,2117$  correspondant à la formule brute  $C_{22}H_{28}N_2O_4$  renfermant 10 degrés d'insaturations.

Sur son spectre RMN  $^1H$  (Fig. 119), on observe la présence d'un doublet de doublet dédoublé à  $\delta_H$  6,74 (1H, ddd,  $J = 2,4 ; 4,7 ; 8,6$  Hz) correspondant au proton H-11. On observe également 2 doublets à  $\delta_H$  7,08 (1H, d,  $J = 8,6$  Hz) ; 6,86 (1H, d,  $J = 2,2$  Hz) et un triplet à  $\delta_H$  0,86 ppm (3H, t,  $J = 7,0$  Hz) attribuables respectivement aux protons H-12, H-9 et H-18. Les protons H-9, H-11 et H-12 sont caractéristiques du benzène 1,2-disubstitué de l'indole (Medeiros *et al.*, 2001). On observe deux singulets à  $\delta_H$  3,84 (s, 3H) et 3,68 (s, 3H) attribuables aux deux groupes méthoxyles. Dans la zone des protons aliphatiques on observe six méthylènes entre 1,18 et 3,41 ppm attribuables aux protons H-3, H-5, H-6, H-15 et H-17. On observe également dans cette zone, trois méthynes à 1,38; 2,63 et 3,45 ppm attribuables respectivement à H-20, H-14, H-21. Le spectre RMN  $^{13}C$  (Fig. 120) du composé **TP5** présente 22 signaux sous forme de singulet correspondant à 22 signaux de carbones. Un signal à  $\delta_C$  174,8 correspond au carbonyl des esters ; des signaux à  $\delta_C$  192,5 ; 86,0; 128,8 ; 100,7 ; 154 ,1 ; 112,1 ; 111,2 et 130,7 ppm sont attribuables respectivement aux carbones C -2, C-7, C-8, C-10, C-9, C-11, C-12 et C-13 caractéristiques des carbones d'un noyau indolenine substitué en C-7 et C-10 (Prakash *et al.*, 2003). Sur la base des interprétations de ces données et en combinaison avec les spectres COSY, HSQC, HMBC et ROESY, nous avons identifié le composé **TP5** à la voacangine hydroxyindolenine précédemment isolée des écorces de *Tabernaemontana markgrafiana* (Nielsen *et al.*, 1994).

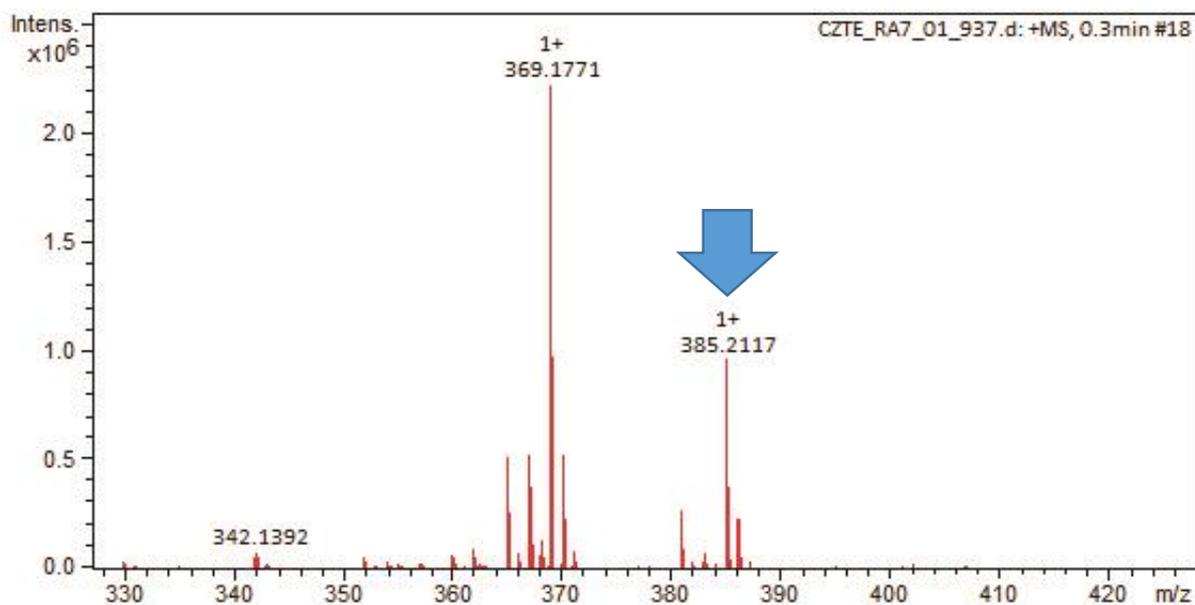


Figure 118. Spectre de masse LC-HRESI-MS des composés TP5

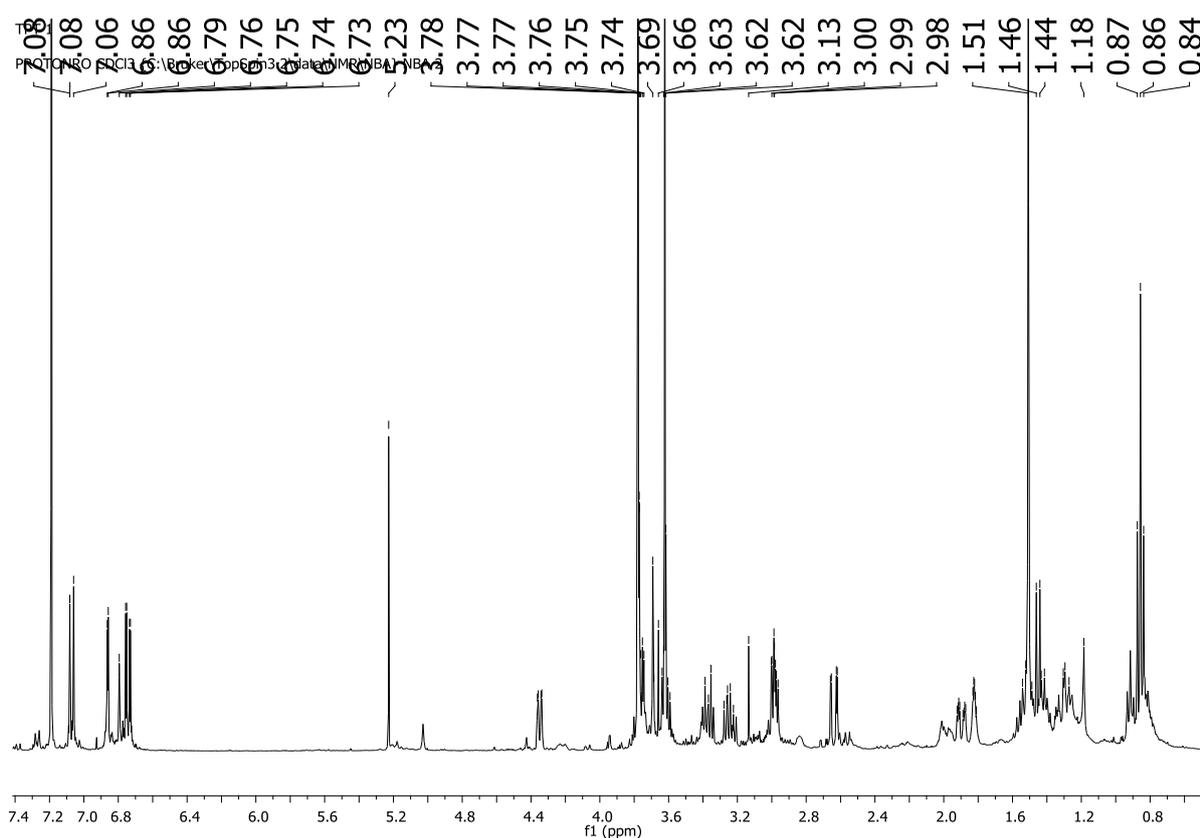


Figure 119. Spectre de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de TP5

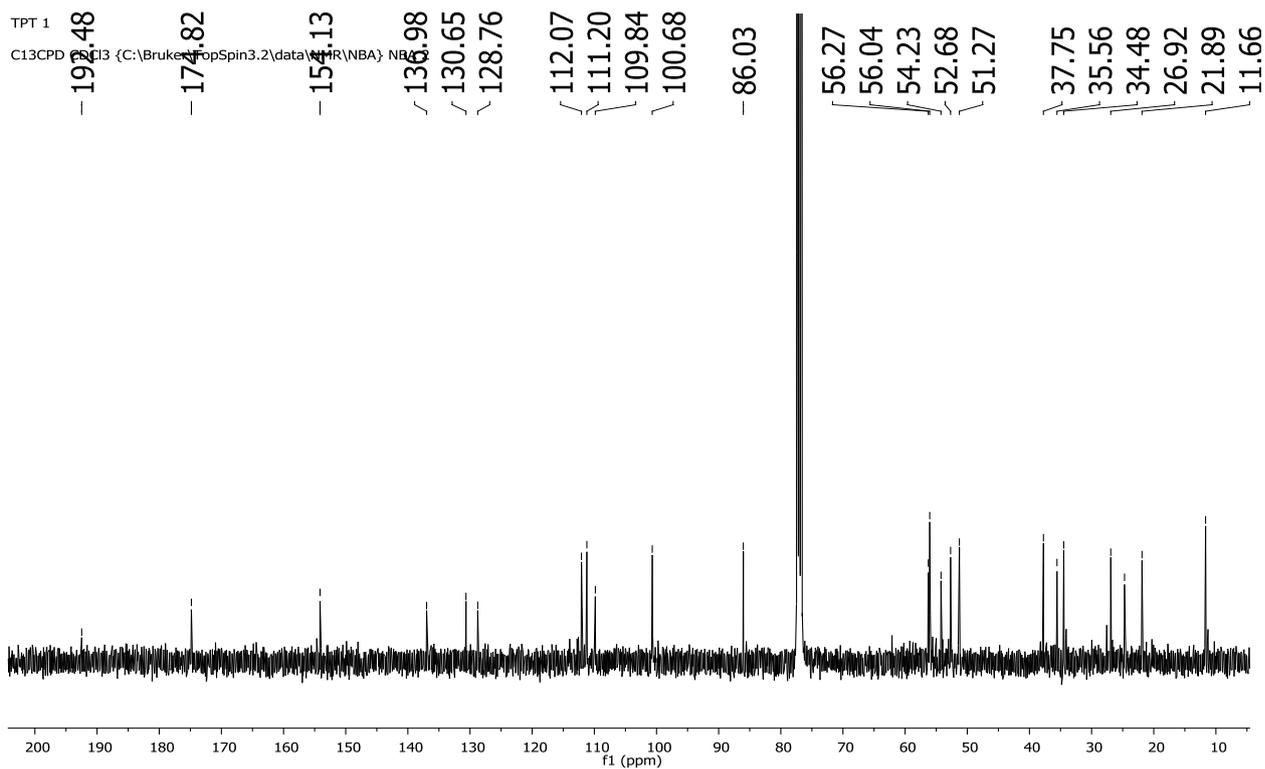
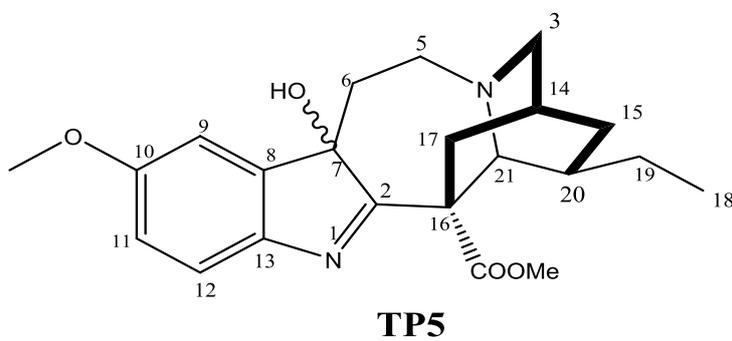


Figure 120. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de TP5



Voacangine hydroxyindolenine

**Tableau 29: Données spectrales RMN du composé TP5 (CDCl<sub>3</sub>, 400 et 100 MHz)  
comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_{\text{H}}$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
			(Nielsen et al., 1994)	
2	—	192, 5	—	187, 5
3	2, 98 m	51, 3	2, 74 m	48, 9
5	3, 44 – 3, 32 m	51, 3	3,5 ddd (15, 0 ; 11, 0 ; 4, 0) 2, 97 ddd (15, 4 ; 2, 0 ; 2, 0)	49, 0
6	2, 69 m 1, 99 dd (10, 6 ; 4, 6)	34, 5	1, 70 – 1, 95 m	34, 1
7	—	86, 0	—	88, 7
8	—	137, 0	—	145, 0
9	6, 86 d (2, 2)	100, 7	6, 92 d (2, 5)	108, 4
10	—	154, 1	—	159, 7
11	6,74 ddd (2,4 ; 4,7 ; 8,6)	111, 2	6, 81 dd (8, 5 ; 2, 5)	114, 2
12	7, 08 d (8, 6)	112, 1	7, 37 d (8, 5)	121, 8
13	—	137, 0	—	145, 4
14	1, 82 m 1, 61 m	24, 9	1, 70 – 1, 95 m	27, 2
15	1, 90 ddd (13, 8 ; 3,9 ; 2,3)	34, 5	1, 70 – 1, 95 m 1, 10 dd (12, 0 ; 5, 0)	32, 3
16	—	54,2	—	58, 9
17	2, 64 dd (13, 8 ; 2, 2) 1, 99 dd (10, 6 ; 4, 6)	35, 6	2, 71 d (14, 5) 2, 47 ddd (14, 5 ; 2, 0 ; 2, 0)	34, 7
18	0, 86 t (7, 0)	11, 7	0, 87 t (7, 0)	11, 7
19	1, 50 – 1, 62 m	26, 9	1, 35 – 1, 48 m	26, 7
20	1, 35 m	37, 8	1, 35 – 1, 48 m	37, 8
21	3, 78 s	56, 3	3, 77 s	58, 8
– COOCH <sub>3</sub>	—	174, 8	—	173, 9
CH <sub>3</sub> OCO–	3, 68 s	52, 7	3, 71 s	53, 5
OMe –10	3, 84 s	56,0	3, 83 s	56, 0
OH– 7	1, 51 s	—	1, 63 s	—

### 2.2.5.2.6. Identification du composé TP6

Le composé **TP6** possède des données physico-chimiques et spectrales semblables de celles du composé **TP5**. Il se présente sous forme de cristaux blancs, soluble dans le chloroforme. Il répond positivement au test de Dragendorff caractéristique des alcaloïdes. Sa formule brute  $C_{22}H_{28}N_2O_5$  ayant 10 insaturations a été déduite de l'analyse de son spectre de masse HRESI-MS (Fig. 121) qui a présenté l'ion *pseudo*-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  401, 1615.

La comparaison des spectres RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  du composé **TP6** avec ceux du composé **TP5** montre que les deux composés ont un squelette de base identique. Cependant on note la présence d'un groupement hydroxyle ( $-OH$ ) de plus en position C-19 dans le composé **TP6**, précédemment inexistant dans le composé **TP5**. De même, le méthyl en position C-18 qui apparaissait sous forme de triplet à  $\delta_H$  0, 86 (t,  $J = 7, 0$  Hz) dans le composé **TP5** résonne sous forme de doublet à  $\delta_H$  1,08 (d,  $J = 6, 4$  Hz) dans **TP6**.

Sur la base des données spectrales de RMN 1D (Tableau 29) et 2D et en comparaison avec celle de la littérature, le composé **TP6** s'identifie comme étant la voacristine hydroxyindolenine déjà isolé de racines *Tabernaemontana catharinensis* par Peirara *et al.* (2008).

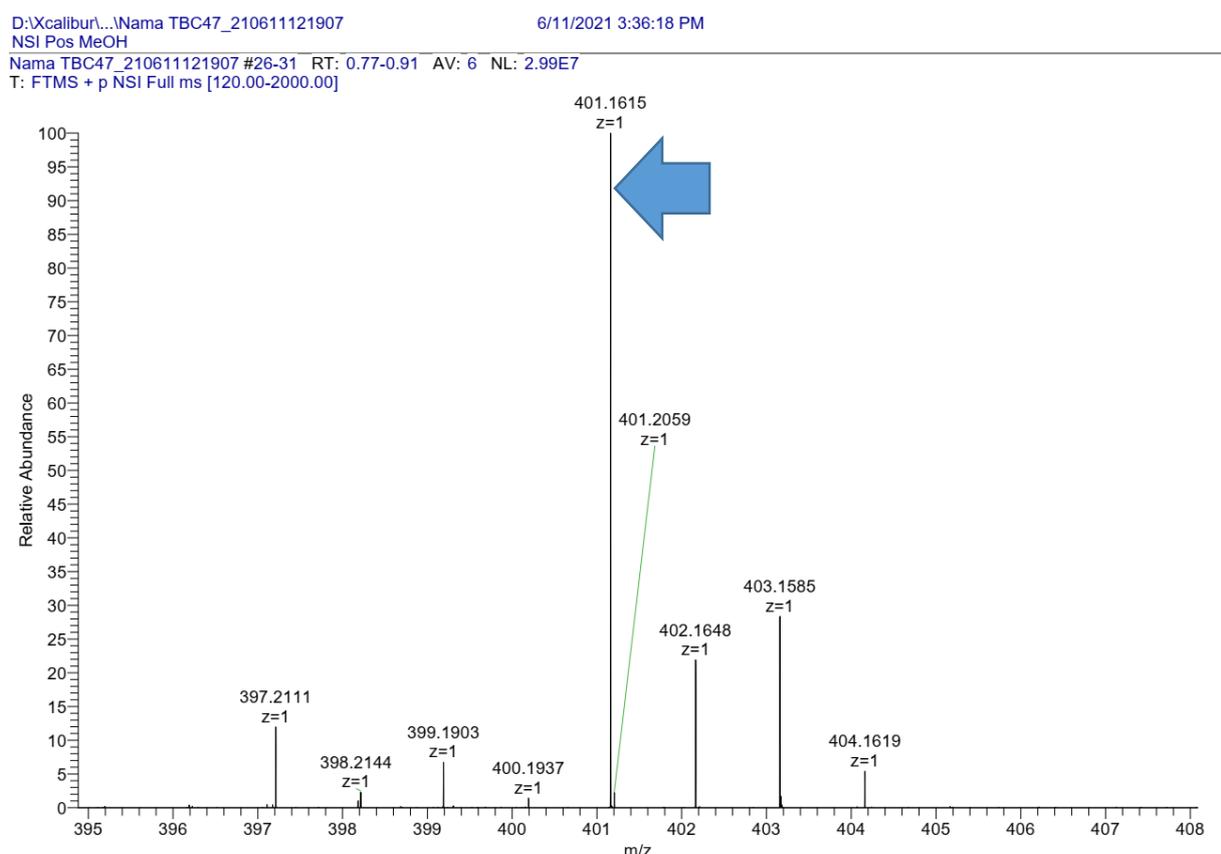


Figure 121. Spectre de masse HRESI-MS de TP6

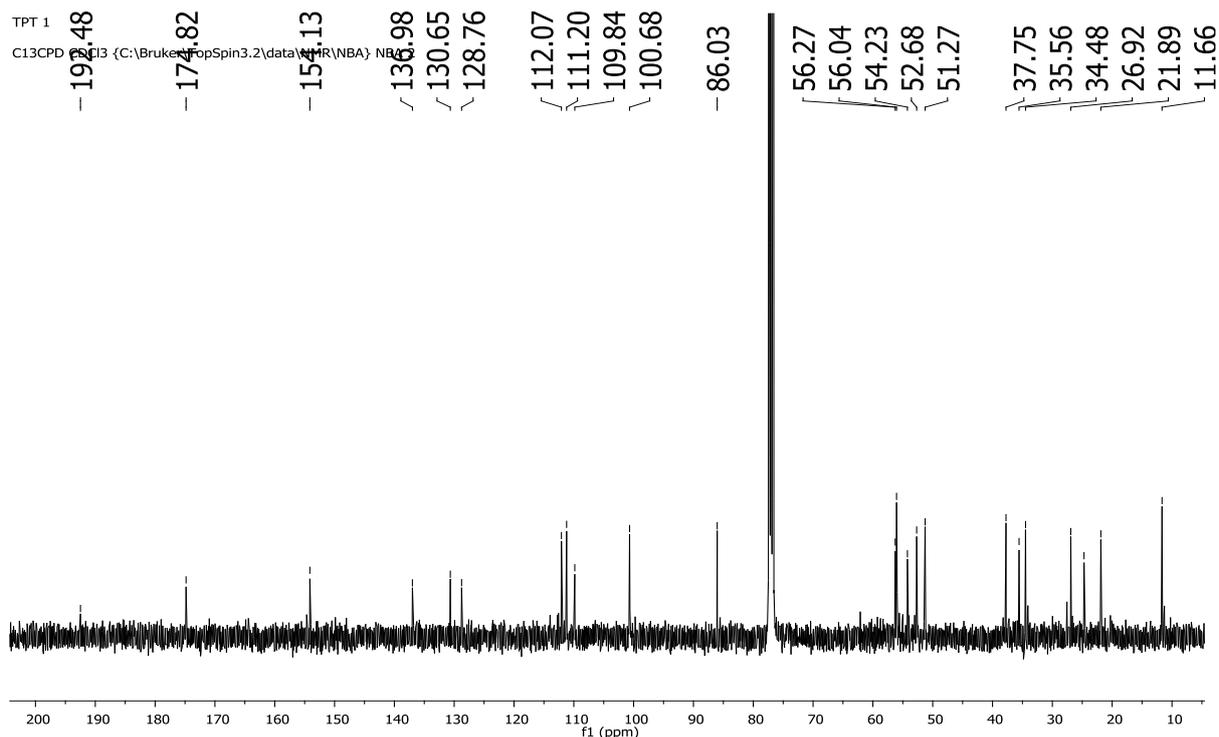
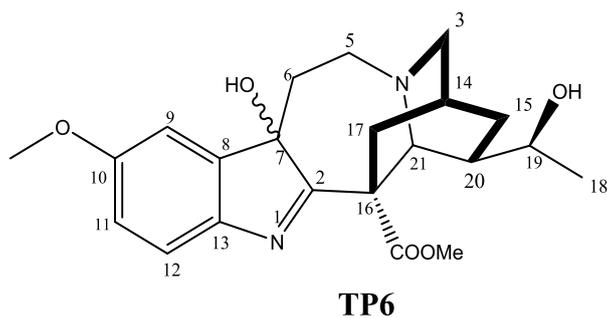


Figure 122. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de TP6



Voacristine hydroxyindolenine

**Tableau 30: Données spectrales RMN du composé TP6 (CDCl<sub>3</sub>, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

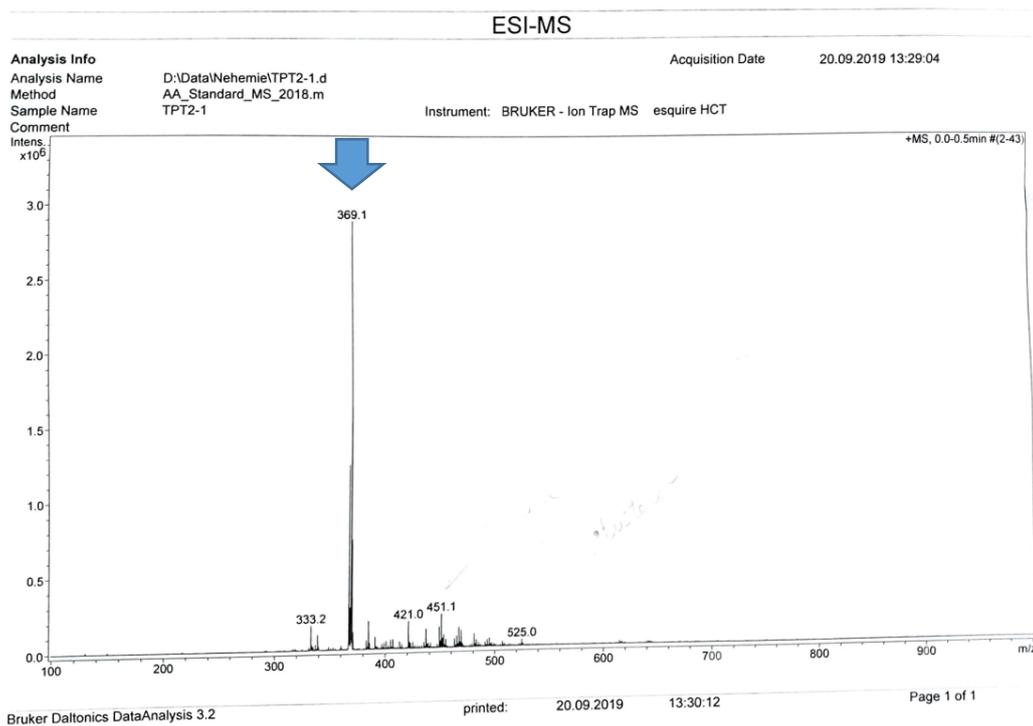
position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$
			(Pereira et al., 2008)	
2	—	188, 8	—	186, 1
3	2, 40 m 2, 15 m	48, 0	2, 75 dt (9, 3 ; 2, 2)	47, 8
5	3, 58 – 3, 46 m	48, 3	3,5 ddd (15, 0 ; 11, 0 ; 4, 0) 2, 97 ddd (15, 4 ; 2, 0 ; 2, 0)	48, 0
6	2, 69 m 2, 12 dd (10, 6 ; 4, 6)	33, 7	1, 70 – 1, 95 m	33, 1
7	—	87, 9	—	87, 8
8	—	142, 2	—	143, 7
9	6, 97 d (2, 5)	109, 8	6, 91 d (3, 0)	108, 0
10	—	159, 1	—	159, 3
11	6,93 dd (2,4; 8,6)	114, 3	6, 82 dd (8, 3 ; 2, 6)	114, 2
12	7, 12 d (8, 6)	121, 6	7, 36 d (8, 3)	121, 8
13	—	144, 7	—	144, 7
14	1, 82 m 1, 61 m	26, 6	1, 70 – 1, 95 m	26, 4
15	1, 90 ddd (13, 8 ; 3,9 ; 2,3)	23, 0	1, 70 – 1, 95 m 1, 10 dd (12, 0 ; 5, 0)	22, 9
16	—	57,7	—	55, 7
17	2, 64 dd (13, 8 ; 2, 2) 1, 99 dd (10, 6 ; 4, 6)	35, 7	2, 71 d (14, 5) 2, 47 ddd (14, 5 ; 2, 0 ; 2, 0)	35, 2
18	1, 08 d (6, 4)	20, 5	1, 10 d (6, 4)	20, 3
19	1, 50 – 1, 62 m	71, 4	1, 35 – 1, 48 m	71, 3
20	1, 35 m	38, 4	1, 35 – 1, 48 m	38, 2
21	3, 78 s	60, 1	3, 77 s	60, 1
– COOCH <sub>3</sub>	—	173, 0	—	173,0
CH <sub>3</sub> OCO–	3, 68 s	53, 6	3, 71 s	53, 5
OMe –10	3, 84 s	55,8	3, 83 s	57, 4
OH– 7	7, 84 s	—	6, 10 s	—

### 2.2.5.2.7. Identification du composé TP7

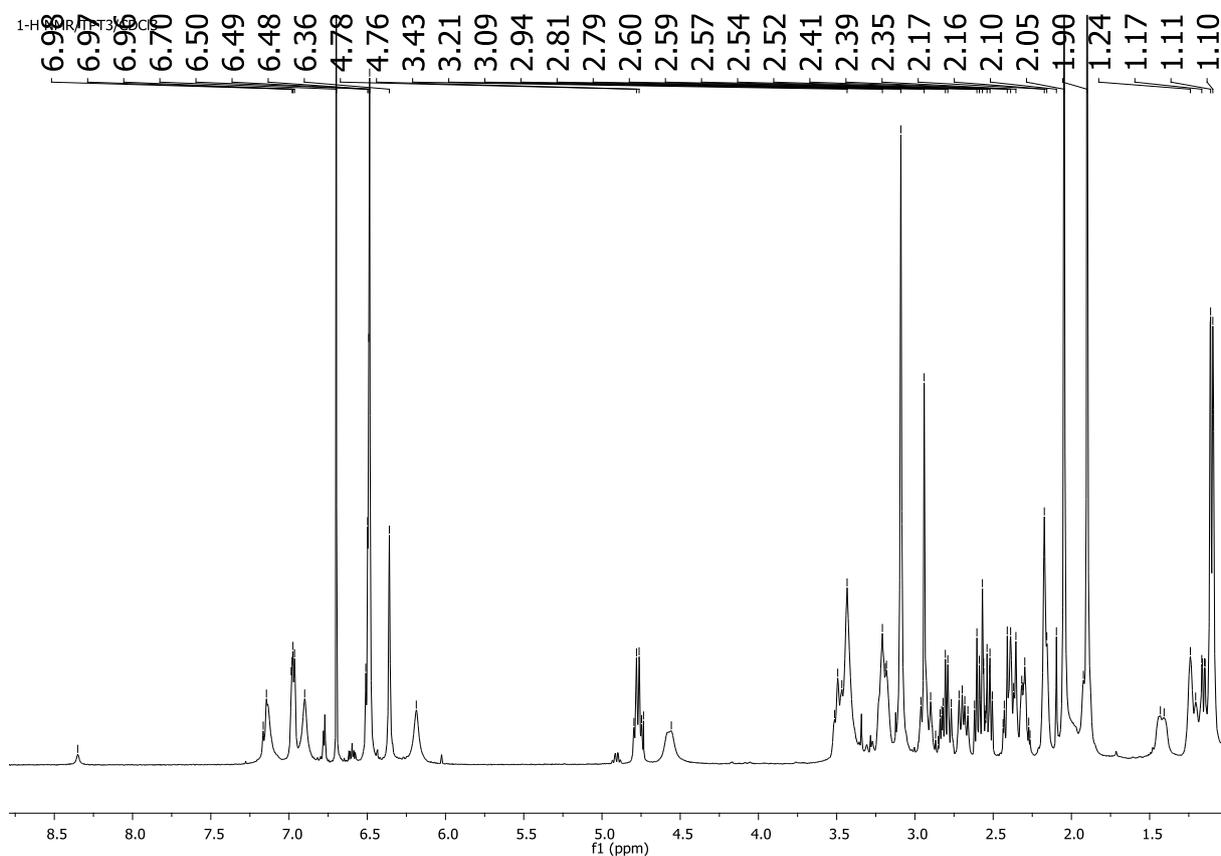
**TP7** a été isolé sous forme d'un solide amorphe jaune. Il répond positivement au test de Dragendorff caractéristique des alcaloïdes. Son spectre UV a montré des maxima d'absorption à  $\lambda_{\max}$  225, 285 et 293 nm caractéristiques des chromophores indolique. Le spectre IR indique la présence d'une fonction ester à  $1727\text{ cm}^{-1}$  et d'une fonction amide à  $1460\text{ cm}^{-1}$  (Yang *et al.*, 2016). Le spectre ESI à basse résolution (Fig. 123) a montré un ion *pseudomoléculaire* à  $m/z$  369, 1  $[M+H]^+$ , correspondant à la formule brute  $C_{21}H_{24}N_2O_4$ . Il possède 11 degrés d'insaturation.

Son spectre RMN  $^1H$  (Fig. 124) indique à  $\delta_H$  7,57 – 7,07 les signaux des protons d'un cycle benzénique *orthodisubstitué*, attribuable à H-12, H-9, H-10, H-11. ). On observe un singulet à  $\delta_H$  3,60 (s, 3H) attribuable à un groupe méthoxyl et un doublet à  $\delta_H$  1,10 ppm (3H, d,  $J = 6,4$  Hz) attribuable au proton H-18. Dans la zone des aliphatiques on observe quatre méthylènes entre 1,60 et 3,53 ppm attribuables aux protons H-5, H-6, H-15 et H-17. On observe également dans cette zone, quatre méthines à 1,49; 2,04 ; 3,82 et 4,04 ppm attribuables respectivement à H-20, H-14, H-21 et H-19.

Le spectre RMN  $^{13}C$  (Fig. 125) du composé **TP7** présente 21 signaux de carbones non équivalents. Un signal à  $\delta_C$  175,6 correspond au carbonyl des esters ; des signaux à  $\delta_C$  137,6 ; 110,2; 130,1 ; 119,3 ; 117,8 ; 122,0 ; 110,3 et 136,1 ppm sont attribuables respectivement aux carbones, C-2, C-7, C-8, C-10, C-9, C-11, C-12 et C-13 caractéristiques des carbones d'un noyau indole (Pereira *et al.*, 2008). La majorité des déplacements chimiques protons et carbones de **TP7** ont montré une similarité avec ceux observés chez la heyneanine (Yang *et al.*, 2016). Cependant, la comparaison des deux spectres RMN  $^{13}C$  a indiqué une variation significative du signal du carbone C-3. Ce carbone est à  $\delta_C$  51,7 dans la heyneanine, correspondant à un méthylène, tandis que dans le composé **TP7** il est à  $\delta_C$  171,8, signal caractéristique d'un carbonyle. Ce qui laisse donc suggérer que le composé **TP7** est un analogue de la heyneanine. Le composé **TP7** a donc été identifié à la 3-oxoheyneanine sur la base de ses données RMN 1D et 2D et en comparaison avec les données de la littérature précédemment isolée des écorces de *Tabernaemontana crassa* (Van Beek *et al.*, 1984a).



**Figure 123. Spectre de masse ESI-MS du composé TP7**



**Figure 124. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de TP7**

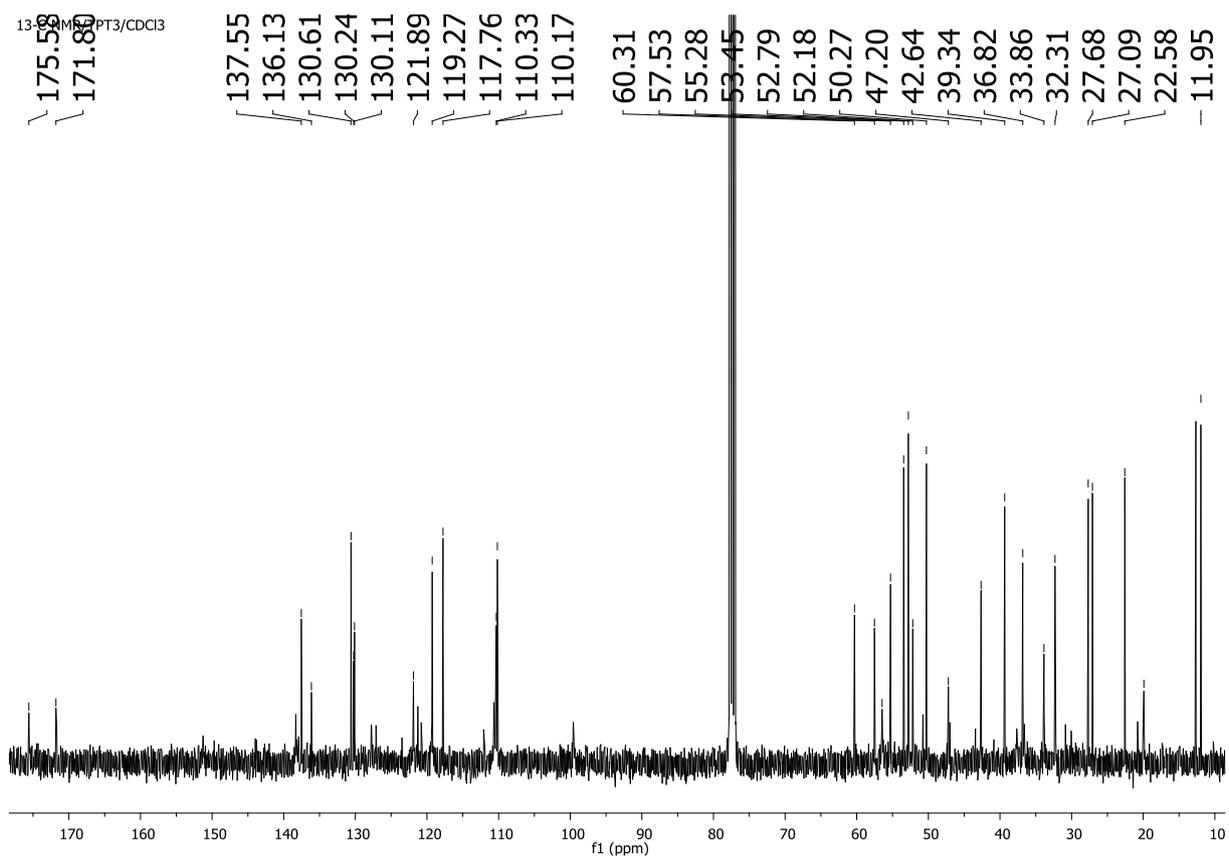
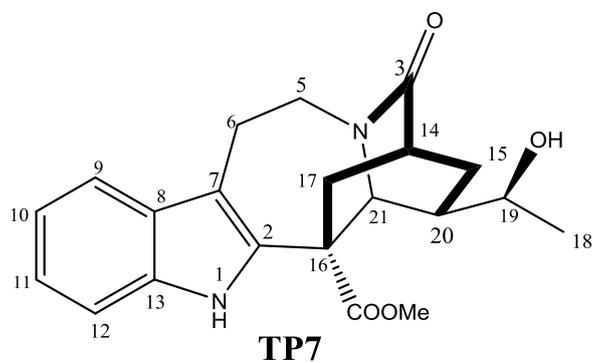


Figure 125. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de TP7



3-Oxoheyneanine

**Tableau 31: Données spectrales RMN du composé TP7 (CDCl<sub>3</sub>, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$
			(Van Beek et al., 1984)	
2	—	137, 6	—	135, 6
3	—	171, 8	—	172, 9
5	3, 47 – 3, 38 m	42, 6	3, 47 – 3, 38 m	42, 6
6	3, 08 – 2, 98 m	22, 6	3, 05 – 3, 00 m	20, 9
7	—	110, 2	—	109, 7
8	—	130, 1	—	127, 7
9	7, 57 d (7, 5)	117, 7	7, 47 d (7, 5)	118, 2
10	7, 08 ddd (7,5; 7,5 ; 1,5)	119, 3	7, 10 ddd (7,5; 7,5 ; 1,5)	119, 4
11	7, 07 ddd (7,5; 7,5 ; 1,5)	122, 0	7, 09 ddd (7,5; 7,5 ; 1,5)	122, 2
12	7, 25 d (7, 5)	110, 3	7, 22 d (7, 5)	110, 5
13	—	136, 1	—	133, 8
14	2, 60 m 1, 61 m	32, 3	2, 60 m 1, 61 m	30, 8
15	1, 98 dd (13, 1 ; 9,7) 1, 37 m	33, 9	1, 97 m 1, 37 m	35, 3
16	—	55, 3	—	55, 5
17	2, 64 dd (13, 3 ; 1, 5) 2, 31 dd (13, 3 ; 3, 8)	36, 8	2, 71 d (14, 5) 2, 37 ddd (14, 5 ; 2, 0 ; 2, 0)	35, 7
18	1, 10 d (6, 4)	22, 6	1, 16 d (6, 5)	20, 3
19	4, 78 dd (11, 3 ; 5, 7)	71, 3	4, 78 dd (11, 3 ; 5, 7)	71, 3
20	1, 74 m	39, 3	1, 74 m	38, 0
21	4, 53 s	57, 5	4, 53 s	57, 0
– COOCH <sub>3</sub>	—	175, 8	—	175, 8
CH <sub>3</sub> OCO–	3, 72 s	52, 8	3, 70 s	52, 9
NH	8, 47 s	—	8, 34 s	—

### 2.2.5.2.8. Identification du composé TP8

Le composé **TP8** possède des données physico-chimiques et spectrales semblables à celles du composé **TP7**. Il se présente sous forme de solide jaune pâle amorphe, soluble dans le chloroforme. Il répond positivement au test de Dragendorff caractéristique des alcaloïdes. Sa formule brute  $C_{21}H_{24}N_2O_3$  ayant 11 insaturations a été déduite de l'analyse de son spectre de masse LC-ESI-MS (Fig. 126) qui a présenté l'ion *pseudo*-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  353,1802. La comparaison des spectres RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  du composé **TP8** avec ceux du composé **TP7** montre que les deux composés ont un squelette de base identique. Cependant le groupement hydroxyle (-OH) précédemment présent en position C-19 dans le composé **TP7** est inexistant dans le composé **TP8**. De même, le méthyl en position C-18 qui apparaissait sous forme de doublet à  $\delta_H$  1,10 (d,  $J = 5,7$  Hz) dans le composé **TP7** résonne sous forme de triplet à  $\delta_H$  0,98 (t; 7, 5) dans **TP7**. Sur la base des données spectrales de RMN 1D (Tableau 31) et 2D et en comparaison avec celle de la littérature, le composé **TP8** s'identifie comme étant la 3-oxocoronaridine déjà isolée de l'écorce des racines de *Tabernaemontana catharinensis* (Pereira et al., 2008).

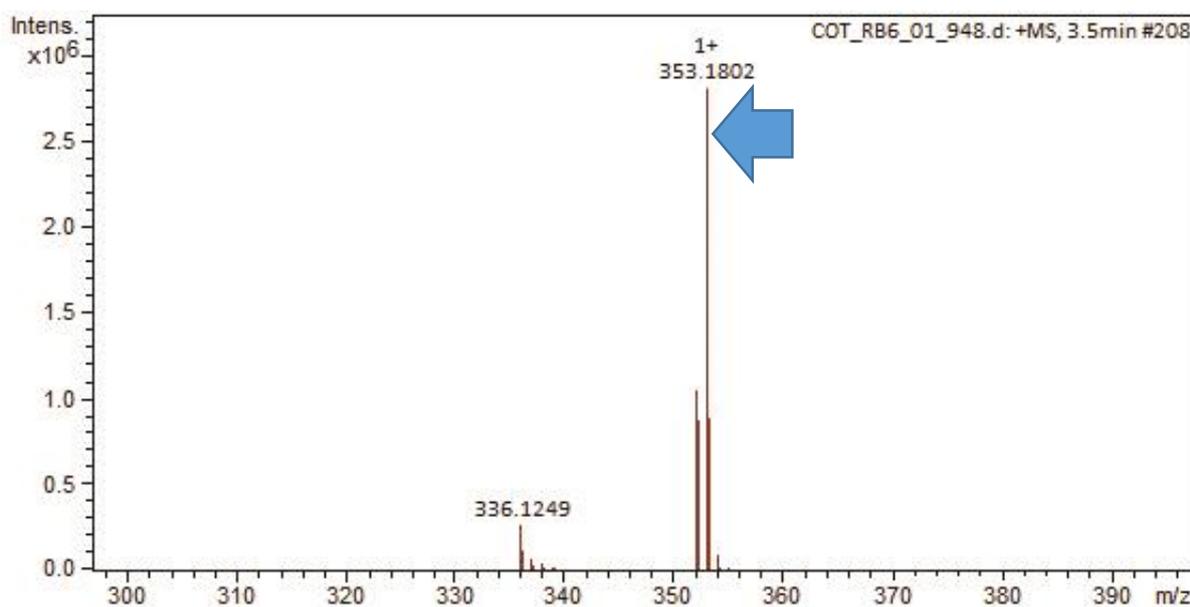
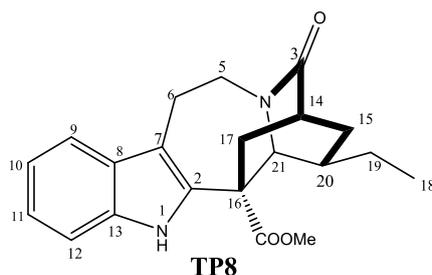


Figure 126. Spectre de masse LC-ESI-MS du composé TP8



3-Oxocoronaridine

**Tableau 32: Données spectrales RMN du composé TP8 (CDCl<sub>3</sub>, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$
			(Pereira et al., 2008)	
2	—	135,7	—	135,6
3	—	172,9	—	172,9
5	4,47 – 4,38 m	42,7	4,47 – 4,38 m	42,6
6	3,28 – 3,17 m	21,0	3,25 – 3,13 m	20,9
7	—	109,7	—	109,1
8	—	127,7	—	127,7
9	7,50 d (7,5)	118,3	7,47 d (7,5)	118,2
10	7,15 ddd (7,5; 7,5; 1,5)	119,9	7,10 ddd (7,5; 7,5; 1,5)	119,4
11	7,10 ddd (7,5; 7,5; 1,5)	122,2	7,09 ddd (7,5; 7,5; 1,5)	122,2
12	7,25 d (7,5)	110,6	7,22 d (7,5)	110,5
13	—	133,9	—	133,8
14	2,60 m 1,61 m	30,9	2,60 m 1,61 m	30,8
15	1,98 dd (13,1; 9,7) 1,37 m	35,4	1,97 m 1,37 m	35,3
16	—	55,5	—	55,5
17	2,64 dd (13,3; 1,5) 2,31 dd (13,3; 3,8)	35,7	2,71 d (14,5) 2,37 ddd (14,5; 2,0; 2,0)	35,7
18	0,98 t (7,5)	11,3	0,93 t (7,5)	11,2
19	1,54 – 1,43 m	27,5	1,54 – 1,48 m	27,5
20	1,74 m	38,1	1,74 m	38,0
21	4,53 s	56,1	4,53 s	56,0
– COOCH <sub>3</sub>	—	175,8	—	175,8
CH <sub>3</sub> OCO–	3,72 s	52,9	3,70 s	52,9
NH	8,30 s	—	8,14 s	—

### 2.2.5.2.9. Identification du composé TP9

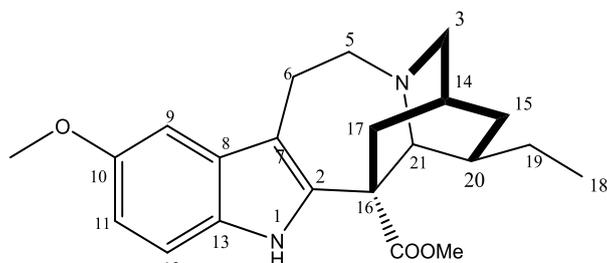
**TP9** se présente sous forme de cristaux blancs, soluble dans le chloroforme. Il répond positivement au test de Dragendorff caractéristique des alcaloïdes et particulièrement au test de Ehrlich caractéristique des alcaloïdes indoliques.

Sa formule brute  $C_{22}H_{28}N_2O_3$  ayant 10 insaturations a été déduite de l'analyse de son spectre de masse HREI-MS qui a présenté l'ion *pseudo*-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  369,2177.

L'étude de son spectre RMN  $^1H$  (Fig. 127) permet de mettre en évidence deux doublets à  $\delta_H$  7,17 (1H, d,  $J = 8,6$  Hz, H-12) et 6,97 (1H, d,  $J = 2,6$  Hz, H-9) ; un doublet dédoublé à  $\delta_H$  6,83 (1H, dd,  $J = 8,6 ; 2,6$  Hz, H-11) et un singulet à  $\delta_H$  7,84 (1H, s, NH) caractéristiques d'un noyau indole monosubstitué. On observe également deux singulets à  $\delta_H$  3,84 (3H, s) et 3,75 (3H, s) attribuable à deux groupement methoxy et un triplet à  $\delta_H$  0,94 (3H, t,  $J = 7,0$  Hz, H-18) attribuable aux protons en position 18.

Son spectre RMN  $^{13}C$  (Fig. 128) indique 22 signaux de carbones en accord avec la formule moléculaire. L'analyse des spectres RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  dans du  $CDCl_3$  de **TP9** montre qu'il est très similaire à la voacangine (Pereira *et al.*, 2008).

Sur la base des données spectrales de RMN 1D (Tableau 32) et 2D et en comparaison avec celle de la littérature, le composé **TP9** s'identifie comme étant la voacangine déjà isolé de l'écorce des racines de *Tabernaemontana fuchsiaefolia* (Zocoler *et al.*, 2005).



**TP9**

Voacangine

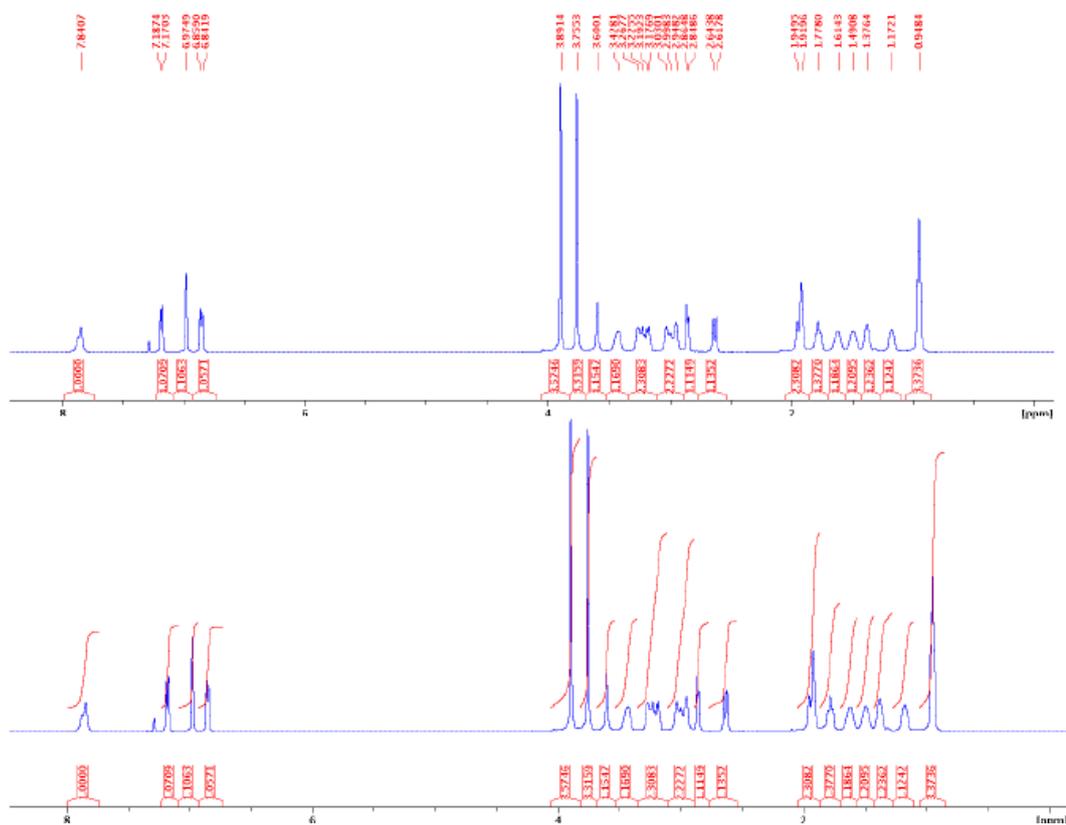


Figure 127. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de TP9

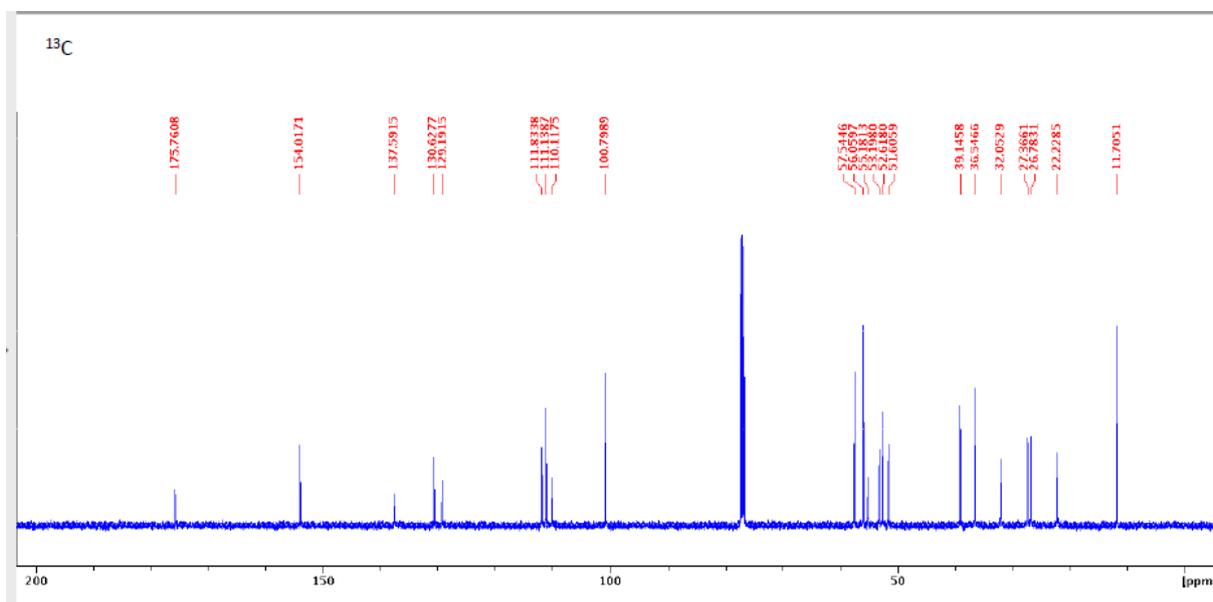


Figure 128. Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de TP9

**Tableau 33: Données spectrales RMN du composé TP9 (CDCl<sub>3</sub>, 400 et 100 MHz) comparées à celles de la littérature**

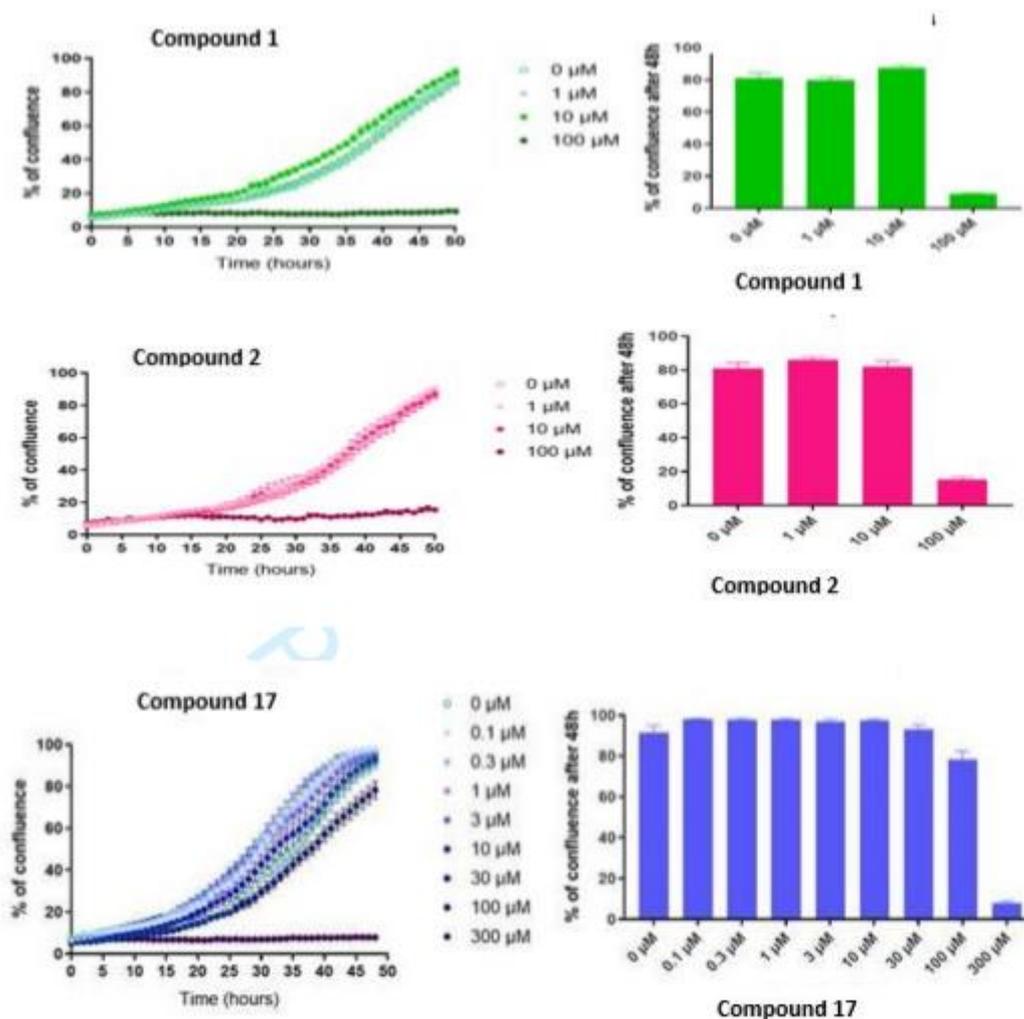
position	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ppm (m, J en Hz)	$\delta_C$
			(Zocoler et al., 2005)	
2	—	135, 7	—	137, 6
3	2, 90 m 2, 80 m	172, 9	2, 90 m 2, 80 m	51, 5
5	3, 13 m 2, 98 m	42, 7	3, 13 m 2, 98 m	53, 1
6	3, 37 m 3, 22 m	21, 0	3, 37 m 3, 22 m	22, 1
7	—	109, 7	—	110, 2
8	—	127, 7	—	129, 3
9	6, 97 d (2, 6)	118, 3	6, 92 d (2, 4)	100, 9
10	—	119, 9	—	154, 2
11	6, 83 dd (8, 6; 2, 6)	122, 2	6, 80 dd (8,7; 2,4)	111, 9
12	7, 17 d (8, 6)	110, 6	7, 13 d (8, 7)	111, 1
13	—	133, 9	—	130, 6
14	1, 91 m	30, 9	1, 87 m	27, 2
15	1, 77 dd (13, 1 ; 9,7) 1, 17 m	35, 4	1, 75 m 1, 12 m	31, 9
16	—	55, 5	—	55, 1
17	1, 92 m 2, 60 ddd (13, 3 ; 5, 4 ; 1, 5)	35, 7	1, 90 m 2, 57 ddd (14, 1 ; 5, 7 ; 2, 4)	36, 5
18	0, 94 t (7, 5)	11, 3	0, 90 t (7, 5)	11, 5
19	1, 61 m 1, 49 m	27, 5	1, 55 m 1, 44 m	26, 6
20	1, 22 m	38, 1	1, 32 m	38, 0
21	3, 60 s	56, 1	3, 54 s	57, 5
— COOCH <sub>3</sub>	—	175, 8	—	175, 8
CH <sub>3</sub> OCO—	3, 75 s	52, 9	3, 71 s	52, 5
OMe -10	3, 84 s	55, 2	3, 81 s	55, 7
NH	7, 84 s	—	7, 67 s	—

## PARTIE B : ÉTUDES BIOLOGIQUES ET BIOSYNTHÈSE DE QUELQUES COMPOSÉS ISOLÉS

### 2.2.6. Activités biologiques des extraits et composés isolés

#### 2.2.6.1. Activité antiproliférative *in vitro* contre les cellules cancéreuses du colon humain HCT 116

L'activité antiproliférative des composés **RC1**, **RC2** et **RC5** isolés des écorces du tronc de *R. caffra* a été évaluée contre le cancer du colon humain en essai préliminaire. La méthode utilisée est *IncuCyte® Live-Cell analysis* et la lignée cellulaire HCT 116. Les extraits et les autres composés n'ont pas été testés. Les résultats sont présentés par les histogrammes ci-dessous.



**Figure 129. Inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses HCT 116 des composés purs RC1, RC2 et RC5.**

Ces résultats montrent que les composés testés n'ont pas une activité antiproliférative significative pour des faibles concentrations avec des pourcentages de confluence de 80-90%. Par contre, pour des concentrations élevées ( $> 40\mu\text{M}$ ) tous les composés testés ont inhibé la

prolifération des cellules cancéreuses HCT 116. Ces résultats ne sont pas statistiquement significatifs pour effectuer une réponse à la concentration ainsi qu'un test de cytotoxicité et l'activité métabolique.

### 2.2.6.2. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des composés **RC1**, **RC2** et l'extrait au méthanol des écorces du tronc de *R. caffra* a été guidée sur des micro-organismes pouvant induire le cancer du colon humain. Ces composés isolés et extrait ont été évalués pour l'effet d'inhibition de la croissance sur différentes souches bactériennes *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Shigella sp* et *Salmonella sp* en comparant au standard ciprofloxacine. Les résultats sont présentés dans le tableau 33

**Tableau 34: Paramètres d'inhibition (CMI et CMB) des composés purs ( $\mu\text{g/mL}$ ) et de l'extrait au méthanol ( $\text{mg/mL}$ )**

Extrait/Produits purs	<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218			<i>Salmonella sp</i>			<i>Shigella sp</i>		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
<b>RC1</b>	<b>12.50</b>	<b>12.50</b>	1.00	<b>25.00</b>	ND	ND	<b>6.25</b>	<b>25.00</b>	4.00
<b>RC2</b>	$\geq 25$	ND	ND	$\geq 25$	ND	ND	$\geq 25$	ND	ND
<b>Extrait</b>	<b>25.00</b>	ND	ND	<b>97.60</b>	<b>390.0</b>	4	<b>12.50</b>	$\geq 25$	ND
<b>Ciprofloxacine</b>	<b>0.97</b>	<b>1.95</b>	<b>2.00</b>	<b>0.48</b>	<b>0.97</b>	<b>2.00</b>	<b>1.95</b>	<b>3.90</b>	<b>2.00</b>

N.D : non déterminé

D'après ces résultats, le composé **RC1** a présenté une activité antimicrobienne bonne contre *E. coli* et *Shigella sp* avec les valeurs de CMI de 6, 25–12, 5  $\mu\text{g/mL}$ ; puis modérée contre *Salmonella sp* avec des valeurs de CMI de 25  $\mu\text{g/mL}$  (Ciprofloxacine, CMI = 0, 97 et 1, 95  $\mu\text{g/mL}$ ). Par contre le composé **RC2** a présenté un potentiel d'inhibition moindre avec une CMI  $\geq 25$   $\mu\text{g/mL}$ . Dans la présente étude, les alcaloïdes indolomonoterpéniques possédant un aglycone commun ont conduit à une diminution de l'activité contre la croissance des différentes souches bactériennes. Comparé aux structures d'alcaloïdes indoliques isolés, le squelette dérivé de la strictamine s'est avéré être un facteur important pour l'activité antimicrobienne. Néanmoins, nous ne pouvons pas expliquer complètement le mode d'action des activités antimicrobiennes de ces alcaloïdes indoliques. L'extrait au méthanol des écorces du tronc de

*Rauvolfia caffra* s'est avéré présenter une bonne activité contre ces agents pathogènes avec une valeur de CMI comprise entre 12, 5 –97, 6 mg/ml.

### 2.2.6.3. Activité antiplasmodiale *in vitro*.

Un screening de la littérature a révélé que la plupart des alcaloïdes indolomonoterpéniques déjà testés présentent une activité antiplasmodiale avec une  $CI_{50}$  relativement bonne autour de 10  $\mu$ M. Ceci est illustré par une étude récente de Cao et collaborateurs mettant en évidence les alcaloïdes de type corynanthe comme antipaludiques prometteurs avec des valeurs  $CI_{50}$  allant de 5,5 à 11,2  $\mu$ M contre un panel de souches de *Plasmodium falciparum* (2011). Cependant, les alcaloïdes apparentés isolés de *Corynanthe pachyceras* n'ont montré aucune activité antiplasmodiale significative *in vitro* (Stærk et al., 2000).

Ainsi, l'activité antiplasmodiale *in vitro* des nouveaux composés isolés a été évaluée. Seuls les composés **TP1- TP4**, extraits des tiges de *T. penduliflora*, ont été testés. Les composés issus des écorces du tronc de *R. caffra* n'ont été obtenus qu'en très faible quantité et n'ont pas pu être testés.

Ces composés et extraits ont été évalués sur une souche chloroquino-sensible et une souche chloroquino-résistante de *Plasmodium falciparum* (3D7 et Dd2) en utilisant l'artémisinine<sup>®</sup> comme standard suivant la méthode décrite par Cao et al (2011). Les résultats sont présentés dans le tableau 34 ci-dessous.

**Tableau 35: Activité antiplasmodiale *in vitro* de l'extrait hydroéthanolique et composés purs de *T. penduliflora***

Extrait/Composés purs	$CI_{50}$ ( $\mu$ g/mL) <sup>a</sup>	
	<b>3D7</b>	<b>Dd2</b>
<b>TP1</b>	7, 88 $\pm$ 0, 40	5, 32 $\pm$ 0, 20
<b>TP2</b>	26, 69 $\pm$ 0, 24	15, 71 $\pm$ 0, 14
<b>TP3</b>	15, 87 $\pm$ 0, 08	14, 14 $\pm$ 0, 09
<b>TP4</b>	1, 87 $\pm$ 0, 07	1, 85 $\pm$ 0, 05
<b>Extrait brut</b>	18, 46 $\pm$ 0, 21	15, 16 $\pm$ 0, 14
Artemisinine <sup>b</sup> (nM)	23, 73 $\pm$ 0, 24	17, 76 $\pm$ 0, 25
Chloroquine <sup>b</sup> (nM)	21, 65 $\pm$ 0, 25	272, 2 $\pm$ 0, 02

<sup>a</sup> Les composés TP1, TP2, TP3 et TP4 ont été actifs sur toutes les souches ( $CI_{50} < 50$   $\mu$ g/mL)

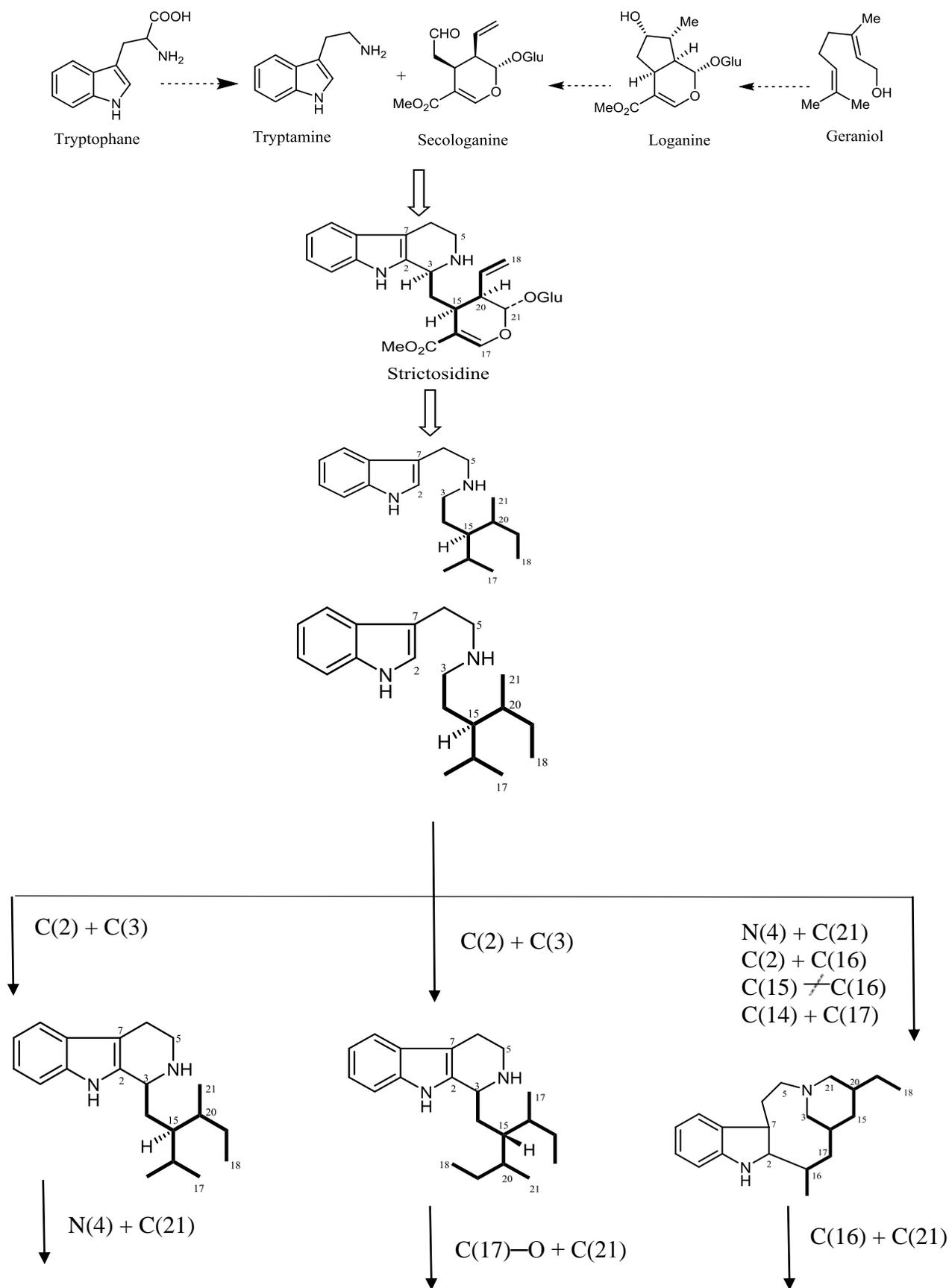
<sup>b</sup> Contrôle positif

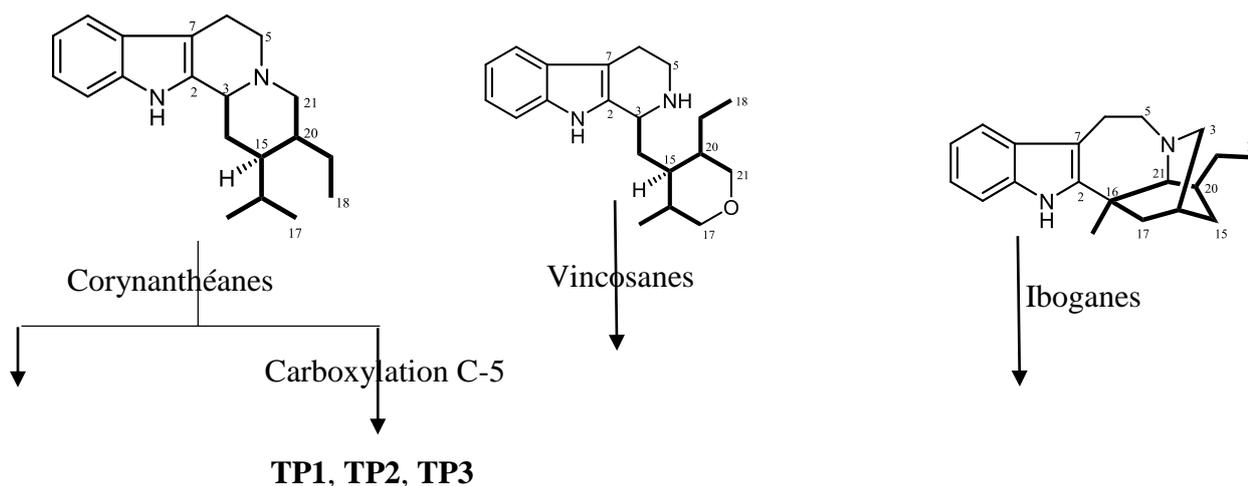
L'analyse de ce tableau montre que tous les composés testés ont une activité antiplasmodiale contre les souches de *Plasmodium falciparum* 3D7 et Dd2 avec des valeurs  $CI_{50}$  de l'ordre du microgramme.

Parmi les dérivés de type corynanthe, le composé **TP1** a présenté une très bonne activité antiplasmodiale contre les deux souches 3D7 et Dd2 avec une  $CI_{50}$  de 7,88 et 5,32  $\mu\text{g/mL}$  respectivement. Les composés **TP2** et **TP3** quant à eux ont montré une activité antiplasmodiale modérée *in vitro* avec une  $CI_{50}$  comprise entre 15,71 – 26,69 et 14,41 – 15,87  $\mu\text{g/mL}$  contre les deux souches respectivement. Ces deux composés étaient 2 à 5 fois moins actifs que le composé **TP1** qui a un groupe fonctionnel aldéhyde au lieu d'un groupe ester en position C-16. Sur la base de l'analyse des résultats de l'expérience, nous suggérons que le groupe aldéhyde pourrait être décisif dans l'amélioration de l'activité antiplasmodiale des composés dérivés du corynanthe. L'activité du dérivé alcaloïde de la coronaridine a été influencée par le type de l'atome d'azote quaternaire, la nature et la taille des substituants en position C-10, et le type de substituants *O*-alkyle sur le cycle A (Silva et al., 1996). Par comparaison, l'activité des sels de coronaridium quaternaire à cycle aromatique A substitué tel que le composé **TP4** était supérieure à celle des composés hydro et/ou méthosels zwitterioniques ; le N-oxyde et le substituant méthoxyle en C-10 pourraient exercer un effet positif sur l'activité antiplasmodiale et donc renforcer son activité contre les souches de *P. falciparum* Dd2 et 3D7 avec des valeurs  $IC_{50}$  de 1,85 et 1,87  $\mu\text{g/mL}$  respectivement, comme démontré par des travaux antérieurs (Silva et al., 1996 ; Frédérick et al. 1999 ; Cao et al., 2011). Cette étude a montré que l'étude phytochimique des plantes utilisées en médecine traditionnelle peut permettre d'identifier des composés induisant apparemment l'activité attribuée à leur utilisation indigène.

### 2.2.7. Biosynthèse de quelques composés isolés

Les alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés dans cette étude présentent une très grande variété structurale. Ils peuvent être regroupés en trois classes d'alcaloïdes indoliques en fonction de leur biogénèse (corynanthéanes, vincosanes et iboganes) qui présentent chacune un lien biogénétique. Le précurseur commun de tous les alcaloïdes indolomonoterpéniques est la strictosidine, produit de condensation de la tryptamine et de la sécologanine (Cordell, 1974 ; Stöckigt et Panjikar, 2007). Le fragment monoterpénique en C-9 ou C-10 dérivé de la sécologanine subirait un réarrangement spatial lors du processus biogénétique pour conduire aux corynanthéanes, vincosanes et iboganes.





**Figure 130. Biosynthèse de quelques alcaloïdes indoliques isolés**

### 2.2.8. Importance Chimiotaxonomique

Les résultats obtenus au cours de ce travail montrent que *R. caffra* et *T. penduliflora* sont une source d'alcaloïdes indolomonoterpéniques regroupés en différentes sous classes (Corynanthes, strychnanes et Iboganes) qui constituent les marqueurs de ces plantes (Nasser et Court, 1982 ; Nasser et Court, 1984 ; Ambujam et Parimoo, 1985 ; Masuda *et al.*, 2000 et Bitombo *et al.*, 2021). Ce travail apporte des éléments supplémentaires à la diversité des alcaloïdes indolomonoterpéniques des genres *Rauvolfia* et *Tabernaemontana* ainsi que l'importance chimiotaxonomique. De plus il démontre une fois de plus le potentiel anticancéreux, antimicrobien et antiplasmodial des alcaloïdes indoliques. Par ailleurs, plusieurs stéroïdes et triterpènes de type ursane, lupane et oléane ; différentes de ceux isolés par Ebeh Messanga *et al.* (2017) ont été obtenus. Ceci implique le fait que l'espèce *Rauvolfia caffra* pourrait aussi être considérée comme une source de triterpènes et de stéroïdes.

## **CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES**

## Conclusion generale et perspectives

En définitive, l'étude phytochimique de deux extraits alcaloïdiques a conduit à l'isolement de trente-deux alcaloïdes indolomonoterpéniques monomères, dont huit nouveaux. Leur caractérisation a été réalisée à l'aide de techniques spectroscopiques (RMN 1D et 2D), SM,  $\alpha$ D, IR et CD).

À partir de l'extrait alcaloïdique obtenu des écorces du tronc de *R. caffra*, 19 alcaloïdes indolomonoterpéniques ont été obtenus dont : 02 dérivés nouveaux (rauvolfianoides **A-B**), et 17 connus regroupés en : 07 de type ajmalane, 02 de type sarpagane, 01 de type akuammilane et 07 autres de type ajmalicine.

À partir de l'extrait alcaloïdique obtenu des tiges de *T. penduliflora*, 13 alcaloïdes indolomonoterpéniques ont été isolés dont 05 dérivés nouveaux de  $\beta$ -carboline possédant le squelette de type corynanthe (penduliflorines **A-E**) et la voacangine-*N*-oxide (tabernaemontine) qui est le dérivé *N*-oxide de la voacangine ainsi que 07 connus dont : 06 de type ibogane et 01 de type sarpagane.

Des tests biologiques dans différents domaines ont été réalisés sur les extraits bruts et les 08 nouveaux composés isolés.

L'activité anticancéreuse a été effectuée sur 03 molécules de *R. caffra* (deux nouvelles et une connue) contre une lignée de cellules cancéreuses du colon humain HCT116 en essai préliminaire. En comparaison avec la doxorubicine, ces composés n'ont montré qu'une faible activité antiproliférative.

L'activité antimicrobienne a été réalisée sur l'extrait brut et les deux nouvelles molécules de *R. caffra*. Les résultats montrent que la rauvolfianoïde A a présenté une bonne activité antibactérienne contre *E. coli* et *Shigella sp* (CMI = 6, 25–12, 5  $\mu$ g/mL), puis modérée contre *Salmonella sp* (CMI = 25  $\mu$ g/mL). Par contre la rauvolfianoïde B a montré un faible potentiel d'inhibition ce qui révèle des considérations de relations structure / activité au vue des structures de ces composés. De plus, ces résultats confirment l'hypothèse selon laquelle certaines bactéries du microbiote intestinal induiraient le cancer colo-rectal.

L'activité antiplasmodiale a été mesurée sur l'extrait alcaloïdique et six nouvelles molécules de *T. penduliflora* contre les souches 3D7 et Dd2 de *P. falciparum*. Les résultats montrent que toutes ces molécules ainsi que l'extrait ont présenté une activité antiplasmodiale significative avec des valeurs  $CI_{50}$  de l'ordre du microgramme, ce qui permet de justifier l'usage de cette plante en médecine traditionnelle pour le traitement du paludisme. Il apparaît aisé d'effectuer

des considérations de relations structure / activité au regard de l'homogénéité des composés obtenus.

Les techniques couplées UPLC-HRMS, LC-MS/MS utilisées dans cette étude ont permis à chaque fois de confirmer la présence des composés purs obtenus dans les extraits de départ. Ceci est un apport dans le domaine de la recherche phytochimique et les applications futures dans le domaine de déréplication d'extraits bruts, une procédure utilisée en phytochimie pour éviter de ré-isoler des produits connus.

De plus, cette thèse a permis de valoriser la flore Camerounaise par la caractérisation de molécules isolées de deux espèces récoltées dans différentes régions du pays. Elle a démontré leur intérêt comme source de nouveaux produits naturels et de composés aux activités intéressantes, pouvant probablement étayer en partie les emplois de *R. caffra* et *T. penduliflora*. Elle a contribué à une meilleure connaissance des capacités biosynthétiques des genres étudiés.

En termes de perspective, il serait intéressant de :

- intégrer la stratégie de déréplication fondée sur des réseaux moléculaires générés à partir de données CLHP-MS/MS (*Molecular networking*) à l'étude de ces espèces afin d'élaborer une base de données d'alcaloïdes indolomonoterpéniques au sein du laboratoire.
- Poursuivre avec l'évaluation des activités antibactérienne (sur *E. coli*, *Bactériodes fragilis*, *Shigella sp*, *Salmonella sp* et *Fusobacterium nucleatum*) et anticancéreuse (*in vitro* et *in vivo*) du colon sur les composés qui n'ont pas subi de tests afin d'expliquer complètement le mode d'action de ces alcaloïdes indolomonoterpéniques et d'identifier ceux qui pourraient mieux agir dans la prévention du cancer du colon humain. Car des souches appartenant à *Escherichia coli*, *Bactériodes fragilis*, *Shigella sp*, *Salmonella sp* et *Fusobacterium nucleatum* sont des facteurs de risque potentiels de cancer colorectal favorisant son développement et ses métastases ;
- Effectuer des tests *in vivo* sur les composés qui ont présenté l'activité antiplasmodiale ;
- Faire une étude phytochimique des autres parties de ces plantes afin de voir si d'autres classes de métabolites secondaires y sont présentes.

## **CHAPITRE 3 : MATÉRIEL ET METHODES**

### 3.1. Matériel végétal et extraction

#### 3.1.1. Récolte

Les écorces du tronc de *R. caffra* Sond et les tiges de *T. penduliflora* K. Schum. (Apocynaceae) ont été récoltées à Eloundem (Mendong, à 8 km de la ville de Yaoundé) et à Ngath (à 12 km de la ville de Mbalmayo) dans la région du centre en avril 2017 et juin 2018 respectivement et identifiées taxonomiquement par M. Victor Nana (botaniste à l'herbier national, Yaoundé, Cameroun). Des échantillons de référence se trouvent à l'Herbier National de Yaoundé, Cameroun (N° 43412/HNC et 40411/HNC, respectivement).

#### 3.1.2. Séchage et broyage

Le matériel végétal a été découpé, séché à l'air libre pendant 2 à 3 semaines. Les plantes ont été ensuite broyées finement pour être soumises à des extractions.

#### 3.1.3. Extraction et isolement

L'extraction a été faite à température ambiante en agitant le mélange pendant 48 heures environ, dans un volume de solvant approprié. Cette opération a été répétée trois fois pour chaque solvant. Après filtration, évaporation du solvant les extraits bruts obtenus sont ensuite dissous partiellement dans de l'eau acidifiée (300mL, 5%) puis basifiée ( $\text{NH}_4\text{OH}$  pH  $\approx$  9-10), enfin partitionnés avec l'hexane et le chloroforme.

Pour les écorces du tronc, la méthode d'extraction utilisée était la macération à température ambiante le solvant utilisé ici était le méthanol.

Les écorces du tronc de *Rauvolfia caffra* ont été séchées puis broyées pour donner une poudre de (1,65 kg). Cette poudre a été prise puis trempée dans 7,5 L de méthanol à température ambiante pendant 48 h. Le solvant a été évaporé et l'extrait brut (147,5 g) a été obtenu soit un rendement d'extraction de 8,9 %.

L'extrait brut au méthanol obtenu a donné un précipité orange avec le réactif de Dragendorff comme indice pour les alcaloïdes. L'extrait méthanolique séché a été mis en suspension dans 300 mL de HCl à 5% et extrait trois fois avec du n-hexane. Le pH de la phase aqueuse a été ajustée à 9-10 avec  $\text{NH}_4\text{OH}$ , puis reextrait quatre fois avec du chloroforme. Après évaporation sous pression réduite à l'aide d'un rotavapor, nous avons obtenu 35,6 g d'un extrait brut au chloroforme enrichi en alcaloïdes. 30,6 g de cet extrait a été soumis à une CC sur gel de silice (63-230 mesh) en utilisant le gradient d'éluion n-hexane / acétate d'éthyle / méthanol pour donner dix fractions (F1-F10). Ces fractions ont été testées avec le réactif de Dragendorff. Les fractions actives ont été purifiées en utilisant une taille appropriée de colonnes cylindriques en

verre longues (120 cm x 2 cm) pour 4 mL / min comme débit. Ainsi, la fraction F<sub>1</sub> (3,44 g) a été davantage purifiée par CC sur gel de silice en éluant avec le système *n*-hexane / acétate d'éthyle (v / v 95: 5 à 70:30) pour donner quatre sous-fractions (F<sub>1a</sub> - F<sub>1d</sub>). La sous-fraction F<sub>1c</sub> (19,3 mg) a été purifiée par CC sur Sepadex LH-20 élué avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH (v / v 50: 50) pour donner les composés **RC3** (6,4 mg) et **RC2** (8,6 mg). La sous-fraction F<sub>1b</sub> (77,5 mg) a été soumise à une CC sur gel de silice avec un CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH (v / v 98: 2 à 80: 20) pour donner le composé **RC11** (5,3 mg). La Fraction F<sub>2</sub> (3,88 g) obtenue à partir du regroupement de la série AcOEt / MeOH (v / v 100: 00 à 95: 5) a été soumise au CC en utilisant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH (v / v 95: 5 à 70:30) pour donner cinq sous-fractions (F<sub>2a</sub> - F<sub>2e</sub>).

La sous-fraction F<sub>2d</sub> (36,2 mg) a été séparée par CC sur gel de silice avec un gradient d'éluion de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH (v / v 99: 1 à 95: 5) pour donner les composés **RC6** (5,4 mg); **RC10** (4,7 mg) et **RC7** (4,2 mg). La sous-fraction F<sub>2b</sub> (12,6 mg) a été purifiée par CC de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 avec MeOH pour donner le composé **RC17** (7,3 mg). La fraction F<sub>5</sub> (80,4 mg) était séparés par CC de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH (v / v 50: 50) pour fournir trois sous-structures (F<sub>5a</sub> - F<sub>5c</sub>). La sous-fraction F<sub>5b</sub> (14,7 mg) a été purifiée par CC de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 avec MeOH pour donner le composé **RC4** (6,8 mg). La sous-fraction F<sub>5a</sub> (22,3 mg) a été soumise à une CC sur gel de silice élué avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH (v / v 95: 5 à 80: 20) pour donner le composé **RC8** (5,2 mg). La Fraction F<sub>3</sub> (2,52 g) obtenue à partir de AcOEt / MeOH (v / v 25: 75) a été soumise à une CC sur gel de silice en utilisant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH (v / v 90: 10 à 70: 30) pour donner six sous-fractions (F<sub>3a</sub> - F<sub>3f</sub>). La sous-fraction F<sub>3c</sub> (42,3 mg) a ensuite été soumise à CC sur gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH, v / v 98: 2 à 85: 15) pour obtenir les composés **RC19** (4,7 mg) et **RC20** (6,5 mg). La sous-fraction F<sub>3e</sub> (17,6 mg) a été purifiée par des CC Sephadex<sup>®</sup>LH-20 élué avec MeOH pour donner le composé **RC1** (9,3 mg). La fraction F<sub>4</sub> (3,61 g) était purifiée davantage par CC en éluant avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH, (v / v 95: 5 à 60: 40) pour donner sept sous-fractions (F<sub>4a</sub> - F<sub>4g</sub>). Les composés **RC16** (4,4 mg), **RC18** (7,5 mg) et **RC15** (6,0 mg) ont été isolés à partir des sous-fractions F<sub>4a</sub> (30,6 mg) et F<sub>4f</sub> (40,8 mg) par CC successives sur gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH, v / v 98: 2 à 85: 15) et Sephadex<sup>®</sup> LH-20 (MeOH). F<sub>7</sub> (2,38 g) résultant de *n*-hexane / AcOEt (v / v 25: 75) a été chromatographié par CC en utilisant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH (v / v 95: 5 à 70:30) pour donner cinq sous-fractions (F<sub>7a</sub> - F<sub>7e</sub>). La sous-fraction F<sub>7a</sub> (110,3 mg) a été appliquée à une CC sur Sephadex<sup>®</sup> LH-20 élué au MeOH pour donner les composés **RC9** (15,4 mg) et **RC5** (17,6 mg). ). La sous-fraction F<sub>7c</sub> (76,6 mg) a été purifiée par CC répétée sur Sephadex<sup>®</sup> LH-20 élué au MeOH pour donner les composés **RC13** (9,3 mg) et **RC14** (7,2 mg). Le composé **RC12** (8,4 mg) a été isolé à partir de sous-fraction F<sub>7d</sub> (23,5 mg) par Sephadex LH-20 CC successifs (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH, v / v 50: 50).

De même, la poudre des tiges de *T. penduliflora* K. Schum (2,31 kg) a été extraite trois fois avec EtOH-H<sub>2</sub>O (3 × 10 L, 9:1, v/v) pour donner 87,5 g d'un résidu marron après évaporation du solvant organique. L'extrait brut à l'éthanol a été dissout dans 300 ml d'une solution aqueuse HCl à 5 % et extrait trois fois avec du *n*-hexane pour éliminer la partie non alcaloïdique. Le pH du résidu aqueux a été ajustée à 9-10 avec NH<sub>4</sub>OH et extrait quatre fois avec du chloroforme. Après évaporation sous pression réduite au rotavapor nous avons obtenu 4,36 g d'un extrait enrichi en alcaloïde. 3,86 g de cet extrait brut a été soumis à une chromatographie sur colonne ouverte sur gel de silice (63-230 mesh) avec un gradient élution de *n*-Hex/AcOEt puis AcOEt/MeOH pour donner quatre fractions principales (A - D). Ces fractions ont été purifiées en utilisant de longues colonnes de verre cylindriques de taille appropriée (120 cm x 2 cm) pour un débit de 4 mL/min. La fraction A (0,63 g) a été de nouveau soumise à une CC sur gel de silice (63-230 mesh) en éluant avec *n*-Hex/AcOEt (v/v 95 : 5 à 70 : 30) pour donner quatre sous-fractions (A1 – A4). La sous-fraction A1 (30,3 mg) a été purifiée par CC sur Sephadex<sup>®</sup> LH-20 éluee avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 50 : 50) pour donner le composé **TP1** (13,4 mg). La sous-fraction A3 (100,5 mg) a été soumise à une CC sur gel de silice éluee avec un mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 98 : 2 à 80 : 20) pour donner le composé **TP3** (20,3 mg). La fraction B (0,82 g) obtenue à partir du regroupement de la série *n*-Hexane/AcOEt (v/v 90 : 10 à 80 : 20) a été soumise à une CC sur gel de silice éluee en utilisant le système CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 95 : 5 à 70 : 30) pour donner cinq sous-fractions (B1 – B5). La sous-fraction B3 (36,2 mg) a été en outre purifiée par CC sur gel de silice éluee avec un gradient de solvant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 99:1 à 95:5) pour donner composé **TP10** (8,4 mg). La sous-fraction B5 (12,6 mg) a été purifiée par CC répétée sur Sephadex<sup>®</sup> LH-20 éluee avec MeOH pour donner le composé **TP4** (7,3 mg). La fraction C (0,37 g) a été séparée par CC Sephadex<sup>®</sup> LH-20 en éluant avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 50 : 50) pour donner trois sous-fractions (C1 – C3). La sous-fraction C2 (14,7 mg) a été purifiée par Sephadex LH-20 CC avec MeOH pour donner composé **TP5** (6,8 mg). La sous-fraction C1 (82,3 mg) quand à elle, a été soumise à une CC sur gel de silice éluee avec le système CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 95 : 5 à 80 : 20) pour donner le composé **TP6** (5,2 mg). La fraction D (0,75 g) obtenue à partir de la série *n*-hexane/AcOEt (v/v 75 : 25 à 50 : 50) a été soumise à une CC sur gel de silice éluee avec le système CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 90 : 10 à 70 : 30) pour donner six sous-fractions (D1 – D6). La sous-fraction D4 (112,3 mg) a ensuite été soumise à une CC sur gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, v/v 98 : 2 à 85 : 15) pour obtenir composé **TP7** (6,7 mg) et composé **TP9** (8,5 mg). La sous-fraction D3 (17,6 mg) a été purifiée par CC répétée sur Sephadex<sup>®</sup>LH-20 avec MeOH pour donner le composé **TP8** (7,3 mg). Le Composé **TP2**

(8,4mg), a été isolé de la sous-fraction D5 (96,6 mg) par CC successives sur gel de silice ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ , v/v 98 : 2 à 85 : 15) et sur Sephadex<sup>®</sup>LH-20 (MeOH) respectivement.

### 3.1.4. Screening phytochimique

Le screening phytochimique permet d'identifier les différentes familles de composés présentes dans les extraits. Il a été réalisé par la méthode décrite par Harbone (1998) et Sofowora (1993).

#### \*Test des alcaloïdes

Préparer une solution contenant 0,85 g de nitrate basique de bismuth et 10 g d'ac. tartrique dans 40 ml d'eau (= A) et une solution contenant 16 g de KI dans 40 ml d'eau (= B). Mélanger extemporanément 5 ml de A, 5 ml de B, 100 ml d'eau et 20 g d'acide tartrique. Vaporiser le mélange sur la plaque. Les alcaloïdes apparaissent sous forme de taches orange (Wagner et Bladt, 1996)

#### \*Test des phénols

3 mL d'une solution de chlorure ferrique 5% fraîchement préparée pendant 5 min est ajoutée à 0,5 g d'extrait dissout dans 2 mL d'eau. Après homogénéisation, quelques gouttes d'une solution de ferricyanure de potassium sont ajoutées. L'observation d'un précipité vert indique un test positif et révèle la présence de ces composés (Wagner et Bladt, 1996).

## 3.2. Méthodes chromatographiques analytiques

### 3.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les analyses sur couche mince (CCM) ont été réalisées, pour la majorité, à l'aide de plaques de silicagel 60 F<sub>254</sub> sur feuille d'aluminium (*Merck, Darmstadt, Germany*), ce qui constitue la phase stationnaire. Ces plaques sont ensuite plongées dans des cuves chromatographiques, remplies à environ 0,5 cm avec une phase mobile, qui peut être généralement un mélange binaire ou ternaire de solvants, selon le type de séparation recherchée. Après son développement, la plaque CCM est observée à la fluorescence UV (254 et 366 nm) et après dérivatisation chimique avec l'un des réactifs chimiques en solution afin de mettre en évidence des constituants ou classes de constituants présents dans l'extrait brut. Ainsi, les réactifs utilisés pour le présent travail sont les suivants:

✓ **Réactif de Dragendorff:** détection des alcaloïdes

Préparer une solution composée de 0,85 g de nitrate basique de bismuth et 10 g d'acide acétique dans 40 mL d'eau (= A) et une solution contenant 16 g de KI dans 40 mL d'eau (= B). Mélanger extemporanément 5 mL de A, 5 mL de B, 100 mL d'eau et 20 mL d'acide acétique. Vaporiser le mélange sur la plaque. Les alcaloïdes apparaissent sous forme de taches orange après chauffage de la plaque (Wagner et Blatt, 1996).

### **3.2.2. Chromatographie liquide ultraperformance couplée à la spectrométrie de masse (UHPLC-HRMS).**

L'UHPLC fait référence à la chromatographie liquide ultra performante, qui s'améliore dans trois domaines: « vitesse, résolution et sensibilité ». Ce système utilise des particules fines (moins de 2,5  $\mu\text{m}$ ), ce qui réduit la longueur de la colonne, fait gagner du temps et réduit la consommation de solvant. C'est une technique similaire à la HPLC (Michael, 2005). L'UHPLC fournit des séparations et des capacités de détection pour identifier les composés actifs dans des échantillons très complexes qui résultent de produits naturels et de plantes médicinales traditionnelles (Srivastava *et al.*, 2010). Cette technique peut être facilement couplée avec diverses autres techniques telles que la spectrométrie de masse. En effet, la principale technique de bioanalyse quantitative est la LC-MS/MS. Elle est grandement utilisée pour la quantification de petites molécules, médicaments et métabolites due à la très bonne spécificité et sélectivité acquise par l'analyse d'une transition de masse spécifique à la molécule d'intérêt. De manière générale, la LC-MS comprend un spectromètre de masse et seul l'ion précurseur sera analysé tandis que la LC-MS/MS est constitué d'un spectromètre de masse en tandem qui permet l'analyse de l'ion précurseur et des ions fragments.

Les profils des métabolites des extraits bruts éthanolique TMR (1 mg/mL) ont été acquis à l'aide d'un instrument UHPLC-DAD-CAD-LTQ Orbitrap XL (Thermo Fisher Scientific) équipé d'une source d'ionisation par électrospray (ESI).

Le système UHPLC utilisé est équipé d'un chromatographe Ultimate 3000 UHPLC de marque Thermo Fisher Scientific, d'une colonne Acquity® BEH C18 (Waters) en acier inoxydable d'une longueur de 10 cm et d'un diamètre interne de 2,1 mm. La phase stationnaire qu'elle contient est composée d'un gel de silice de granulométrie 1,7  $\mu\text{m}$  modifié chimiquement par greffage de résidus octadécyls (C-18) sur les groupes silanols. Nous avons généralement utilisé une phase mobile binaire composée de proportions variables d'acétonitrile et d'eau, tous de qualité HPLC (SpS, Romil), acidifiés par 0,1 % d'acide formique avec un gradient d'élution (0-0,5 min, 95 % A ; 0,5-12 min, 95-5 % A ; 12-15 min, 5 % A ; 15-15,5 min, 5-95 % A ; 15,5-19 min, 95 % A). Les temps d'analyse étaient de 15-19 min, le volume

d'injection de 4  $\mu\text{L}$  et la température de travail d'environ 40 °C. Le débit de la phase mobile était de 0,45 mL/min.

L'ESI a été appliquée en mode ions négatifs et ions positifs dans les conditions suivantes : tension capillaire à 3,0 et 4,2 kV pour ions négatifs et ions positifs, respectivement, et température capillaire à 300 °C. La détection UV a été réalisée par un détecteur à barrette de diodes (*Diode Array Detector*) de 210 à 400 nm. Des spectres de masse complets ont été enregistrés entre 100 et 1500 Da. Les spectres de masse de dissociation induite par collision ont été obtenus en utilisant les paramètres suivants : 35 % d'énergie de collision normalisée, largeur d'isolement 2 Da, activation Q 0,250. Un étalonnage externe de la masse a été réalisé avant le début de l'expérience (Chassagne et *al.*, 2018).

### **3.2.3. Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS /MS)**

Certains spectres de masse à haute résolution ont été obtenus avec un spectromètre QTOF (Bruker, Allemagne) équipé d'une interfazce electrospray HESI. Le spectromètre a fonctionné en mode positif (plage de masse : 100-1500, avec un taux de balayage de 1,00 Hz) avec contrôle de gain automatique pour fournir une haute précision des mesures de masse avec un écart de 2 ppm en utilisant le formiate de Sodium comme étalon. Les paramètres suivants ont été utilisés pour les expériences : tension de pulvérisation de 4,5 kV, température capillaire de 200°C. L'azote a été utilisé comme gaz gaine (10 l/min). Le spectromètre était attaché à un Ultimate 3000 (Thermo Fisher, USA) Système HPLC composé d'une pompe LC, d'un détecteur à barrette de diodes (DAD) ( $\lambda$  : 215, 254, 280, 330 nm), échantillonneur automatique (volume d'injection 5 $\mu\text{l}$ ) et four à colonne (50°C). Les séparations ont été réalisées à l'aide d'un Synergi MAX-RP 100A (50x2 mm, 2,5 $\mu\text{m}$  granulométrie) avec un gradient H<sub>2</sub>O (+0,1 % HCOOH) (A)/acétonitrile (+0,1 % HCOOH) (B) (débit 500  $\mu\text{L}/\text{min}$ ). Les échantillons ont été analysés à l'aide d'un programme de gradient comme suit : 95 % A isocratique pendant 1,5 min, gradient linéaire jusqu'à 100 % B en 6 min, après 100 % B isocratique pendant 2 min, le système est revenu à son état initial (90 % A) en 1 min, et a été équilibré pendant 1min

## **3. 3. Méthodes chromatographiques préparatives**

### **3.3.1. Chromatographie sur colonne ouverte (CC)**

Pour les chromatographies sur colonnes ouvertes, plusieurs types de phases ont été mis en oeuvre dans des colonnes en verre. La taille et le diamètre de la colonne sont choisis en fonction de la quantité d'échantillon à purifier et de la résolution souhaitée. Pour les chromatographies d'adsorption, la phase stationnaire utilisée était la silice en phase normale (63–230 mesh;

*Merck, Darmstadt, Germany*). L'élution a été réalisée par simple gravité. La quantité de silice utilisée est généralement 30 à 50 fois supérieure à la quantité d'échantillon déposée.

L'extrait à fractionner est adsorbé sur une quantité de silice correspondant à environ 2 fois sa masse et le dépôt de l'extrait a lieu sous forme solide. Les chromatographies d'exclusion ont été réalisées sur gel de Sephadex® LH20 et la Phase mobile était le MeOH ou le MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50%). Les fractions recueillies ont été regroupées selon les résultats de l'analyse par CCM.

### 3.3.2. Chromatographie préparative sur couche mince (CPCM)

Les chromatographies analytiques sur couche mince (CCM) sont réalisées sur des plaques de silice MERCK 60 F254 sur support en verre. Les produits sont révélés soit par illumination ultraviolette à 254 nm, soit par réaction en présence de vapeurs d'iode, d'une solution aqueuse de permanganate de potassium et de carbonate

## 3. 4. Méthodes physico-chimiques

### 3. 4.1. Mesure du pouvoir rotatoire

La polarimétrie est une méthode d'analyse basée sur la mesure du pouvoir rotatoire, propriété que présentent certaines substances, dites optiquement actives, de dévier le plan de polarisation de la lumière polarisée linéaire. Une déviation dans le sens des aiguilles d'une montre caractérise les composés dextrogyres (+), alors que les composés lévogyres (-) entraînent une déviation opposée. Le pouvoir rotatoire des composés isolés, dissous dans du méthanol, chloroforme ou mélange chloroforme/méthanol, est mesuré à température ambiante grâce à un polarimètre Perkin Elmer 341 équipé d'une lampe à sodium. La solution, introduite dans une cellule de 10 cm de longueur (*l*), est traversée par un rayon lumineux polarisé à la longueur d'onde de la raie D du sodium (589,3 nm).

La valeur de  $[\alpha]_D^{25}$ , exprimée en degrés, a été calculée au moyen de la formule suivante:

$$[\alpha]_D^T = \frac{\alpha \times 1000}{c \times l}$$

$\alpha$  : angle de rotation en degrés lu à la température T

*C* : concentration de la substance mesurée en g/l.

*l*: longueur en décimètres de la cellule polarimétrique

Dans la partie 3.6, les concentrations se rapportant aux mesures polarimétriques sont exprimées par convention en g/100ml.

### 3. 4.2. Spectroscopie ultraviolet (UV)

Les composés isolés (purs ou sous forme de mélange d'isomères) sont dissous dans du méthanol et leur spectre UV-visible est mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre Perkin Elmer 650, piloté par un logiciel adapté, développé par la même entreprise. Les données issues de ces mesures sont reprises dans la partie 3.6 sous la forme :  $\lambda_{max}^{MeOH}$  nm (log  $\epsilon$ ) , où :  $\lambda_{max}^{MeOH}$  nm représente les longueurs d'onde des maxima en nm.  $\epsilon$  est l'absorbance molaire à ces longueurs d'onde, si  $b$  (couche de solution traversée) est exprimé en centimètres et  $c$  (concentration) en moles par litre dans la formule suivante (loi de Beer-Lambert) :  $A = \epsilon \cdot b \cdot c$

Avec :

$A$  : absorbance

$\epsilon$  : le coefficient d'absorption molaire en  $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

$b$  : la largeur de cuve en cm

$c$  : la concentration de la solution en mol/L

### 3. 4. 3. Spectroscopie infra-rouge (IR)

Les spectres d'absorption IR sont enregistrés sur un spectromètre FT-IR Tensor 27 (Bruker). Les composés, solides, sont inclus dans une pastille de KBr. Les nombres d'onde des bandes d'absorption correspondant aux différentes vibrations sont exprimés en  $cm^{-1}$ , à leurs intensités maximales. Les spectres IR des molécules ont été réalisés au moyen des spectrophotomètres FT-IR Tensor 27 (Bruker) et Shimadzu 8900 FT-IR sur une lame de AgCl et dans des pastilles de KBr respectivement.

Pour cela, une quantité de 1 mg d'échantillon a été mélangée à 100 mg de KBr (qualité IR). La pastille a été obtenue à l'aide d'une presse Shimadzu 8900FT-IR. Le balayage des nombres d'onde a été fait entre 4000 et 600  $cm^{-1}$  sur une durée de 20 minutes. D'autre part 1 mg d'échantillon a été dissout dans le  $CH_2Cl_2$  et déposé sur une lame de AgCl et introduit dans le spectrophotomètre FT-IR Tensor 27. Le balayage des nombres d'onde a été fait entre 4000 et 600  $cm^{-1}$  sur une durée de 5 minutes.

### 3. 4.4. Spectroscopie par dichroïsme circulaire (CD)

Le dichroïsme circulaire (CD, DC en français) est la propriété que possèdent les substances optiquement actives d'absorber différemment la lumière polarisée circulaire gauche et la lumière polarisée circulaire droite à une longueur d'onde donnée. Les spectres obtenus représentent le CD molaire ( $\Delta\epsilon$ ), comme une fonction de la longueur d'onde. Les pics et les vallées observées sur le tracé sont appelés « effets Cotton » et peuvent être positifs (pics) ou négatifs (vallées). Leur position sur le spectre dépend du type de transition électronique impliquée dans l'effet ( $n \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$ , 1Lb, 1La, ...). Le CD s'exprime par l'équation :

$$\Delta\varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R = \frac{\Delta A}{C \times l}$$

$\Delta A$  = absorbance circulaire dichroïque,

$\Delta\varepsilon$  = dichroïsme circulaire molaire ou absorptivité dichroïque molaire différentielle en  $\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ,

$\varepsilon_{LR}$  = absorbances molaires des lumières polarisées gauche (L) et droite (R) en  $\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ,

$c$  = concentration de la solution à examiner en mol/l,

$l$  = trajet optique de la solution à examiner en cm.

Les spectres CD ont été mesurés dans le méthanol sur un spectromètre de type JASCO *J-715*.

### 3. 4.5. Spectrométrie de masse (SM)

Les spectres de masse des produits purs isolés ont été obtenus par électrospray sur un spectromètre de masse MicrOTOF-Q (Bruker) utilisant l'ion  $\text{H}^+$  comme contre ion et contrôlé par le logiciel Analyst (Agilent, version 1.3.1). Les données ESI-MS ont été obtenues sur un spectromètre à piège à ions (Amazon Speed, Bruker, Germany) en modes positifs et négatifs.

Des mesures en spectrométrie de masse à haute résolution ont été nécessaires, afin de confirmer leur formule chimique brute. Ces analyses ont été menées par M. Albert Ruggi du Département de chimie (Faculté des sciences et de médecine, Université de Fribourg, Suisse) au Laboratoire de Chimie analytique à l'Université de Berne sur un spectromètre de masse à électrospray Bruker FTMS 4.7T BioAPEX II (hrESI-MS).

### 3. 4.6. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de résonance magnétique nucléaire ont été enregistrés au service commun de RMN de l'Université de Fribourg et de CUI sur des appareils de type Brüker AM400 FTNMR [fréquences de 400 ( $^1\text{H}$ ) et 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ )], Brüker Avance 500 [fréquences de 500 ( $^1\text{H}$ ) et 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ )], selon la quantité de produit à analyser et la résolution souhaitée. Les échantillons ont été solubilisés dans les solvants deutérés méthanol- $d_4$ , acétone- $d_6$  et chloroforme- $d_1$  dans des tubes analytiques de 5 mm de diamètre. Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en *ppm* par rapport au tétraméthylsilane (TMS) ; les constantes de couplage sont exprimées en Hertz (*Hz*).

Les programmes de séquence impulsionnelle standard fournis par Brüker ont permis de réaliser les expériences bidimensionnelles COSY, ROESY, HSQC et HMBC et monodimensionnelles DEPT. L'appellation DEPT regroupe en fait des spectres  $^{13}\text{C}$ -NMR obtenus avec des angles d'impulsions  $\backslash$  de  $90^\circ$  (signaux CH positifs) et  $135^\circ$  (signaux CH et  $\text{CH}_3$  positifs,

CH<sub>2</sub> négatifs), permettant ainsi de connaître le degré de substitution des différents atomes de carbone d'une molécule

#### Corrélations homonucléaires

- COSY (<sup>1</sup>H – <sup>1</sup>H): cette expérience fournit des informations sur les couplages homonucléaires <sup>2</sup>J et <sup>3</sup>J (protons séparés par deux ou trois liaisons) entre les protons voisins et ceux qui sont adjacents.

- ROESY (<sup>1</sup>H – <sup>1</sup>H): cette technique permet d'observer, dans l'espace, les corrélations entre protons (effets Overhauser) d'une même molécule.

#### Corrélations hétéronucléaires

- HSQC (<sup>1</sup>J<sub>H-C</sub>): cette technique permet d'observer les couplages chimiques entre les carbones et les protons directement liés entre eux.

- HMBC (<sup>2</sup>J<sub>H-C</sub>, <sup>3</sup>J<sub>H-C</sub>): cette technique permet la détection des couplages longue distance <sup>2</sup>J<sub>H-C</sub> et <sup>3</sup>J<sub>H-C</sub>.

### 3. 5. Méthodes biologiques

#### 3. 5. 1. Activité antiproliférative par la méthode d'analyse *IncuCyte*® *Live-Cell*

Les composés **RC1**, **RC2** et **RC5** ont été initialement criblés pour l'activité antiproliférative contre une lignée d'origine humaine de cancer du colon (HCT 116) par un système d'analyse *IncuCyte*® *Live-Cell*.

En bref, lorsque les cellules ont atteint 80 à 90 % de confluence dans une plaque de microtitration, le milieu de culture McCoy's 5A a été remplacé par un nouveau. Ensuite, 1 µl de solution mère de chaque composé préparé dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) a été dilué avec du milieu complet jusqu'à la concentration de test finale (300 µM) dans la plaque de microtitrage à 96 puits et incubé pendant 48 h. Cette expérience a été réalisée en triple essai. Le pourcentage d'inhibition des composés a été déterminé par comparaison avec le contrôle de croissance positif non traité. Toutes les données ont été compilées à partir d'un minimum de trois essais. Les données pour l'analyse statistique ont été exprimées en moyenne ± écart type, *n* (nombre d'expériences). L'ANOVA unidirectionnelle avec le test de Dunnett, comme spécifié, a été réalisée à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 7.00 pour Windows, GraphPad Software, San Diego California, USA (données présentées). La valeur du pourcentage de croissance a été directement fournie par le logiciel *IncuCyte*® *Live-Cell Analysis System* en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = 100 - \left( \frac{(\text{Test well} - 0.1)}{(\text{Control well} - 0.1)} \right) \times 100$$



Préparation des plaques de microtitration

Incubation pendant 48h

Comme le montrent les données (**figure 129**), tous les composés ont inhibé les cellules HCT 116 uniquement aux concentrations élevées ( $> 40 \mu\text{M}$ , la prolifération est complètement inhibée à  $100 \mu\text{M}$ ) et ces résultats n'étaient pas statistiquement significatifs ( $p > 0,05$ ) pour effectuer une réponse de concentration ainsi qu'un test de cytotoxicité et d'activité métabolique.

La lignée de cellules de cancer du côlon HCT116 a été traitée avec des concentrations croissantes de **RC1** (0-100  $\mu\text{M}$ ), **RC2** (0-100  $\mu\text{M}$ ) et **RC5** (0-300  $\mu\text{M}$ ). La méthode d'analyse *IncuCyte® Live-Cell* a été utilisée pour quantifier la prolifération cellulaire des cellules HCT116. Le pourcentage de confluence (*% confluence*) a été utilisé comme indicateur de prolifération. Une représentation graphique de la dose-réponse sur la confluence cellulaire est exprimée sous la forme d'un changement de pourcentage de confluence cellulaire. Les valeurs sont moyennes  $\pm$  S.E.,  $n = 3$ ; une ANOVA à mesures répétées dans les deux sens a démontré : \*indique  $p \leq 0,01$ , \*\*indique  $p \leq 0,001$ , \*\*\* indique  $p \leq 0,0001$ .

### 3. 5. 2. Culture des cellules

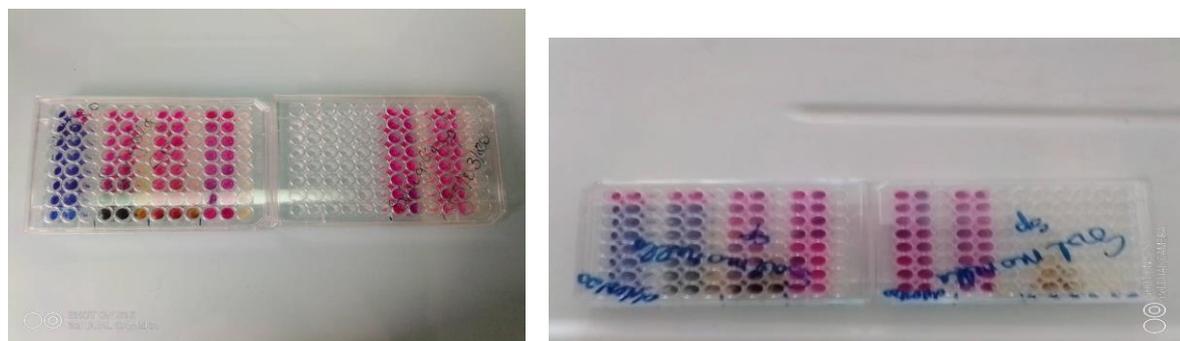
La lignée d'origine humaine de cancer du colon HCT-116 (DSMZ, Braunschweig, Allemagne) a été obtenue auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC) et cultivée dans le milieu McCoy's 5A (Biowest, Nuaille, France) additionné de 10 % de sérum bovin foetal (PAA Laboratories, Pasching, Autriche). La lignée cellulaire a été conservée à  $37^\circ\text{C}$  dans un incubateur humidifié contenant 5% de  $\text{CO}_2$ . Après 75 à 80 % de confluence, les cellules ont été retirées du flacon par traitement avec une solution de trypsine-EDTA. Une suspension de cellules viables d'environ  $5 \times 10^4$  cellules/ml a été préparée etensemencée dans une plaque de microtitration de 96 puits (SPL Life sciences Co., Ltd Korea) et incubée. La visualisation des cellules à chaque étape a été effectuée au microscope et enregistrée avec une caméra numérique (Austria-Micros,

LIB-302). Tous les réactifs de culture cellulaire provenaient de GibcoBRL (Life Technologies, Cergy-Pontoise, France).

### 3. 5. 3. Test antimicrobien par la méthode de micro dilution (MABA)

#### 3. 5. 3. 1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration bactéricide minimale (CMB)

La méthode de microdilution a été utilisée pour la détermination de la CMI et du CMB comme décrite par le « *Clinical Laboratory Standards Institute* » ; ligne M7–A7 (CLSI, 2006) et en utilisant l'Alamar bleu comme indicateur de la croissance bactérienne. Dans chaque puits de la microplaque de 96 puits, 100  $\mu\text{L}$  de bouillon de Mueller Hinton Broth (MHB) (L : S-BIOTECH® CA9212, USA) ont été introduit. Ensuite, 100  $\mu\text{L}$  de solution stocks de chaque extrait ou composé préalablement dissout dans le DMSO à 100 % ont été ajoutés dans chaque premier puits d'une ligne de test. Ensuite, une dilution en série allant de 50 à 0,04 mg/mL (pour l'extrait) et 500 à 4,88  $\mu\text{g}/\text{ml}$  a été réalisée et par la suite, 100  $\mu\text{L}$  d'inoculum bactérien calibré  $10^6$  UFC/mL ont été introduit dans chaque puits contenant déjà 100  $\mu\text{L}$  de l'échantillon à tester pour donner des concentrations allant de 25 mg /mL à 0,02 mg/ml (pour l'extrait) et de 250 à 2,44  $\mu\text{g}/\text{ml}$  pour les composés. Les plaques ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24h. Pour chaque extrait ou composé actif, l'expérience a été répétée en triple essai. Après avoir ajouté 20  $\mu\text{L}$  de bleu d'Alamar à 1%, le changement de couleur du bleu au rouge était révélateur d'une croissance bactérienne.



La CMI a été définie comme la plus faible concentration d'extrait ou de composé inhibant la croissance bactérienne visible après 18 ou 20 min d'incubation à 37 °C (CLSI, 2006). La CMB a été déterminée, par repiquage de 50  $\mu\text{L}$  de chaque puits dont la concentration est supérieure ou égale à la CMI dans un volume 150  $\mu\text{L}$  de Mueller Hinton Broth et incubé à 37°C pendant 24h, puis la croissance bactérienne a été réalisée par ajout de 20  $\mu\text{L}$  de bleu d'Alamar. La CMB a été définie comme la plus faible concentration d'extrait à laquelle aucune croissance visible du germe n'a été observée. Le rapport CMB/CMI a été calculé et selon les valeurs, l'activité de

l'extrait ou du composé a été classée comme bactéricide, lorsque le rapport CMB/CMI était égal à 1 ou 2 ; bactériostatique lorsque CMB/CMI était égal à 4 et enfin tolérant lorsque les valeurs sont comprises entre  $16 \leq \text{CMB/CMI} \leq 32$  (Fauchère et Avril, 2002).

### **3. 5. 3. 2. Souches bactériennes et conditions de croissance**

Trois souches bactériennes ont été utilisées pour cette étude : Il s'agit d'une souche de référence *Escherichia coli* (ATCC 35218) et de deux isolats cliniques *Salmonella sp* et *Shigella sp* fournis par le Centre Hospitalier Universitaire de Yaoundé (CHUY).

Ces souches bactériennes ont été ensemencées dans une Muller Hinton Agar et le test a été effectué dans le Muller Hinton Broth (MHB, Conda) au Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Yaoundé I.

### **3. 5. 4. Activité antiplasmodiale *in vitro* de l'extrait et molécules.**

#### **3. 5. 4. 1. Culture *in vitro* de *Plasmodium falciparum***

Deux souches de *Plasmodium falciparum* ont été utilisées dans cette étude : Pf3D7-(MRA-102) et PfDd2. Elles ont été sélectionnées pour leur sensibilité différente à la chloroquine *in vitro*. La technique de culture continue de *P. falciparum in vitro* utilisée dans nos essais est dérivée de celle mise au point par Trager et Jensen en 1976. Le milieu de culture est le milieu RPMI 1640 [500 mL, (Gibco, UK)] contenant 25 mM d'Hepes (Gibco, UK) ; 0,50% Albumax I (Gibco, USA), 1X hypoxanthine (Gibco, USA) et 50mg/mL gentamicine (Gibco, Chine). Ce milieu est ensuite enrichi à raison de 5% d'un mélange de sérum humain (Etablissement Camerounais du Sang du CHU de Yaoundé). Les globules rouges sains utilisés sont du groupe O (Etablissement Français du Sang du CHU de Toulouse). La culture a été réalisée dans des flacons de culture de 25 et 75 mL (TPP, Suisse) et maintenue en atmosphère humide dans une étuve à 37 °C contenant 5% de CO<sub>2</sub>. Le milieu de culture a été renouvelé quotidiennement. La parasitémie de la souche cultivée a été contrôlée sur frottis minces colorés au Giemsa ; examinés au microscope sous huile d'immersion et quotidiennement réajustée à 2% par ajout d'érythrocytes sains.

#### **3. 5. 4. 2. Synchronisation de la culture parasitaire**

Avant chaque expérience, le parasite au stade anneau synchronisé a été obtenu par un traitement au sorbitol à 5 % (p/v) par rapport à Lambros et Vanderberg, (1979). Il est important de noter que l'utilisation de cultures synchronisées sur des cultures à stade mixte peut permettre aux molécules d'essai d'interagir avec les trois stades (anneau, trophozoïte et schizonte) du cycle de vie de 48 heures de *P. falciparum* en culture. De plus, le démarrage de l'expérience avec une culture de stade annulaire synchronisée offre l'avantage distinct d'observer des effets inhibiteurs

de croissance sans augmentation de la parasitémie pendant les transitions anneau-trophozoïte-schizonte.

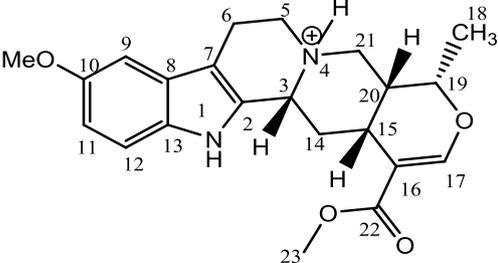
### **3. 5. 4. 3. Essai d'inhibition de la croissance de *P. falciparum*.**

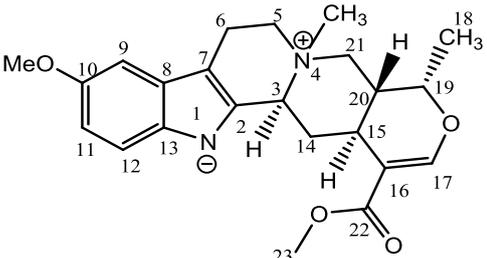
#### **3. 5. 4. 3. 1. Dosage par fluorescence à base de *SYBR green I***

Le test de sensibilité aux médicaments a été effectué dans des plaques de microdilution à 96 puits en utilisant un test de fluorescence basé sur le *SYBR green I* (Smilkstein et al., 2004). Ce dosage repose spécifiquement sur la capacité du *SYBR green* à donner une forte fluorescence uniquement en présence de l'ADN parasite lors de la prolifération cellulaire. L'absence de noyau dans les globules rouges humains où prolifère le parasite du paludisme permet l'utilisation du *SYBR green* pour le suivi spécifique de la croissance du parasite du paludisme. Les parasites au stade annulaire synchronisés au sorbitol (hématocrite : 1 %, parasitémie : 2 %, 90 µL) dans des conditions de culture normales ont été incubés en présence d'extraits pré-dilués, de fractions, de composés isolés et de médicament de référence (10 µL) après incubation à 37°C pendant 72h. Après incubation, 100 µL de tampon *SYBR Green I* [6 µL de 10 000 × *SYBR Green I* (Invitrogen) + 600 µL de tampon de lyse des globules rouges {Tris (25 mM; pH 7,5)} + 360 µL d' EDTA (7, 5 mM) + 19, 2 µL de solution de lyse des parasites {saponine (0,012%; wt/vol) } et 28, 8 µL de Triton X-100 (0.08%) ont été ajoutés dans chaque puits, mélangés deux fois doucement avec une pipette multicanaux et incubé à l'obscurité à 37°C pendant 1h. La fluorescence a été mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques TECAN M 200 avec excitation et émission à 485 et 538 nm, respectivement. Les comptages de fluorescence ont été tracés par rapport au logarithme de la concentration de l'échantillon et la CI50 a été déterminée par analyse des courbes dose-réponse à l'aide de GraphPad Prism 5. Les expériences ont été réalisées en double essai.

### 3. 6. Constantes physiques et données spectrales des composés isolés

#### 3. 6. 1. Alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés des écorces du tronc de *R. caffra* Sond

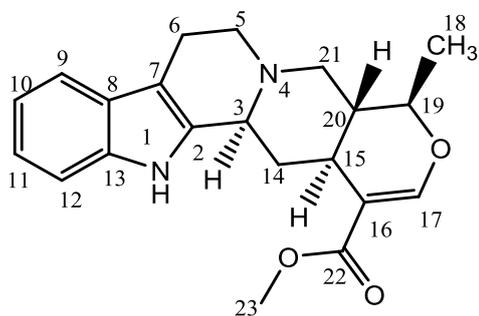
Composé RC1	
	<p><b>Rauwolfianoïde A</b> Solide jaune amorphe Solubilité: CHCl<sub>3</sub> C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, PM 383 [α]<sub>D</sub><sup>21</sup> :- 5, 4 (c 0, 02, CHCl<sub>3</sub>/MeOH)</p>
UV (MeOH): λ <sub>max</sub> nm (log ε): 229 (4.65), 298 (3.81) HRESIMS: m/z 384, 2013 [M+H] <sup>+</sup> (calculée: m/z 384, 2035)	
RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) et RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (Tableau 4) IR ν <sub>max</sub> 3445, 2878, 1701, 1622, 1218 cm <sup>-1</sup> CD (c 10mmol/L, MeOH, 25°C) λ <sub>max</sub> (logε) 262 (-20, 8), 268 (+22.5), 277 (-23.6), 280 (+28.1) nm	

Composé RC2	
	<p><b>Rauwolfianoïde B</b> Solide jaune amorphe Solubilité: CHCl<sub>3</sub> C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, PM 396 [α]<sub>D</sub><sup>21</sup> :- 90 (c 0, 1, CHCl<sub>3</sub>/MeOH)</p>
UV(MeOH) λ <sub>max</sub> nm (log ε) 229 (4.65), 298 (3.81) HRESIMS: m/z 397, 1748 [M+H] <sup>+</sup> (calculée: m/z 397, 1771)	
RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) et RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (Tableau 5) IR ν <sub>max</sub> 2878, 1701, 1622, 1218 cm <sup>-1</sup> CD (c 10mmol/L, MeOH, 25°C) λ <sub>max</sub> (log ε) 305 (-11, 9), 309 (+7, 1), 316 (-20, 6), 319 (21, 4) nm	

<b>Composé RC10</b>	
	<p><b>10-Methoxytetrahydroalstonine</b></p> <p>Solide jaune amorphe</p> <p>Solubilité: CHCl<sub>3</sub></p> <p>C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, PM 382</p>
<p>UV(MeOH) λ<sub>max</sub> nm (log ε) 229 (4.65), 298 (3.81)</p> <p>HRESIMS: <i>m/z</i> 383, 1954 [M+H]<sup>+</sup></p>	
<p>RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Tableau 13)</p> <p>IR ν<sub>max</sub> 3445, 2878, 1701, 1622, 1218 cm<sup>-1</sup></p>	

<b>Composé RC3</b>	
	<p><b>Raucaffricine</b></p> <p>Solide blanc</p> <p>Solubilité: MeOH</p> <p>C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>48</sub>, PM 512</p> <p>Pf: 180-220 °C</p>
<p>UV(MeOH) λ<sub>max</sub> nm (log ε) 220 (4.34), 258 (3.72)</p> <p>HRESIMS: <i>m/z</i> 513, 2220 [M+H]<sup>+</sup></p>	
<p>RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, MeOH-<i>d</i><sub>4</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, MeOH-<i>d</i><sub>4</sub>) (Tableau 6)</p>	

### Composé RC4



### 19-epi-ajmalicine

Solide blanc amorphe

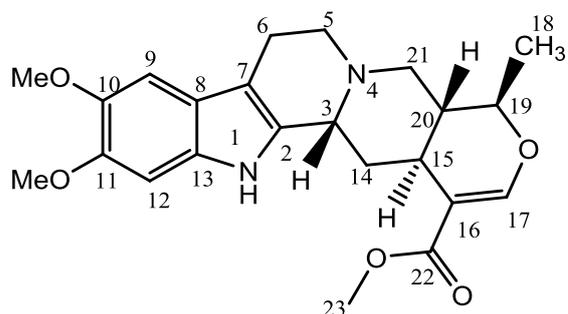
Solubilité: CHCl<sub>3</sub>

C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, PM 352

HRESIMS:  $m/z$  353, 1850 [M+H]<sup>+</sup>

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Tableau 7)

### Composé RC5



### 3-epi-rauvanine

Solide jaune amorphe

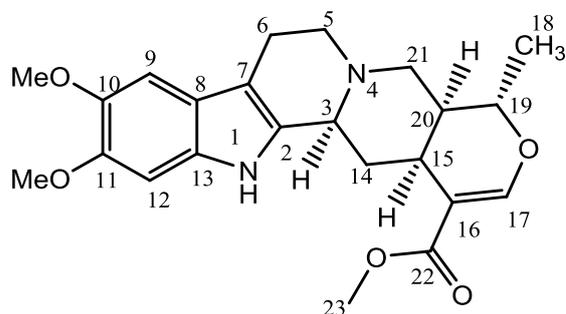
Solubilité: MeOH

C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, PM 412

HRESIMS:  $m/z$  413, 2060 [M+H]<sup>+</sup>

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) (Tableau 8)

### Composé RC6



#### Isoreserpiline

Solide jaune amorphe

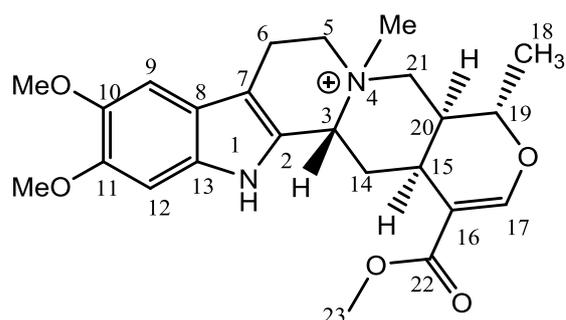
Solubilité: MeOH

$C_{23}H_{28}N_2O_5$ , PM 412

ESIMS:  $m/z$  413, 0  $[M+H]^+$

RMN  $^1H$  (400 MHz, MeOH- $d_4$ ) et RMN  $^{13}C$  (100 MHz, MeOH- $d_4$ ) (Tableau 9)

### Composé RC7



#### Melinonine A

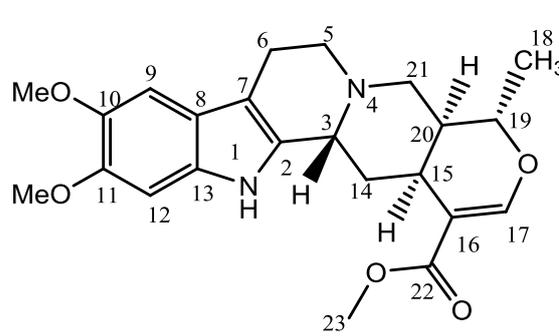
Solide jaune amorphe

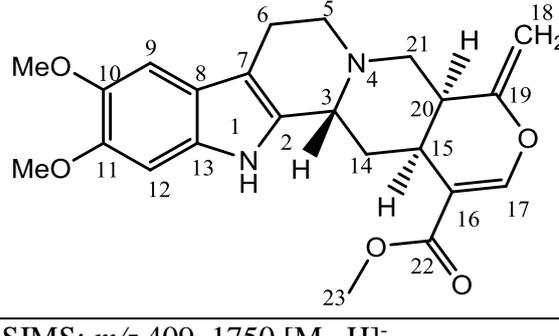
Solubilité: MeOH

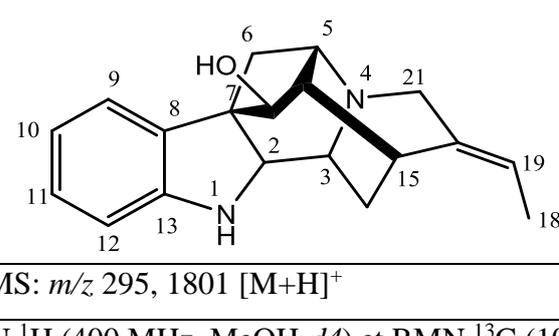
$C_{24}H_{31}N_2O_5$ , PM 427

ESIMS:  $m/z$  428, 9  $[M+H]^+$

RMN  $^1H$  (400 MHz, MeOH- $d_4$ ) et RMN  $^{13}C$  (100 MHz, MeOH- $d_4$ ) (Tableau 10)

<b>Composé RC8</b>	
	<p><b>Reserpiline</b></p> <p>Solide jaune amorphe</p> <p>Solubilité: MeOH</p> <p>C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, PM 412</p>
HRESIMS: $m/z$ 413, 2061 [M+H] <sup>+</sup>	
RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> ) et RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> ) (Tableau 11)	

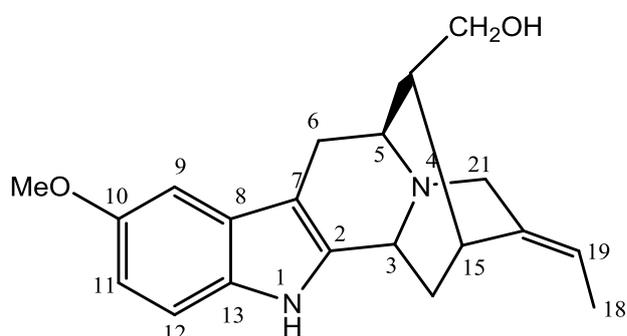
<b>Composé RC9</b>	
	<p><b>Darcybeirine</b></p> <p>Solide blanc amorphe</p> <p>Solubilité: CHCl<sub>3</sub></p> <p>C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, PM 410</p>
HRESIMS: $m/z$ 409, 1750 [M-H] <sup>-</sup>	
RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CHCl <sub>3</sub> - <i>d</i> <sub>1</sub> ) et RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CHCl <sub>3</sub> - <i>d</i> <sub>1</sub> ) (Tableau 12)	

<b>Composé RC11</b>	
	<p><b>Nortétraphyllicine</b></p> <p>Solide jaune amorphe</p> <p>Solubilité: MeOH</p> <p>C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O, PM 294</p>
ESIMS: $m/z$ 295, 1801 [M+H] <sup>+</sup>	
RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> ) et RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> ) (Tableau 14)	

<b>Composé RC12</b>	
	<p><b>Tétraphyllicine</b></p> <p>Solide jaune amorphe</p> <p>Solubilité: MeOH</p> <p>C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O, PM 308</p>
ESIMS: $m/z$ 309, 1955 [M+H] <sup>+</sup>	
RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> ) et RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> ) (Tableau 15)	

<b>Composé RC13</b>	
	<p><b>17-<i>O</i>-acetylnortétraphyllicine</b></p> <p>Solide blanc amorphe</p> <p>Solubilité: CHCl<sub>3</sub></p> <p>C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, PM 336</p>
ESIMS: $m/z$ 337, 0 [M+H] <sup>+</sup>	
RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CHCl <sub>3</sub> - <i>d</i> <sub>1</sub> ) et RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CHCl <sub>3</sub> - <i>d</i> <sub>1</sub> ) (Tableau 16)	

### Composé RC14



#### Lochnerine

Solide brun amorphe

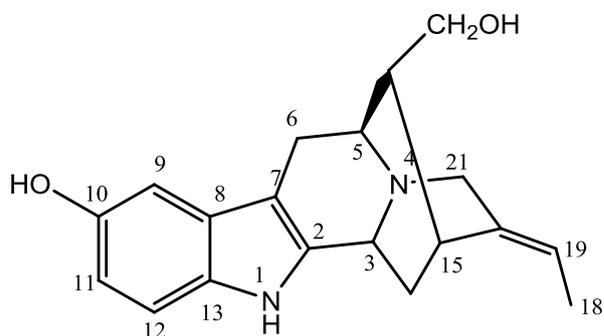
Solubilité: MeOH

C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, PM 324

HRESIMS:  $m/z$  325, 1904 [M+H]<sup>+</sup>

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) (Tableau 17)

### Composé RC15



#### Sarpagine

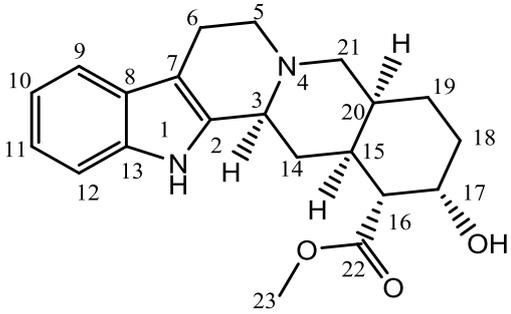
Solide brun foncé amorphe

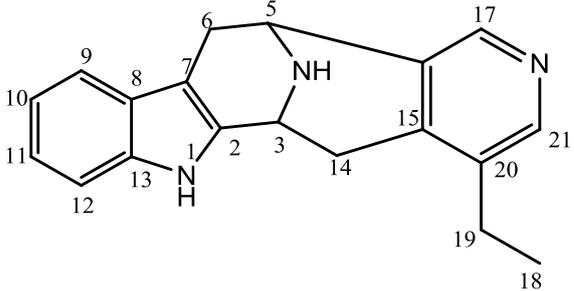
Solubilité: MeOH

C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, PM 310

HRESIMS:  $m/z$  311, 1748 [M +H]<sup>+</sup>

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) (Tableau 18)

<b>Composé RC16</b>	
	<p><b>Yohimbine</b></p> <p>Solide jaune amorphe</p> <p>Solubilité: CHCl<sub>3</sub></p> <p>C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, PM 354</p>
HRESIMS: $m/z$ 355, 0 [M+H] <sup>+</sup>	
RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CHCl <sub>3</sub> -d <sub>1</sub> ) et RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CHCl <sub>3</sub> -d <sub>1</sub> ) (Tableau 19)	

<b>Composé RC17</b>	
	<p><b>Norsuaveoline</b></p> <p>Solide blanc amorphe</p> <p>Solubilité: MeOH</p> <p>C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>, PM 289</p>
ESIMS: $m/z$ 290, 3 [M+H] <sup>+</sup>	
RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, MeOH-d <sub>4</sub> ) et RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, MeOH-d <sub>4</sub> ) (Tableau 20)	

<b>Composé RC18</b>	
	<p><b>Suaveoline</b></p> <p>Solide blanc amorphe</p> <p>Solubilité: MeOH</p> <p>C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>, PM 303</p>
ESIMS: $m/z$ 304, 2 [M+H] <sup>+</sup>	
RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> ) et RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> ) (Tableau 21)	

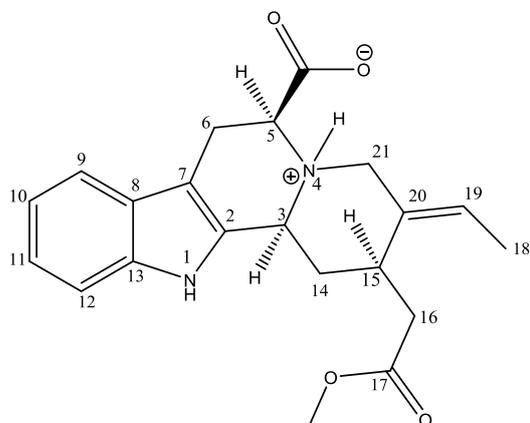
<b>Composé RC19</b>	
	<p><b>Akuammiline</b></p> <p>Solide jaune amorphe</p> <p>Solubilité: MeOH</p> <p>C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, PM 394</p>
HRESIMS: $m/z$ 393, 3 [M-H] <sup>-</sup>	
RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> ) et RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> ) (Tableau 22)	

### 3. 6.2. Alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés des tiges de *T. penduliflora* K. Schum

<b>Composé TP1a</b>	
	<p><b>Penduliflorine A</b></p> <p>Solide brun amorphe</p> <p>Solubilité: CHCl<sub>3</sub></p> <p>C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, PM 352</p> <p><math>[\alpha]_D^{25} :- 23, 7</math> (c 0, 07, CHCl<sub>3</sub>)</p>
<p>UV (MeOH): <math>\lambda_{\max}</math> nm (log <math>\epsilon</math>): 225 (4.31), 273 (4.25), 282 (3.83), 289 (3.60)</p> <p>HRESIMS: <math>m/z</math> 353, 1924 [M+H]<sup>+</sup> (calculée: <math>m/z</math> 353, 1938)</p>	
<p>RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Tableau 23)</p> <p>IR(KBr) <math>\nu_{\max}</math> 3426, 2927, 1724, 1684, 1263, 1125 et 750 cm<sup>-1</sup></p>	

<b>Composé TP1b</b>	
	<p><b>Penduliflorine B</b></p> <p>Solide brun amorphe</p> <p>Solubilité: CHCl<sub>3</sub></p> <p>C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, PM 352</p> <p><math>[\alpha]_D^{25} :+ 23, 7</math> (c 0, 07, CHCl<sub>3</sub>)</p>
<p>UV (MeOH): <math>\lambda_{\max}</math> nm (log <math>\epsilon</math>): 225 (4.31), 273 (4.25), 282 (3.83), 289 (3.60)</p> <p>HRESIMS: <math>m/z</math> 353, 1924 [M+H]<sup>+</sup> (calculée: <math>m/z</math> 353, 1938)</p>	
<p>RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Tableau 24)</p> <p>IR(KBr) <math>\nu_{\max}</math> 3426, 2927, 1724, 1684, 1263, 1125 et 750 cm<sup>-1</sup></p>	

### Composé TP2



#### Penduliflorine C

Solide jaune amorphe

Solubilité: Acétone

$C_{22}H_{24}N_2O_4$ , PM 368

$[\alpha]_D^{25} :- 14, 4$  (c 0, 02, MeOH)

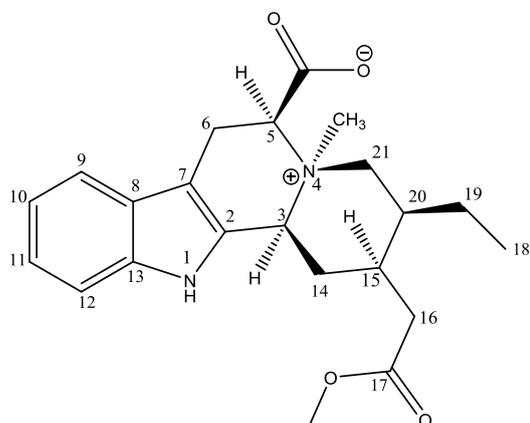
UV (MeOH):  $\lambda_{max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 224 (4.65), 269 (4.30), 292 (2.72)

HRESIMS:  $m/z$  369, 2202  $[M+H]^+$  (calculée:  $m/z$  369, 2218)

RMN  $^1H$  (400 MHz, Acetone- $d_6$ ) et RMN  $^{13}C$  (100 MHz, Acetone- $d_6$ ) (Tableau 25)

IR(KBr)  $\nu_{max}$  3420, 2925, 1695, 1628, 1464 et 1287  $cm^{-1}$

### Composé TP3a



#### Penduliflorine D

Solide blanc amorphe

Solubilité: MeOH

$C_{22}H_{28}N_2O_4$ , PM 384

$[\alpha]_D^{21} :+ 18, 3$  (c 0, 01,  $CHCl_3$ )

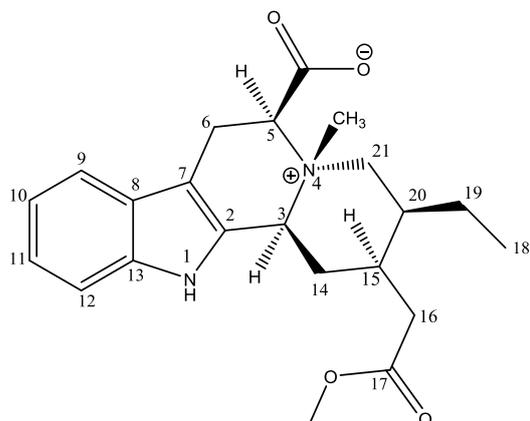
UV (MeOH):  $\lambda_{max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 229 (4.65), 298 (3.81)

HRESIMS:  $m/z$  385, 2101  $[M+H]^+$  (calculée:  $m/z$  385, 2109)

RMN  $^1H$  (400 MHz, MeOH- $d_4$ ) et RMN  $^{13}C$  (100 MHz, MeOH- $d_4$ ) (Tableau 26)

IR(KBr)  $\nu_{max}$  3422, 2930, 1726, 1633, 1510 et 748  $cm^{-1}$

### Composé TP3b



#### Penduliflorine E

Solide jaune amorphe

Solubilité: MeOH

$C_{22}H_{28}N_2O_4$ , PM 384

$[\alpha]_D^{21} : -18,3$  (c 0,01,  $CHCl_3$ )

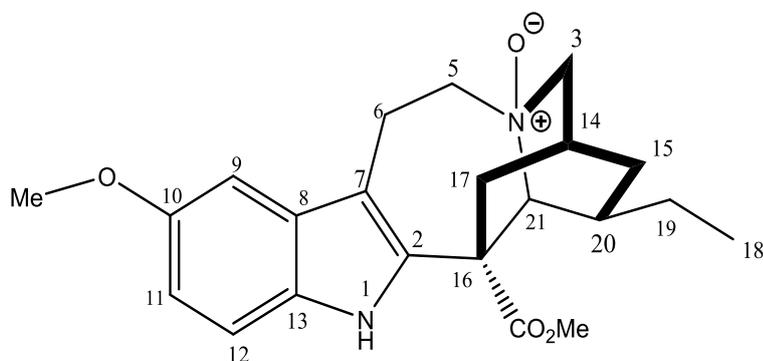
UV (MeOH):  $\lambda_{max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 229 (4.65), 298 (3.81)

HRESIMS:  $m/z$  385, 2101  $[M+H]^+$  (calculée:  $m/z$  385, 2109)

RMN  $^1H$  (400 MHz, MeOH- $d_4$ ) et RMN  $^{13}C$  (100 MHz, MeOH- $d_4$ ) (Tableau 27)

IR (KBr)  $\nu_{max}$  3422, 2930, 1726, 1633, 1510 et 748  $cm^{-1}$

### Composé TP4



#### Penduliflorine F

Solide brun amorphe

Solubilité:  $CHCl_3$

$C_{22}H_{28}N_2O_4$ , PM 384

$[\alpha]_D^{26} : +41,5$  (c 0,056,  $CHCl_3$ )

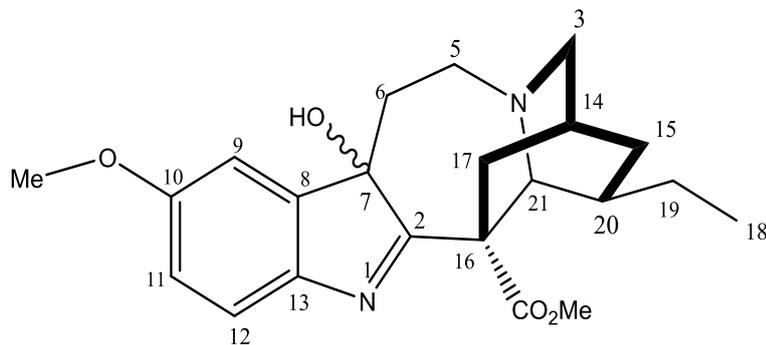
UV (MeOH):  $\lambda_{max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 224 (4.41), 285 (3.95), 300 (3.91)

HRESIMS:  $m/z$  385, 2144  $[M+H]^+$  (calculée:  $m/z$  385, 2142)

RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CHCl_3-d_1$ ) et RMN  $^{13}C$  (100 MHz,  $CHCl_3-d_1$ ) (Tableau 28)

IR (KBr)  $\nu_{max}$  3420, 2928, 1722, 1628, 1464 et 1287  $cm^{-1}$

### Composé TP5



#### Voacangine hydroxyindolenine

Solide jaunâtre amorphe

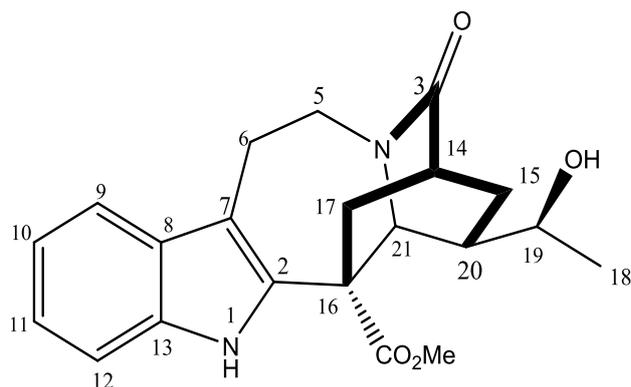
Solubilité: CHCl<sub>3</sub>

C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, PM 384

LC – MS:  $m/z$  385, 2117 [M+H]<sup>+</sup>

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CHCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CHCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) (Tableau 29)

### Composé TP7



#### 3 – Oxoheyanine

Solide amorphe jaune

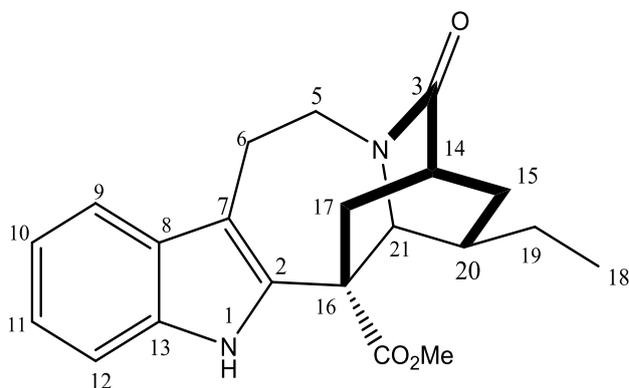
Solubilité: CHCl<sub>3</sub>

C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, PM 368

ESIMS:  $m/z$  369, 1 [M+H]<sup>+</sup>

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CHCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CHCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) (Tableau 31)

### Composé TP8

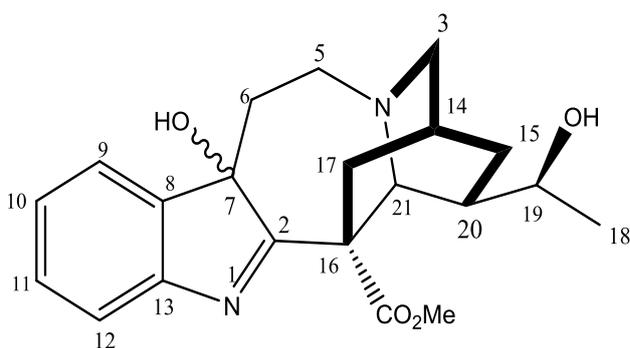


**3 – Oxocoronaridine**  
Solide amorphe jaune pâle  
Solubilité: CHCl<sub>3</sub>  
C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, PM 352

LC-HRMS:  $m/z$  353, 1802 [M+H]<sup>+</sup>

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CHCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CHCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) (Tableau 32)

### Composé TP6

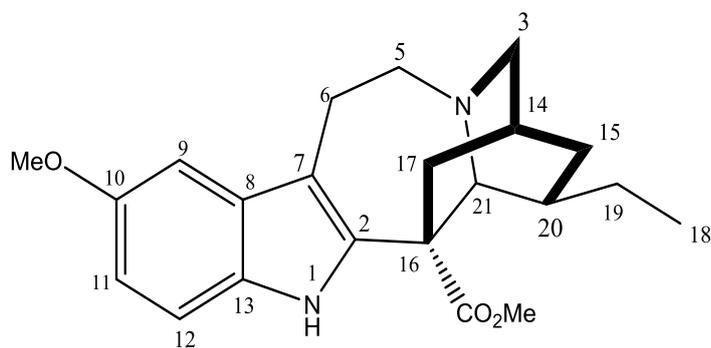


**Voacristine hydroxyindolenine**  
Cristaux blancs  
Solubilité: CHCl<sub>3</sub>  
C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, PM 400

HRESIMS:  $m/z$  401, 1615 [M+H]<sup>+</sup>

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CHCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CHCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) (Tableau 30)

### Composé TP9



### Voacangine

Cristaux blancs

Solubilité:  $\text{CHCl}_3$

$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3$ , PM 368

HRESIMS:  $m/z$  369, 2177  $[\text{M}+\text{H}]^+$

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CHCl}_3-d_1$ ) et RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CHCl}_3-d_1$ ) (Tableau 33)

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références bibliographiques

<http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Apocynaceae> (22/06/2021).

<http://www.biologydiscussion.com/angiosperm/dicotyledons/apocynaceae-characters-distributionand-types/48288> (22/06/2021).

<http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2013/> (03/05/2021).

Akinloye BA, Court WE. 1980. Leaf Alkaloids of *Rauwolfia Oreogiton*. *Phytochemistry*. 19(12): 2741–2745.

Ambujam V., Parimoo P. 1985. Isolation of coronaridine from the seeds of *Tabernaemontana penduliflora*, *Planta Med.* 51 : 463.

Amer MA, Court WE. 1981. Alkaloids of *Rauwolfia nitida* root bark. *Phytochemistry*. 20(11): 2569–2573.

Amer MA, Court WE. 1981. Root wood alkaloids of *Rauwolfia macrophylla*. *Planta Med.* 43(1): 94–95.

Andrade-Neto V.F., Pohlit A.M., Pinto A.C.S., Silva E.C.C., Nogueira K.L., Melo M.R.S., Henrique M.C., Amorim R.C.N., Silva L.F.R., Costa M.R.F., Nunomura R.C. S., Nunomura S.M., Alecrim W.D., Alecrim M.C.G., Chaves F.C.M, Vieira P.P. R. 2007. *In vitro* inhibition of *Plasmodium falciparum* by substances isolated from Amazonian antimalarial plants, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 102 :359–365.

Arbain D., Lajis N.H., Putra D.P., Sargent M.V., Skelton B.W., White A.H. 1992. New quaternary *Corynanthe* alkaloid from *Lerchea bracteata*, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 1 :3039–3042.

Arthur JC, Perez-Chanona E, Muhlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan T-J, Campbell BJ, Abujamel T, Dogan B, Rogers AB, et al. 2012. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science*. 338(6103):120–123.

Asher J.D.M., J.M. Robertson, G.A. Sim, M.F. Bartlett, C.C. Scott, W.I. Taylor. 1965. The structure of Hunterburnine: X-ray analysis of hunterburnine  $\beta$ -Methiodide, *J. Chem. Soc.* 6356

Assis C.M., Moreno P.R.H., Young M.C.M., Campos I.P., Suffredini I.B., 2009. *Braz. J. Pharm.Sci.* 19 :626 – 631.

Atta-ur-Rahman; Basha, A. *Biosynthesis of Indole Alkaloids*; Clarendon Press: London, 1983.

- Bapela M.J., Meyer J.J.M., Kaiser M., 2014. In vitro antiplasmodial screening of ethnopharmacologically selected South African plant species used for treatment of malaria. *J. Ethnopharmacol.* 156 : 370–373.
- Batista CVF, Schripsema J, Verpoorte R, Rech SB, Henriques AT. 1996. Indole alkaloids from *Rauwolfia Sellowii*. *Phytochemistry.* 41(3):969–973.
- Battersby RA, Hodson HF. 1960. Alkaloids of calabash curare and *Strychnos* species. Part I. Chemistry and structure of hemitoxiferine-I and toxiferine-I, including the preparation of toxiferine-I. *J Chem Soc.* 1:736–741
- Belgers, M., M. Leenaars, J. Homberg, M. Ritskes-Hoitinga, A. Schellekens, and C. Hooijmans, Ibogaine and addiction in the animal model, a systematic review and meta-analysis. *Transl. Psychiatry*, 2016. 6(5): p. e826.
- Bero J., M. Frédéricich, J. Quetin-Leclercq. 2009. Antimalarial compounds isolated from plants used in traditional medicine, *J. Pharm. Pharmacol.* 61 : 1401–1433.
- Bianco A., De Luca A., Mazzei R. A., Nicoletti M., Passacantilli P., Alves De Lima R., 1994. Iridoids of *Rauwolfia grandiflora*. *Phytochemistry.* 35(6) : 1485-1487.
- Bisong S. A., Brown R. E., Osim E. E., 2013. Comparative extrapyramidal effects of *Rauwolfia vomitoria*, chlorpromazine and reserpine in mice. *J.Nat.Med.* 67 :107-112.
- Bing-Jie Z, Lei P, Zhi-Kun W, Mei-Fen B, Ya-Ping L, Gui-Guang C, Xiao-Dong L, Xiang-Hai C. 2013. Indole alkaloids from leaves and twigs of *Rauwolfia verticillata*. *J Asian Nat Prod Res.* 15(12):1221–1229.
- Bisset N.G., J.D. Phillipson, Antirrhine and antirrhine metho-salt from the leaves of *strychnos camptoneura*. 1974. *Phytochemistry.* 13 : 1265–1267.
- Bitombo A.N., Zintchem A.A., Atchadé A.T., Ndedi E.D.F.M., Khan A., Bikobo D.S. N., Pegnyemb D.E., Bochet C.G. 2021. Antimicrobial and cytotoxic activities of indole alkaloids and other constituents from the stem barks of *Rauwolfia caffra* Sond (Apocynaceae). *Nat. Prod. Res.* <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1891054>.
- Boligon A.A., Kubacı T.F., Nunes D.M., Vendruscolo T.D., Cordenonsi Bonez P., Weiblen R., Lovato L., Hartz S.A., Campos M.M.A., Athayde M.L. 2014. HPLC analysis and antimicrobial, antimycobacterial and antiviral activities of *Tabernaemontana catharinensis* A.DC . *J.App.Biomed.* 15, 1-12.
- Bradacs G., Maes L., Heilmann J., 2010. *Phytother. Res.* 24 : 800 –809.
- Brown R.T., Chapple C.L., Lee G.K. 1972. Adirubine: A novel carboxy-indole alkaloid, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 927 :1007–1008.

- Brown R.T., Charalambides A.A. 1974. 5 $\alpha$ -Carboxytetrahydroalstonine, *Tetrahedron Lett.* 17 :1649–1652.
- Brown R.T., Duckworth D.M. 1976. C–20 configuration of adirubine, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 14 : 530–531.
- Brown RT, Charalambides AA. 1974. 5 $\alpha$ -Carboxytetrahydroalstonine. *Tetrahedron Lett.* 15(17): 1649–1652.
- Bruneton, J. 2016. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (5<sup>e</sup> Ed.)* : Lavoisier.
- Burkill HM. 1985. The useful plants of West Tropical Africa. 2nd ed. Vol. 1, Families A– D. Kew, Richmond: Royal Botanic Gardens.
- Burkill HM. 1994. The useful plants of West Tropical Africa. 2nd ed. Vol. 2, Families E– I. Royal Botanic Gardens, Kew. P . 636.
- Campbell J. I.A., Mortensen A., Mølgaard P., 2006. Tissue lipid lowering-effect of a traditional Nigerian anti-diabetic infusion of *Rauwolfia vomitoria* foilage and *Citrus aurantium* fruit. *J. Ethnopharm.* 104 :379–386.
- Cancelieri NM, Curcino VI, Schripsema J, Mathias L, Braz-Filho R. 2002. Darcyribeirine, a novel pentacyclic indole alkaloid from *Rauwolfia grandiflora* Mart. *Tetrahedron Lett.* 43(10):1783–1787.
- Cao M., Muganga R., Tits M., Angenot L., Frédéric M. 2011. 17-O-Acetyl-10-hydroxycorynantheol, a selective Antiplasmodial alkaloid isolated from *Strychnos usambarensis* leaves, *Planta Med.* 77 : 2050–2053.
- Center MM, Jemal A, Ward E. 2009. International trends in colorectal cancer incidence rates. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 18(6):1688–1694.
- Chan, E.W.C., Wong S.K., and Chan H.T. 2016. Apocynaceae species with antiproliferative and/or antiplasmodial properties: a review of ten genera. *J. Integr. Med.* 14(4): 269–284.
- Chase, M., M. Christenhusz, M. Fay, J. Byng, W. Judd, D. Soltis, D. Mabberley, A. Sennikov, P. Soltis, and P. Stevens, An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Bot. J. Linnean Soc.*, 2016. 181(1): p. 1-20
- Chassagne F., Haddad M., Amiel A., Phakeovilay C., Manithip C., Bourdy G., Deharo E., Marti G. 2018. A metabolomic approach to identify anti-hepatocarcinogenic compounds from plants used traditionally in the treatment of liver diseases, *Fitoterapia.* 127:226–236.
- Clark, R. 2014. *The Kew Tropical plant families identification handbook* : 60-61.

- Cong H.J., Zhao Q., Jiang S.W., Zhang H., Wei J.J., Wang W.Q., Xuan L.J., Pan Y. M. 2014. Terpenoid indole alkaloids from *Mappianthus iodoides* hand-Mazz, *Phytochemistry*. 145 : 68–76.
- Cordell, G. A.; Saxton, J. E. In *The Alkaloids*; Manske, R. H. F., Rodrigo, R. G. A., Eds.; Academic Press: New York, 1981; Vol. 20; pp 1-295
- Coune C.A., Ancenot L.J.G., Denoel J.1980. <sup>13</sup>C NMR des alcaloïdes des strychnos: Les dérivés de l'harmane et de l'usambarensine, *Phytochemistry* 19 : 2009–2011.
- Dalziel J.M., 1948. The useful plants of west tropical Africa (Crown Agents, London)
- Danieli, B.; Palmisano, G. 1986. In *The Alkaloids-Chemistry and Pharmacology*; Brossi, A., Ed.; Academic Press: Orlando, Vol. 27; pp 1-130.
- Dastoor N.J., A.A. Gorman, H. Schmid, *Über die Alkaloide von Aspidosperma discolor* A. DC, *Helv. Chim. Acta.* 27 (1967) 213–230.
- De Luca, V., V. Salim, A. Thamm, S.A. Masada, and F. Yu, Making iridoids/secoiridoids and monoterpenoid indole alkaloids: progress on pathway elucidation. *Curr. Opin.Plant. Biol.*, 2014. **19**: p. 35-42
- Delaveau, P., *Plantes agressives et poisons végétaux.* 1974: Horizons de France.
- Deshmukh SR, Dhanashree SA, Patil BA. 2012. Extraction and evaluation of indole alkaloids from *Rauvolfia serpentina* for their antimicrobial and antiproliferative activities. *Int J Pharm Pharmac Sci.* 4(5):329–334.
- Devkota K.P., Ndjakou Lenta B., Iqbal Choudhary M., Naz Q., Boyom Fekam F., Rosenthal P. J., Sewald N. 2007. Cholinesterase inhibiting and antiplasmodial steroidal alkaloids from *Sarcococca hookeriana*, *Chem. Pharm. Bull.* 55 : 1397–1401.
- Dewick, P. M. 2002. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*; 2<sup>nd</sup> ed.; John Wiley and Sons: Chichester.
- Dewick, P.M. 2009. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3<sup>rd</sup> Ed : 187-310.
- Dounias E, Rodrigue W, Petit C. 2000. Review of ethnobotanical literature for Central and West Africa. *Bull. Rés. Afr. Ethn.* 2 : 5 –117
- Dupont, F. and Guignard, J. 2012. *Abrégés de pharmacie. Botanique, les familles de plantes (15<sup>e</sup> Ed.)* : Elsevier Masson: Paris.
- Dutta S., Chowdhury A. R., Srivastava S. K., Ghosh I., Datta K., 2011. Evidence for Serpentine as a novel antioxidant by a redox sensitiveHABP1 overexpressing cell line by inhibiting its nuclear translocation of NF-κB. *Free Radical Research.* 45(11-12) : 1279-1288.
- Ebeh MR, Ngono BDS, Abouem ZA, Mbabi NIIN, Moni NEDF, Betote DPH, Nyegue MA, Atchade ADT, Pegnyemb DE, Bochet CG, et al. 2017. Rauvolfianine, a new

- antimycobacterial glyceroglycolipid and other constituents from *Rauwolfia caffra*. Sond (Apocynaceae). *Nat Prod Res.* 32(16):1971–1976.
- Edith G.R et Rosa C.T. 2015. La Familia Apocynaceae (Apocynoideae Y Rauwolfioideae). En El Esatado De Morelos, *Mex.Acta.Bot.Mexicana.* 110 :21-70.
- Elia J. 2006. *Tabernaemontana pachysiphon* Stapf. <http://www.prota4u.org/search.asp>. Consulté le 06 juin 2021 à 18h45.
- Endreß S, Takayama H, Suda S, Kitajima M, Aimi N, Sakai S,J, Stöckigt J. 1993. Alkaloids from *Rauwolfia serpentina* cell cultures treated with ajmaline. *Phytochemistry.* 32(3):725–730.
- Endress, M. 2004. Apocynaceae: Brown and now. *Telopea.* 10(2): 525-541
- Endress, M.E., Liede-Schumann S., and Meve, U. 2014. An updated classification for Apocynaceae. *Phytotaxa.* 159(3): 175-194.
- Estevez Y., Castillo D., Pisango M.T., Arevalo J., Rojas R., Alban J., Deharo E., Bourdy G., Sauvain M., 2007. *J. Ethnopharmacol.* 114 : 254–259.
- Fadaeinasab M., Hadi A. H. A., Kia Y., Basiri A., and Murugaiyah V., 2014. Cholinesterase Enzymes Inhibitors from the Leaves of *Rauwolfia Reflexa* and Their Molecular Docking Study. *Molecules.* 18 :3780-3788.
- Fadaeinasab M., Karimian H., Omar H., Taha H., khorasani A., Banisalam B., Ketuly K. A., Abdullah Z., 2019. Reflexin A, a new indole alkaloid from *Rauwolfia reflexa* induces apoptosis against colon cancer cells. *J.Asian.Nat.Prod.Res.* <https://doi.org/10.1080/10286020.2019.1588888>.
- Federici E., Palazzino G., Nicoletti M., Galeffi C., 2000. *Planta Med.* 66 : 93–95
- Feng X.Z., Kan C., Potier P., Siew-Kwong K., Lounasma M. 1982. Monomeric indole alkaloids from *Ervatamia hainanensis*, *Planta Med.* 44 :212–214.
- Figueiredo E.R., Vieira I.J.C., Souza J.J., Braz-Filho R., Mathias L., Kanashiro M.M., Côrtes F.H., 2010. *Braz. J. Pharm. Sci.* 20 : 75–81.
- Flores Y, Diaz C, Garay F, Colque O, Stener O, Almanza GR. 2005. Oleanane type triterpenes and derivatives from seed coat of Bolivian *Chenopodium quinoa* genotype ‘Salar. *Rev Bol Quim.* 22 (1):71–77.
- Fotie J., Bohle D.S., Leimanis M.L., Georges E., Rukunga G., Nkengfack A.E. 2006. Lupeol long-chain fatty acid esters with antimalarial activity from *Holarrhena floribunda*, *J. Nat. Prod.* 69 :62–67.

- Foudjo MGL, Njoya EM, Jouda JB, Kweka BNW, Mbazoa CD, Wang F, Wandji J. 2019. Two new indole alkaloids from *Tabernaemontana contorta* Stapf. *Phytochem Lett.* 30:116–119.
- Frederich M., Hayette M.P., Tits M., De Mol P., Angenot L. 1999. *In vitro* activities of *Strychnos* alkaloids and extracts against *Plasmodium falciparum*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 43 : 2328–2331.
- Gao Y, Yu AL, Li GT, Hai P, Li Y, Liu JK, Wang F. 2015. Hexacyclic monoterpene indole alkaloids from *Rauwolfia verticillata*. *Fitoterapia.* 107:44–48.
- Geng C.A., Huang X.Y., Ma Y.B., Hou B., Li T.Z., Zhang X.M., Chen J.J. 2017. (±)-Uncarilins A and B, dimeric isoechinulin-type alkaloids from *Uncaria rhynchophylla*, *J. Nat. Prod.* 80 :959–964.
- Girardot M., Deregnaucourt C., Deville A., Dubost L., Joyeau R., Allorge L., Rasoanaivo P., Mambu L., 2011. *Planta Med.* 77, PL55.
- Globocan 2020: <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/120-cameroonfactsheets.pdf>. Consulté le 20 juin 2021 à 11h32.
- Guareshi, I. 1896. *Einführung in das Stadium der Alkaloide mit besonderer Berücksichtigung der vegetabilischen Alkaloide und der Ptomaine*, Gaertners Verlagsbuchhandlung, Berlin.
- Gunasekera S.P., Cordell G.A., Farnsworth N., 1980. Anticancer indole alkaloids of *Ervatamia heyneana*, *Phytochemistry.* 19 : 1213–1218.
- Guo Q., Yang H., Lui X., Si X., Liang H., Tu P., Zhang Q. 2018. New zwitterionic monoterpene indole alkaloids from *Uncaria rhynchophylla*, *Fitoterapia.* 127:47–55.
- Gupta J., Gupta A., 2015. Isolation and extraction of flavonoid from the leaves of *Rauwolfia serpentina* and evaluation of DPPH-scavenging antioxidant potential. *Orient. J. Chem.* 31: 231–235.
- Gupta S, Khanna VK, Maurya A, Bawankule DU, Shukla RK, Pal A, Srivasatava SK. 2012. Bioactivity guided isolation of antipsychotic constituents from the leaves of *Rauwolfia tetraphylla* L. *Fitoterapia.* 8(3):1092–1099.
- Habib MR, Nikkon F, Rahman M, Haque ME, Karim MR. 2007. Isolation of stigmaterol and  $\beta$ -sitosterol from methanolic extract of root bark of *Calotropis gigantea* (Linn). *Pak J Biol Sci.* 10(22):4174–4176.
- Hesse, M. *Alkaloids. Nature's Curse or Blessing ?* Wiley-VHC, Zürich, 2002, 413 p., ISBN 3-906390-24-1.

- Hines, D.A. et Eckman, K., 1993. Indigenous multipurpose trees for Tanzania: uses and economic benefits for people. FAO Forestry Paper, Rome, Italy.
- Hong B., Gao J., Wu J., and Zhao C., 2012. Chemical constituents from *Rauwolfia verticillata* and bioactivities research. *Chem. Nat. Compounds*. 48 (2) :276-280.
- Huang M, Gao H, Chen Y, Zhu H, Cai Y, Zhang X, Miao Z, Jiang H, Zhang J, Shen H, et al. 2007. Chimmitecan, a novel 9-substituted camptothecin, with improved anticancer pharmacologic profiles *in vitro* and *in vivo*. *Clin Cancer Res*. 13(4):1298–1307.
- Hutchinson J., Dalziel J.M. 1973. Flora of west tropical Africa, in: Part. 2. Crown Agents for Overseas Government And Administration, 2nd ed. 1, p. 638.
- Hutchinson J., Dalziel J.M., 1948. The flora of west tropical Africa. 2<sup>nd</sup> Edition (Crown Agents, London). 11 : 65.
- Iqbal A.A.M., Khan F.A.K., Khan M. 2013. Ethno-Phyto-Pharmacological overview on *Rauwolfia tetraphylla* L. *Int.J.Pharm.Phytopharmacol.Res*. 2(4) :247-251.
- Irabor DO. 2017. Emergence of colorectal cancer in West Africa: accepting the inevitable. *Niger Med J*. 58(3):87–94.
- Itoh A, Kumashiro T, Yamaguchi M, Nagakura N, Mizushima Y, Nishi T, Tanahashi T. 2005. Indole alkaloids and other constituents of *Rauwolfia serpentina*. *J Nat Prod*. 68(6):848-852.
- Itoh, A., Y. Ikuta, T. Tanahashi, and N. Nagakura, 2000. Two Alangium alkaloids from *Alangium l amarckii*. *J. Nat. Prod.*, **63**(5) :723-725.
- Iwu MM, Court WE. 1982. Stem bark alkaloids of *Rauwolfia vomitoria*. *Planta Med*. 45(2):105–111.
- Jain P. 2016. Secondary metabolites for antiulcer activity. *Nat Prod Res*. 30(6):640–656.
- Jamkhande PG, Barde SR, Patwekar SL, Tidke PS. 2013. Plant profile, phytochemistry and pharmacology of *Cordia dichotoma* (Indian cherry): a review. *As Pac J Trop Biomed*. 3(12): 1009–1012.
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. 2011. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 6(2):69–90.
- Jenks C.W. 2002. Extraction studies of *Tabernanthe iboga* and *Voacanga africana*, *Nat. Prod. Lett*. 16 : 71–76.
- Kam T.S., Pang H.S., Choo Y.M., Komiyama K., 2004. *Chem. Biodivers*. 1 : 646–656
- Kam T.S., Sim K.M. 2002. Five New Iboga alkaloids from *Tabernaemontana corymbosa*, *J. Nat. Prod*. 65 : 669–672.

- Kam, T. S., Choo, Y. M. 2006. In *Alkaloids: Chemical and Biological Perspective*; Cordell, G. A., Ed.; Academic Press: Amsterdam. (63) : 181-337.
- Karmakar T., Chakraborty D.P., 1983. 7-dehydrositosterol from *Rauwolfia serpentina*. *Phytochemistry* 22: 608–609.
- Ki-Bong O, Woongchon M, Sanghee K, Ji-Yun K, Tae-Hoon L, Jae-Gyu K, Daehyun S, Chung JS, Jongheon S. 2006. Antimicrobial activity and cytotoxicity of bis(indole) alkaloids from the sponge *Spongosorites* sp. *Biol Pharm Bull.* 29(3):570–573.
- Kim Y., Jung H.J., Kwon H.J., 2011. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 417 : 330–334.
- Kingston D.G.I., Gerhart B.B., Ionescu F., Mangino M.M., Sami S.M. 1978. Plant anticancer agents V: new bisindole alkaloids from *Tabernaemontana johnstonii* stem bark, *J. Pharm. Sci.* 2 :249–251.
- Kisakurek, M. V.; Hesse, M. In *Indole and Biogenetically Related Alkaloids*; Phillipson, J. D., Zenk, M. H., Eds.; Academic Press: London, 1980.
- Kisakurek, M. V.; Leeuwenberg, A. J. M.; Hesse, M. In *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*; Pelletier, S. W., Ed.; Wiley: New York, 1983; Vol. 1; pp 221-376.
- Klayman, D.L., Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China. *Science*, 1985. **228**: p. 1049-1056.
- Kompis, I.; Hesse, M.; Schmid, H. *Llyodia* **1971**, 34, 269.
- Kruegel, A.C. and O. Grundmann, The medicinal chemistry and neuropharmacology of kratom: A preliminary discussion of a promising medicinal plant and analysis of its potential for abuse. *Neuropharmacol.*, 2017. sous presse.
- Kumar S, Singh A, Bajpai V, Srivastava M, Singh BP, Kumar B. 2016. Structural characterization of monoterpene indole alkaloids in ethanolic extracts of *Rauwolfia* species by liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *J Pharm Anal.* 6(6):363–373.
- Lambros C., Vanderberg J.P. 1979. Synchronization of *Plasmodium falciparum* Erythrocytic stages in culture, *J. Parasitol.* 65 : 418–420.
- Leeuwenberg A.J.M. 1991. A revision of *Tabernaemontana*. The old world species. *Royal Botanic Gardens*, 2, Kew, UK. Pp: 53-63.
- Leeuwenberg A.J.M. 1994. A revision of *Tabernaemontana*. The new world species and *Stemmadenia*. *The Royal Botanic Gardens*, 2, Kew, UK.
- Lewis, G., Srivastava D. 2008. Malaria research, 1980-2004, and the burden of disease. *Acta Trop.* 106:96-103

- Li Ping-tao; Antony J. M. Leeuwenberg, David J. Middleton. 1996. Apocynaceae. *Flora of China*. 16: 143–188.
- Liang S., Chen H.S., Du J.L., Wang H.P., Shen Y., Huang M.Z. 2006. Study of chemical constituents of *Tabernaemontana divaricata*. *Acad. J. Sec.Mi.Med.Univ.* 8, 1-23.
- Lobay D., 2015. *Rauwolfia* in the Treatment of Hypertension. *Integr.Med.* 14 : 3.
- Lowinger, P. 1957. *Rauwolfia serpentina* in the control of anxiety. *Psychiatr Q.* 31(3):445-453.
- Mabberley DJ. 2008. Mabberley's plant-book: a portable dictionary of plants. Their classifications and uses. London: Cambridge University Press.
- Madati, P.J., Kayani, M.J., Pazi, H.A.M. et Nyamgenda, A.F.D., 1977. Alkaloids of *Rauwolfia caffra* Sond. 1. Phytochemical and toxicological studies. *Planta Med.* 32(3): 258–267.
- Malik A., Afza N., 1983. *J. Nat. Prod.* 46 : 939–940.
- Mairura F.S., Schmelzer G.H. 2006. *Tabernaemontana crassa* Benth. <http://www.prota4u.org/search.asp>. Consulté le 06 juin 2021 à 19h45.
- Marathe N.P., Rasane M.H., Kumar H., Patwardhan A.A., Shouche Y.S., Diwanay S.S., 2013. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 12 : 26.
- Martin, N.J., Ferreira S. F., Barbault F., Nicolas M., Lecellier G., Paetz C., Gaysinski M., Alonso E., Thomas O. P., Botana L. M., Raharivelomanana, P., 2015. Indole alkaloids from the Marquesan plant *Rauwolfia nukuhivensis* and their effects on ion channels. *Phytochemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.10.026>.
- Martin, N.J., Prado, S., Lecellier, G., Thomas, O.P., Raharivelomanana, P., 2012. Nukuhivensiums, indolo[2,3-a]quinoliziniums from the Marquesan plant *Rauwolfia nukuhivensis*. *Molecules*. 17 : 12015–12022.
- Masuda K., Akiyama T., Taki M., Takaishi S., Lijima Y., Yamazaki M., Aimi N., Jato J., Waterman P.G. 2000. Isolation of 10-Hydroxycoronaridine from *Tabernaemontana penduliflora* and its estrogen-like activity, *Planta Med.* 66 :169–171.
- Maurya A, Gupta S, Srivastava SK. 2013. Large-scale separation of antipsychotic alkaloids from *Rauwolfia tetraphylla* L. by pH-zone-refining fast centrifugal partition chromatography. *J Sep Sci.* 36(2):407–413.
- Mbuya, L.P., Msanga, H.P., Ruffo, C.K., Birnie, A. et Tengnäs, B., 1994. Useful trees and shrubs for Tanzania: identification, propagation and management for agricultural and pastoral communities. Technical Handbook 6. Regional Soil Conservation Unit/SIDA, Nairobi, Kenya. Pp 542.

- Medeiros W.L.B., Vieira I.J.C., Mathias L., Braz-Filho R., Schripsema J. 2001. A New Natural Quaternary Indole Alkaloid Isolated from *Tabernaemontana laeta* Mart. (Apocynaceae), *J. Braz. Chem. Soc.* 12 () 368–372.
- Mehmet Boğa, Murat Bingül, Esra Eroğlu Özkan and Hasan Şahin. 2019. Chemical and Biological Perspectives of Monoterpene Indole Alkaloids From *Rauwolfia* species. *Studies in Natural Products Chemistry.* 61 :251–299
- Mehrotra S.M.K., Goel V., Srivastava V., Rahman L.U., *Biotechnol. Lett.* 37 (2015) 253–263
- Meissner, W. *J. Chem. Phys.* **1819**, 25, 379.
- Meschini S., Marra M., Calcabrini A., Federici E., Galeffi C., Arancia G., 2003. *Int. J. Oncol.* 23 : 1505 – 1513.
- Milugo T. K., Omosa L. K., Ochanda J. O., Owuor B. O., Wamunyokoli F. A., Oyugi J. O., and Ochieng J. W., 2013. Antagonistic effect of alkaloids and saponins on bioactivity in the quinine tree (*Rauwolfia caffra* sond.): further evidence to support biotechnology in traditional medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 13 :285.
- Monachino, J. 1954. *Rauwolfia serpentina* — Its history, botany and medical use. *Econ. Bot.* 8 : 349–365
- Moynehan T.M., Schofield K., Jones R.A.Y., Katritzky A.R. 1962. The synthesis and stereochemistry of quinolizidine and the monomethylquinolizidines, and of their salts and quaternary salts, *J. Chem. Soc.* 2637–2658.
- Mukherjee E., Gantait S., Kundu S., Sarkar S., Bhattacharyya S., 2019. Biotechnological interventions on the genus *Rauwolfia*: recent trends and imminent prospects. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10035-6>.
- Muthaura C.N., Keriko J.M., Mutai C., Yenesew A., Gathirwa J.W., Irungu B.N., Nyangacha R., Mungai G.M., Derese S., 2015. *J. Ethnopharmacol.* 170 :148–157.
- Nasser A.M.A.G, Court W.E. 1984. Stems bark alkaloids of *Rauwolfia caffra*. *J Ethnopharm.* 11(1): 99–117.
- Nazar, N., Goyder D.J., Clarkson J.J., Mahmood T., and Chase M.W. 2013. The taxonomy and systematics of Apocynaceae: where we stand in 2012. *Bot. J. Linn. Soc.* 171(3): 482-490.

- Ndongo J.T., Ngo Mbing J., Feussi Tala M., Monteillier A., Pegnyemb D.E., Cuendet M. et Laatsch H., 2017. Indoline alkaloids from *Tabernaemontana contorta* with cancer chemopreventive activity. *Phytochemistry*. 144 :189-196.
- Neuwinger, H.D., 1996. African ethnobotany : Poisons and drugs. Chapman & Hall, London, United Kingdom. 941 pp.
- Neuwinger, H.D., 2000. African traditional medicine : A dictionary of plant use and applications. Medpharm Scientific, Stuttgart, Germany. 589 pp
- Ngono B.D.S, Mosset P, Abouem Z.A, Atchade A.D.T, Balemaken M.M, Mbabi NII.N, Pegnyemb DE. 2014. Campylosperrmine, an N-hydroxy alkaloid from the leaves of *Campylosperrmum densiflorum* (Ochnaceae). *Int J Pharm Phyt Res*. 6:719–728.
- Nkot J.L, Ngono B.D.S, Abouem Z.A, Mbabi NII.N, Moni N.E.D.F, Betote D.P.H, Pegnyemb D.E, Bochet C.G, Koert U. 2018. Antitubercular evaluation of root extract and isolated phytochemicals from *Lophira lanceolata* against two resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Pharm Biol*. 56(1):318–324.
- Nkunya M.H.H. 1992. Progress in the search of antimalarials. Napreca Monograph Series, N°4. Addis-Ababa. Ethiopia.
- O'Connor SE, Maresh JJ. 2006. Chemistry and biology of monoterpene indole alkaloid biosynthesis. *Nat Prod Res*. 23:532–554.
- O'Connor, S.E. and J.J. Maresh, Chemistry and biology of monoterpene indole alkaloid biosynthesis. *Nat. Prod. Rep.*, 2006. 23(4): p. 532-547.
- Oliveira I., Souza A., Valentao P., Andrade P.B., Ferreira I.C.R.F., Ferreres F., Bento A., Seabra R., Estevinho L., Pereira J.A., 2007. Hazel (*Corylus avellera* L.) leaves as source of antimicrobial and antioxidative compounds. *Food Chem*. 105 :1018-1025
- OMS, 2020. *World malaria report*
- OMS, *Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023*. Genève, Organisation mondiale de la santé. 2013
- Ondele R., Ossibi A. W. E, Bassoueka D., Peneme Mb, Itou Rde, Massengo Ab, Abena A. 2015. Toxicité aigüe et effet aphrodisiaque de l'extrait aqueux de *Rauvolfia obscura* K. Schum (Apocynaceae)
- Oyedeji L. 2007. Drugless healing secrets: Ibadan. Nigeria: Panse Press.
- Patel, M. B., Thompson, L., Miet, C., Poisson, J., 1967. *Annales. Pharm. Fr.* 25 (5), 379.

- Pawelka K.H., Stöckigt J. 1983. Indole alkaloids from cell suspension cultures of *Tabernaemontana divaricata* and *Tabernanthe iboga*, *Plant Cell Rep.* 2: 105–107.
- Pelletier, S. W. *Alkaloids, Chemical and Biological Perspectives*, Ed. S. W. Pelletier, John Wiley and Sons, New York, 1983
- Pereira P.S., França S.C., de Oliveira A.P.V., de Souza Breves C.M., Vaz Pereira S.I. 2008. Chemical constituents from *Tabernaemontana catharinensis* root bark: a brief nmr review of indole alkaloids and *in vitro* cytotoxicity, *Quim Nova* .1 : 20–24.
- Pereira P.S, Franca S.D.C, Oliveira P.V, Breves C.M, Pereira S.I.V, Sampaio S.V, Nomizo A, Dias D.A. 2008. Chemical constituents from *Tabernaemontana catharinensis* root bark: a brief NMR review of indole alkaloids and *in vitro* cytotoxicity. *Quim Nova*. 31(1):20–24.
- Pereira S., Dias D.A., Sampaio S.V., França S.C., Toldo M.P.A., Albuquerque S., 1999. Trypano-cidal Activity From *Tabernaemontana catharinensis* A.DC. Mendoza, Argentina, pp. 165–170.
- Perera P., Kanjanapoothi D., Sandberg F., Verpoorte R., 1984. *J. Ethnopharmacol.* 11 : 233 – 241.
- Perera P., Sandberg F., Van Beek T.A., Verpoorte R. 1985. Alkaloids of Stem and Root Bark of *Tabernaemontana dichotoma* *Phytochemistry* 9 :2097–2104.
- Pesewu GA, Cutler RR, Humber DP. 2008. Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. *J Ethnopharm.* 116(1):102–111.
- Phillipson J.D., Hemingway S.R. 1973. Indole and oxindole alkaloids from *uncaria bernaysia*, *Phytochemistry*. 12 :1481–1487.
- Poisson J., Miet C., Patel M.B., 1967. *Annales. Pharm. Fr.* 25 :379-384
- Pousset JL. 2004. Plantes médicinales d’Afrique : Comment les reconnaître et les utiliser ? *Secum/Edisud.* p. 284
- Prance, G.T., Richard Evans Schultes (12 January 1915–10 April 2001): A Tribute. *Econ. Bot.*, 2001. 55(3): p. 347-362.
- Ramalhete C., Lopes D., Mulhovo S., Rosário V.E., Ferreira M.J.U., 2008. Antimalarial activity of some plants traditionally used in Mozambique, IICT/CCCM, Lisboa, Portugal, pp. 1–9.
- Ramesha, B., H. Suma, U. Senthilkumar, V. Priti, G. Ravikanth, R. Vasudeva, T.S. Kumar, K. Ganeshaiyah, and R.U. Shaanker, New plant sources of the anti-cancer alkaloid,

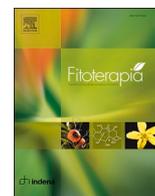
- camptothecine from the Icacinaceae taxa, India. *Phytomedicine*, 2013. 20(6): p. 521-527.
- Rola ML, Fazila Z, Mohamed AI, Premalatha B, Jin Z, Samir AR. 2019. FOXO signal activating alkaloids from *Ochrosia elliptica* leaf cultivated in Egypt. *Chem Med Res*. 28:1628–1632.
- Ruyter CM, Akram M, Illahi I, Stöckigt J. 1991. Investigation of the alkaloid content of *Rauwolfia serpentina* roots from regenerated plants. *Planta Med*. 57(4):328–330.
- Saslis-Lagoudakis, C.H., V. Savolainen, E.M. Williamson, F. Forest, S.J. Wagstaff, S.R. Baral, M.F. Watson, C.A. Pendry, and J.A. Hawkins, Phylogenies reveal predictive power of traditional medicine in bioprospecting. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. PNAS*, 2012. 109(39): p. 15835-15840.
- Satish K, Sadagopan R. 2019. Studies towards the synthesis of (+)-lochnerine. *Chem Select*. 4(14):4203–4205.
- Sawa Y.K., Matsumura H. 1969. Transformation of quinine into the indole alkaloids-I. The absolute configuration of hunterburnine  $\alpha$ - and  $\beta$ - methochloride, *Tetrahedron*. 25 :5319–5328.
- Schmelzer, G H et Gurib-Fakim A. 2008. Medicinal plants. 538-548.
- Schmidt, U., R.J. Hajjar, and J.K. Gwathmey, The force—interval relationship in human myocardium. *J. Card. Fail.*, 1995. 1(4): p. 311-321.
- Sharma P., Cordell G.A. 1988. Heyneanine hydroxyindolenine, a new indole alkaloid from *Ervatamia coronaria* var. *plena*, *J. Nat. Prod*. 51 : 528–531.
- Shrikanth V.M., Janardhan B., Dhananjaya B.L., Muddapura U.M., More S.S., 2015. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*. 7 : 66 –69.
- Silva M., Bittner M., Cespedes C., Jakupovic J. 1996. Chemistry of Chilean Elaeocarpaceae. *Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz, *Rev. Latin. Quim*. 24 : 85–92.
- Singh, B., L.K. Sung, A. Matusop, A. Radhakrishnan, S.S. Shamsul, J. Cox-Singh, A. Thomas, and D.J. Conway. 2004. A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *Lancet*. 363(9414): p. 1017-1024.
- Smilkstein M., Sriwilaijaroen N., Kelly J.X., Wilairat P., Riscoe M. 2004. Simple and inexpensive fluorescence-based technique for high-throughput antimalarial drug screening, *Antimicrob. Agents Chemother*. 48 : 1803–1806.
- Srinivasan PR, Lichter RL. 1976. <sup>13</sup>C NMR spectral studies of arecoline, hordenine, strychnine and brucine. *Org Magn Reson*. 8(4):198–201.

- Staerk D, Lemmich E, Christensen J, Kharazmi A, Olsen CE, Jaroszewski JW. 2000. Leishmanicidal, antiplasmodial and cytotoxic activity of indole alkaloids from *Corynanthe pachyceras*. *Planta Med.* 66(6):531–536.
- Stockigt, J.; Rupert, M. In *Comprehensive Natural Products Chemistry*; Kelly, J. W., Ed.; Pergamon: Amsterdam, 1999; Vol. 4; pp 109-138.
- Subhadhirasakul S., Takayama H., Aimi N., Ponglux D et Sakai S., 1994. Novel indole alkaloids from the leaves of *Rauvolfia sumatrana* Jack. In Thailand. *Chem.Pharm.Bull.* 42(7) :1427-1431.
- Sugiura M., Takao N., Sasaki Y. 1977. Stereochemistry of quinolizidines II, carbon 13 magnetic resonance Spectra of *N*-methylquinolizidium ions, *Chem. Pharm. Bull.* 25 : 960–963.
- Titanji V.P.K., Zofou D., Ngemenya M.N. 2008. The antimalarial potential of medicinal plants used for the treatment of malaria in cameroonian folk medicine, *Afr. J. Trad. Cam.* 5 : 302–321.
- Tlhapi D. B., Ramaite I. D. I., Anokwuru C. P., van Ree T., and Hoppe H. C., 2020. In Vitro Studies on Antioxidant and Anti-Parasitic Activities of Compounds Isolated from *Rauvolfia caffra* Sond. *Molecules.* 25 :3781.
- Tlhapi D. B., Ramaite I. D. I., van Ree T., Orazio T., and Hoppe H. C., 2018. Isolation, Chemical Profile and Antimalarial Activities of Bioactive Compounds from *Rauvolfia caffra* Sond. *Molecules.* 25 :3781.
- Tona L., Kambu K., Mesia K., Cimanga K., Apers S., De Bruyne T., Pieters L., Totte J., and Vlietinck A. J., 1999. Biological screening of traditional preparations from some medicinal plants used as antidiarrhoeal in Kinshasa, Congo. *PhyMed.* 6(1) :59-66.
- Toprak NU, Yagci A, Gulluoglu BM, Akin ML, Demirkalem P, Celenk T, Soyletir G. 2006. A possible role of *Bacteroides fragilis* enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer. *Clin Microbiol Infect.* 12(8):782–786.
- Tourwe D, Van Binst G. 1978. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of quinolizidine derivatives. *Heterocycles.* 9(4):507–533.
- Towns, A.M., D. Quiroz, L. Guinee, H. de Boer, and T. van Andel, Volume, value and floristic diversity of Gabon 's medicinal plant markets. *J. Ethnopharmacol.*, 2014. **155**(2): p. 1184-1193.
- Trager W.F., Lee C.M., Beckett A.H. 1966. Corynantheidine-type alkaloids: establishment of physical criteria for the normal, *pseudo*, *allo* and *epiallo* configurations by conformational analysis, *Tetrahedron.* 23 : 365–374.

- Tshikalange, T.E., Meyer, J.J.M. et Hussein, A.A., 2005. Antimicrobial activity, toxicity and the isolation of a bioactive compound from plants used to treat sexually transmitted diseases. *Journal of Ethnopharmacology* 96(3): 515–519.
- Uwumarongie H.O., Onwukaeme D.N., 2011. *Niger. J. Pharm. Res.* 9 : 63–71.
- Van Beek T.A., Deelder A.M., Verpoorte R., Baerheim Svendsen A. 1984. Antimicrobial, Antiamoebic and Antiviral Screening of some *Tabernaemontana* Species, *Planta Med.* 48 :180–185.
- Van Beek T.A., Verpoorte R., Baerheim Svendsen A., Leeuwenberg A.J.M., Bisset N. G. 1984. *Tabernaemontana* L. (Apocynaceae): A review of its taxonomy, phytochemistry, ethnobotany and pharmacology, *J. Ethnopharmacol.* 10 : 1–156.
- Van Dilst F. J. H. and Leeuwenberg A. J. M. 1991. *Rauwolfia* L. in Africa and Madagascar Series of Revisions of Apocynaceae XXXIII. *Bull. Jard. Bot. Nat. Belg/Bull. Nat. Plantentuin Belg.* 61: 21-69
- Van Wyk, B.E. et Gericke, N., 2000. People's plants: a guide to useful plants of southern Africa. Briza Publications, Pretoria, South Africa. Pp 351.
- Vieira I.J.C., Cecchi C.M.P., Mathias L., Braz-Filho R., and Rodrigues-Filho E., 1998. A new depside isolated from the bark of *Rauwolfia mattfeldiana*. *J.Braz.Chem.Soc.* 9(2) : 91-95.
- Vinay K.N., Lakshmi V.V., Satyanarayan N.D., Anantacharya G.R., Antioxidant activity of leaf and fruit extracts of *Rauwolfia tetraphylla* Linn. 2016. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 7:1705–1709.
- Walker-Raponda A, Sillans R. 1961. Les plantes utiles du Gabon. Paris: Paul Lechevalier; p. 614.
- Weniger B., Robledo S., Arango G.J., Deharo E., Aragón R., Muñoz V., Callapa J., Lobstein A., Anton R., 2001. *J. Ethnopharmacol.* 78 : 193–200.
- Wenkert E, Chang C-J, Chawla HPS, Cochran DW, Hageman EW, King JC, Orito K. 1976. General methods of synthesis of indole alkaloids.14. Short routes of construction of yohimboid and ajmalicinoid alkaloid systems and their <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectral analysis. *J Am Chem Soc.* 98(12):3645–3655.
- Wenkert E, Wickberg B. 1962. The stereochemistry of tetrahydroalstonine and related indole alkaloids. *Acta Chem Scan.* 36:607–611.

- World Health Organization, World Malaria Report. The “World Malaria Report 2019” at a Glance, WHO, Geneva, Switzerland, 2019. Available from, <http://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/world-malaria-report-2019> (Accessed on 3rd March, 2021)
- Wright, C.W., Recent developments in research on terrestrial plants used for the treatment of malaria. *Nat. Prod. Rep.*, 2010. **27**(7): p. 961-968
- Xiao X.B., Lin Y.X., Xu G.B., Gong X.B., Gu Y., Tong J.F., Yang J. 2011. Two new cytotoxic alkaloids from *Mappianthus iodoides* Hand.-Mazz, *Helv. Chim. Acta.* 94 : 1594–1599.
- Yessoufou K, Elansary HO, Mahmoud EA, Skalicka-Wozniak K. 2015. Antifungal, antibacterial and anticancer activities of *Ficus drupacea* L. stem bark extract and biologically active isolated compounds. *Ind Crops prod.* 74:752–758.
- Zeng J., Zhang D-B., Zhou P-P., Zhang Q-L., Zhao L., Chen J-J., and Gao K., 2017. Rauvomines A and B, Two Monoterpenoid Indole Alkaloids from *Rauvolfia vomitoria*. *OrgLett.* 19 :3998-4001.
- Zhan G., Miao R., Zhang F., Hao X., Zheng X., Zhang H., Zhang X., Guo Z., 2020. Monoterpene indole alkaloids with diverse skeletons from the stems of *Rauvolfia vomitoria* and their acetylcholinesterase inhibitory activities. *Phytochemistry.* 117 :112450.
- Zhang G.J., Feng H., Jiang H., Dai L.M., Liao H.B., Li N., Wang H.S., Pan Y.M., Liang D. 2018. Mappianines A-E, structurally diverse monoterpene indole alkaloids from *Mappianthus iodoides*, *Phytochemistry.* 145 : 68–76.
- Zirih G.N., Grellier P., Guédé-Guina F., Bodo B., Mambu L. 2005. Isolation, characterization and antiplasmodial activity of steroidal alkaloids from *Funtumia elastica* (Preuss) Stapf, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15 : 2637–2640.

## PUBLICATIONS



## Antiplasmodial activities of indole alkaloids from *Tabernaemontana penduliflora* K. Schum (Apocynaceae)

André Néhémie Bitombo<sup>a,c</sup>, Auguste Abouem A Zintchem<sup>a,b</sup>, Alex De Théodore Atchadé<sup>a</sup>, Norbert Mbabi Nyemeck II<sup>a</sup>, Dominique Serge Ngono Bikobo<sup>a,c,\*</sup>, Dieudonné Emmanuel Pegnyemb<sup>a</sup>, Christian G. Bochet<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Faculty of science, Department of Organic Chemistry, University of Yaoundé 1, Yaoundé, Cameroon

<sup>b</sup> Department of Chemistry, Higher Teacher's Training College, University of Yaoundé 1, Yaoundé, Cameroon

<sup>c</sup> Department of Chemie, Universität of Fribourg, Fribourg, Switzerland

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

*Tabernaemontana penduliflora*  
Apocynaceae  
 $\beta$ -carboline  
Monoterpene indole alkaloids  
Zwitterion salts  
Antiplasmodial activities

### ABSTRACT

Five undescribed carboxy-indole alkaloids with corynanthe skeleton, penduflorines A–E (1–3) as well as a voacangine-*N*-oxide alkaloid, tabernaemontine (4), were isolated along with eight other known compounds (5–12) from the trunk bark of *Tabernaemontana penduliflora* K. Schum (Apocynaceae). Their structures were determined by means of spectroscopic and spectrometric methods such as UV, IR, NMR and HR-ESI-MS. Antiplasmodial activities of new isolates were evaluated against two strains of *Plasmodium falciparum* 3D7 and Dd2 by the Sybr green I-based fluorescence assay setup. Those compounds showed good *in vitro* activities. Among them, penduflorines A and B (1a and 1b) as well as tabernaemontine (4) showed significant inhibitory activities against the two strains with IC<sub>50</sub> values ranged between 1.85 and 7.88  $\mu$ g/mL. This is the first report of quaternary-*N*-indole alkaloids (1a, 1b, 2, 3a, 3b and 4) occurring in the form of zwitterion from *Tabernaemontana* genus.

### 1. Introduction

Malaria is one of the major public health challenges undermining development in low incoming countries especially in Africa. The disease kills half a million people and sickens about 228 million individuals in more than 90 countries [1,2]. In addition, disease control is hampered by the lack of efficient vaccines and the resistance of *Plasmodium falciparum* to many agents belonging to the current therapeutic armamentarium against this disease. Hence, there is a pressing need for the discovery of novel molecular targets in light of the drug resistance phenomenon. Many plants with antimalarial activities have been reported in the literature, such as those belonging to Apocynaceae family [3–6]. In this context, searching for new compounds from Cameroonian medicinal plants could provide new leads to antimalarial drugs.

*Tabernaemontana penduliflora* K. Schum (Apocynaceae) formerly known as *Conopharyngia penduliflora* (K. Schum) Stapf is a glabrous shrub or small tree that grows in the forests of southern of Nigeria and Cameroon [7]. This species and others belonging to the same family have been used in native medicine to cure various ailments and infectious diseases [8]. One of its most interesting use in traditional medicine

concerns wound healing and treatment of sore eyes by its latex. Else, the decoction of the roots is said to be efficient against stomachache, flatulence, headache and as a hypnotic [9]. In an antimicrobial screening of 19 different *Tabernaemontana* species, it was found that the EtOH extracts of the root and stem barks of *T. penduliflora* showed strong activities against Gram-positive bacteria. Those results prompted a bioguided study of this species in order to identify the compounds inducing the said antimicrobial activities. In addition, various extracts showed significant activities against poliomyelitis and herpes simplex virus [9]. The roots of *T. penduliflora* are also used in the treatment of malaria [10]. Only the stem bark and the seeds have been previously chemically investigated: the monomeric alkaloids coronaridine, 10-hydroxycoronaridine and voacangine were isolated [11,12].

As part of a continuing program to determine structurally and/or biologically novel natural products from medicinal plants [8,9], we conducted a chemical investigation of the EtOH extract of trunk bark of *T. penduliflora*. We focused our study on alkaloids constituents of *T. penduliflora*. The phytochemical analysis of the MeOH extract led to the isolation of some new antiplasmodial compounds, penduflorines A–E (1–3). These compounds consisted of a mixture of inseparable and

\* Corresponding author at: Faculty of science, Department of Organic Chemistry, University of Yaoundé 1, Yaoundé, Cameroon.

E-mail address: [ngono\\_serge@yahoo.fr](mailto:ngono_serge@yahoo.fr) (D.S.N. Bikobo).

<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2021.104941>

Received 10 April 2021; Received in revised form 16 May 2021; Accepted 19 May 2021

Available online 23 May 2021

0367-326X/© 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.

indistinguishable isomeric pairs differing by the *N*-methyl orientation (**1a/1b** and **3a/3b**) at an approximate equal ratio as shown in Fig. 1. In this paper, the isolation, structure determination and antiplasmodial properties of compounds **1–4** are described.

## 2. Experimental

### 2.1. General experimental procedure

Optical rotations were recorded on a Perkin-Elmer 341 polarimeter.

UV absorption spectra were acquired on a PerkinElmer 650 spectrophotometer. FT-IR spectra were obtained on a FT-IR Tensor 27 spectrometer (Bruker). NMR spectra were recorded on a Bruker AM400 FTNMR spectrometer using TMS as an internal standard. ESI-MS and HRESI-MS were performed on a MicrOTOF-Q mass spectrometer (Bruker). Analytical TLC were performed on precoated silica gel plates 60F254 (1.05554.0001, Merck, Darmstadt, Germany); after spraying with Dragendorff's reagent, heating revealed the spots. CC were performed using silica gel (63–230 mesh, Merck, Darmstadt, Germany) and sephadex LH-20 (pharmacia Biotech, Sewden). All measurements were

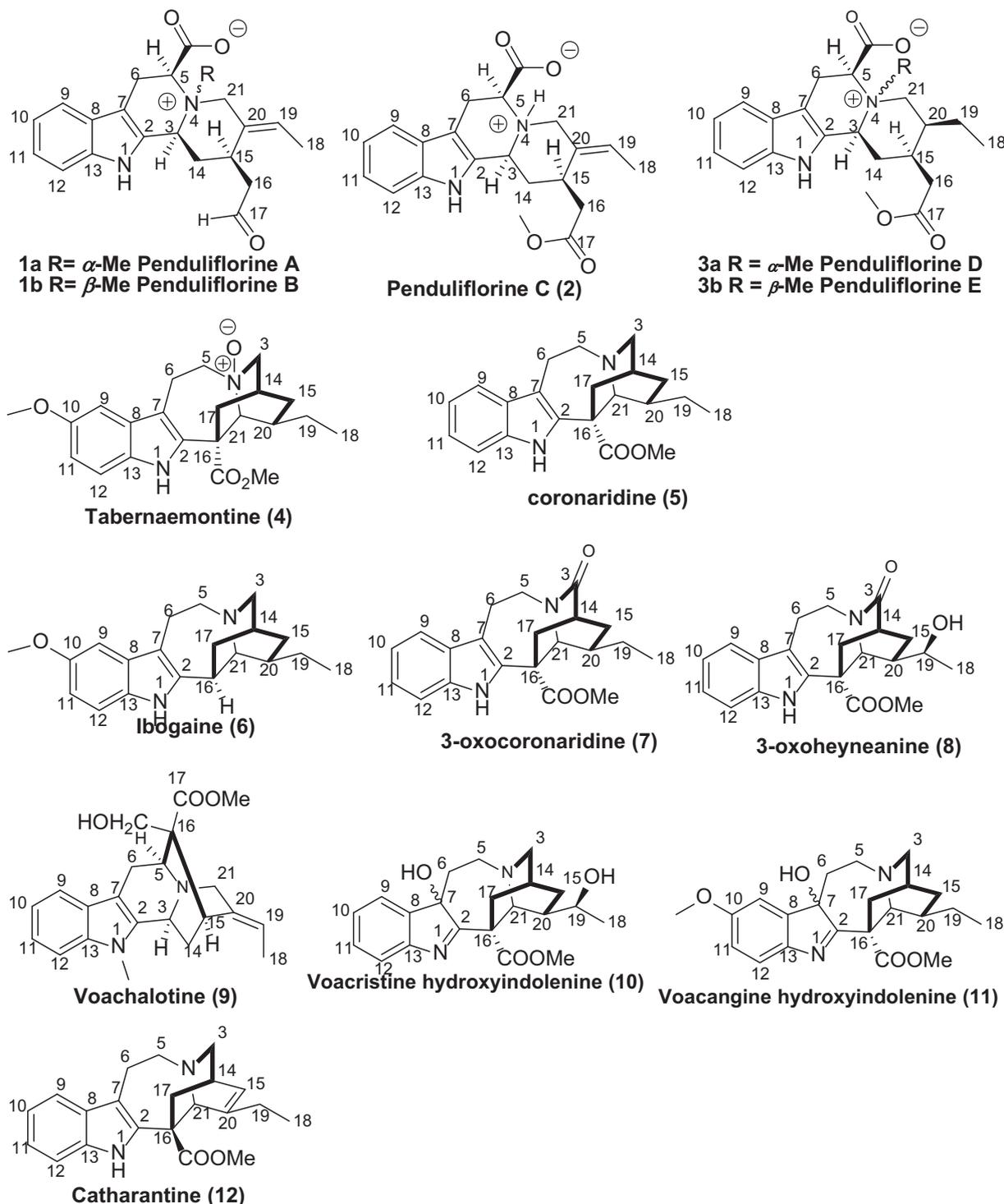


Fig. 1. Structures of compounds **1–12**.

made at the Department of Chemistry (Faculty of science and medicine, University of Fribourg, Switzerland).

### 2.1.1. Metabolites profiling by UHPLC-HRMS

Metabolite profiles of the TMR ethanol extract (1 mg/mL) were acquired using a UHPLC-DAD-CAD-LTQ Orbitrap XL instrument (Thermo Fisher Scientific) equipped with an electrospray ionization (ESI) source. The UHPLC system consisted of an Ultimate 3000 UHPLC (Thermo Fisher Scientific) equipped with an Acquity BEH C18 column (100 × 2.1 mm i.d., 1.7 μm; Waters). The mobile phase was composed of solvent A (0.1% formic acid-water) and solvent B (0.1% formic acid-acetonitrile) with a gradient elution (0–0.5 min, 95% A; 0.5–12 min, 95–5% A; 12–15 min, 5% A; 15–15.5 min, 5–95% A; 15.5–19 min, 95% A). The flow rate of the mobile phase was 0.45 mL/min. The injection volume was 4 μL and the column temperature was maintained at 40 °C. ESI was applied in negative ion (NI) and positive ion (PI) mode under the following conditions: capillary voltage at 3.0 and 4.2 kV for NI and PI, respectively, and capillary temperature at 300 °C. The UV detection was performed by a diode array detector from 210 to 400 nm. Full mass spectra were recorded between 100 and 1500 Da. Collision-induced dissociation mass spectra were obtained using the following parameters: 35% normalized collision energy, isolation width 2 Da, activation Q 0.250. External mass calibration was accomplished before starting the experiment [13].

## 2.2. Plant material

The trunk bark of *T. penduliflora* K. Schum (Apocynaceae) were collected at Ngath near Mbalmayo division in the Centre Region of Cameroon in June 2018 and identified by a botanist. A voucher specimen (N° 40,411 HCN) was deposited at the National Herbarium in Yaoundé, Cameroon.

## 2.3. Extraction and isolation

The powder of trunk *T. penduliflora* K. Schum (2.31 kg) were extracted three times with EtOH-H<sub>2</sub>O (3 × 10 L, 9:1, v/v) to give 87.5 g of brown residue after reduced pressure concentration. The dried EtOH extract were suspended in 300 mL of 5% HCl and extracted three times with *n*-hexane to take out the non-alkaloidal part. The pH of the acidic water soluble portion was adjusted to 9–10 with NH<sub>4</sub>OH, extracted four times with CHCl<sub>3</sub>. Reduced pressure concentration yielded 4.36 g of a crude alkaloidal extract. 3.86 g of this crude extract was submitted to a CC on silica gel (63–230 mesh) in a gradient elution of *n*-Hex/AcOEt/MeOH to afford four fractions (A–D). These fractions were purified using suitable size long cylindrical glass columns (120 cm × 2 cm) for 4 mL/min as flow rate. Fraction A (0.63 g) was further purified by a SiO<sub>2</sub> gel CC eluting with *n*-Hex/AcOEt (v/v 95: 5 to 70: 30) to give four sub-fractions (A1–A4). Subfraction A1 (30.3 mg) was purified by Sepadex LH-20 CC with MeOH to afford compound 1 (13.4 mg). Subfraction A3 (100.5 mg) was subjected to silica gel CC with a CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 98: 2 to 80: 20) to give compound 3 (20.3 mg). Fraction B (0.82 g) obtained from *n*-hexane/AcOEt (v/v 90: 10 to 80: 20) was chromatographed by silica gel CC using CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 95: 5 to 70: 30) to give five sub-fractions (B1–B5). Subfraction B3 (36.2 mg) was further separated by silica gel CC with a gradient of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 99: 1 to 95: 5) to give compound 10 (8.4 mg). Subfraction B5 (12.6 mg) was purified by repeated Sephadex LH-20 CC with MeOH to afford compound 4 (7.3 mg). Fraction C (0.37 g) was separated by Sephadex LH-20 CC with MeOH to give three sub-fractions (C1 – C3). Subfraction C2 (14.07 mg) was purified by Sephadex LH-20 CC with MeOH to afford compound 5 (6.8 mg). Subfraction C1 (82.3 mg) was subjected to silica gel CC with a CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 95: 5 to 80: 20) to give compound 6 (5.2 mg). Fraction D (0.75 g) obtained from *n*-hexane/AcOEt (v/v 75: 25 to 50: 50) was subjected to silica gel CC using CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v 90: 10 to 70: 30) to give six sub-fractions (D1 – D6). Subfraction D4 (112.3 mg) was then

subjected to silica gel CC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, v/v 98: 2 to 85: 15) to provide compounds 7 (6.7 mg) and 9 (8.5 mg). Subfraction D3 (17.6 mg) was purified by repeated Sephadex LH-20 CC with MeOH to afford compound 8 (7.3 mg). Compound 2 (8.4 mg), was isolated from subfraction D5 (96.6 mg) by successive silica gel CC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, v/v 98: 2 to 85: 15) and Sephadex LH-20 (MeOH).

### 2.3.1. Pendulflorines A and B [(1): 1a and 1b]

Brownish amorphous powder: [α<sub>D</sub><sup>25</sup>] -23.7 (CHCl<sub>3</sub>, c 0.07); UV (MeOH) λ<sub>max</sub> (log ε) 225 (4.31), 273 (4.25), 282 (3.83), 289 (3.60) nm; IR (KBr) ν<sub>max</sub> 3426, 2927, 1724, 1684, 1630, 1263, 1125 and 750 cm<sup>-1</sup>; for <sup>1</sup>H (400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (100 MHz) spectroscopic data (Chloroform-*d*<sub>1</sub>, see Tables 1 and 2; positive HRESIMS *m/z* 353.1924 [M + H]<sup>+</sup> (calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 353.1938).

### 2.3.2. Pendulflorine C (2)

Yellow amorphous powder: [α<sub>D</sub><sup>25</sup>] -14.4 (MeOH, c 0.02), UV(MeOH) λ<sub>max</sub>(log ε) 224 (4.65), 269 (4.30), 292 (3.72) nm; IR (KBr) ν<sub>max</sub> 3420, 2925, 1695, 1628, 1464, and 1287 cm<sup>-1</sup>; for <sup>1</sup>H (400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (100 MHz) spectroscopic data (Acetone-*d*<sub>6</sub>), see Tables 1 and 2; positive HRESIMS *m/z* 369.2202 [M + H]<sup>+</sup> (calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, 369.2218).

### 2.3.3. Pendulflorines D and E [(3): 3a and 3b]

White amorphous powder: [α<sub>D</sub><sup>25</sup>] -18.3 (CHCl<sub>3</sub>, c 0.01), UV(MeOH) λ<sub>max</sub>(log ε) 229 (4.65), 298 (3.81) nm; IR (KBr) ν<sub>max</sub> 3422, 2930, 1726,

**Table 1**

<sup>1</sup>H NMR spectroscopic data for compounds 1–3. (δ in ppm and *J* in Hz).

EL	δ <sub>H</sub> (1a)	δ <sub>H</sub> (1b)	δ <sub>H</sub> (2)	δ <sub>H</sub> (3a)	δ <sub>H</sub> (3b)
2	-	-	-	-	-
3	2.82 dd (8.5, 4.5)	2.82 dd (8.5, 4.5)	2.64 overlap	2.65-2.63 overlap	2.65-2.63 overlap
5	3.98 dd (10.4, 3.6)	3.97 dd (10.4, 3.6)	3.98 dd (10.4, 3.6)	4.04 d (10.4)	4.05 d (10.4)
6α	3.79-3.76 overlap	3.79-3.76 overlap	3.50 m	3.02 d (15.5)	3.02 d (15.5)
6β	3.40-3.42 m	3.42-3.40 m	3.26 m	2.98 d (13.8)	2.98 d (13.8)
7	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-
9	7.71 d (8.1)	7.71 d (8.1)	7.57 d (8.0)	7.51 d (8.0)	7.51 d (8.0)
10	7.15 dd (8.0, 6.8)	7.15 dd (8.0, 6.8)	7.01 dd (8.0, 7.5)	7.00 dd (8.0, 7.4)	7.00 dd (8.0, 7.4)
11	7.32 dd (8.4, 7.6)	7.32 dd (8.4, 7.6)	7.00 dd (8.4, 7.5)	7.00 dd (8.6, 7.4)	7.00 dd (8.6, 7.4)
12	7.36 d (8.4)	7.36 d (8.4)	7.15 d (8.4)	7.10 d (8.6)	7.10 d (8.6)
13	-	-	-	-	-
14α	3.79-3.76 overlap	3.79-3.76 overlap	2.53 overlap	1.71 overlap	1.71 overlap
14β	3.31-3.29 m	3.31-3.29 m	1.98. m	1.08 m	1.08 m
15	3.79-3.77 overlap	3.79-3.77 overlap	3.74 overlap	3.77-3.75 overlap	3.77-3.75 overlap
16α	3.27-3.25 m	3.27-3.25 m	2.64 overlap	2.55 d (15.7)	2.55 d (15.7)
16β	2.69 overlap	2.67 overlap	1.78 overlap	1.79 overlap	1.79 overlap
17	-	-	-	-	-
18	1.70 d (6.8)	1.70 d (6.8)	1.67 d (6.8)	0.89 t (7.1)	0.89 t (7.1)
19	5.47 q (6.5)	5.47 q (6.5)	5.28 q (6.5)	1.52 dt; 1.40 m	1.52 dt; 1.40 m
20	-	-	-	1.31-1.29 m	1.31-1.29 m
21α	3.80 d (14.0)	3.80 d (14.0)	3.68 overlap	3.80 d (14.0)	3.80 d (14.0)
21β	2.99 d (14.0)	2.99 d (14.0)	2.84 m	2.96 d (14.0)	2.96 d (14.0)
NCH <sub>3</sub>	2.59 s	2.64 s	-	2.61 s	2.50 s
OCH <sub>3</sub>	-	-	3.63 s	3.64 s	3.64 s
NH	9.40 s	9.40 s	9.29 s	7.76 s	7.76 s

Compounds 1a, 1b were recorded in CDCl<sub>3</sub>, 2 was recorded in Acetone-*d*<sub>6</sub> and 3a and 3b were recorded in Methanol-*d*<sub>4</sub>. <sup>1</sup>H NMR were recorded at 400 MHz.

**Table 2**<sup>13</sup>C NMR spectroscopic data for compounds **1–3**. ( $\delta$  in ppm).

Position	$\delta_C$ (1a)	$\delta_C$ (1b)	$\delta_C$ (2)	$\delta_C$ (3a)	$\delta_C$ (3b)
2	134.2	134.3	137.2	137.2	137.3
3	46.5	46.5	47.1	46.4	46.4
5	57.3	57.3	59.4	59.9	59.9
6	20.5	20.5	18.8	21.7	21.7
7	109.7	109.7	109.8	109.3	109.3
8	128.6	128.7	130.1	129.6	129.6
9	120.8	120.9	117.2	116.9	116.9
10	120.3	120.3	118.0	118.2	118.2
11	126.6	126.6	120.8	120.9	120.9
12	111.9	111.9	110.3	109.7	109.3
13	136.5	136.5	136.5	131.0	131.0
14	30.5	30.5	36.8	31.8	31.8
15	30.5	30.5	33.9	33.3	33.4
16	43.1	43.1	36.2	35.7	35.7
17	190.3	190.3	174.1	175.0	175.0
18	12.3	12.3	11.3	10.9	10.9
19	120.9	120.9	116.7	26.5	26.5
20	135.9	135.9	139.3	38.6	38.6
21	51.8	53.5	52.4	52.0	52.0
NCH <sub>3</sub>	42.3	50.4	-	41.1	49.5
COO-	171.3	171.3	170.6	171.1	171.1
OMe	-	-	51.7	51.8	51.8

Compounds **1a** and **1b** were recorded in CDCl<sub>3</sub>, **2** was recorded in Aceton-*d*<sub>6</sub> and **3a** and **3b** was recorded in Methanol-*d*<sub>4</sub>. <sup>13</sup>C NMR were recorded at 100 MHz.

1633, 1510 and 748 cm<sup>-1</sup>; for <sup>1</sup>H (400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (100 MHz) spectroscopic data (Methanol-*d*<sub>4</sub>), see Tables 1 and 2; positive HRESIMS *m/z* 385.2101 [M + H]<sup>+</sup> (calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, 385.2109, 385.2218).

#### 2.3.4. Tabernaemontine (**4**)

Brownish amorphous powder: [ $\alpha_D^{26}$ ] +41.5 (CHCl<sub>3</sub>, *c* 0.056), UV (MeOH)  $\lambda_{max}$ (log  $\epsilon$ ) 224 (4.41), 285 (3.95) nm and 300 (3.91) nm; IR (KBr)  $\nu_{max}$  3420, 2928, 1722, 1628, 1464, and 1287 cm<sup>-1</sup>; for <sup>1</sup>H (400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (100 MHz) spectroscopic data (Chloroform-*d*<sub>1</sub>), see Tables 1 and 2; positive HRESIMS *m/z* 385.2144 [M + H]<sup>+</sup> (calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, 385.2142).

#### 2.4. SYBR green I-based fluorescence assay

Drug sensitivity assay was carried out in 96-well microtitration plates using SYBR green I based fluorescence assay [14]. This assay is specifically based on the ability of SYBR green to give strong fluorescence only in the presence of parasite DNA during cell proliferation. The absence of nucleus in human red blood cells where the malarial parasite proliferates allows the use of SYBR green for the specific monitoring of the growth of malarial parasite. Sorbitol-synchronized ring stage parasites (haematocrit: 1%, parasitaemia: 2%, 90  $\mu$ L) under normal culture conditions were incubated in the presence of pre-diluted extracts, fractions, isolated compounds and reference drug (10  $\mu$ L) followed by the incubation at 37 °C for 72 h. After incubation, 100  $\mu$ L of SYBR Green I buffer [6  $\mu$ L of 10,000  $\times$  SYBR Green I (Invitrogen) + 600  $\mu$ L of Red Blood Cells lysis buffer {Tris (25 mM; pH 7.5)} + 360  $\mu$ L of EDTA (7.5 mM) + 19.2  $\mu$ L of parasites lysis solution {saponin (0.012%; wt/vol)} and 28.8  $\mu$ L of Triton X-100 (0.08%; vol/vol)} were added to each well, mixed twice gently with multi-channel pipette and incubated in the dark at 37 °C for 1 h. Fluorescence was measured using a TECAN M 200 Microplate reader with excitation and emission at 485 and 538 nm, respectively. The fluorescence counts were plotted against the logarithm of sample concentration and the 50% inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) was determined by analysis of dose–response curves using GraphPad Prism 5. Experiments were done in duplicate.

##### 2.4.1. *P. falciparum* growth inhibition assay

###### 2.4.1.1. In vitro cultivation of *Plasmodium falciparum*. The Chloroquine-

sensitive (*Pf*3D7-(MRA-102)) and Chloroquine-resistant (*Pf*Dd2) of *Plasmodium falciparum* strains were cultured in fresh O<sup>+</sup> human red blood cells at 4% haematocrit in complete RPMI 1640 medium [500 mL RPMI 1640 (Gibco, UK) supplemented with 25 mM HEPES (Gibco, UK), 0.50% Albumax I (Gibco, USA), 1  $\times$  hypoxanthine (Gibco, USA) and 50 mg/mL gentamicin (Gibco, China)] and incubated at 37 °C in a humidified atmosphere with 5% CO<sub>2</sub>. The medium was replaced with fresh complete medium daily to propagate the culture. Giemsa-stained thin blood smears were examined microscopically under immersion oil to monitor cell-cycle transition and parasitaemia evolution.

**2.4.1.2. Synchronization of parasite culture.** Before each experiment, synchronized ring stage parasite was obtained by 5% sorbitol (*w/v*) treatment in respect to [15]. It is important to note that, the use of synchronized cultures over mixed stage cultures can enable the test molecules to interact with all the three stages (ring, trophozoite and schizont) of the 48 h long life cycle of *P. falciparum* in culture. Moreover, starting the experiment with synchronized ring stage culture provides the distinct advantage of observing growth inhibitory effects without a rise in parasitemia during the ring-trophozoite-schizont transitions.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Isolation of compounds

The dried trunk bark of *T. penduliflora* were extracted with 90% EtOH under reduced pressure to yield the EtOH extract, which was suspended in 5% HCl and extracted with n-hexane, and the residual part was adjusted with NH<sub>4</sub>OH, and extracted with CHCl<sub>3</sub> to yield crude alkaloidal extract. Chemical analysis of this latter was performed using repeated CC and LC coupled with HRMS. The analysis led to the isolation of six new alkaloids (**1–4**). Among them, two were obtained as inseparable mixture: compounds **1** and **3** occurring as pairs resulted in only one peak in UHPLC (Fig. S1, Supplementary data) performed using Acquity BEH C18 column.

#### 3.2. Structure elucidation

Compound **1** was obtained as a brownish amorphous powder revealed by a single peak in the UHPLC profile (Fig. 2). It gave a positive Dragendorff reagent test. However, two sets of *N*-methyl signals with the same heights in the <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectrum suggested that **1** was a mixture of two inseparable components, **1a** and **1b**, occurring in an approximate equal ratio. Thus, extensive spectroscopic analyses were carried to determine the structure of these two inseparable compounds. The absorption peaks in the IR spectrum of **1** suggested the presence of hydroxyl (3426 cm<sup>-1</sup>) and conjugated carbonyl (1684 cm<sup>-1</sup>) groups and its UV spectrum revealed absorption bands at 222.6, 283.0, and 290.0 nm, suggesting an indole chromophore [16,17]. The ESI–MS spectrum of **1** contained an ion peak at *m/z* 353.1 [M + H]<sup>+</sup>; the molecular formula was determined to be C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> according to HR-EI-MS (*m/z* 353.1924 (calcd for C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 353.1938), suggestive of similar molecular composition of both **1a** and **1b**.

The <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra of **1a** (Table 1) displayed characteristic signals for a monoterpene indole alkaloid (MIA), including those for an unsubstituted phenyl ring of indole chromophore [ $\delta_H$  7.71 (d, *J* = 8.1 Hz, H–9), 7.36 (d, *J* = 8.4 Hz, H–12), 7.32 (dd, *J* = 8.4; 7.6 Hz, H–11) and 7.15 (dd, *J* = 8.0; 6.8 Hz, H–10);  $\delta_C$  136.5 (C–13), 134.2 (C–2), 128.6 (C–8), 126.6 (C–11), 120.8 (C–9), 120.3 (C–10), 111.9 (C–12), 109.7 (C–7)], two carbonyl groups ( $\delta_C$  190.3 and 171.3), one set of olefinic bond [ $\delta_H$  5.47 (q, *J* = 6.5 Hz, H–19);  $\delta_C$  135.9, 120.9], one indole proton ( $\delta_H$  9.40, s), three methines [ $\delta_H$  3.98 (1H, dd, *J* = 10.4; 3.6 Hz, H–5), 2.82 (1H, dd, *J* = 8.5; 4.5 Hz, H–3), 3.77 (1H, overlapped, H–15)];  $\delta_C$  57.3, 46.5, 30.5], four methylenes [ $\delta_H$  3.80 (1H, d, *J* = 14.0, 7.6 Hz, H–21 $\alpha$ ), 3.76 (2H, overlapped, H–6 $\alpha$  and H–14 $\alpha$ ), 3.40 (1H, m, H–6 $\beta$ ),

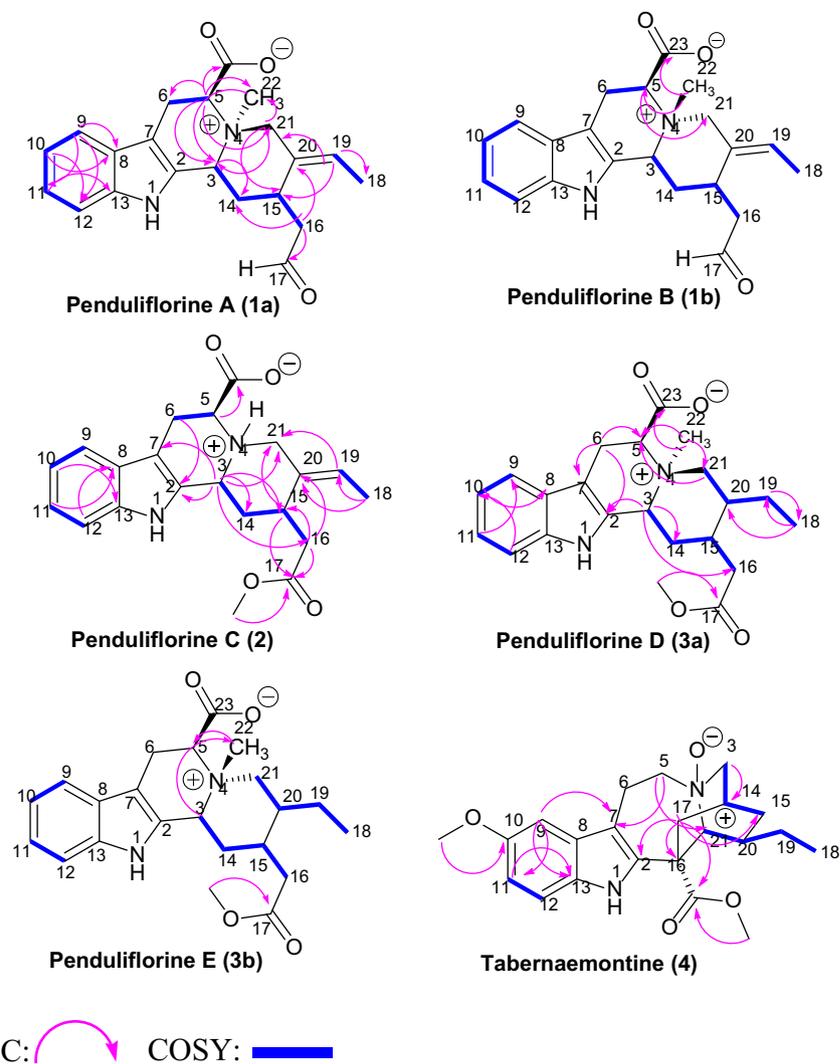


Fig. 2. . Key HMBC and COSY correlations of 1–4.

3.31 (1H, m, H-14 $\beta$ ), 3.27 (1H, m, H-16 $\alpha$ ), 2.99 (1H, d,  $J$  = 14.0 Hz, H-21 $\beta$ ), 2.69 (1H, overlapped, H-16 $\beta$ );  $\delta_C$  51.8, 43.1, 30.5, 20.5] and two methyl groups characterized by a vinylic methyl and an *N*-methyl at  $\delta_H$  1.70 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz, H-18) and 2.59 (3H, s) at  $\delta_C$  12.3 and 42.3 respectively were also indexed. The  $^1H$ - $^1H$  COSY (Fig. 2) and HSQC correlations induced the bonds between C-5/C-6 (-CH-CH $_2$ -), C-3/C-14/C-15/C-20/C-19 (-CH-CH $_2$ -CH-C=CH-), C-18/C-19/C-20 (CH $_3$ -CH=C-) and C-15/C-16 (-CH-CH $_2$ -) fragments. Detailed HMBCs (Fig. 2) analysis confirmed the planar structure of **1a** as shown in Fig. 3. Based on reports from the literature, the NMR data of **1a** (Tables 1 and 2) were similar to those of geissoschizol [18], differing mainly in the substructures of rings C and D with additional signals for one carboxyl group attached at C-5 ( $\delta_C$  171.3), one aldehyde group at C-17 ( $\delta_C$  190.3) and an *N*-methyl signal ( $\delta_H$  2.59/  $\delta_C$  42.3). This assertion was verified by the HMBC correlations from H-21 ( $\delta_H$  3.80 and 2.99) to C-22 ( $\delta_C$  42.3)/ C-3 ( $\delta_C$  46.5)/ C-15 ( $\delta_C$  30.5)/ C-5 ( $\delta_C$  57.3)/ C-20 ( $\delta_C$  135.9)/ C-19 (120.9); H-22 ( $\delta_H$  2.59) to C-3 ( $\delta_C$  46.5)/ C-5 ( $\delta_C$  57.3)/ C-21 ( $\delta_C$  51.8); H-5 ( $\delta_H$  3.98) to C-23 ( $\delta_C$  171.3)/ C-21 ( $\delta_C$  51.8)/ C-3 ( $\delta_C$  46.5)/ C-14 ( $\delta_C$  30.5)/ C-6 ( $\delta_C$  20.5); H-16 ( $\delta_H$  3.27 and 2.69) to C-20 ( $\delta_C$  135.9)/ C-17 ( $\delta_C$  190.3)/ C-14 ( $\delta_C$  30.5) and H-3 ( $\delta_H$  2.82) to C-5 ( $\delta_C$  57.3)/ C-22 ( $\delta_C$  42.3)/ C-14 ( $\delta_C$  30.5), confirming the above structural features and functional groups (C(5)-CO $_2$  and C(15)-CH $_2$ -CHO groups) (Fig. 2) as well as showing a  $\beta$ -carboline moiety characteristic signals [19]. Moreover, a noticeable downfield shift of H-5 and H-21 in comparison

with 17-*O*-acetyl-10-hydroxycorynantheol [ $\delta_H$  3.98 (H-5) and 2.99/ 3.80 (H-21) for **1a**;  $\delta_H$  2.62/3.09 (H-5) and 2.29/2.97 (H-21) for 17-*O*-acetyl-10-hydroxycorynantheol] was observed [21], indicating a possible quaternary ammonium in **1a**. In the ROESY spectrum, the correlations of H-3 ( $\delta_H$  2.82)/H-5 ( $\delta_H$  3.98) and H-22 ( $\delta_H$  2.59)/ H-3/ H-5/H-15 suggested that they were on the same side and arbitrarily assigned to be  $\alpha$  oriented [22] and this was consistent with reports from most MIAs [23]. Thus, the stereochemistry of **1a** was established as 3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ , 15 $\alpha$ , 22 $\alpha$  (Fig. 3). Additionally, the chemical shifts at C-3 ( $\delta_C$  46.5) and the *N*-methyl group ( $\delta_C$  42.3) were very closed to those reported for *cis*-*N*-methylquinolizidinium moieties with chemical shifts at  $\delta_C$  49.6 and 48.9 [24,25]. Based on the above analysis, compound **1a** was deduced as a zwitterion, supported by the evidences of the significant downfield chemical shifts at H-5, and H-21 in comparison to an analog, adirubine [23]. Moreover, the chemical shift of the *N*-methyl group was in accordance with a *cis*-C/D ring junction [26] known as the most stable conformation [27]. According to the aforementioned informations, **1a** appears as 5 $\beta$ -carboxycorynantheol derivative (Scheme S1, Supplementary data). Furthermore, the ROESY correlation of H-19 ( $\delta_H$  5.47) / H-21 ( $\delta_H$  3.83 and 2.99) implied an *E*-configured  $\Delta^{19(20)}$  double bond. Thus, **1a** was assigned as penduliflorine A, shown in Fig. 1.

The  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR data of both **1a** and **1b** are almost indistinguishable except a slight difference in the chemical shifts occurring on *N*-CH $_3$ , suggesting that **1b** might be an *N*-methyl epimer of **1a**. This was

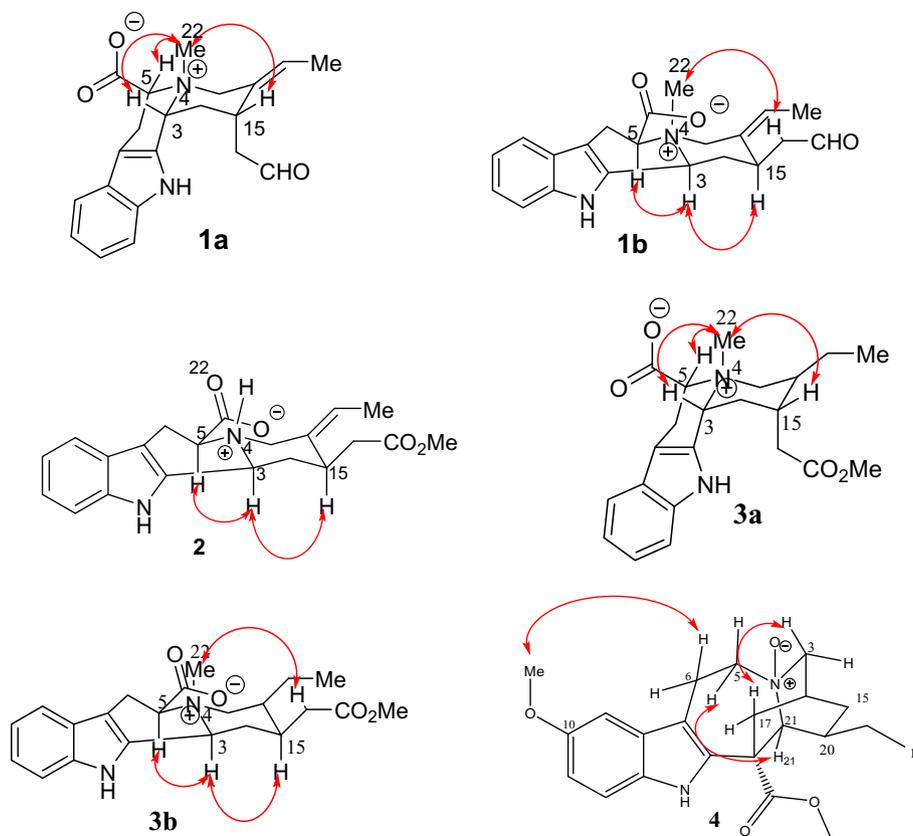


Fig. 3. Key ROESY correlations of 1–4.

confirmed and verified by the ROESY spectrum (Fig. 3). The absence of correlations of H-22 ( $\delta_{\text{H}}$  2.64) with the other protons belonging to stereocenters C-3, C-5 and C-15 already described for **1a** revealed that the *N*-methyl group must adopt a  $\beta$ -configuration with H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  2.82) and both being diaxial [28]. Surprisingly, the methine protons located at the  $\alpha$  position being in relation with the quaternary nitrogen of piperidine moiety, proved to be incompatible with the constraints expected for  $\delta_{\text{C}}$  in these structure conditions [29]: we can assume that the slight difference and/or indistinguishable values of the NMR data, compared with other analogues could be explained by their zwitterionic forms [30,31]. Furthermore, the HMBC correlations from H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  2.82) to C-22 ( $\delta_{\text{C}}$  50.4) and from H-22 ( $\delta_{\text{H}}$  2.64) to C-5/C-23 definitely secured the structure of **1b**. Additionally, the downfield shift of the latter at  $\delta_{\text{C}}$  50.4 (C-22) ppm should be due to the anisotropy of the carboxylic functional group compared to those reported for *trans*-*N*-methylquinolizidinium derivatives ( $\delta_{\text{C}} \sim 38.7$ ) [32]. All these informations were consistent with those reported from *trans*-C/D ring junction [33]. Moreover, the analysis indicated the stereochemistry as  $3\alpha$ ,  $5\alpha$ ,  $15\alpha$ ,  $22\beta$  for protons of stereocenters and *N*-methyl of **1b** [26,34]. The structure of alkaloid **1b** was thereby characterized as an *N* (4)-methylpiperidine epimer analog of **1a**; therefore, penduflorine B was deduced from **1b** as shown in Fig. 1.

Compound **2** was isolated as a yellow amorphous powder and gave a positive Dragendorff reagent test. Its molecular formula was determined as  $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4$ , based on positive ESI-MS and HR-ESI-MS ( $[\text{M} + \text{H}]^+$  at  $m/z$  369.1 and 369.2202 (calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4$ , 369.2218) respectively, indicating eleven degrees of unsaturation. Its IR spectrum showed bands at 1724 and 1625  $\text{cm}^{-1}$  due to the presence of carbonyl groups, while the UV spectrum displayed maxima at 206, 274 and 311 nm, suggesting the presence of an indole chromophore group [35]. The  $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopic data of **2** indicated presence of a 1,2-disubstituted phenyl ring [ $\delta_{\text{H}}$  7.57 (d,  $J = 8.0$  Hz, H-9), 7.01 (dd,  $J = 8.0, 7.5$  Hz, H-11), 7.00 (dd,  $J = 8.4, 7.5$  Hz, H-10), and 7.15 (d,  $J = 8.4$  Hz, H-12);

$\delta_{\text{C}}$  137.2 (C-2), 136.5 (C-13), 130.1 (C-8), 120.8 (C-11), 118.0 (C-10), 117.2 (C-9), 110.3 (C-12), 109.8 (C-7)] (Table 1), one set of olefinic bond [ $\delta_{\text{H}}$  5.28 (q,  $J = 6.5$  Hz, H-19);  $\delta_{\text{C}}$  139.3, 116.7], two carbonyl groups ( $\delta_{\text{C}}$  174.2 and 170.6), one indole proton ( $\delta_{\text{H}}$  9.29, s), three methines [ $\delta_{\text{H}}$  3.98 (1H, dd,  $J = 10.4; 3.6$  Hz, H-5), 3.74 (1H, m, H-15), 2.64 (1H, overlapped, H-3);  $\delta_{\text{C}}$  59.4, 47.1, 33.9], four methylenes [ $\delta_{\text{H}}$  3.68 (1H, overlapped, H-21 $\alpha$ ), 3.50 (1H, overlapped, H-6 $\alpha$ ), 3.26 (1H, m, H-6 $\beta$ ), 2.84 (1H, m, H-21 $\beta$ ), 2.64 (1H, overlapped, H-16  $\alpha$ ), 0.53 (1H, overlapped, H-14 $\alpha$ ), 1.98 (1H, m, H-14 $\beta$ ), 1.78 (1H, overlapped, H-16 $\beta$ );  $\delta_{\text{C}}$  52.4, 36.8, 36.2, 18.8], one methoxyl group [ $\delta_{\text{H}}$  3.63 (3H, s);  $\delta_{\text{C}}$  51.7] and one vinylic methyl [ $\delta_{\text{H}}$  1.67 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-18);  $\delta_{\text{C}}$  11.3] respectively. The above spectroscopic data analysis were closely comparable to those of **1** [18], the only difference arising from the substituted group at C-17 with the replacement of the aldehyde function by an ester group in **2**. This was further supported by the HMBC correlations from H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  3.74), to C-20 ( $\delta_{\text{C}}$  139.3)/ C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  47.1)/ C-21 ( $\delta_{\text{C}}$  52.4); H-16 ( $\delta_{\text{H}}$  2.64), to C-17 ( $\delta_{\text{C}}$  174.1)/ C-20 ( $\delta_{\text{C}}$  139.3)/ C-15 ( $\delta_{\text{C}}$  33.9) and OMe ( $\delta_{\text{H}}$  3.65) to C-17 ( $\delta_{\text{C}}$  174.2) (Fig. 2), suggesting that there was a methoxycarbonyl group at C-16. In addition, the carboxyl group was located at C-5 as deduced for **1**, with H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  3.98) and C-23 ( $\delta_{\text{C}}$  170.6). Detailed analysis of the 2D additional NMR spectra confirmed that the other parts of **2** were closed to those of **1**, except for carbons C-15 and C-14 with a downfield shift ( $\delta_{\text{C}}$  33.9 and 36.8) resulting from the presence of an ester group in **2**. Then, the structure of alkaloid **2** was thereby characterized as the 15-methylenecarbomethoxy analog of **1**. Accordingly, **2** was established as penduflorine C as shown in Fig. 1.

Analysis of the  $^1\text{H}$  NMR data and  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectra of **3** provided two sets of *N*-methyl signals with a 1:1 ratio intensity, suggesting that isomeric relationship between the two compounds in **3** was similar to the one of both **1a** and **1b** as shown in Fig. 1. **3** was obtained as a white amorphous powder and also gave positive Dragendorff reagent test. The molecular formula of  $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_4$  was deduced by HRESI-MS ( $[\text{M} + \text{H}]^+$

at  $m/z$  385.2101 (calcd for  $C_{22}H_{29}N_2O_4$ , 385.2109). Its 1D NMR and HSQC spectroscopic data indicated the presence of an *ortho*-disubstituted phenyl ring, one tetrasubstituted double bond ( $\delta_C$  137.2 and 109.3), two carbonyl groups ( $\delta_C$  175.0 and 171.1), two methyls, five methylenes among which a particular one belonging to an ethyl group ( $-CH_2CH_3$ ) instead of the vinyl derivative group ( $-C=CH-CH_3$ ) displayed by **2**, eight methines and one methyl ester, respectively (Table 2). Its NMR data (Tables 1 and 2) were closely comparable to those of adirubine [23], except for additional signals of one methylene at C-16 ( $\delta_H$  2.55 and 1.79/  $\delta_C$  35.7) and the occurrence of two sets of methyl signals ( $\delta_H$  2.61 and 2.50/  $\delta_C$  41.1 and 49.5), suggesting that **3** was an *N* (4)-methylated mixture derived from **2**. Thus, compound **3** was deduced to be a dihydrogenated derivative of **2**, and the gross structure was further secured by 2D NMR data, including  $^1H$ - $^1H$  COSY, HSQC, HMBC, and ROESY.

For compound **3a**, HMBC correlations from H-6 ( $\delta_H$  3.02 and 2.98)/H-21 ( $\delta_H$  3.80 and 2.96) to C-5 ( $\delta_C$  59.9); H-22 ( $\delta_H$  2.61) to C-5 ( $\delta_C$  59.9)/C-21 ( $\delta_C$  52.0)/C-23 ( $\delta_C$  171.1); H-3 ( $\delta_H$  2.65) to C-23 ( $\delta_C$  171.1) strengthened the occurrence of a 5 $\beta$ -carboxy alkaloid displaying a corynane skeleton as described for **1** [16]. Moreover, an ethyl group resulting from the hydrogenation of double bond in **2** was noticeable through the  $^1H$ - $^1H$  COSY experiment between H-18 ( $\delta_H$  0.89) and H-19 ( $\delta_H$  1.40; 1.52) as mentioned above. In the ROESY spectrum, the correlations of H-3 ( $\delta_H$  2.65)/H-5 ( $\delta_H$  4.04) and H-22 ( $\delta_H$  2.61)/H-15 ( $\delta_H$  3.77), suggested that they were  $\alpha$  oriented [22] (Fig. 3). Thus, the stereochemistry of **3a** was established as 3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ , 15 $\alpha$ , 22 $\alpha$ . Additionally, the chemical shifts for C-3 ( $\delta_C$  46.4) and the *N*-methyl group ( $\delta_C$  41.1) were much closed to **1a** and from those reported for *cis-N*-methyl-quinolizidinium moieties [24,25]. Compound **3a** was also deduced as a zwitterion, supported by the evidences of the downfield chemical shifts at H-3, H-5, and H-22 compared to **1** and **2** (Fig. 1). Therefore, the structure of **3a** was established, and named pendufloirine D.

The ROESY spectrum of **3a** and **3b** (Fig. 3) were used to confirm the *trans* and *cis* junctions of the B/C rings and their corresponding conformations. As we assumed the spatial proximity of H-21 with H-15 and H-3 for **3a**, the evidence of its absence appeared in **3b**. These data could support the configuration 3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ , 15 $\alpha$ , 22 $\beta$  for protons of stereocenters and *N*-methyl (**3b**). It was emphasized by the downfield shift at *N*(4)-methyl in the said epimer ( $\delta_H$  2.50 /  $\delta_C$  49.5) compared to **3a** ( $\delta_H$  2.61/  $\delta_C$  41.1) and the aforesaid ROESY absence. It agrees with earlier findings which showed that *N*-methyl peaks of *trans* quinolizidinium salts are found at stronger fields than those of *cis*-isomers [26,34]. For instance, as we mentioned above, the *N*-methyl group is strongly deshielded by the presence of a carboxylic functional group located in the same side. Therefore, it was possible to deduce that the two compounds **3a** and **3b** differ only in the stereochemistry of the quaternary nitrogen. The structure of alkaloid **3b** was thereby characterized as an *N*(4)-methyl-adirubine derivative, named pendufloirine E.

Compound **4** was determined to be a monomeric MIA based on its NMR, MS data and positive Dragendorff reagent test. It was obtained as a brownish amorphous powder. Its molecular formula was deduced as  $C_{22}H_{29}N_2O_4$  by HRESI-MS ( $[M + H]^+$  at  $m/z$  385.2144 (calcd for  $C_{22}H_{29}N_2O_4$ , 385.2142). Moreover, the fragment  $[M + H - 16]^+$  at 369.1 in ESI-MS was attributed to the loss of an oxygen atom by the thermal decomposition from an *N*-oxide group [36]. The UV spectrum showed maxima at  $\lambda_{max}$  224, 285 and 300 nm characterizing a monoindole nucleus [37]. The DEPT and  $^{13}C$  NMR spectra of **4** indicated 22 carbon signals assigned to one methyl ( $\delta_C$  11.7), six methylenes ( $\delta_C$  22.8, 27.2, 31.9, 36.5, 53.2 and 60.4), six methines ( $\delta_C$  29.4, 39.1, 57.5, 100.7, 111.2 and 111.9), two methoxy groups ( $\delta_C$  52.6 and 56.0) and seven quaternary carbons ( $\delta_C$  54.9, 109.8, 129.0, 130.7, 137.5, and 154.2) among which, one carbonyl carbon atom ( $\delta_C$  175.7). The NMR data for **4** (Tables 3 and 4) were strikingly similar to those of voacangine [38], with the exception of the presence of downfield  $sp^3$  methylene resonances at C-3 ( $\delta_C$  60.4) and C-5 ( $\delta_C$  53.2) in comparison with the same site in voacangine [C-3 ( $\delta_C$  ~ 53.4) and C-5 ( $\delta_C$  ~ 50.2)]; obviously, the

**Table 3** $^1H$  NMR spectroscopic data for compound **4**. ( $\delta$  in ppm and *J* in Hz).

Position	$\delta_H$ (4)
2	-
3	4.13 q (14.0, 6.8)
5 $\alpha$	3.45 d (6.7)
5 $\beta$	3.23 dd (11.7, 5.3)
6 $\alpha$	1.76 d (9.1)
6 $\beta$	1.31 overlap
7	-
8	-
9	6.94 d (2.4)
10	-
11	6.84 dd (8.7, 2.4)
12	7.16 d (8.7)
13	-
14	1.28 overlap
15 $\alpha$	1.75 m
15 $\beta$	1.29 overlap
16	-
17 $\alpha$	2.61 m
17 $\beta$	1.94 overlap
18	0.91 t (6.4)
19 $\alpha$	1.91 overlap
19 $\beta$	1.32 overlap
20	2.07 m
21	3.63 s
COOCH <sub>3</sub>	3.72 s
OCH <sub>3</sub>	3.85 s

Compound **4** was recorded in CDCl<sub>3</sub>.  $^1H$  NMR were recorded at 400 MHz.

**Table 4** $^{13}C$  NMR spectroscopic data for compound **4**. ( $\delta$  in ppm).

Position	4
2	137.5 <sup>a</sup>
3	60.4
5	53.2
6	22.8
7	109.8 <sup>a</sup>
8	129.0
9	100.7
10	154.2
11	111.9
12	111.2
13	130.7
14	29.4
15	31.9
16	54.9 <sup>a</sup>
17	36.5
18	11.7
19	27.2
20	39.1
21	57.5
COOCH <sub>3</sub>	175.7 <sup>a</sup>
COOCH <sub>3</sub>	52.6
OCH <sub>3</sub>	56.0

Compound **4** was recorded in CDCl<sub>3</sub>.  $^{13}C$  NMR were recorded at 100 MHz.

<sup>a</sup> Obtained from the HMBC spectrum.

presence of *N*-oxide induces deshielding of related carbons (C-3 and C-5) around 7.0 and 3.0 ppm respectively and oddly, no change of C-21 resonance shift ( $\delta_C$  57.5) which is very closed to the one in voacangine. The chemical shifts of the carbons C-14, C-16, C-17, C-20 and C-21, also closed to those reported by Pereira et al. [39] as well as ROESY experiment, clearly confirmed the configuration of all stereogenic centers for compound **4**. These data as well as its molecular formula suggested that compound **4** was the *N*(4)-oxide derivative of voacangine.

Based on critical spectroscopic studies, the structure of compound **4** was established as voacangine-*N*-oxide and was designated as tabernaemontine as shown in Fig. 1.

In addition, eight known indole alkaloids were obtained and identified as coronaridine (**5**) [40], ibogaine (**6**) [41], 3-oxocoronaridine (**7**) [42], 3-oxoheyneanine (**8**) [8], voachalotine (**9**) [39], voacristine hydroxyindolenine (**10**) [43], voacangine hydroxyindolenine (**11**) [44] and catharanthine (**12**) [45] respectively, based on their physical and spectroscopic data and by comparison with literature data (See Fig. 1).

Alkaloids are the most important secondary metabolites in the genus *Tabernaemontana*; they are mainly classified into eight classes, according to structural characteristics: (1) vincosane (D type); (2) corynanthean (C type); (3) vallesiachotamine (V type); (4) strychnan (S type); (5) aspido-spermatan (A type); (6) plumeran (P type); (7) eburnan (E type) and (8) ibogan (I type). Interestingly, most alkaloids isolated from this study disclose a C-22 carboxyl group and they are closed to adirubine, a MIA, except that they possess an ethylidene side chain (**1a**, **1b**, **2**) and an *N*-methyl group as usambarensine. As an evidence, ibogan type was the major chemical constituent in this study; this is the first report of zwitterionic MIAs bearing free C-22 carboxyl group and *N*-methylated piperidine moieties in their skeleton from this genus (adirubine-type metho-salt) occurring mainly as indistinguishable epimeric pairs. This was unprecedented MIA. Most of known alkaloids were reported from other genera [16,39,46]. Additionally, by detailed comparison of the NMR data of **1–4** with those reported in the literature, we can conclude that zwitterionic form generally can induce slightly or not the values of the <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR data for adjacent substituents as well as the anisotropic cone of free carboxyl induces notably downfield shift for almost carbon atoms oriented on its side. This is confirmed by the structure of **1b** and **3b** in which the *N*-Methyl group is strongly deshielded by the carboxylic group so that the methyl protons exhibit a low frequency resonance compared to their usual values.

The *in vitro* antiplasmodial activities of compounds **1–4** were assessed against *Plasmodium falciparum* (CQS and CQR) with artemisinin as the positive control. Most MIAs already evaluated present relatively good antiplasmodial IC<sub>50</sub> around 10 μM. This is exemplified by a recent study by Cao et al. highlighting corynanthe type alkaloids as promising antimalarial with IC<sub>50</sub> values ranged from 5.5 to 11.2 μM against a panel of *Plasmodium falciparum* strains (2011). However, related alkaloids isolated from *Corynanthe pachyceras* showed no significant *in vitro* antiplasmodial activity [47].

*In vitro* activities of **1–4** against *Plasmodium falciparum* 3D7 and Dd2 strains showed IC<sub>50</sub> values ranged from 1.85 to 26.69 μg/mL respectively. Among the corynanthe derivatives, compound **1** exhibited potent antiplasmodial activity against the two strains 3D7 and Dd2 with an IC<sub>50</sub> of 7.88 and 5.32 μg/mL respectively (Table 5). Compounds **2** and **3** exhibited *in vitro* IC<sub>50</sub> ranged between 15.71 and 26.69 and 14.41–15.87 μg/mL against both strains respectively. These two compounds were 2–5 times less active than compound **1** which has an aldehyde functional group instead of an ester group at the C-16 position. Based on the analysis of the results of the experiment, we suggest that the aldehyde group might be decisive in the improvement of the antiplasmodial activity of corynanthe derivatives.

The activity of coronaridine alkaloid derivative was influenced by the type of the quaternary nitrogen atom, the nature and the size of the substituents at the C-10 position, and the type of *O*-alkyl substituents on ring A [48]. By comparison, the activity of quaternary coronaridium salts with a substituted aromatic ring A such as compound **4** was higher than those of hydro and/or metho-salt zwitterionic compounds; both *N*-oxide and the methoxyle substituent at C-10 might exert a positive effect on the antiplasmodial activity and therefore enhance its activity against *P. falciparum* strains Dd2 and 3D7 with IC<sub>50</sub> values of 1.85 and 1.87 μg/mL respectively as demonstrated by previous works [21,48,49]. This study has shown that phytochemical investigation of plants utilized in traditional medicine can yield the identification of compounds apparently inducing the activity ascribed to their indigenous use.

**Table 5**  
Antiplasmodial activity of *T. penduliflora* alkaloids and related compounds.

Compound	IC <sub>50</sub> (μg/mL) <sup>a</sup>	
	3D7	Dd2
<b>1</b> <sup>a</sup>	7.88 ± 0.40	5.32 ± 0.20
<b>2</b>	26.69 ± 0.24	15.71 ± 0.14
<b>3</b>	15.87 ± 0.08	14.14 ± 0.09
<b>4</b>	1.87 ± 0.07	1.85 ± 0.05
<b>Crude extract</b>	18.46 ± 0.21	15.16 ± 0.14
Artemisin <sup>b</sup> (nM)	23.73 ± 0.24	17.76 ± 0.25
Chloroquine <sup>b</sup> (nM)	21.65 ± 0.25	272.2 ± 0.02

<sup>a</sup> Compounds **1**, **2**, **3**, and **4** were active against all strains tested (IC<sub>50</sub> < 50 μg/mL).

<sup>b</sup> Positive control.

For a better understanding of the origin of compounds **1**, **2** and **3**, a plausible biogenetic origin of this derivative could be traced back to 5β-carboxytetrahydroalstonine as intermediate (Scheme S1, Supplementary data). From a biogenetic or synthetic point of view, the generation of these compounds can be well interpreted from the opening and rearrangement of *E*-ring of precursor.

#### 4. Conclusion

Six new zwitterionic MIAs, pendulflorines (A–E) (**1–3**) and tabernaemontine (**4**), along with eight known alkaloids, were isolated from the trunk barks of *Tabernaemontana penduliflora*. All the compounds, including the MIA with free C-5β carboxy group and the coronaridine *N*-oxide, were proved to be naturally coexisting in the plant as reported in several research papers. This is the first report of quaternary-*N*-indole alkaloids occurring in the form of zwitterion from this species, despite the alkaloids of the coronaridine type were most abundant than corynanthe series. All showed pronounced antiplasmodial activity against chloroquine and resistant strain of *Plasmodium falciparum*.

#### Declaration of Competing Interest

The authors report no declarations of interest.

#### Acknowledgments

We gratefully acknowledge the TWAS scholarship for financial support and travel grants (CIIT-TWAS sandwich PG-fellowship-grant N° 3240299466) for Mr. Bitombo André to Pakistan. The authors are also grateful to the Department of Chemie, Universität of Fribourg for scholarships for foreign researchers (grant N° 319430) and the Bochet's Group for technical assistance to Mr. Bitombo. The authors thank Mr. Victor Nana (National Herbarium of Cameroon) for his assistance in the collection and identification of the plant material. The authors also thank the laboratory for Phytobiochemistry and Medicinal Plant Studies, Antimicrobial and Biocontrol Agents Unit, at the Department of biochemistry of the University of Yaoundé I in Cameroon for antiplasmodial tests.

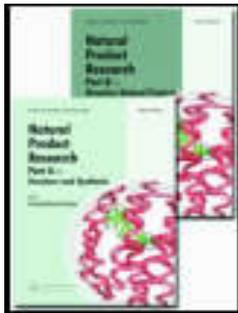
#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2021.104941>.

#### References

- [1] J. Bero, M. Frédérix, J. Quetin-Leclercq, Antimalarial compounds isolated from plants used in traditional medicine, *J. Pharm. Pharmacol.* 61 (2009) 1401–1433.
- [2] World Health Organization, World Malaria Report. The "World Malaria Report 2019" at a Glance, WHO, Geneva, Switzerland, 2019. Available from, <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2019/>

- who.int/news-room/feature-stories/detail/world-malaria-report-2019 (Accessed on 3<sup>rd</sup> March, 2021).
- [3] G.N. Zirih, P. Grellier, F. Guédé-Guina, B. Bodo, L. Mambu, Isolation, characterization and antiplasmodial activity of steroidal alkaloids from *Funtumia elastica* (Preuss) Stapf, Bioorg. Med. Chem. Lett. 15 (2005) 2637–2640.
  - [4] J. Fotie, D.S. Bohle, M.L. Leimanis, E. Georges, G. Rukunga, A.E. Nkengfack, Lupeol long-chain fatty acid esters with antimalarial activity from *Holarthena floribunda*, J. Nat. Prod. 69 (2006) 62–67.
  - [5] V.F. Andrade-Neto, A.M. Pohlit, A.C.S. Pinto, E.C.C. Silva, K.L. Nogueira, M.R. S. Melo, M.C. Henrique, R.C.N. Amorim, L.F.R. Silva, M.R.F. Costa, R.C. S. Nunomura, S.M. Nunomura, W.D. Alecrim, M.C.G. Alecrim, F.C.M. Chaves, P.P. R. Vieira, *In vitro* inhibition of *Plasmodium falciparum* by substances isolated from Amazonian antimalarial plants, Mem. Inst. Oswaldo Cruz 102 (2007) 359–365.
  - [6] K.P. Devkota, B. Ndjakou Lenta, M. Iqbal Choudhary, Q. Naz, F. Boyom Fekam, P. J. Rosenthal, N. Sewald, Cholinesterase inhibiting and antiplasmodial steroidal alkaloids from *Sarcococca hookeriana*, Chem. Pharm. Bull. 55 (2007) 1397–1401.
  - [7] J. Hutchinson, J.M. Dalziel, Flora of west tropical Africa, in: Part. 2. Crown Agents for Overseas Government and Administration, 2nd ed. 1, 1973, p. 638.
  - [8] T.A. Van Beek, A.M. Deelder, R. Verpoorte, A. Baerheim Svendsen, Antimicrobial, Antiamoebic and Antiviral Screening of some *Tabernaemontana* Species, Planta Med. 48 (1984) 180–185.
  - [9] T.A. Van Beek, R. Verpoorte, A. Baerheim Svendsen, A.J.M. Leeuwenberg, N. G. Bisset, *Tabernaemontana* L. (Apocynaceae): A review of its taxonomy, phytochemistry, ethnobotany and pharmacology, J. Ethnopharmacol. 10 (1984) 1–156.
  - [10] V.P.K. Titanji, D. Zofou, M.N. Ngemenya, The antimalarial potential of medicinal plants used for the treatment of malaria in cameroonian folk medicine, Afr. J. Trad. Cam. 5 (2008) 302–321.
  - [11] V. Ambujam, P. Parimoo, Isolation of coronaridine from the seeds of *Tabernaemontana penduliflora*, Planta Med. 51 (1985) 463.
  - [12] K. Masuda, T. Akiyama, M. Taki, S. Takaishi, Y. Lijima, M. Yamazaki, N. Aimi, J. Jato, P.G. Waterman, Isolation of 10-Hydroxycoronaridine from *Tabernaemontana penduliflora* and its estrogen-like activity, Planta Med. 66 (2000) 169–171.
  - [13] F. Chassagne, M. Haddad, A. Amiel, C. Phakeovilay, C. Manthip, G. Bourdy, E. Deharo, G. Marti, A metabolomic approach to identify anti-hepatocarcinogenic compounds from plants used traditionally in the treatment of liver diseases, Fitoterapia. 127 (2018) 226–236.
  - [14] M. Milkstein, N. Sriwilaijaroen, J.X. Kelly, P. Wilairat, M. Riscoe, Simple and inexpensive fluorescence-based technique for high-throughput antimalarial drug screening, Antimicrob. Agents Chemother. 48 (2004) 1803–1806.
  - [15] C. Lambros, J.P. Vanderberg, Synchronization of *Plasmodium falciparum* Erythrocytic stages in culture, J. Parasitol. 65 (1979) 418–420.
  - [16] R.T. Brown, A.A. Charalambides, 5 $\alpha$ -Carboxytetrahydroalstonine, Tetrahedron Lett. 17 (1974) 1649–1652.
  - [17] C.A. Geng, X.Y. Huang, Y.B. Ma, B. Hou, T.Z. Li, X.M. Zhang, J.J. Chen, ( $\pm$ )-Uncarilins A and B, dimeric isochininulin-type alkaloids from *Uncaria rhynchophylla*, J. Nat. Prod. 80 (2017) 959–964.
  - [18] N.J. Dastoor, A.A. Gorman, H. Schmid, *Über die Alkaloide von Aspidosperma discolor* A. DC, Helv. Chim. Acta. 27 (1967) 213–230.
  - [19] X.B. Xiao, Y.X. Lin, G.B. Xu, X.B. Gong, Y. Gu, J.F. Tong, J. Yang, Two new cytotoxic alkaloids from *Mappianthus iodoides* Hand.-Mazz, Helv. Chim. Acta 94 (2011) 1594–1599.
  - [20] M. Cao, R. Muganga, M. Tits, L. Angenot, M. Frédérick, 17-O-Acetyl-10-hydroxycorynantheol, a selective Antiplasmodial alkaloid isolated from *Strychnos usambarensis* leaves, Planta Med. 77 (2011) 2050–2053.
  - [21] R.T. Brown, D.M. Duckworth, C-20 configuration of adirubine, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 14 (1976) 530–531.
  - [22] R.T. Brown, C.L. Chapple, G.K. Lee, Adirubine: A novel carboxy-indole alkaloid, J. C.S. Chem. Comm. 927 (1972) 1007–1008.
  - [23] C.A. Coune, L.J.G. Ancenot, J. Denoel, <sup>13</sup>C NMR des alcaloïdes des *strychnos*: Les dérivés de l'harmane et de l'usambarensine, Phytochemistry 19 (1980) 2009–2011.
  - [24] J.D.M. Asher, J.M. Robertson, G.A. Sim, M.F. Bartlett, C.C. Scott, W.I. Taylor, The structure of Hunterburnine : X-ray analysis of hunterburnine  $\beta$ -Methiodide, J. Chem. Soc. 6356 (1965).
  - [25] T.M. Moynehan, K. Schofield, R.A.Y. Jones, A.R. Katritzky, The synthesis and stereochemistry of quinolizidine and the monomethylquinolizidines, and of their salts and quaternary salts, J. Chem. Soc. (1962) 2637–2658.
  - [26] N.G. Bisset, J.D. Phillipson, Antirrhine and antirrhine metho-salt from the leaves of *strychnos camptoneura*, Phytochemistry. 13 (1974) 1265–1267.
  - [27] G.J. Zhang, H. Feng, H. Jiang, L.M. Dai, H.B. Liao, N. Li, H.S. Wang, Y.M. Pan, D. Liang, Mappianines A-E, structurally diverse monoterpene indole alkaloids from *Mappianthus iodoides*, Phytochemistry. 145 (2018) 68–76.
  - [28] D. Arbain, N.H. Lajis, D.P. Putra, M.V. Sargent, B.W. Skelton, A.H. White, New quaternary *Corynanthe* alkaloid from *Lerchea bracteata*, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 (1992) 3039–3042.
  - [29] Q. Guo, H. Yang, X. Lui, X. Si, H. Liang, P. Tu, Q. Zhang, New zwitterionic monoterpene indole alkaloids from *Uncaria rhynchophylla*, Fitoterapia. 127 (2018) 47–55.
  - [30] A.N. Bitombo, A.A. Zintchem, A.T. Atchadé, E.D.F.M. Ndedi, A. Khan, D.S. N. Bikobo, D.E. Pegnyemb, C.G. Bochet, Antimicrobial and cytotoxic activities of indole alkaloids and other constituents from the stem barks of *Rauvolfia caffra* Sond (Apocynaceae), Nat. Prod. Res. (2021), <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1891054>.
  - [31] M. Sugiura, N. Takao, Y. Sasaki, Stereochemistry of quinolizidines II, carbon 13 magnetic resonance Spectra of N-methylquinolizidium ions, Chem. Pharm. Bull. 25 (1977) 960–963.
  - [32] W.F. Trager, C.M. Lee, A.H. Beckett, Corynantheidine-type alkaloids: establishment of physical criteria for the normal, pseudo, allo and epiallo configurations by conformational analysis, Tetrahedron. 23 (1966) 365–374.
  - [33] Y.K. Sawa, H. Matsumura, Transformation of quinine into the indole alkaloids-I. The absolute configuration of hunterburnine  $\alpha$ - and  $\beta$ - methochloride, Tetrahedron. 25 (1969) 5319–5328.
  - [34] H.J. Cong, Q. Zhao, H. Jiang, S.W. Zhang, J.J. Wei, W.Q. Wang, L.J. Xuan, Y. M. Pan, Terpenoid indole alkaloids from *Mappianthus iodoides* Hand-Mazz, Phytochemistry. 145 (2014) 68–76.
  - [35] J.D. Phillipson, S.R. Hemingway, Indole and oxindole alkaloids from *uncaria bernaysia*, Phytochemistry. 12 (1973) 1481–1487.
  - [36] T.S. Kam, K.M. Sim, Five New Iboga alkaloids from *Tabernaemontana corymbosa*, J. Nat. Prod. 65 (2002) 669–672.
  - [37] S.P. Gunasekera, G.A. Cordell, N. Farnsworth, Anticancer indole alkaloids of *Ervatamia heyneana*, Phytochemistry. 19 (1980) 1213–1218.
  - [38] P.S. Pereira, S.C. França, A.P.V. de Oliveira, C.M. de Souza Breves, S.I. Vaz Pereira, Chemical constituents from *Tabernaemontana catharinensis* root bark: a brief nmr review of indole alkaloids and *in vitro* cytotoxicity, Quim Nova 1 (2008) 20–24.
  - [39] P. Perera, F. Sandberg, T.A. Van Beek, R. Verpoorte, Alkaloids of Stem and Root Bark of *Tabernaemontana dichotoma* Phytochemistry 9, 1985, pp. 2097–2104.
  - [40] C.W. Jenks, Extraction studies of *Tabernaemontana iboga* and *Voacanga africana*, Nat. Prod. Lett. 16 (2002) 71–76.
  - [41] X.Z. Feng, C. Kan, P. Potier, K. Siew-Kwong, M. Lounasma, Monomeric indole alkaloids from *Ervatamia hainanensis*, Planta Med. 44 (1982) 212–214.
  - [42] P. Sharma, G.A. Cordell, Heyneanine hydroxyindolenine, a new indole alkaloid from *Ervatamia coronaria* var. *plena*, J. Nat. Prod. 51 (1988) 528–531.
  - [43] D.G.I. Kingston, B.B. Gerhart, F. Ionescu, M.M. Mangino, S.M. Sami, Plant anticancer agents V: new bisindole alkaloids from *Tabernaemontana johnstonii* stem bark, J. Pharm. Sci. 2 (1978) 249–251.
  - [44] K.H. Pawelka, J. Stöckigt, Indole alkaloids from cell suspension cultures of *Tabernaemontana divaricata* and *Tabernaemontana iboga*, Plant Cell Rep. 2 (1983) 105–107.
  - [45] W.L.B. Medeiros, L.J.C. Vieira, L. Mathias, R. Braz-Filho, J. Schripsema, A New Natural Quaternary Indole Alkaloid Isolated from *Tabernaemontana laeta* Mart. (Apocynaceae), J. Braz. Chem. Soc. 12 (2001) 368–372.
  - [46] D. Staerk, E. Lemmich, J. Christensen, A. Kharazmi, C.E. Olsen, J.W. Jaroszewski, Leishmanicidal, antiplasmodial and cytotoxic activity of indole alkaloids from *Corynanthe pachyceras*, Planta Med. 66 (2000) 531–536.
  - [47] M. Silva, M. Bittner, C. Cespedes, J. Jakupovic, Chemistry of Chilean Elaeocarpaceae. *Aristolotelia chilensis* (Mol.) Stuntz, Rev. Latin. Quim. 24 (1996) 85–92.
  - [48] M. Frederich, M.P. Hayette, M. Tits, P. De Mol, L. Angenot, *In vitro* activities of *Strychnos* alkaloids and extracts against *Plasmodium falciparum*, Antimicrob. Agents Chemother. 43 (1999) 2328–2331.



## Natural Product Research

Formerly Natural Product Letters

ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/gnpl20>

# Antimicrobial and cytotoxic activities of indole alkaloids and other constituents from the stem barks of *Rauvolfia caffra* Sond (Apocynaceae)

Andre Nehemie Bitombo, Auguste Abouem A. Zintchem, Alex de Théodore Atchadé, Esther Del Florence Moni Ndedi, Afsar Kahn, Dominique Serge Ngoni Bikobo, Dieudonné Emmanuel Pegnyemb & Christian G. Bochet

To cite this article: Andre Nehemie Bitombo, Auguste Abouem A. Zintchem, Alex de Théodore Atchadé, Esther Del Florence Moni Ndedi, Afsar Kahn, Dominique Serge Ngoni Bikobo, Dieudonné Emmanuel Pegnyemb & Christian G. Bochet (2021): Antimicrobial and cytotoxic activities of indole alkaloids and other constituents from the stem barks of *Rauvolfia caffra* Sond (Apocynaceae), *Natural Product Research*, DOI: [10.1080/14786419.2021.1891054](https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1891054)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1891054>



View supplementary material [↗](#)



Published online: 01 Mar 2021.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



## Antimicrobial and cytotoxic activities of indole alkaloids and other constituents from the stem barks of *Rauvolfia caffra* Sond (Apocynaceae)

Andre Nehemie Bitombo<sup>a,c,d</sup>, Auguste Abouem A. Zintchem<sup>a,b</sup>, Alex de Théodore Atchadé<sup>a</sup>, Esther Del Florence Moni Ndedi<sup>e</sup>, Afsar Kahn<sup>c</sup>, Dominique Serge Ngono Bikobo<sup>a,d</sup>, Dieudonné Emmanuel Pegnyemb<sup>a</sup> and Christian G. Bochet<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Faculty of Science, Department of Organic Chemistry, University of Yaoundé 1, Yaoundé, Cameroon; <sup>b</sup>Department of Chemistry, Higher Teacher's Training College, University of Yaoundé 1, Yaoundé, Cameroon; <sup>c</sup>Department of Chemistry, COMSATS University Islamabad, Abbottabad, Pakistan; <sup>d</sup>Department of Chemie, Universität of Fribourg, Fribourg, Switzerland; <sup>e</sup>Faculty of Science, Department of Microbiology, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon

### ABSTRACT

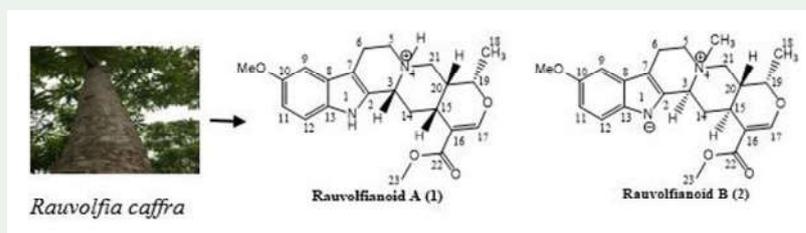
Twenty indole alkaloids, among which two undescribed ones named rauvolfianoids A (**1**) and B (**2**), were isolated from the stem barks of *Rauvolfia caffra* Sond along with eight other compounds from other biosynthetic pathways. The structures were elucidated by analysis of spectroscopic data, including 1D and 2D NMR; absolute configurations of **1** and **2** were determined by CD exciton chirality method. Compounds **1** and **2** were evaluated for antimicrobial and anticancer activities against three bacterial strains (*Escherichia coli*, *Shigella sp* and *Salmonella sp*) and CRC-related opportunistic pathogens. **1** showed moderate antibacterial activity against *Salmonella sp* with the MIC value of 25 µg/ml, while **2** exhibited weak selective activity against all tested pathogens. In addition, these alkaloids were characterized as weak apoptosis inducers in HCT116 human colon carcinoma cell line.

### ARTICLE HISTORY

Received 3 May 2020  
Accepted 12 February 2021

### KEYWORDS

*Rauvolfia caffra*;  
Apocynaceae; rauvolfianoids; antimicrobial activity; cytotoxicity



## 1. Introduction

Each year, approximately 1.2 million individuals are diagnosed with colon cancer worldwide (Jemal et al. 2011). The incidence of colorectal cancer (CRC) increases in

**CONTACT** Dominique Serge Ngono Bikobo  [ngono\\_serge@yahoo.fr](mailto:ngono_serge@yahoo.fr)

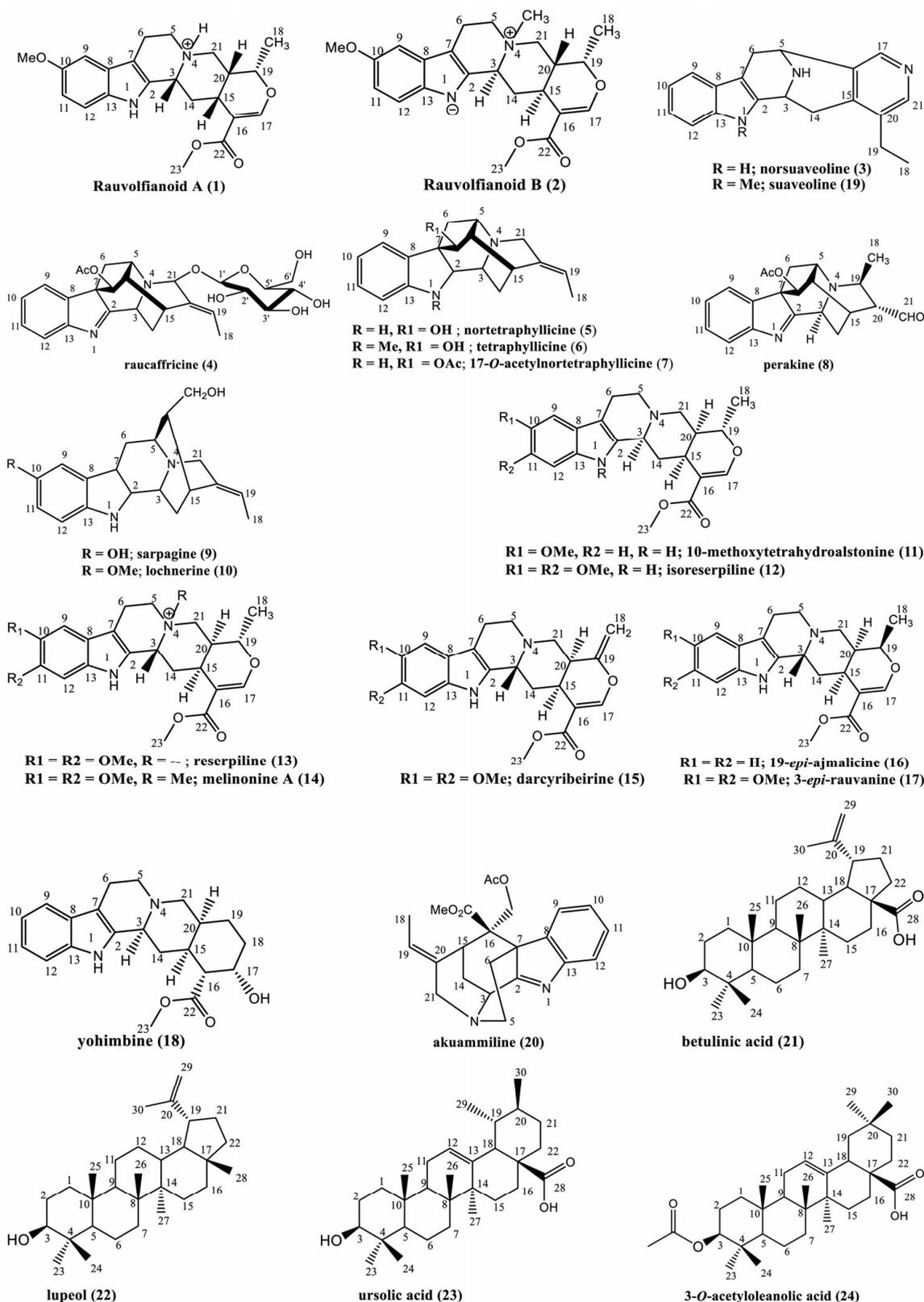
 Supplemental data for this article can be accessed at <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1891054>.

© 2021 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

areas that have historically been considered low-risk, including Africa and especially in sub-Saharan region (Irabor 2017). This trend has been attributed to changes in dietary patterns, along with decreased physical activity (Center et al. 2009). Bacteria may contribute to the etiology of the disease through production of secondary metabolites enabling the production of oncogenic toxins. These genotoxins (CDT) produced by *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Shigella spp* or *Bacteroides fragilis* are potential contributors to CRC pathogenesis (Toprak et al. 2006; Arthur et al. 2012). In many parts of the world microorganisms have developed resistance to a number of antibiotics and chemotherapy, and so there is an urgent need to get compounds with an original mode of action (Yessoufou et al. 2015). Medicinal plants have been used by mankind as a source of medicines since immemorial time. Plants originating from Africa especially those belonging to Apocynaceae family, are biologically and chemically diverse resource as they synthesize various chemicals as defense agents against diseases and predators. They are an excellent reservoir of medicines and chemical leads for further development of new drugs (Oyedemi 2007; Pesewu et al. 2008). *Rauvolfia caffra* Sond (Apocynaceae) is a tree up to 15–25 m high, occurring in habitats of tropical forest zones of Cameroon and Nigeria (Burkill 1985). This species and others have been used in native medicine to cure various ailments and infectious diseases (Mabberley 2008; Jain 2016; Kumar et al. 2016). The roots of *R. caffra* enter into treatment of intestinal worms, syphilis; they also appear as vermifuge and curatives of venereal diseases (Walker-Raponda and Sillans 1961). Screening of literature revealed that *R.caffra*, has been previously investigated for its chemical constituents. Then, among the various phytochemicals identified to occur in this plant and other species of *Rauvolfia* genus, alkaloids especially indole alkaloids along with phenols, flavonoids, glyceroglycolipid and tannins were detected in large amounts (Amer and Court 1981; O'Connor and Maresh 2006; Deshmukh et al. 2012; Jamkhande et al. 2013; Ebeh et al. 2017). ; Alkaloids are an important chemical class of compounds that serve as a rich reservoir for drug discovery and are known as the main class of compounds within the Apocynaceae family (Amer and Court 1981). These compounds isolated from several plants worldwide exhibit antiproliferation and antimetastasis effects on various types of cancers (Huang et al. 2007). This paper focuses on the isolation, structure elucidation, antimicrobial guided activities and cytotoxic properties of alkaloids **1** and **2**.

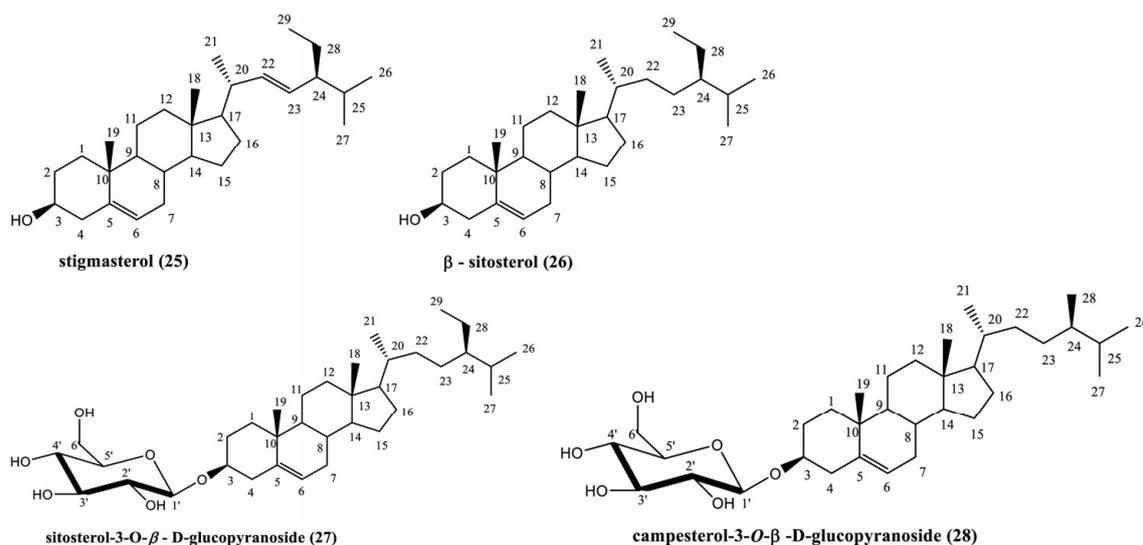
## 2. Results and discussion

In the present study, the UHPLC analyzed extract of *R. caffra* Sond was obtained by extraction in methanol. This analytical approach was applied to investigate the alkaloid compositions and others of methanol extract obtained from the stem barks of *R. caffra*. Targeted LC-MS profiles of the data set revealed the peak characteristics of compounds **1** and **2** (Figures S21 and S22). This crude extract was subjected to column chromatography on silica gel and Sephadex LH-20 to afford two undescribed monoterpene indole alkaloids (**1** and **2**) (Figure 1). In addition, 18 known indole alkaloids were obtained and identified as norsuaveoline (**3**) (Nasser and Court 1984) raucaffricine (**4**) (Ruyter et al. 1991; Itoh et al. 2005), nortetraphyllicine (**5**) (Bing-Jie et al. 2013), tetraphyllicine (**6**) (Akinloye and Court 1980), 17-O-acetylnortetraphyllicine (**7**) (Amer



**Figure 1.** The structures of compounds 1–28 isolated from *R. caffra*.

and Court 1981), perakine (**8**) (Batista et al. 1996), sarpagine (**9**) (Gao et al. 2015), lochnerine (**10**) (Satish and Sadagopan 2019), 10-methoxytetrahydroalstonine (**11**) (Gupta et al. 2012; Maurya et al. 2013), isoreserpiline (**12**) (Maurya et al. 2013), reserpiline (**13**), melinonine A (**14**), (Battersby and Hodson 1960), darcyribeirine (**15**) (Cancelieri et al.



**Figure 1.** Continued.

2002), 19-*epi*-ajmalicine (**16**) (Amer and Court 1981), 3-*epi*-rauvanine (**17**) (Iwu and Court 1982), yohimbine (**18**) (Bing-Jie et al. 2013), suaveoline (**19**) (Endreß et al. 1993) and akuammiline (**20**) (Amer and Court 1981), respectively, based on their physical and spectroscopic data and by comparison with those from literature. Eight non alkaloidal compounds were also isolated; when comparing their spectral data with those existing in the literature (**21-28**) (Figure 1), they were identified as: ursolic acid (**23**) (Foudjo et al. 2019), lupeol (**22**) (Pereira et al. 2008), betulinic acid (**21**) (Ebeh et al. 2017), [18], 3-O-acetyloleanolic acid (**24**) (Flores et al. 2005), stigmasterol (**25**) (Nkot et al. 2018),  $\beta$ -sitosterol (**26**) (Habib et al. 2007), sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**27**) and campesterol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**28**) (Ngono et al. 2014).

## 2.1. Structure elucidation

Compound **1** was obtained as yellowish amorphous solid. The HRESIMS showed a *pseudomolecular* ion  $[M + H]^+$  at  $m/z$  384.2013 (calcd 384.2035) in accordance with the molecular formula  $C_{22}H_{28}N_2O_4$ .  $^1H$  NMR and HSQC spectra indicate the presence of three aromatic signals at  $\delta_H$  7.18 (dd,  $J = 8.8; 2.1$  Hz, H-11); 6.79 (d,  $J = 8.8$  Hz, H-12) and 6.92 (d,  $J = 2.1$  Hz, H-9) suggesting an ABX system, one olefinic proton from a tri-substituted double bond ( $\delta_H$  7.56/ $\delta_C$  156.4) and two methoxy groups ( $\delta_H$  3.76 and 3.67/ $\delta_C$  55.6 and 50.4). Moreover, one tetrasubstituted double bond ( $\delta_C$  133.3 and 108.2), one carbonyl group ( $\delta_C$  167.2), one methyl ( $\delta_C$  18.1), four methylenes ( $\delta_C$  22.4, 33.9, 53.0 and 54.1) and four methines ( $\delta_C$  29.9, 37.1, 61.5 and 70.6) were noticeable in  $^{13}C$ -NMR spectrum. The above spectroscopic data together with the molecular formula information suggested that **1** possess an ajmalicinoid skeleton (Amer and Court 1981). Based on comprehensive analysis of  $^1H$ - $^1H$  COSY, HSQC, and HMBC spectra, the  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR spectral data of **1** were fully assigned and shown in Table S1. The analysis of  $^1H$  NMR spectrum of **1** showed the presence of an H-3 as double doublet signal ( $J$  (H-3 $\beta$ , H-14 $\alpha$ : 14 $\beta$ ) = 12.1 and 8.4 Hz) at 4.56 ppm and the downfield signal of this proton is characteristic of equatorial H-3 (Wenkert and Wickberg 1962). Furthermore, the protonation of  $N_4$  was confirmed by the downfield-shifted

resonances of H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  4.56) by comparing to the one of ajmalicine ( $\delta_{\text{H}} \sim 2.90\text{--}3.50$ ). Moreover, the coupling constant observed  $J(\text{H-}3\beta, \text{H-}14\alpha) = 12.1$  Hz indicated the  $\beta$  orientation for H-3 (Tourwé and Van Binst 1978; Staerk et al. 2000). The chemical shifts of the parent heteroyohimbines show that H-20 is found in the region  $\delta_{\text{H}}$  2.01–2.29 ppm and the coupling constant  $J$  (Hz) 6.5 (between H-19 $\beta$  and H-20 $\beta$ ), suggests that the relationship with H-19 is *cis* (eq). This finding is in agreement with the *syn*-upfield rule proposed earlier. Analysis of coupling patterns, supported by COSY and NOESY experiments, led to identification of the stereochemistry of **1** (Wenkert et al. 1976; Staerk et al. 2000). The data measured from the signals for H-19 and H-20, together with considering the  $\beta$  configuration between H-3 and H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  3.02), we can safely establish a  $\beta, \beta, \beta, \beta$ -configuration for H-3, H-15, H-19 and H-20 respectively. H-3, H-15 and H-20 form an *epiallo* configuration. Thus, together with configuration of H-19, it can be ascertained that the parent heteroyohimbine of **1** is *allo* 3-isoajmalicine. Else, apart from signals for 3-isoajmalicine, **1** showed an additional signal at  $\delta_{\text{H}}$  3.76 (3H, s) in  $^1\text{H}$  NMR spectrum and at  $\delta_{\text{C}}$  154.2 ppm in  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum, displaying a substituted indole moiety and a methoxy group in the aromatic ring. Additionally, the quaternary carbon at 154.2 ppm assigned to C-10 (Figure S1) shows, through the HMBC spectrum, cross peaks from H-9, H-11, H-12 and OMe ( $\delta_{\text{C}}$  3.76). Subsequently, the absolute configuration of **1** was established on the basis of the CD exciton chirality method. As shown in Figure S2, the absolute configuration of **1** was determined to be (3*R*, 15*R*, 19*S*, 20*R*). The fully assigned  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ -NMR data for **1**, not previously reported, are shown in Tables S1 and S2. Thus, the structure of compound **1**, trivially named Rauvolfianoid A, was determined as shown in Figure 1.

Compound **2** was obtained as yellowish amorphous solid. Its molecular formula of  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$  was established by positive HR-ESIMS ( $m/z$  397.1748,  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calcd for 397.1771). When comparing the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopic data of **2** with those of **1** (Tables S1 and S2), it appears that both compounds contain similar structural features except the presence of the methyl signal ( $\delta_{\text{H}}$  3.28/ $\delta_{\text{C}}$  49.0), this latter showed correlation with C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  60.5) in HMBC experiment, suggesting that **2** was the *N*(4) methylated derivative of normal configuration of 10-methoxyajmalicine (Brown and Charalambides 1974). This assertion was verified by the downfield shift of the carbon atoms  $\alpha$  (C-3, C-5) because of the  $\beta$  effect of the methyl group, and a small upfield shift of the carbon atoms  $\beta$  (C-6, C-20, C-14, C-2) attributed to the nitrogen atom because of corresponding  $\gamma$  effect (Srinivasan and Lichter 1976). The HMBC experiment showed correlations of OMe-10 ( $\delta_{\text{H}}$  3.83) to C-10 (Figure 2). The NMR spectra of compound **2** is closed those of reported *N*-methylaracinine (Rola et al. 2019), except for the presence of additional negative charge at  $N_1$  in **2** based on difference on HRESIMS; it suggests that proton attached to  $N_1$  in *N*-methylaracinine was absent in compound **2**. These statements implied the upfield-shifted resonances of  $\alpha$  carbon atoms (C-3, C-5 and C-21) neighboring the charges of **2** comparing to those of *N*-methylaracinine (downfield-shifted due only to attractive effect of positive nitrogen  $N_4$ ). The HPLC profile of stem barks (Figures S21 and S22) presents a peak characteristic of *N*-methylaracinine derivative **2** and seems justify its plausible natural origin. Moreover, the relative configuration of the

C-3, C-15, C-19, and C-20 were determined by coupling constants  $J$  (H-3 $\alpha$ , H-14 $\beta$ ) = 12.9 Hz,  $J$  (H-19 $\beta$ , H-20 $\beta$ ) = 5.3 Hz and  $J$  (H-15 $\alpha$ , H-20 $\beta$ ) = 11.0 Hz as  $\alpha$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta$ -configuration for H-3, H-15, H-20 and H-19 respectively (Staerk et al. 2000). H-3 and H-15 form a normal configuration and not H-20 (*epiallo*) as shown in Figure 1. The configurations of **2** were assigned to be 3 $\alpha$ , 15 $\alpha$ , 19 $\beta$ , 20 $\beta$ -*N*<sub>4</sub>-methyl-10-methoxyajmalicine. All these facts were supported by ROESY experiment of **2**, from which correlations between *N*-methylated protons ( $\delta_{\text{H}}$  3.28) and Me-18 ( $\delta_{\text{H}}$  1.33); other ones were also observed between H-19 ( $\delta_{\text{H}}$  4.66) and H-20 ( $\delta_{\text{H}}$  1.70); Me-18 ( $\delta_{\text{H}}$  1.33) and H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  2.70) (Figure S1). Subsequently, the absolute configuration of **2** was determined to be (3*S*, 15*S*, 19*S*, 20*R*) employing the same method as described for **1** (Figure S2). Therefore, the structure of compound **2**, trivially named Rauvolfianoid B, was determined as shown in Figure 1.

The antimicrobial activity of alkaloids **1** and **2** was guided against microorganisms which can induce CRC (*E.coli* ATCC 35218, *Salmonella sp* and *Shigella sp*). From these results, compound **1** exhibited moderate antimicrobial activity against *Salmonella sp* with MIC values of 25  $\mu\text{g/ml}$  (Ciprofloxacin, MIC = 0.97 and 1.95  $\mu\text{g/ml}$ ). At the same time, compound **2** exhibited lesser inhibition potential, presenting MIC values  $\geq 25 \mu\text{g/ml}$  (Table S3). In the present study, the common monoterpene indole alkaloid skeleton (compounds **1** and **2**) led to a decrease of the activity against bacterial growth. When compared with the structures of isolated indole alkaloids, the strictamine derivative skeleton proved to be an important factor for antimicrobial activity. Nevertheless, we cannot fully explain the mode of action of antimicrobial activities of these indole alkaloids. The organic extract of the whole plant *Rauvolfia caffra* was found to exhibit good activity against these pathogens with MIC range from 12.5 to 97.6 mg/ml (Table S3). In anticancer assay, compounds **1**, **2** and **17** were evaluated for their cytotoxicity against one human cancer cell line HCT 116, colorectal cancer, using IncuCyte® Live-Cell analysis, in preliminary test. Unfortunately, no significant activity was detected for these compounds ( $\text{IC}_{50} > 40 \mu\text{M}$ ) (Table S4), corroborating by previous studies led on the cytotoxicity of alkaloids (Ki-Bong et al. 2006) (Figure S3).

### 3. Experimental (in supplementary data)

### 4. Conclusion

Phytochemical study of the stem barks of *R. caffra* Sond generated two undescribed indole alkaloids (**1** and **2**), seventeen known analogues (**3-20**) and eight non alkaloidal compounds (**21-28**). The structures including relative and absolute configurations of compounds **1** and **2** were further confirmed by ROESY and circular dichroism (CD) analysis. Compounds **1** and **2** displayed moderate to weak antimicrobial activity against three bacteria strains: *E. coli*, *Salmonella sp* and *Shigella sp*. Moreover, they showed no significant antiproliferative effect against HCT 116 cell line suggesting that these bacteria strains can induce colon cancer but less than *Bacteroides fragilis*. This work improves the diversity of monoterpene indole alkaloids of the genus *Rauvolfia* and demonstrates the anticancer potential of indole alkaloids.

## Funding

We gratefully acknowledge the TWAS scholarship for financial support and travel grants (CIIT-TWAS sandwich PG-fellowship-grant N° 3240299466) for Mr. Bitombo André to Pakistan. The authors are also grateful to the Department of Chemie, Universität of Fribourg for scholarships for foreign researchers (grant N° 319430) and the Bochet's Group for technical assistance to Mr Bitombo. We also thank Mr. Victor Nana (National Herbarium of Cameroon) for his assistance in the collection and identification of the plant material. We also grateful to the UMR 152 PHARMA-DEV, Université de Toulouse, IRD, UPS, France, for LC-MS analysis.

## References

- Akinloye BA, Court WE. 1980. Leaf Alkaloids of *Rauwolfia Oreogiton*. *Phytochemistry*. 19(12): 2741–2745.
- Amer MA, Court WE. 1981. Alkaloids of *Rauwolfia nitida* root bark. *Phytochemistry*. 20(11): 2569–2573.
- Amer MA, Court WE. 1981. Root wood alkaloids of *Rauwolfia macrophylla*. *Planta Med*. 43(1): 94–95.
- Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan T-J, Campbell BJ, Abujamel T, Dogan B, Rogers AB, et al. 2012. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science*. 338(6103):120–123.
- Batista CVF, Schripsema J, Verpoorte R, Rech SB, Henriques AT. 1996. Indole alkaloids from *Rauwolfia Sellowii*. *Phytochemistry*. 41(3):969–973.
- Battersby RA, Hodson HF. 1960. Alkaloids of calabash curare and *Strychnos* species. Part I. Chemistry and structure of hemitoxiferine-I and toxiferine-I, including the preparation of toxiferine-I. *J Chem Soc*. 1:736–741.
- Bing-Jie Z, Lei P, Zhi-Kun W, Mei-Fen B, Ya-Ping L, Gui-Guang C, Xiao-Dong L, Xiang-Hai C. 2013. Indole alkaloids from leaves and twigs of *Rauwolfia verticillata*. *J Asian Nat Prod Res*. 15(12): 1221–1229.
- Brown RT, Charalambides AA. 1974. 5 $\alpha$ -Carboxytetrahydroalstonine. *Tetrahedron Lett*. 15(17): 1649–1652.
- Burkill HM. 1985. The useful plants of West Tropical Africa. 2nd ed. Vol. 1, Families A– D. Kew, Richmond: Royal Botanic Gardens.
- Cancelieri NM, Curcino VI, Schripsema J, Mathias L, Braz-Filho R. 2002. Darcyribearine, a novel pentacyclic indole alkaloid from *Rauwolfia grandiflora* Mart. *Tetrahedron Lett*. 43(10): 1783–1787.
- Center MM, Jemal A, Ward E. 2009. International trends in colorectal cancer incidence rates. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 18(6):1688–1694.
- Deshmukh SR, Dhanashree SA, Patil BA. 2012. Extraction and evaluation of indole alkaloids from *Rauwolfia serpentina* for their antimicrobial and antiproliferative activities. *Int J Pharm Pharmac Sci*. 4(5):329–334.
- Ebeh MR, Ngono BDS, Abouem ZA, Mbabi NIIN, Moni NEDF, Betote DPH, Nyegue MA, Atchadé ADT, Pegnyemb DE, Bochet CG, et al. 2017. Rauwolfianine, a new antimycobacterial glyceroglycolipid and other constituents from *Rauwolfia caffra*. *Sond (Apocynaceae)*. *Nat Prod Res*. 32(16):1971–1976.
- Endreß S, Takayama H, Suda S, Kitajima M, Aimi N, Sakai S, Stöckigt J. 1993. Alkaloids from *Rauwolfia serpentina* cell cultures treated with ajmaline. *Phytochemistry*. 32(3):725–730.
- Flores Y, Diaz C, Garay F, Colque O, Stener O, Almanza GR. 2005. Oleanane type triterpenes and derivatives from seed coat of Bolivian *Chenopodium quinoa* genotype 'Salar'. *Rev Bol Quim*. 22(1):71–77.
- Foudjo MGL, Njoya EM, Jouda JB, Kweka BNW, Mbazona CD, Wang F, Wandji J. 2019. Two new indole alkaloids from *Tabernaemontana contorta* Stapf. *Phytochem Lett*. 30:116–119.

- Gao Y, Yu AL, Li GT, Hai P, Li Y, Liu JK, Wang F. 2015. Hexacyclic monoterpene indole alkaloids from *Rauwolfia verticillata*. *Fitoterapia*. 107:44–48.
- Gupta S, Khanna VK, Maurya A, Bawankule DU, Shukla RK, Pal A, Srivasatava SK. 2012. Bioactivity guided isolation of antipsychotic constituents from the leaves of *Rauwolfia tetraphylla* L. *Fitoterapia*. 8(3):1092–1099.
- Habib MR, Nikkon F, Rahman M, Haque ME, Karim MR. 2007. Isolation of stigmaterol and  $\beta$ -sitosterol from methanolic extract of root bark of *Calotropis gigantea* (Linn). *Pak J Biol Sci*. 10(22):4174–4176.
- Huang M, Gao H, Chen Y, Zhu H, Cai Y, Zhang X, Miao Z, Jiang H, Zhang J, Shen H, et al. 2007. Chimmitecan, a novel 9-substituted camptothecin, with improved anticancer pharmacologic profiles in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res*. 13(4):1298–1307.
- Irabor DO. 2017. Emergence of colorectal cancer in West Africa: accepting the inevitable. *Niger Med J*. 58(3):87–94.
- Itoh A, Kumashiro T, Yamaguchi M, Nagakura N, Mizushima Y, Nishi T, Tanahashi T. 2005. Indole alkaloids and other constituents of *Rauwolfia serpentina*. *J Nat Prod*. 68(6):848–852.
- Iwu MM, Court WE. 1982. Stem bark alkaloids of *Rauwolfia vomitoria*. *Planta Med*. 45(2):105–111.
- Jain P. 2016. Secondary metabolites for antiulcer activity. *Nat Prod Res*. 30(6):640–656.
- Jamkhande PG, Barde SR, Patwekar SL, Tidke PS. 2013. Plant profile, phytochemistry and pharmacology of *Cordia dichotoma* (Indian cherry): a review. *As Pac J Trop Biomed*. 3(12):1009–1012.
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. 2011. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 6(2):69–90.
- Ki-Bong O, Woongchon M, Sanghee K, Ji-Yun K, Tae-Hoon L, Jae-Gyu K, Daehyun S, Chung JS, Jongheon S. 2006. Antimicrobial activity and cytotoxicity of bis(indole) alkaloids from the sponge *Spongosorites* sp. *Biol Pharm Bull*. 29(3):570–573.
- Kumar S, Singh A, Bajpai V, Srivastava M, Singh BP, Kumar B. 2016. Structural characterization of monoterpene indole alkaloids in ethanolic extracts of *Rauwolfia* species by liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *J Pharm Anal*. 6(6):363–373.
- Mabberley DJ. 2008. *Mabberley's plant-book: a portable dictionary of plants. Their classifications and uses*. London: Cambridge University Press.
- Maurya A, Gupta S, Srivastava SK. 2013. Large-scale separation of antipsychotic alkaloids from *Rauwolfia tetraphylla* L. by pH-zone-refining fast centrifugal partition chromatography. *J Sep Sci*. 36(2):407–413.
- Nasser AMAG, Court WE. 1984. Stems bark alkaloids of *Rauwolfia caffra*. *J Ethnopharm*. 11(1):99–117.
- Ngono BDS, Mosset P, Abouem ZA, Atchadé ADT, Balemaken MM, Mbabi NIIN, Pegnyemb DE. 2014. Campylosperrine, an N-hydroxy alkaloid from the leaves of *Campylosperrum densiflorum* (Ochnaceae). *Int J Pharm Phyt Res*. 6:719–728.
- Nkot JL, Ngono BDS, Abouem ZA, Mbabi NIIN, Moni NEDF, Betote DPH, Pegnyemb DE, Bochet CG, Koert U. 2018. Antitubercular evaluation of root extract and isolated phytochemicals from *Lophira lanceolata* against two resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Pharm Biol*. 56(1):318–324.
- O'Connor SE, Maresh JJ. 2006. Chemistry and biology of monoterpene indole alkaloid biosynthesis. *Nat Prod Res*. 23:532–554.
- Oyediji L. 2007. *Drugless healing secrets: Ibadan*. Nigeria: Panse Press.
- Pereira PS, França SDC, Oliveira PV, Breves CM, Pereira SIV, Sampaio SV, Nomizo A, Dias DA. 2008. Chemical constituents from *Tabernaemontana catharinensis* root bark: a brief NMR review of indole alkaloids and *in vitro* cytotoxicity. *Quím Nova*. 31(1):20–24.
- Pesewu GA, Cutler RR, Humber DP. 2008. Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. *J Ethnopharm*. 116(1):102–111.
- Rola ML, Fazila Z, Mohamed AI, Premalatha B, Jin Z, Samir AR. 2019. FOXO signal activating alkaloids from *Ochrosia elliptica* leaf cultivated in Egypt. *Chem Med Res*. 28:1628–1632.
- Ruyter CM, Akram M, Illahi I, Stöckigt J. 1991. Investigation of the alkaloid content of *Rauwolfia serpentina* roots from regenerated plants. *Planta Med*. 57(4):328–330.

- Satish K, Sadagopan R. 2019. Studies towards the synthesis of (+)-lochnerine. *Chem Select.* 4(14):4203–4205.
- Srinivasan PR, Lichter RL. 1976.  $^{13}\text{C}$  NMR spectral studies of arecoline, hordenine, strychnine and brucine. *Org Magn Reson.* 8(4):198–201.
- Staerk D, Lemmich E, Christensen J, Kharazmi A, Olsen CE, Jaroszewski JW. 2000. Leishmanicidal, antiplasmodial and cytotoxic activity of indole alkaloids from *Corynanthe pachyceras*. *Planta Med.* 66(6):531–536.
- Toprak NU, Yagci A, Gulluoglu BM, Akin ML, Demirkalem P, Celenk T, Soyletir G. 2006. A possible role of *Bacteroides fragilis* enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer. *Clin Microbiol Infect.* 12(8):782–786.
- Tourwé D, Van Binst G. 1978. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of quinolizidine derivatives. *Heterocycles.* 9(4):507–533.
- Walker-Raponda A, Sillans R. 1961. *Les plantes utiles du Gabon*. Paris: Paul Lechevalier; p. 614.
- Wenkert E, Chang C-J, Chawla HPS, Cochran DW, Hagaman EW, King JC, Orito K. 1976. General methods of synthesis of indole alkaloids. 14. Short routes of construction of yohimboid and ajmalicinoid alkaloid systems and their  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance spectral analysis. *J Am Chem Soc.* 98(12):3645–3655.
- Wenkert E, Wickberg B. 1962. The stereochemistry of tetrahydroalstonine and related indole alkaloids. *Acta Chem Scan.* 36:607–611.
- Yessoufou K, Elansary HO, Mahmoud EA, Skalicka-Wozniak K. 2015. Antifungal, antibacterial and anticancer activities of *Ficus drupacea* L. stem bark extract and biologically active isolated compounds. *Ind Crops prod.* 74:752–758.