

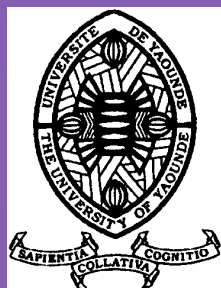
REPUBLIQUE DU CAMEROUN  
*Paix- Travail- Patrie*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

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

UNITE DE RECHERCHE ET DE  
FORMATION DOCTORALE EN CHIMIE ET  
APPLICATIONS

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE  
DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY



REPUBLIC OF CAMEROON  
*Peace- Work- Fatherland*

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCE,  
TECHNOLOGY AND GEOSCIENCES

DOCTORAL RESEARCH UNIT OF  
CHEMISTRY AND APPLICATIONS

**Métabolites secondaires issus de *Rhabdophyllum*  
*arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh,  
*Rhabdophyllum affine* (Hook. F.) Tiegh (Ochnaceae) et  
*Cassia arereh* Delile (Fabaceae) : Détermination de leurs  
potentiels antimicrobiens et cytotoxiques**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 27 Juillet 2021 en vue de l'obtention  
du diplôme de Doctorat/Ph.D en Chimie Organique

Par

**BALEMAKEN MISSI Marius**

Matricule : 06T658  
DEA en Chimie Organique

Sous la Direction de :

**PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel**

Professeur

Année 2020



REPUBLIQUE DU CAMEROUN  
Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

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

UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION  
DOCTORALE CHIMIE ET APPLICATIONS



REPUBLIC OF CAMEROON  
Peace-Work-Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCE,  
TECHNOLOGY AND GEOSCIENCES

RESEARCH AND POSTGRADUATE TRAINING UNIT  
FOR CHEMISTRY AND APPLICATIONS

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE

DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

## ATTESTATION DE CORRECTION

Noms et prénom du candidat: **BALEMAKEN MISSI Marius**

Matricule: **06T658**

Titre de la thèse: « **Métabolites secondaires issus de *Rhabdophyllum arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, *Rhabdophyllum affine* (Hook. F.) Tiegh (Ochnaceae) et *Cassia arereh Delile* (Fabaceae) : Détermination de leurs potentiels antimicrobiens et cytotoxiques ».**

Date de soutenance: **Mardi 27 Juillet 2021**

Nous membres du jury, après avoir lu le document qui nous a été présenté, relevons que le candidat a effectué toutes les corrections, conformément aux observations formulées lors de la soutenance.

En foi de quoi la présente attestation de correction lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le **14 SEPT 2021**

Le Président du jury

M. BAZE Joseph (Pr)

Les Membres du jury

M. BAZE MEVA A L.  
  
P. Mkounga  
  
A. Citanié





## LISTE PROTOCOLAIRE

ANNÉE ACADEMIQUE 2020/2021

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 12 Juin 2020

### ADMINISTRATION

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

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

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

**VICE-DOYEN / DRC :** ABOSSOLO Monique, *Maitre de Conférences*

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

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

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

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DIAGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	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	<i>Chef DAF / FS</i>
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOU Marcelline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
17	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
18	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste



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

## 2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (48)

1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	<i>Chef de Département</i>
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/UIYI</i>
6	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
7	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
8	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
10	NOLA Moïse	Professeur	En poste
11	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
12	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
13	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste
14	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
15	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
16	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
17	JATSA BOUKENG Hermine épse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
18	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
19	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
20	MONY Ruth épse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
21	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
22	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste



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

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

1	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef Division/UYII</i>
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	YOUMBI Emmanuel	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
7	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
12	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
13	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
14	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
15	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
16	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
17	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
18	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
19	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
20	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
21	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
22	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
23	NGOOU Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste



24	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
25	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
26	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste

---

27	GODSWILL 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) (34)

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

---

11	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
12	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
13	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
14	KAMGANG YOUNBI 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. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
19	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste

---

20	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
25	MAKON Thomas Beaugard	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	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste



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

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

1	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen / Sciences de l'Education</i>
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	<i>Dir. IBAF/UDS</i>
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
4	NKENGFACK Augustin Ephrem	Professeur	<i>Chef de Département</i>
5	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur/UN</i>
6	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
7	WANDJI Jean	Professeur	En poste

8	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
9	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
10	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	<i>Chef Service DPER</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
12	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
13	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
15	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
16	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
17	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
18	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
19	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Sous/Direct. MINRESI</i>
20	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	En poste
21	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ MINESUP</i>
23	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
24	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
25	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
26	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
27	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
28	ZONDENDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

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

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

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



1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	AMINOU Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
5	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
6	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
7	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
8	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
9	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
11	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
12	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	<i>C/D ENSET Ebolowa</i>
14	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
15	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
16	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
17	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
18	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane 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	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>
2	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
3	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
4	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
7	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINPLAMAT</i>
8	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
9	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
10	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
11	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
12	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
13	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
14	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
15	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
16	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste





17	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
18	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
19	NIMPA PEFOUNKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
20	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
21	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
22	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
23	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
26	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
29	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
30	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste

### 8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (18)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>DRV/IMPM</i>
2	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
3	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
6	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
7	ASSAM ASSAM Jean Paul	Chargé de Cours	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
13	ESSONO Damien Marie	Assistante	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	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
3	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
4	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
5	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
7	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
8	PEMHA Elkana	Professeur	En poste



9	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen Univ/Bda</i>
10	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
11	WOAFO Paul	Professeur	En poste
12	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
13	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
15	EKOBENA FOUA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Division UN</i>
16	EYEBE FOUA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
17	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
18	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
19	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
20	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
21	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
22	SAIDOU	Maître de Conférences	<i>MINRESI</i>
23	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
24	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
25	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
26	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Sous-Directeur / MINESUP</i>
27	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
28	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
29	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
30	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
31	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cell. MINADER</i>
32	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
33	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
34	MEL'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
35	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
36	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	<i>DA/Univ Inter Etat/Sangmalima</i>
37	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
38	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
39	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste
40	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste

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

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
5	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
6	NGOS III Simon	Professeur	<i>DAAC/Uma</i>
7	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
8	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
9	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10	GHOLOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>CD/Uma</i>
11	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
12	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>



13	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
14	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance &amp; du Matériel</i>
15	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
16	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
17	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
18	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
39	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
40	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
41	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
42	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
43	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste



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

<b>NOMBRE D'ENSEIGNANTS</b>					
<b>DÉPARTEMENT</b>	<b>Professeurs</b>	<b>Maîtres de Conférences</b>	<b>Chargés de Cours</b>	<b>Assistants</b>	<b>Total</b>
BCH	9 (1)	13 (09)	14 (06)	3 (2)	<b>39 (18)</b>
BPA	13 (1)	09 (06)	19 (05)	05 (2)	<b>46 (14)</b>
BPV	06 (0)	11 (02)	9 (06)	07 (01)	<b>33 (9)</b>
CI	10 (1)	9 (02)	12 (02)	03 (0)	<b>34 (5)</b>
CO	7 (0)	21 (04)	05 (03)	02 (0)	<b>35 (7)</b>
IN	2 (0)	1 (0)	13 (01)	09 (01)	<b>25 (2)</b>
MAT	1 (0)	5 (0)	19 (01)	05 (02)	<b>30 (3)</b>
MIB	1 (0)	5 (02)	06 (01)	06 (02)	<b>18 (5)</b>
PHY	12 (0)	15 (02)	10 (03)	03 (0)	<b>40 (5)</b>
ST	8 (1)	14 (01)	19 (05)	02 (0)	<b>43 (7)</b>
<b>Total</b>	<b>69 (4)</b>	<b>99 (28)</b>	<b>130 (33)</b>	<b>45 (10)</b>	<b>343 (75)</b>

Soit un total de **343 (73)** dont :

- Professeurs **68 (4)**
- Maîtres de Conférences **99 (28)**
- Chargés de Cours **130 (33)**
- Assistants **45 (10)**

( ) = Nombre de Femmes **75**



**“IF WE KNEW WHAT WE WERE DOING IT WOULDN’T BE CALLED RESEARCH, WOULD IT ?”**

**ALBERT EINSTEIN  
(1879-1955)**



# DÉDICACE

A Mon feu père  
MISSIMIKIM BALEMAKEN Dieudonné



## REMERCIEMENTS

Je rends grâce au **SEIGNEUR** pour avoir guidé mes pas tout au long de mes études, dans mes différents projets de vie et pour toutes ses bénédictions.

Je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères à tous ceux, qui de près ou de loin, ont contribué à l'accomplissement de ce travail. Je pense plus particulièrement :

Au Professeur Dieudonné Emmanuel **PEGNYEMB**, qui m'a admis dans son équipe de recherche, et qui, en dépit de ses multiples occupations aussi bien académiques qu'administratives, a su trouver du temps pour l'encadrement nécessaire à l'accomplissement de ce projet de thèse. Qu'il trouve dans ces lignes, ma sincère reconnaissance et mes considérations les plus distinguées.

Au Professeur Dominique Serge **NGONO BIKOBO, Maître de Conférences**, co-tuteur de cette thèse, qui a contribué à l'élaboration de ce projet de thèse mais aussi, à sa réalisation en apportant son soutien tant sur le plan scientifique, matériel, qu'humain. Je tiens à lui témoigner ma profonde gratitude.

Au Professeur Joséphine **NGO MBING, Maître de Conférences**, co-tuteur de cette thèse, pour son apport scientifique à la réalisation de ce projet, sa disponibilité sans faille, et ses encouragements au travers de ses multiples conseils. Je vous saurai gré de tous les efforts déployés à mon égard.

Au Docteur Natasha **OCTOBER** du Département de Chimie de l'Université de Pretoria (Afrique du Sud), qui m'a accueilli dans son laboratoire pour la réalisation partielle de mes travaux, en l'occurrence l'isolement des composés et l'enregistrement des spectres. C'est le lieu ici, de lui témoigner toute ma reconnaissance.

J'aimerais également remercier ici les personnes dont la collaboration a été essentielle pour l'accomplissement de cette thèse. Je pense ainsi :

Au Docteur Esther **MONI NDEDI** et monsieur Patrick Hervé **BETOTE DIBOUE**, du Département de Biochimie, pour les tests antimicrobiens effectués sur mes composés et extraits.

Au Docteur Pontsho **MOELA**, du Département de Biochimie, Génétique et Microbiologie de l'Université de Pretoria (Afrique du Sud) pour les tests cytotoxiques réalisés sur mes composés.



J'exprime toute ma considération :

Au Professeur Augustin Ephrem **NKENGFAK**, Chef de Département de Chimie Organique de la Faculté des Sciences pour les efforts qu'il consent à la bonne marche du Département et pour ses incessants encouragements.

Au Professeur Luc Léonard **MBAZE MEVA'A**, Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche (DAASR), pour m'avoir encadré et initié à la recherche et pour ses incessants encouragements.

Au Docteur Auguste **ABOUEM**, Chargé de Cours, à qui je suis infiniment reconnaissant de m'avoir accordé son soutien sans faille, sa disponibilité et ses connaissances dans la réalisation de ce projet.

A **tous les enseignants** du Département de Chimie Organique de la Faculté des Sciences de L'Université de Yaoundé I ainsi qu'à ceux du Département de Chimie de l'Université de Douala, pour la formation reçue.

Mes remerciements vont également à :

Mes aînés de laboratoire, les Professeurs : Olivier **NOTE** (Maître de Conférences) et Thierry **NDONGO** (Maître de Conférences) ainsi que les Docteurs : Ledoux **KAMTO**, Mc Jésus **KINYOCK**, Gaétan **BAYIHA**, René **PEMHA** et enfin Madame Jeanne Louise **NKOT** qui ont tous su, chacun à sa manière, me prodiguer des conseils judicieux pour la réalisation de ce travail.

Tous mes camarades du Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles : notamment les Docteurs : Norbert **MBABI**, Nicolas **MESSI**, Line **SIMO**, Eric **TIAM**. Messieurs Jean Noel **EVINA**, Fred René **ZOUA**, Lin Marcellin **MESSI**, Robert **EBEH**, Onésime **MAYEGA**, Daniel **TOUKEA**, André **BITOMBO**, Alexis **NAMA**, Roland **EBEDE**, Emmanuel **BIANG**, Mlle Yolande **NGIMBOUS** et à tous les autres « cadets » de laboratoire qui ont su faire régner au sein du Laboratoire, une atmosphère de travail empreinte de convivialité et de fraternité. Une mention spéciale à mes promotionnaires : Docteur Paul **TOUKAM**, Messieurs Fidèle **WEYEPE**, Elvis **DJOMKAM** et Madame Carole **AMBOMO**.

A Monsieur Victor **NANA**, de l'Herbier National du Cameroun, qui a contribué aux récoltes et à l'identification de tous les échantillons botaniques.





Je ne saurais oublier :

Ma maman chérie, Victorine **ONGOBANDEK BAHOKEN**, qui m'a toujours soutenu et n'a jamais cessé de m'apporter son soutien pour que je puisse mener à bien ce travail.

Mes frères et sœur, Larissa **ONGBABOULE**, Roger **MISSIMIKIM**, Aristide **BAHOKEN** et tous les membres de ma famille, pour leurs encouragements et leurs prières.

Ma tendre compagne Emmanuelle Samira **NYEMBY**. Trouves en ce document, une récompense et mes sincères remerciements pour ton soutien et ton encouragement.

Mes amis Giscarde **BISSILI** et Ernest **MABUKA**. Je vous remercie profondément pour tous vos conseils et votre assistance inconditionnelle.

Ma grande sœur et amie Judith **MAMBOU**, pour ton soutien moral, financier et tes encouragements multiples.

J'exprime ma gratitude à tous mes amis et tous ceux qui ont contribué à la bonne marche et à la réalisation de ce travail.



# SOMMAIRE

Liste protocolaire.....	b
Dédicace.....	i
Remerciements.....	ii
Sommaire.....	v
Abréviations, Acronymes et Symboles.....	ix
Tableaux.....	xi
Figures.....	xiii
Schémas.....	xvi
Résumé.....	xvii
Abstract.....	xviii
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
1.1 Sélection des plantes.....	5
1.1.1 Introduction.....	5
1.1.2 Critères de sélection des plantes.....	5
1.1.2.1 Aspects botaniques et chimiotaxonomiques.....	5
1.1.2.2 Utilisations ethnopharmacologiques.....	6
1.1.2.3 Apport de la littérature.....	7
1.2 Etudes antérieures sur la famille des Ochnaceae et la famille des Fabaceae.....	7
1.2.1 La famille des Ochnaceae.....	7
1.2.1.1 Classification systématique et description botanique.....	7
1.2.1.2 Importance économique.....	10
1.2.1.3 Utilisations ethnomédicinales.....	11
1.2.1.4 Principaux métabolites secondaires isolés de la famille des Ochnaceae.....	13
1.2.2 Le genre <i>Rhabdophyllum</i> .....	22
1.2.2.1 Description botanique et distribution.....	22
1.2.2.2 Utilisations ethnomédicinales.....	23
1.2.2.3 Principaux métabolites secondaires isolés du genre <i>Rhabdophyllum</i> .....	23
1.2.3 <i>Rhabdophyllum arnoldianum</i> (De Wild. & T. Durand) Tiegh.....	24
1.2.3.1 Présentation.....	24
1.2.3.2 Utilisations ethnomédicinales.....	25
1.2.4 <i>Rhabdophyllum affine</i> (Hook. F.) Tiegh.....	25
1.2.4.1 Présentation.....	25
1.2.5 La famille des Fabaceae.....	27
1.2.5.1 Classification systématique et aspects botaniques.....	27
1.2.5.2 Importance économique.....	30
1.2.5.3 Utilisations ethnomédicinales.....	31



1.2.5.4	Principaux métabolites secondaires isolés de la famille des Fabaceae.....	32
1.2.6	Le genre <i>Cassia</i> .....	38
1.2.6.1	Description botanique et distribution .....	38
1.2.6.2	Utilisations ethnomédicinales.....	39
1.2.6.3	Etudes biologiques et pharmacologiques antérieures .....	41
1.2.6.4	Principaux métabolites secondaires isolés du genre <i>Cassia</i> .....	42
1.2.7	<i>Cassia arereh</i> Delile.....	49
1.2.7.1	Présentation .....	49
1.2.7.2	Utilisations ethnomédicinales.....	50
1.2.7.3	Propriétés biologiques et pharmacologiques .....	50
1.3	Biosynthèse de quelques classes de composés .....	51
1.3.1	Biosynthèse des flavonoïdes.....	51
1.3.2	Biosynthèse des terpénoïdes.....	53
1.3.3	Biosynthèse des céramides .....	57
1.4	Généralités spectroscopiques (RMN 1D) pour la détermination de quelques classes de composés .....	59
1.4.1	Analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN) des flavonoïdes .....	60
1.4.2	Analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN) des triterpènes.....	61
1.4.3	Analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN) des céramides .....	61
1.5	Généralités sur les pathologies ciblées .....	63
1.5.1	Infections microbiennes.....	63
1.5.1.1	Les bactéries .....	63
1.5.1.2	Les champignons .....	63
1.5.1.3	Mode d'action des antibiotiques.....	64
1.5.1.4	Résistance bactérienne et mécanismes .....	65
1.5.1.5	Produits naturels antimicrobiens .....	68
1.5.2	Cancer.....	70
1.5.2.1	Définition.....	70
1.5.2.2	Causes du cancer .....	70
1.5.2.3	Traitements anticancéreux.....	71
1.5.2.4	Produits naturels utilisés dans le traitement du cancer .....	72
1.5.3	Agents infectieux et cancers .....	74
1.5.3.1	Historique .....	74
1.5.3.2	Les principaux agents infectieux .....	75
CHAPITRE 2 : RESULTATS ET DISCUSSION .....		77
2.1	Extraction, isolement et détermination structurale des composés isolés .....	78



2.1.1	Extraction et isolement des composés .....	78
2.1.1.1	Extraction et isolement des composés des feuilles de <i>Rhabdophyllum arnoldianum</i> (De Wild. & T. Durand) Tiegh.....	78
2.1.1.2	Extraction et isolement des composés des racines de <i>Rhabdophyllum affine</i> (Hook. F.) Tiegh	80
2.1.1.3	Extraction et isolement des composés des écorces du tronc de <i>Cassia arereh</i> Delile .....	82
2.1.2	Détermination structurale des composés isolés .....	84
2.1.2.1	Détermination structurale des composés de type flavone.....	84
2.1.2.2	Détermination structurale des composés de type flavanol .....	107
2.1.2.3	Détermination structurale du composé de type isoflavonoïde.....	113
2.1.2.4	Détermination structurale des biflavonoïdes isolés .....	114
2.1.2.5	Détermination structurale des triterpènes de type lupane isolés.....	119
2.1.2.6	Détermination structurale d'autres classes de composés isolés.....	141
2.2	Activités biologiques des extraits et de quelques composés isolés .....	160
2.2.1	Introduction .....	160
2.2.2	Evaluation de l'activité antimicrobienne .....	160
2.2.2.1	Résultats .....	160
2.2.2.2	Discussion .....	161
2.2.3	Evaluation de l'activité anticancéreuse .....	165
2.2.3.1	Résultats .....	165
2.2.3.2	Discussion .....	167
2.3	Contribution à l'étude chimiotaxonomique du genre <i>Rhabdophyllum</i> .....	168
CONCLUSION GENERALE .....		171
CHAPITRE 3 : PARTIE EXPERIMENTALE .....		173
3.1	Matériel végétal, extraction et purification des composés.....	172
3.1.1	Récolte, séchage, broyage et extraction.....	172
3.1.2	Partition, purification et isolement des composés de l'extrait brut des feuilles de <i>Rhabdophyllum arnoldianum</i> (De Wild. & T. Durand) Tiegh .....	173
3.1.2.1	Traitement de la fraction à l'acétate d'éthyle .....	173
3.1.3	Partition, purification et isolement des composés de l'extrait brut des écorces de <i>Cassia arereh</i> Delile.....	174
3.1.3.1	Traitement de la fraction à l'acétate d'éthyle .....	175
3.1.4	Partition, purification et isolement des composés de l'extrait brut des racines de <i>Rhabdophyllum affine</i> (Hook. F.) Tiegh.....	176
3.1.4.1	Traitement de la fraction à l'acétate d'éthyle .....	176
3.2	Méthodes préparatives et chromatographiques .....	177



3.2.1	Partage liquide-liquide.....	177
3.2.2	Chromatographie sur couche mince (CCM).....	177
3.2.3	Chromatographie sur colonne (CC) ouverte.....	178
3.2.3.1	Chromatographie d'adsorption.....	178
3.2.3.2	Chromatographie d'exclusion .....	178
3.2.4	Chromatographie flash (CF).....	179
3.3	Méthodes de synthèse.....	179
3.3.1	Réaction de méthanolyse du composé CAE7.....	179
3.3.2	Réaction de fragmentation du composé CAE7 par le diméthylsulfure .....	180
3.4	Méthodes physico-chimiques .....	180
3.4.1	Point de fusion (P.F.).....	180
3.4.2	Spectres Infra-rouge (IR).....	180
3.4.3	Spectres de masse (SM).....	180
3.4.4	Spectres de résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	181
3.5	Méthodes biologiques.....	181
3.5.1	Activité antimicrobienne .....	182
3.5.1.1	Principes des méthodes utilisées .....	182
3.5.1.2	Protocole de la méthode par microdilution en milieu liquide : .....	183
3.5.1.3	Protocole de la méthode de disque ou diffusion en gélose .....	184
3.5.2	Activité cytotoxique .....	184
3.5.2.1	Culture des cellules.....	184
3.5.2.2	Principe de la méthode .....	185
3.5.2.3	Traitement des cellules, test de cytotoxicité.....	185
3.5.2.4	Analyse des données.....	185
3.6	Constantes physiques et données spectrales des composés isolés.....	186
	Références .....	193
	Publications .....	217



## ABRÉVIATIONS, ACRONYMES ET SYMBOLES

$[\alpha]_D$	Pouvoir rotatoire
$^{\circ}\text{C}$	Degré Celsius
$^{13}\text{C}$	Carbone 13
$^1\text{H}$	Proton
Acétone- $d_6$	Acétone deutéré
AcOEt	Acétate d'éthyle
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
ARNt	Acide ribonucléique de transfert
ATB	Antibiotique
C.	<i>Cassia</i>
CC	Chromatographie sur Colonne
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CF	Chromatographie Flash
CI <sub>50</sub>	Concentration Inhibitrice médiane
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMF	Concentration Minimale Fongicide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CoA	Coenzyme A
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
<i>d</i>	Doublet
<i>dd</i>	Doublet de doublets
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DMAPP	3,3-diméthylallyle pyrophosphate
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DMSO- $d_6$	Diméthylsulfoxyde deutéré
DNA	Deoxyribonucleic Acid
$e^-$	Electron
EI	Electronic Impact
ESI	<i>Electrospray Ionization</i> (Ionisation par Electrospray)
EtOAc	Acétate d'éthyle
eV	Electron-Volt
Frs	Fractions
GFPP	Géranylfarnésyle pyrophosphate
GGPP	Géranylgéranyle pyrophosphate
GPP	Géranyle pyrophosphate
Hex	Hexane
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HNC	Herbier National du Cameroun
HRESIMS	<i>High Resolution Electro Spray Ionisation Mass Spectrometry</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
Hz	Hertz
IPP	3-isopentényle pyrophosphate
IR	Infrarouge
<i>J</i>	Constante de couplage



KDS	3-cetodihydrosphingosine
LC <sub>50</sub>	Concentration létale qui tue 50% de cellules
M	Multiplet
<i>m/z</i>	rapport masse/charge électronique
MCF-7	Lignées de cellules mammaires cancéreuses humaines
MHz	Mégahertz
MTT	Bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltetrazolium
N°	Numéro
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i> (Spectroscopie Nucléaire d'Effet Overhauser)
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
P.F.	Point de Fusion
ppm	partie par million
<i>R.</i>	<i>Rhabdophyllum</i>
Rdt	Rendement
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RNA	Ribonucleic Acid
<i>s</i>	Singulet
SM	Spectre de Masse
SM-HR	Spectrométrie de masse- Haute résolution
<i>t</i>	Triplet
TMS	Tétraméthylsilane
TOF	Time of flight
UV	Ultra-Violet
VIS	Visible
WHO	<i>World Health Organization</i>
$\delta_C$	Déplacement chimique du carbone
$\delta_H$	Déplacement chimique du proton
$\lambda$	Longueur d'onde



## TABLEAUX

Tableau 1 : Quelques utilisations ethnomédicinales répertoriées de la famille des Ochnaceae .....	12
Tableau 2 : Classifications évolutives de la famille des Fabaceae jusqu'en 2009. ....	28
Tableau 3 : Quelques usages ethnomédicinaux répertoriés dans la famille des Fabaceae .....	31
Tableau 4 : Développement d'une résistance aux antibiotiques clés: chronologie des événements.....	67
Tableau 5 : Médicaments antibactériens dérivés de produits naturels (PN) lancés depuis 1995, par an en référence à leurs principaux composés et à leur classification. ....	68
Tableau 6 : Composés anticancéreux naturels connus, leur source et usage thérapeutique .....	73
Tableau 7 : Récapitulatif des composés isolés des trois plantes.....	84
Tableau 8 : Comparaison des données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ du composé RAF5 avec celles de la littérature .....	86
Tableau 9 : Comparaison des données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ du composé RAF4 avec celles de la littérature .....	90
Tableau 10 : Comparaison des données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ du composé RAF3 avec celles de la littérature .....	94
Tableau 11 : Données RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) et RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz) du composé RAF1 dans l'Acetone- $d_6$ ( $\delta$ en ppm; $J$ en Hz).....	101
Tableau 12 : Données RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) et RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz) du composé RAF2 dans le MeOD- $d_4$ ( $\delta$ en ppm; $J$ en Hz).....	106
Tableau 13 : Comparaison des données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ du composé RAF8 avec celles de la littérature .....	109
Tableau 14 : Comparaison des données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ du composé CAE9 avec celles de la littérature .....	112
Tableau 15 : Comparaison des données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ du composé RAF11 avec celles de la littérature .....	118
Tableau 16 : Comparaison des données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ du composé CAE5 avec celles de la littérature .....	121
Tableau 17 : Comparaison des données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ du composé CAE3 avec celles de la littérature .....	124
Tableau 18 : Comparaison des données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ du composé CAE4 avec celles de la littérature .....	127
Tableau 19 : Comparaison des données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ du composé CAE2 avec celles de la littérature .....	130
Tableau 20 : Données RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) et RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz) du composé CAE8 dans le DMSO- $d_6$ ( $\delta$ en ppm; $J$ en Hz).....	136





Tableau 21 : Comparaison des données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ du composé CAE6 avec celles de la littérature .....	140
Tableau 22 : Comparaison des données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ du composé RAF9 avec ceux de la littérature .....	145
Tableau 23 : Données RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) et RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz) du composé CAE7 dans le MeOD- $d_4 + \text{CDCl}_3$ ( $\delta$ en ppm; $J$ en Hz).....	155
Tableau 24 : Comparaison des données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ du composé RAR4 avec celles de la littérature. .....	159
Tableau 25 : Screening antibactérien et antifongique <i>in vitro</i> des différents extraits de feuilles de <i>R.</i> <i>arnoldianum</i> (De Wild. & T. Durand) Tiegh.....	161
Tableau 26 : Paramètres d'inhibition (CMI et CMB) ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) des composés purs et des extraits bruts de <i>C. arereh</i> Delile et <i>R. affine</i> (Hook. F.) Tiegh sur des isolats cliniques de bactéries.....	161
Tableau 27 : Activité cytotoxique (CI50 en $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) et indice de sélectivité (IS) de quelques composés contre les cellules cancéreuses du col de l'uterus HeLa.....	166
Tableau 28 : Similitudes et différences phylogéniques entre les genres <i>Campylospermum</i> Tiegh et <i>Rhabdophyllum</i> Tiegh.....	170
Tableau 29 : Etude phytochimique comparée des genres <i>Campylospermum</i> Tiegh et <i>Rhabdophyllum</i> Tiegh.....	170
Tableau 30 : Lieux de récolte et rendements d'extraction des plantes étudiées.....	172
Tableau 31 : Chromatogramme issu de la fraction à EtOAc des feuilles de <i>R. arnoldianum</i> .....	173
Tableau 32 : Chromatogramme issu de la fraction à EtOAc des écorces de <i>C. arereh</i> Delile.....	175
Tableau 33: Chromatogramme issu de la fraction à EtOAc des racines de <i>R. affine</i> .....	176



## FIGURES

Figure 1 : Systématique de la famille des Ochnaceae selon Chase et al. (2002).....	8
Figure 2 : Systématique de la famille des Ochnaceae d'après Amara & Brittrich (2005) .....	9
Figure 3 : Distribution géographique de la famille des Ochnaceae.....	10
Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes .....	13
Figure 5 : Photo d'une branche de <i>Rhabdophyllum arnoldianum</i> (De Wild. & T. Durand) Tiegh.....	24
Figure 6 : Distribution des 81 échantillons de <i>Rhabdophyllum arnoldianum</i> (De Wild. & T. Durand) Tiegh. au Cameroun et au Gabon. ....	25
Figure 7 : Photo d'une branche de <i>Rhabdophyllum affine</i> (Hook.f.) Van Tiegh.....	26
Figure 8 : Distribution des 67 échantillons de <i>Rhabdophyllum affine</i> (Hook.f.) Tiegh. au Cameroun et au Gabon .....	26
Figure 9 : Distribution de la famille Fabaceae .....	29
Figure 10 : Squelette de base des anthraquinones .....	34
Figure 11 : Classification taxonomique du genre <i>Cassia</i> .....	39
Figure 12 : Ecorces du tronc de <i>Cassia arereh</i> Delile.....	49
Figure 13 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes .....	52
Figure 14 : Voie de biosynthèse simplifiée des terpénoïdes .....	54
Figure 15 : Biosynthèse de triterpènes pentacycliques.....	56
Figure 16 : Biosynthèse des céramides .....	58
Figure 17: Cellule bactérienne.....	63
Figure 18 : Cibles antibiotiques.....	65
Figure 19 : Mécanismes de résistance bactérienne.....	66
Figure 20 : Structures de quelques principes actifs de médicaments antibactériens issus des produits naturels .....	69
Figure 21 : Répartition des formes de cancer au Cameroun.....	70
Figure 22 : Structures de quelques principes actifs de médicaments cytotoxiques issus des produits naturels .....	74
Figure 23 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAF5.....	85
Figure 24 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAF5.....	85
Figure 25 : Spectre IRTF du composé RAF4.....	87
Figure 26 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAF4 .....	88
Figure 27 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAF4 .....	89
Figure 28 : Spectres de masse ESI (a) et HR-ESIMS ((b) du composé RAF3.....	91
Figure 29 : Spectre IRTF du composé RAF3 .....	91
Figure 30 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAF3.....	92
Figure 31 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAF3.....	93



Figure 32 : Spectre IRTF du composé RAF1 .....	95
Figure 33 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAF1 .....	96
Figure 34 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAF1 .....	97
Figure 35 : Spectre RMN HSQC (500 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAF1 .....	98
Figure 36 : Spectre RMN COSY (500 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAF1 .....	98
Figure 37 : Spectre RMN HMBC (500 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAF1 .....	99
Figure 38 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé RAF2 .....	102
Figure 39 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé RAF2 .....	103
Figure 40 : Spectre RMN HSQC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé RAF2 .....	104
Figure 41 : Spectre RMN HMBC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé RAF2 .....	104
Figure 42 : Corrélations HMBC clés du composé RAF2 .....	105
Figure 43 : Spectre HR-ESIMS du composé RAF8 .....	107
Figure 44 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, méthanol- <i>d</i> <sub>4</sub> ) du composé RAF8 .....	108
Figure 45 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, méthanol- <i>d</i> <sub>4</sub> ) du composé RAF8 .....	108
Figure 46 : Spectre de masse FAB du composé CAE9 .....	110
Figure 47 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (600 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) du composé CAE9 .....	111
Figure 48 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (150 MHz, C <sub>3</sub> D <sub>3</sub> N) du composé CAE9 .....	111
Figure 49 : Spectre de masse IE du composé RAF11 .....	116
Figure 50 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, MeOD- <i>d</i> <sub>4</sub> ) du composé RAF11 .....	117
Figure 51 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé CAE5 .....	119
Figure 52 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé CAE5 .....	120
Figure 53 : Spectre HR-ESIMS du composé CAE3 .....	122
Figure 54 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé CAE3 .....	122
Figure 55 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé CAE3 .....	123
Figure 56 : Spectre HR-ESIMS du composé CAE4 .....	125
Figure 57 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé CAE4 .....	126
Figure 58 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé CAE4 .....	126
Figure 59 : Spectre HR-ESIMS du composé CAE2 .....	128
Figure 60 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé CAE2 .....	129
Figure 61 : Spectre RMN <sup>13</sup> C, DEPT (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé CAE2 .....	129
Figure 62 : Spectre HR-ESIMS du composé CAE8 .....	131
Figure 63 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé CAE8 .....	132
Figure 64 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé CAE8 .....	132
Figure 65 : Spectre RMN <sup>13</sup> C DEPT135 (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé CAE8 .....	133
Figure 66 : Spectre NOESY (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé CAE8 .....	133
Figure 67 : Spectre HMBC (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé CAE8 .....	134



Figure 68 : Spectre COSY (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé CAE8.....	135
Figure 69 : Spectre HR-ESIMS du composé CAE6.....	137
Figure 70 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé CAE6 .....	138
Figure 71 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé CAE6 .....	139
Figure 72 : Spectre RMN <sup>13</sup> C DEPT (100 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé CAE6 .....	139
Figure 73 : Spectre HR-ESIMS du composé RAF9.....	142
Figure 74 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de RAF9.....	143
Figure 75 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de RAF9.....	144
Figure 76 : Spectre HR-ESIMS du composé CAE7.....	146
Figure 77 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, MeOD- <i>d</i> <sub>4</sub> + CDCl <sub>3</sub> ) de CAE7 .....	147
Figure 78 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, MeOD- <i>d</i> <sub>4</sub> + CDCl <sub>3</sub> ) de CAE7 .....	147
Figure 79 : Spectre RMN HSQC (400 MHz, MeOD- <i>d</i> <sub>4</sub> + CDCl <sub>3</sub> ) de CAE7.....	148
Figure 80 : Spectre RMN COSY (400 MHz, MeOD- <i>d</i> <sub>4</sub> + CDCl <sub>3</sub> ) de CAE7.....	149
Figure 81 : Spectre LC-MS après méthanolyse de CAE7 .....	149
Figure 82 : Schéma de fragmentation possible de CAE7, ions méthylthiolés <i>m/z</i> = 199 et 131 inclus .....	150
Figure 83 : Pics d'ions fragments issus du clivage de CAE7 (UPLC).....	151
Figure 84 : Spectre RMN HMBC (400 MHz, MeOD- <i>d</i> <sub>4</sub> + CDCl <sub>3</sub> ) de CAE7.....	152
Figure 85 : Spectre RMN NOESY (400 MHz, MeOD- <i>d</i> <sub>4</sub> + CDCl <sub>3</sub> ) de CAE7 .....	153
Figure 86 : Spectre HR-ESIMS du composé RAR4.....	156
Figure 87 : Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAR4.....	157
Figure 88 : Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAR4.....	157
Figure 89 : Spectre RMN <sup>13</sup> C DEPT 135 (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) du composé RAR4.....	158
Figure 90 : Viabilité cellulaire moyenne (%) de la lignée cellulaire HeLa en réponse à 48 heures de traitement avec les composés testés à différentes concentrations. ....	166
Figure 91: Viabilité cellulaire moyenne (%) de la lignée cellulaire MCF-7 en réponse à 48 heures de traitement avec les composés testés à différentes concentrations. ....	167
Figure 92 : Réaction de fragmentation des chaînes alcényles de la céramide CAE7 par le diméthylsulfure (DMDS) .....	180



## SCHÉMAS

Schéma 1 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles de <i>R. arnoldianum</i> (De Wild. & T. Durand) Tiegh.....	79
Schéma 2 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines de <i>R. affine</i> (Hook. F.) Tiegh .....	81
Schéma 3 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces du tronc de <i>C. arereh</i> Delile .....	83
Schéma 4 : Corrélations clés HMBC et COSY du composé RAF1 .....	100
Schéma 5 : Principales corrélations NOESY observées du composé CAE8.....	134
Schéma 6 : Principales corrélations COSY (Rouge) et HMBC (Bleue) observées du composé CAE8 .....	135
Schéma 7 : Principales corrélations COSY et HMBC du composé CAE7. ....	152
Schéma 8 : Principales corrélations NOESY observées du composé CAE7.....	154
Schéma 9 : Réaction de la méthanolyse de la céramide CAE7 .....	179
Schéma 10 : Mécanisme de réduction du Blue Alamar.....	182



## RÉSUMÉ

Les travaux décrits dans cette thèse visent la recherche de molécules à potentiel cytotoxique et antimicrobien issues des plantes de la biodiversité de la flore camerounaise et appartenant aux familles des Ochnaceae et Fabaceae, dans le but de lutter contre la résistance aux antimicrobiens et améliorer l'index de sélectivité des médicaments cytotoxiques.

Nos investigations ont porté sur trois plantes : *Cassia arereh* Delile, *Rhabdophyllum arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh et *Rhabdophyllum affine* (Hook. F.) Tiegh. L'étude phytochimique, à l'aide des méthodes chromatographiques en phase liquide, des extraits de ces trois plantes, a conduit à l'isolement et à la caractérisation de vingt (20) composés dont quatre (4) dérivés nouveaux à savoir : deux (2) flavonoïdes glycosides de types flavones, l'arnoldioside A (**150**) et l'arnoldioside B (**151**), isolés de *R. arnoldianum*, un (1) triterpène de type lupane l'acide cassiarique (**161**) ainsi qu'une (1) céramide la cassiaramide (**165**), isolés de *C. arereh*. Les seize (16) composés connus sont regroupés en différentes classes dont cinq (5) flavonoïdes [trois (3) flavones : l'apigénine (**147**) ; l'isoswertisine (**148**) ; la 2''-O-acétyl-7-O-méthylvitexine (**149**) et deux (2) flavanols : la catéchine (**153**) et l'épicatéchine (**152**)], un (1) isoflavonoïde [4',5-diméthoxy-6,7-méthylènedioxyisoflavone (**154**)], deux (2) biflavonoïdes [Amentoflavone (**156**) et Rhusflavone (**155**)], cinq (5) triterpènes [Lupéol (**157**), Bétulinal (**158**), Acide Bétulinique (**159**), Bétuline (**160**), acide Ceanothique (**162**)], un (1) phytostérol [3-O-β-D-glucopyranosyl-β-sistostérol (**164**)], un (1) alcaloïde [séroto-bénine (**166**)] et un (1) benzoylglycoside [Lancéolosite A (**163**)].

Les structures de ces composés ont été élucidées grâce à une interprétation rigoureuse de leurs données spectrales, RMN 1D (<sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C) et 2D (COSY, HMBC, HSQC, NOESY) en conjonction avec la spectrométrie de masse (ESI basse et haute résolution).

Concernant l'aspect biologique, les extraits bruts et quelques-uns des composés purs isolés ont été évalués d'une part pour leurs activités antimicrobiennes sur neuf souches microbiennes (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenza*, *Candida albicans*) en culture *in vitro* et d'autre part, pour leurs activités cytotoxiques vis-à-vis des cellules tumorales mammaire (MCF-7) et du col de l'utérus (HeLa). Concernant l'activité antimicrobienne, le triterpène nouveau [acide cassiarique (**161**)] a démontré, à l'égard de la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*, une CMB de 15,63 µg/mL identique à celle de la lévofloxacine, antibiotique de référence utilisé. Pour ce qui est de l'activité cytotoxique, l'acide cassiarique (**161**) a présenté la meilleure activité cytotoxique contre les lignées cellulaires HeLa, avec une CI<sub>50</sub> de 19,0 µg/mL après 48 heures d'exposition.

**MOTS CLES** : *Rhabdophyllum arnoldianum*, *Rhabdophyllum affine*, Ochnaceae, *Cassia arereh*, Fabaceae, arnoldioside A et B, cassiaramide, acide cassiarique, cytotoxicité, tests antimicrobiens.



## ABSTRACT

The aim of this work was to identify components with cytotoxic and antimicrobial properties derived from plants extracts of the Ochnaceae and Fabaceae families, belonging to the Cameroonian flora, in order to fight antimicrobial resistance and improve selectivity index of cytotoxic drugs.

Our investigations were carried out on three plants: *Cassia arereh* Delile, *Rhabdophyllum arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh et *Rhabdophyllum affine* (Hook. F.) Tiegh. Based on phytochemical studies carried out using liquid chromatographic methods on extracts of these plants, we isolated and characterized twenty (20) compounds including four (4) new compounds: two (2) flavonoids glycosides of the flavone type [arnoldioside A (**150**) and arnoldioside B (**151**)], isolated from *R. arnoldianum*, one (1) lupane-type triterpene [cassiaric acid (**161**)] as well as one (1) ceramide [cassiamide (**165**)], isolated from *C. arereh*. The sixteen (16) known compounds were grouped into different classes including five (5) flavonoids [three (3) flavones : Apigenin (**147**); isoswertisin (**148**) ; 2''-O-acétyl-7-O-méthylvitexin (**149**) and two (2) flavanols : Catechin (**153**) and epicatechin (**152**)], one (1) isoflavone [4',5-dimethoxy-6,7-methylenedioxyisoflavone (**157**)], two (2) biflavonoids [Amentoflavone (**156**) and Rhusflavone (**155**)], five (5) triterpenes [Lupeol (**157**), Betulinal (**158**), Betulinic acid (**159**), Betulin (**160**), Ceanothic acid (**162**)], one (1) phytosterol (3-O-β-D-glucopyranosyl-β-sistosterol) (**164**), one (1) alkaloid [serotobenin (**166**)] and one (1) benzoylglycoside [Lanceoloside A (**163**)].

The structures of all these compounds were elucidated by a rigorous interpretation of their spectral data, in particular NMR 1D (<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C) and 2D (COSY, HMBC, HSQC, NOESY) in conjunction with mass spectrometry such as ESI.

Regarding biological analysis, the crude extracts and some of the isolated pure compounds were evaluated for their antimicrobial susceptibility on nine microbial strains (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenza*, *Candida albicans*) *in vitro* on culture media. Also, these plants crude extracts and the pure isolated compounds were also investigated for their cytotoxic activities on one mammary (MCF-7) and one cervical tumor cell (HeLa). With respect to the antibacterial susceptibility, the new triterpene [cassiaric acid (**161**)] demonstrated a microbial activity against the bacterial strain *Pseudomonas aeruginosa*, with an MBC of 15.63 μg/mL similar to the reference antibiotic, levofloxacin that was used. In terms of cytotoxic activity, cassiaric acid (**161**) also demonstrated the best cytotoxic activity against the HeLa cell lines, with an IC<sub>50</sub> concentration of 19.0 μg/mL after a period of 48 hours.

**KEY WORDS:** *Rhabdophyllum arnoldianum*, *Rhabdophyllum affine*, Ochnaceae, *Cassia arereh*, Fabaceae, arnoldioside A and B, cassiamide, cassiaric acid, cytotoxicity, antimicrobials assays.



## INTRODUCTION GENERALE

Le cancer est une maladie potentiellement mortelle, avec plus de 100 différents types qui surviennent en raison de changements moléculaires sous-jacents au sein des cellules (Shahat et al., 2019). Il s'agit de la deuxième cause de mortalité dans le monde avec environ 10 millions de décès (soit un décès sur six) en 2020 (Sung et al., 2021) et environ 70% de ces décès surviennent dans les pays à revenu faible ou intermédiaire (WHO, 2020). Au Cameroun, environ 20 745 cas de cancers ont été recensés en 2020 et 13 119 décès sur la même période. Parmi les différents types, les cancers du sein et du col de l'utérus restent les plus courants (WHO, 2020) et représentent 35,7% des cas de cancers (soit 1 cas sur 3) au Cameroun (GLOBOCAN, 2020). Le cancer du sein est une tumeur invasive qui se développe dans les glandes mammaires et celui du col utérin quant à lui, est susceptible de se développer sous l'influence d'agents infectieux tels que les virus, les bactéries, les champignons et les parasites (Moradi et al., 2017). Ajoutés à cela les modifications alimentaires, le tabagisme, la consommation croissante d'alcool et les dépistages tardifs, sont des facteurs aggravant cette pathologie (GLOBOCAN, 2018). Il est désormais bien établi que des agents infectieux constituent l'une des principales causes de cancer et qu'une infection virale, bactérienne ou parasitaire joue un rôle causal dans le développement de près de 20 % des cancers (Oh et al., 2014). Plus de 90 % des maladies infectieuses humaines surviennent dans les pays en voie de développement, particulièrement chez les enfants (Orth et Sansonetti, 2006). En 2019, environ 12 millions de décès ont été causés par des maladies infectieuses dans le monde et parmi ceux-ci, 1,5 million étaient liés à des maladies diarrhéiques (WHO, 2020). Au Cameroun, le Ministère de la Santé Publique estime à 5,01% le taux de mortalité due aux maladies diarrhéiques (Dawaye et al., 2021). Cette situation délétère est accentuée dans les régions les plus déshéritées, où l'hygiène générale et individuelle est très peu observée et où les politiques de prévention sont inexistantes, inadaptées ou insuffisamment financées (Orth et Sansonetti, 2006).

La maladie cancéreuse se caractérise principalement par la prolifération incontrôlée ainsi que par l'échappement à la mort programmée (apoptose) des cellules malignes. Actuellement, son traitement vise à l'éradication complète de ces cellules, à travers leur ablation, en inhibant leur prolifération et en induisant leur mort. Cette stratégie fait appel à plusieurs moyens, utilisés seuls ou en combinaison : la chirurgie d'exérèse, la radiothérapie et les traitements médicamenteux. Parmi ces derniers, nous trouvons la chimiothérapie cytotoxique (Mishra, 2018). La chimiothérapie anticancéreuse fait appel à des médicaments qui interfèrent avec le





fonctionnement cellulaire aboutissant à la mort cellulaire (médicaments cytotoxiques) ou à l'arrêt de la prolifération cellulaire (médicaments cytostatiques). Problème, les médicaments cytotoxiques utilisés de nos jours, ont un index thérapeutique étroit et leurs effets indésirables sont le plus souvent la conséquence directe de leurs effets sur les cellules non tumorales. Les tissus atteints préférentiellement sont ceux dont les cellules ont un potentiel prolifératif élevé, tels que la moelle osseuse (en induisant anémie, thrombopénie, leucopénie, pancytopenie) ou la muqueuse digestive (en induisant mucite, stomatite, diarrhée) (Mishra, 2018). D'autre part, les traitements des maladies infectieuses font face au phénomène de résistance des agents pathogènes aux antimicrobiens (RAM) conduisant à une augmentation de la morbidité et de la mortalité, et par conséquent une majoration des coûts des soins. Actuellement, la plupart des grandes firmes pharmaceutiques ont interrompu leurs recherches sur de nouveaux antibiotiques en raison de leur faible rentabilité, et selon l'OMS, sans antimicrobiens efficaces, le succès de la médecine moderne dans le traitement des infections, y compris lors des actes chirurgicaux et de la chimiothérapie contre le cancer, serait mis en péril. (WHO, 2020). Ainsi, face à une telle problématique, comment lutter efficacement contre la résistance aux antimicrobiens et améliorer la sélectivité des médicaments en chimiothérapie afin de diminuer les effets secondaires et la mortalité liés à ces pathologies?

Les études ont démontré que les produits naturels issus de plantes médicinales jouent un rôle unique dans la recherche et le développement de nouveaux médicaments. À cet égard, environ 35% des médicaments proviennent directement ou indirectement de produits naturels (Calixto, 2019). Plus précisément, 69% de tous les médicaments antibactériens approuvés sont issus de produits naturels et de leurs dérivés (Quave, 2016) et depuis les années 1980, 53% des nouveaux anticancéreux approuvés pour la commercialisation étaient des produits naturels ou dérivés de ceux-ci, à l'instar du paclitaxel, isolé de *Taxus brevifolia* et utilisé dans le traitement du cancer du sein (Amaral et al., 2019). Ces statistiques confortent le fait selon lequel, les plantes constituent un vivier important pour la découverte de molécules d'intérêt biologique et spécifiquement des molécules antimicrobiennes et cytotoxiques avec pour avantage d'avoir des effets secondaires moindres. Ainsi, notre hypothèse de recherche est qu'en explorant les plantes utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des maladies infectieuses et métaboliques, au travers des techniques chromatographiques et analytiques, nous pourrions découvrir de nouveaux agents thérapeutiques efficaces contre les pathogènes résistants et possédant un index de sélectivité élevé, contribuant ainsi à la dynamisation du développement de nouveaux antibiotiques et à la diminution des effets secondaires dus à la chimiothérapie.



C'est en nous inscrivant dans cette mouvance, que le Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles (LPSN) auquel j'appartiens, a fait de la découverte de nouvelles molécules antimicrobiennes et cytotoxiques à partir des plantes médicinales, un axe important de sa recherche. Le présent travail de recherche souscrit entièrement à cette option et porte sur l'étude phytochimique de trois plantes médicinales camerounaises *R. arnoldianum* Tiegh, *R. affine* Hook. F. Tiegh et *C. arereh* Delile) et l'évaluation des activités antimicrobienne et cytotoxique des extraits et quelques composés isolés. D'autant plus que, les genres étudiés sont largement utilisées dans différentes communautés à travers le monde pour soulager diverses maladies telles que : le cancer, la diarrhée, la dysenterie, la toux, la dermatite, la pneumonie, la fièvre jaune, le paludisme, les rhumatismes et maladies du foie (Arbonnier, 2004; Musa et al., 2011; Ngulde et al., 2015).

Ce travail a pour objectif principal la recherche de composés potentiellement antimicrobiens et cytotoxiques émanant de la biodiversité camerounaise aux fins de lutter contre les phénomènes de résistances et de faible sélectivité des médicaments sur le marché.

Plus spécifiquement, il s'agit:

- ✓ de récolter des espèces *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, *R. affine* (Hook. F.) Tiegh et *C. arereh* Delile, d'en isoler et caractériser des métabolites secondaires ;
- ✓ d'évaluer les propriétés cytotoxiques et antimicrobiennes des extraits et métabolites secondaires isolés ;
- ✓ d'affiner le chimiotaxonomie du genre *Rhabdophyllum*.

Notre travail s'articulera autour de trois chapitres :

Le premier concerne la revue de la littérature ;

Le deuxième, intitulé "Résultats et discussion" a trait à nos travaux personnels.

Enfin, le troisième, qui porte sur la partie expérimentale présentera le matériel, les protocoles et les méthodes utilisées. Il est suivi d'une liste des références bibliographiques.



**CHAPITRE 1 :**  
**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1.1 Sélection des plantes

### 1.1.1 Introduction

De nombreuses sources naturelles (microorganismes, plantes, organismes marins...etc.) sont à l'origine de découvertes de nouveaux principes actifs. Mais, les plantes sont historiquement les plus utilisées dans toutes les pharmacopées du monde. Sur les 1 135 nouveaux médicaments approuvés entre 1981 et 2010, 50% provenaient de produits naturels (naturelle, dérivée et analogue). Parmi les exemples bien connus, citons le paclitaxel (Taxol), un médicament largement utilisé contre le cancer du sein, isolé de l'écorce de l'if du Pacifique, *Taxus brevifolia* et la trabectédine (Yondelis) isolée de *Ecteinascidia turbinata* qui a fourni le premier médicament anticancéreux marin à être approuvé en Europe après la cytarabine (David et Wolfender, 2015)

La biodiversité mondiale connue est estimée à 2 millions d'espèces de plantes, d'animaux, de champignons et de micro-organismes et plus de 95% de cette biodiversité n'a pas été évaluée pour toute activité biologique. Le défi est de savoir comment y accéder efficacement et valoriser cette diversité chimique naturelle (David et Wolfender, 2015).

La recherche et l'élaboration des composés bioactifs dans une plante sont longues et onéreuses du fait des multiples étapes nécessaires à l'isolement et à la détermination structurale d'un principe actif. Pour cela, la sélection initiale des plantes à récolter pour mener ce genre d'étude est une étape cruciale qui peut s'appuyer sur différentes approches. Celles-ci reposent le plus souvent sur le criblage aléatoire, la littérature, la chimiotaxonomie, l'ethnopharmacologie, l'écologie chimique ou l'origine géographique. Dans cette optique, un certain nombre de critères ont été pris en compte pour sélectionner les plantes de nos travaux à savoir :

- ✓ L'aspect botanique et chimiotaxonomique ;
- ✓ L'usage ethnopharmacologique ;
- ✓ La littérature.

### 1.1.2 Critères de sélection des plantes

#### 1.1.2.1 Aspects botaniques et chimiotaxonomiques

La connaissance des plantes choisies au travers des enquêtes ethnobotaniques peut être enrichie par la connaissance botanique de ces espèces. Les plantes appartenant aux mêmes familles ou au même genre et/ou qui poussent dans les mêmes biotopes sont susceptibles de synthétiser les molécules chimiques semblables (Grayer et al., 1999).

La chimiotaxonomie, ou classification des plantes en fonction des leurs métabolites secondaires, complète les classifications botaniques basées sur des critères morphologiques et moléculaires (génétiques par exemple) (Grayer et al., 1999). Elle permet, si des substances sont particulièrement connues pour leur potentiel thérapeutique, de choisir des plantes chimiotaxonomiquement proches de celles dans laquelle la substance a été détectée et étudiée.

Les genres *Rhabdophyllum* et *Campylospermum* ont longtemps fait l'objet d'un rapprochement phylogénique du fait de plusieurs similitudes botaniques avant d'être reconnus comme deux genres à part entière (Sosef, 1997; Hörandl, 2006). Une étude chimique des espèces *R. affine* (Hook. F.) Tiegh et *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh permettrait de confirmer ou d'infirmer cette taxonomie.

### 1.1.2.2 Utilisations ethnopharmacologiques

L'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie mettent en relation les savoirs ancestraux des médecins traditionnels et les connaissances scientifiques actuelles. Ce sont avant tout des domaines de recherche interdisciplinaire à l'interface des sciences humaines, comme l'ethnologie, l'histoire, la linguistique, et des sciences de la nature, comme la botanique, la pharmacologie, la pharmacognosie, la médecine (Gurib-Fakim 2006).

La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de cette biodiversité végétale en se servant des informations ethnopharmacologiques. Ces informations recueillies auprès des ethnopharmacologues et des populations locales mènent très souvent à sélectionner des plantes à fort potentiel pharmacologique.

Des travaux effectués par différents auteurs entre 1985 et 1990 et résumés par Lewis et Elvin-Lewis (1995), ont à l'époque permis de mettre en évidence qu'une sélection des espèces effectuée selon des critères basés sur l'ethnobotanique médicale a cinq fois plus de chance d'aboutir à la découverte d'un principe actif d'intérêt thérapeutique, qu'un criblage de plantes effectué au hasard.

Dans ce contexte nous nous sommes rapprochés de quelques praticiens traditionnels dans le but de sélectionner des plantes médicinales ayant un fort potentiel d'activité antimicrobienne du fait de leurs usages traditionnels répandus. D'où le choix particulier de *Cassia arereh* Delile.

### 1.1.2.3 Apport de la littérature

Dans l'optique de la découverte de nouvelles molécules et/ou de nouvelles voies d'application thérapeutique, il est plus judicieux de choisir des plantes qui ont été peu ou pas étudiées sur le plan phytochimique et qui regorgent de données ethnobotaniques, ethnopharmacologiques et pharmacologiques. Ainsi, nous avons envisagé d'exploiter des données de la littérature relatives à quelques plantes médicinales (Bouquet, 1969 ; Musa et al., 2011 ; Olusola et al., 2011 ; Akanbi et al., 2012 ; Imam et al., 2013 ; Ngulde et al., 2013 et 2015 ; Christophe et al., 2017), dans le but de sélectionner celles à fort potentiel antimicrobien et cytotoxique.

Ainsi, dans cette étude, à notre connaissance aucune donnée phytochimique n'est disponible dans la littérature pour *Rhabdophyllum affine* (Hook. F.) Tiegh, *Rhabdophyllum arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh et *Cassia arereh* Delile.

Dans l'optique de réaliser un travail intéressant et scientifiquement porteur, et tenant compte des considérations que nous avons évoquées précédemment, trois espèces, n'ayant pas encore fait l'objet d'études phytochimiques aussi bien au Cameroun que ailleurs dans le monde et qui revêtent une importance tant sur le plan biologique que par leurs usages thérapeutiques, ont retenu notre attention (*R. affine*, *R. arnoldianum*, *C. arereh*) et ont donc été choisies comme matériel biologique pour cette étude.

## 1.2 Etudes antérieures sur la famille des Ochnaceae et la famille des Fabaceae

### 1.2.1 La famille des Ochnaceae

#### 1.2.1.1 Classification systématique et description botanique

##### a) Taxonomie et phylogénie

D'après Chase et collaborateurs (2002), la famille des Ochnaceae appartient à l'ordre des Malpighiales, constituant un petit groupe monophylétique avec les Medusagynaceae (famille monotypique des îles Seychelles) et les Quinaceae (Amérique tropicale). Une étude sur la structure phylogénétique de la famille des Ochnaceae et des groupes apparentés, confirme l'inclusion des Luxemburgiaceae dans les Ochnaceae (Amaral, 2005), tel que suggéré par Gilg (1925), Kanis (1968), Amaral (1991) et autres.

**Embranchement:** Spermatophytes

**Sous embranchement:** Angiospermes

**Classe:** Dicotylédones

**Ordres:** Malpighiales

**Famille:** Ochnaceae

**Figure 1 : Systématique de la famille des Ochnaceae selon Chase et al. (2002)**

Selon Amaral et Bittrich (2005) la famille est divisée en trois sous-familles, les Luxemburgioideae, les Sauvagesioideae et les Ochnoideae, alors que Kanis (1968) puis Amaral (1991) ne reconnaissent que deux sous-familles. Dans les Ochnoideae, deux tribus peuvent être identifiées : les Ochneae et les Elvasieae. Finalement, la tribu des Ochneae est encore subdivisée en deux sous-tribus: les Ochninae et les Ouratinae. Le genre *Rhabdophyllum* Tiegh. appartient à cette dernière, comportant aussi le genre néotropical *Ouratea* Aubl. (Sastre, 1988; 1995) et les genres africains *Campylospermum* Tiegh. et *Idertia* Farron (Kanis, 1968; Farron, 1985).

Au début du XX<sup>e</sup> siècle, la famille des Ochnaceae a été étudiée intensivement par van Tieghem (1902a, d ; 1903 ; 1907). En même temps, mais indépendamment, Gilg travaillait sur la même famille à Berlin (Gilg 1893 ; 1903 ; 1913 ; 1925). Les deux auteurs ont décrit, presque simultanément, beaucoup de nouvelles espèces, parfois même sur des duplicata du même spécimen. En plus de leur rivalité apparente, van Tieghem avait une notion du genre (et des espèces) beaucoup plus étroite que Gilg. Tandis que ce dernier ne reconnaissait que le genre *Ouratea* et décrivait des nouvelles espèces d'Ouratinae africaines dans ce genre, van Tieghem décrivait neuf nouveaux genres: *Campylospermum* Tiegh., *Rhabdophyllum* Tiegh., *Monelasmum* Tiegh., *Exomicrum* Tiegh., *Spongopyrena* Tiegh., *Diphyllopodium* Tiegh., *Bisetaria* Tiegh., *Notocampylum* Tiegh. et *Cercanthemum* Tiegh., dans lesquels il a intégré ses nouvelles espèces.

Plus récemment, les Ouratinae africaines ont été étudiées, parfois en grand détail, par Farron (1963 ; 1965 ; 1968 ; 1985). Bien qu'il ait publié divers éléments d'une révision des Ouratinae africaines, incluant des clés d'identification et des cartes de distribution (mais sans descriptions d'espèces), ainsi que le traitement pour la Flore d'Afrique Centrale (Bamps, 1967), il n'a jamais réussi à l'achever. La liste très utile des noms acceptés et synonymes dans *Rhabdophyllum* et *Campylospermum*, publiée en 1965, n'est malheureusement pas complète, nous laissant avec quelques noms au statut incertain.

La polémique entre Gilg et van Tieghem, portant sur la délimitation générique, demeure encore aujourd'hui. Ceci est étonnant au regard des travaux détaillés de Farron (1963, 1965, 1985) qui ont prouvé que, tout en étant moins nombreux que ceux reconnus par van Tieghem, les genres suivants peuvent être facilement distingués: *Ouratea* strictement néotropical, *Campylosperrum*, *Idertia* et *Rhabdophyllum*, paléotropicaux.

Farron, distingua trois genres d'Ouratinae : *Campylosperrum* Tiegh. le plus riche en espèces et très répandu; *Idertia* Farron et *Rhabdophyllum* Tiegh., strictement africains et moins riches. Cette opinion est également suivie par Amaral et Bittrich (2005) et Sosef (2008).

Famille: Ochnaceae

Sous-famille: Luxemburgioideae

Sous-famille: Sauvagesioideae

Sous-famille: Ochnoideae

Tribu: Elvasieae

Tribu: Ochneae

Sous-tribu: Ochninae

Sous-tribu: Ouratinae

Genres: *Rhabdophyllum*, *Ouratea*, *Campylosperrum*, *Idertia*

## Figure 2 : Systématique de la famille des Ochnaceae d'après Amara & Brittrich (2005)

### b) Description botanique

Cette famille est définie par des feuilles alternes avec des stipules parfois lancinées, l'ovaire est intérieurement lobé, les fruits sont souvent séparés par le réceptacle. On dénombre environ 40 genres et 600 espèces (Heywood, 1978), bien que certains auteurs n'en répertorient qu'une trentaine (Mabberley, 2008).

Les nervures secondaires de *Campylosperrum* se courbent vers le haut longtemps avant d'atteindre la marge, les dents marginales sont caduques et les cotylédons incurvés. *Rhabdophyllum* partage les deux derniers caractères avec *Campylosperrum*, mais la distinction entre les deux est évidente: le premier a des nervures secondaires très denses, fines et parallèles, et des pétales aussi longs que les sépales, tandis que le second possède une nervation secondaire plus lâche et non-parallèle, ainsi que des pétales beaucoup plus longs que les sépales. En examinant les espèces *C. lecomtei* (Tiegh.) Farron et *C. paucinervatum* Sosef (Sosef, 2007), il est remarquable



de constater que les nervures secondaires sont peu visibles ou absentes et que les nervures tertiaires ressemblent à celles observées chez *Rhabdophyllum*. Ceci permet de suggérer que la nervation secondaire chez *Rhabdophyllum* est complètement absente, et qu'il s'agit en fait d'une nervation tertiaire, mais ceci reste à confirmer.

Une autre distinction entre les deux genres, moins évidente à première vue, est que les glomérules de fleurs disposés le long de l'axe de l'inflorescence sont constitués par des cymes bipares dans *Campylospermum*, tandis que dans *Rhabdophyllum* ce sont des cymes unipares (Farron, 1968). Il serait très intéressant de vérifier si les données moléculaires peuvent confirmer la délimitation de ces genres tels que présentés ici. L'hypothèse basée sur les études de Farron (1963, 1968), est que *Rhabdophyllum* serait dérivé à l'intérieur de *Campylospermum*, laissant alors ce dernier comme genre paraphylétique parfaitement acceptable (Sosef, 1997; Hörandl, 2006).

### c) Distribution géographique

Les Ochnaceae constituent une famille de plantes dicotylédones largement répandues dans les régions sub-tropicales et tropicales de l'Amérique du sud, de l'Afrique au sud du Sahara et de l'Asie du Sud-Est ainsi que Madagascar. Ce sont des arbrisseaux et des arbustes (Adam, 1971).



**Figure 3 : Distribution géographique de la famille des Ochnaceae**

([https://www.plantes-botanique.org/famille\\_ochnaceae](https://www.plantes-botanique.org/famille_ochnaceae), consulté le 25 Mai 2021)

#### 1.2.1.2 Importance économique

Assez ornementales avec leurs grappes de fleurs jaunes et leurs fruits rouges, les Ochnaceae arbustives sont très souvent employées dans la production de matériaux de construction et d'objets ornementaux. En Afrique, le bois de *Lophira alata* encore appelé azobé ou Bongossi, très résistant, est utilisé pour la production des matériaux de construction (Bolza, 1972), ses feuilles sont utilisées

dans le tatouage. Certaines espèces sud-américaines du genre *Ouratea* sont utilisées en culture ornementale d'intérieur à l'instar de *Ouratea floribunda* et *Ouratea castanaefolia* (Suzart, 2007). Certaines espèces africaines du genre *Ouratea* sont utilisées comme poison de chasse à l'instar de *Ouratea calophylla* (Bouquet, 1969; Dieter, 1996).

### 1.2.1.3 Utilisations ethnomédicinales

Les médecines traditionnelles d'un grand nombre de régions utilisent la famille des Ochnaceae pour la préparation de traitements d'une gamme très étendue de pathologies telles que les problèmes intestinaux, les douleurs intercostales, les débuts de hernies, les dysménorrhées, la blennorragie, les gingivites etc (Bouquet, 1969).

Les usages comme émétique, purgatif, vésicant et pour le traitement de maladies de la peau, sont des exemples de l'utilisation des effets toxiques de ces remèdes traditionnels (Bouquet, 1969). Dans ces applications, les doses sont cependant faibles, afin de favoriser l'effet bénéfique par rapport aux effets secondaires.

Les utilisations médicinales des Ochnaceae sont très nombreuses. Le tableau 1 ci-après résume les emplois traditionnels répertoriés dans certaines régions du monde.



**Tableau 1 : Quelques utilisations ethnomédicinales répertoriées de la famille des Ochnaceae (Bouquet, 1969; Dieter, 1996; Fidelis et al., 2014; DeFilipps et al., 2004 ).**

Plantes	Parties	Utilisations	Pays
<i>Campylospermum sulcatum</i>	écorces	Le décocté est donné à boire, le matin à jeun, comme traitement de l'impuissance sénile et comme aphrodisiaque.	Congo-Brazzaville
<i>Campylospermum elongatum</i> (Oliv.) van Tiegh.	Racines	mélangées à <i>Drypetes agelaea</i> , elles sont employées pour soigner la blennorragie.	Congo-Brazzaville
<i>Campylospermum densiflorum</i>	Feuilles et racines	En décoction, elles traitent le paludisme, l'ictère, les maux d'estomac et contre la fièvre.	Cameroun
<i>Campylospermum descoingsii</i> Farron	Ecorces	La décoction additionnée au lait et à la teinture d'iode permet de soigner le goitre	Congo-Brazzaville
<i>Campylospermum dybovskii</i> van Tiegh.	Racines	Associées aux graines de maniguette, elles servent pour traiter l'impuissance sénile.	Congo-Brazzaville
<i>Campylospermum lecomtei</i> (van Tiegh.) Farron	Ecorces et racines	Le décocté sert à calmer les nausées et les vomissements (en boisson).	Congo-Brazzaville
<i>Lophira alata</i> Banks ex Gaertn. f.	Ecorces	La poudre d'écorces, mélangée à de l'huile de palme et du sel gemme est utilisée contre les maux de cœur, les crachements de sang et les douleurs intercostales.	Cameroun, Congo
<i>Lophira lancéolata</i> van Tiegh.	Racines	Elles traitent les dermatoses rebelles, les plaies, les ictères, les conjonctivites et les œdèmes.	Congo, Côte d'ivoire, Sénégal et Nigéria
<i>Ochna afzelii</i> R. Br. ex Oliv	Racines	Elles soignent la toux et la dysenterie.	Congo-Brazzaville et RDC
	Feuilles	Elles sont employées pour soigner le déchaussement des dents ou les gingivites.	
<i>Ochna calodendron</i> Gilg & Mildbr.	Ecorces	Elles servent au traitement des plaies par application de la poudre des écorces.	Cameroun, Congo-Brazzaville
<i>Ouratea spectabilis</i>	Feuilles	Elles sont utilisées comme vermifuge, ainsi que pour le traitement de la détresse gastrique.	Brésil
<i>Ouratea parviflora</i>	Feuilles	les infusions sont prescrites pour le traitement de maladies liées à l'inflammation telles que les rhumatismes, les entorses, les troubles arthritiques et d'autres maladies de la peau.	Brésil
<i>Sauvagesia erecta</i>	Plante entière	Elle est utilisée pour l'ophtalmie et la diarrhée, pour les infections du tube digestif et pour traiter les rhumes et la toux. Diurétique et anti-inflammatoire.	Guyane
	Feuille	Son infusion est utilisée pour traiter la diarrhée. Pectorale, mucilagineuse.	Guyane

#### 1.2.1.4 Principaux métabolites secondaires isolés de la famille des Ochnaceae

Cette partie a pour but de donner un aperçu de la variété des métabolites secondaires produits par la famille des Ochnaceae, ainsi que de leurs activités biologiques. Il ne s'agit donc pas d'une liste exhaustive, car seuls les composés les plus représentatifs sont répertoriés. Un accent particulier a été mis sur les classes de composés issus du genre *Campylospermum* (flavonoïdes, biflavonoïdes, terpénoïdes, alcaloïdes, cyanoglycosides et stéroïdes) afin d'établir aisément le lien chimiotaxonomique éventuel entre ce dernier et le genre *Rhabdophyllum* qui a fait l'objet d'une partie de notre travail.

##### a) Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques très répandus dans la famille des Ochnaceae (Tang et al., 2003). Ils sont présents dans presque tous les organes de la plante et jouent un rôle important dans le système de défense comme antioxydants (Furusawa et al., 2005). Ces métabolites secondaires sont connus pour leurs diverses propriétés biologiques telles que antioxydante, anti-inflammatoire, antithrombique, antibactérienne, antihépatotoxique, antitumorale, antihypertensive, antivirale et antiallergique (Andersson et al., 1996). L'activité oestrogénique de certaines isoflavones a également été mise en évidence (Harborne et Williams, 2000).

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone formé de deux cycles phényles C<sub>6</sub>, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). Ce dernier, situé entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (cycle central). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 10, et dans le cycle B de 1' à 6' (Figure 5) (Bruneton, 1999). La Distinction des sous-classes se fait sur la conformation de la structure centrale (cycle C).

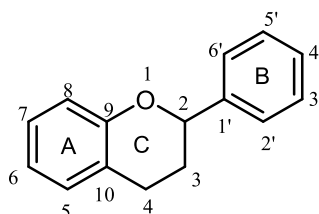
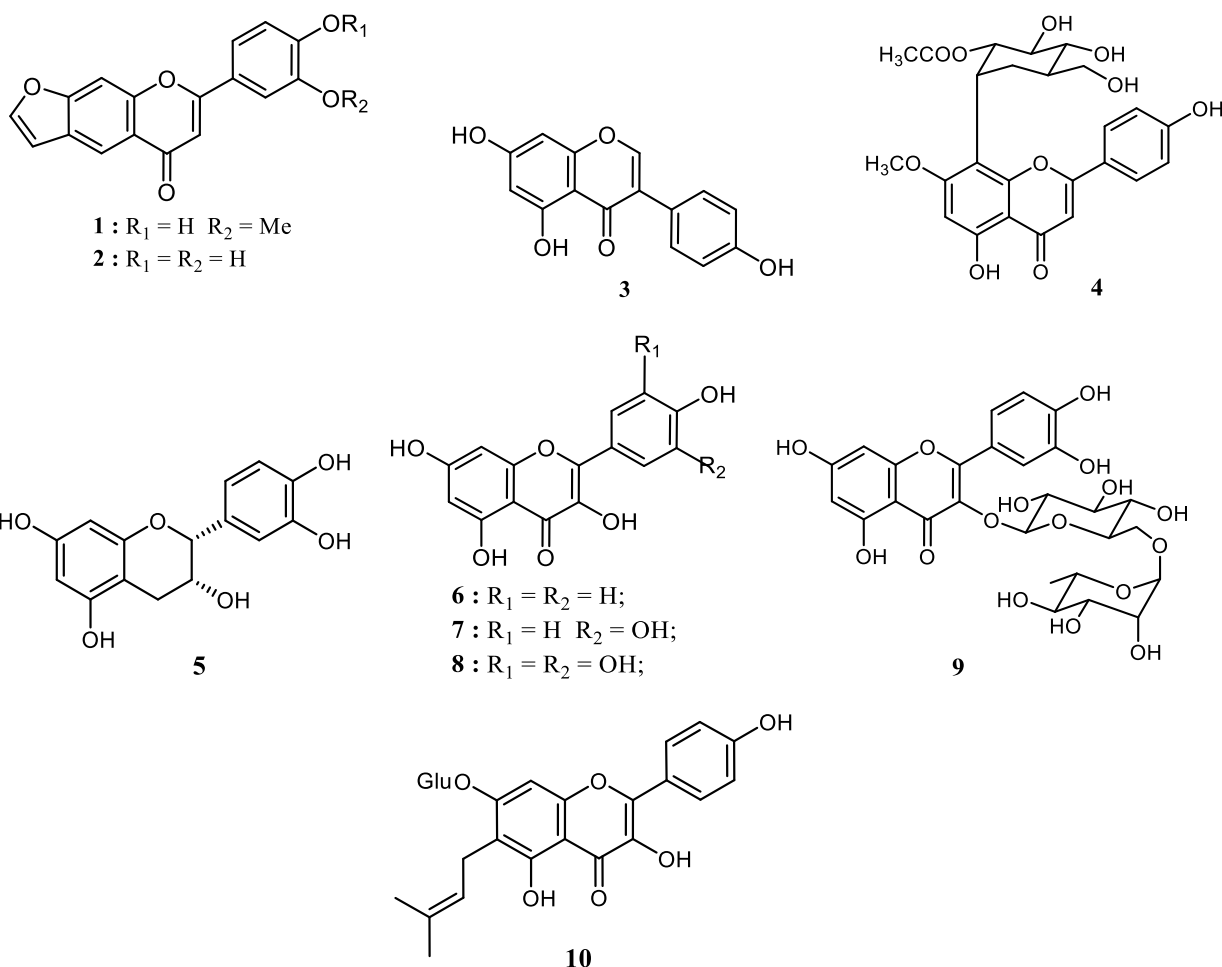


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003)

Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles libres, méthylés ou glycosylés) sur les deux cycles aromatiques A et B et le cycle central C.

Le genre *Ochna*, genre type de la famille des Ochnaceae, a donné son nom aux flavonoïdes 4'-hydroxy-3'-methoxyfurano [4'',5'',6,7] flavone (**1**) et 3',4'-dihydroxyfurano[4'',5'',6,7] flavone (**2**), qui furent isolés de l'espèce *Ochna squarrosa* L. et qui ont montré une activité anti-inflammatoire et analgésique significative (Anuradha et al., 2006). Du même genre Messanga et al., (2002) ont isolé et identifié la prunétine (**3**). Des écorces de *Campylospermum flavum* Ndongo et al. (2010) ont isolé la 2''-O-acetyl-7-O-methylvitexine (**4**) et l'épicatéchine (**5**)

La présence de flavonols hydroxylés, comme le kaempférol (**6**), la quercétine (**7**) ou la myricétine (**8**), ainsi que les flavonol O-glycosylés tels que la rutine (**9**) et la 6- $\gamma,\gamma$ -dimethylallylkaempferol-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**10**) chez quelques espèces du genre *Ouratea* a été mise en évidence (Moreira et al., 1994 ; Carvalho et al., 2008). Ces flavonols, en plus des caroténoïdes, sont responsables de la coloration jaune des fleurs chez certaines variétés d'angiospermes.



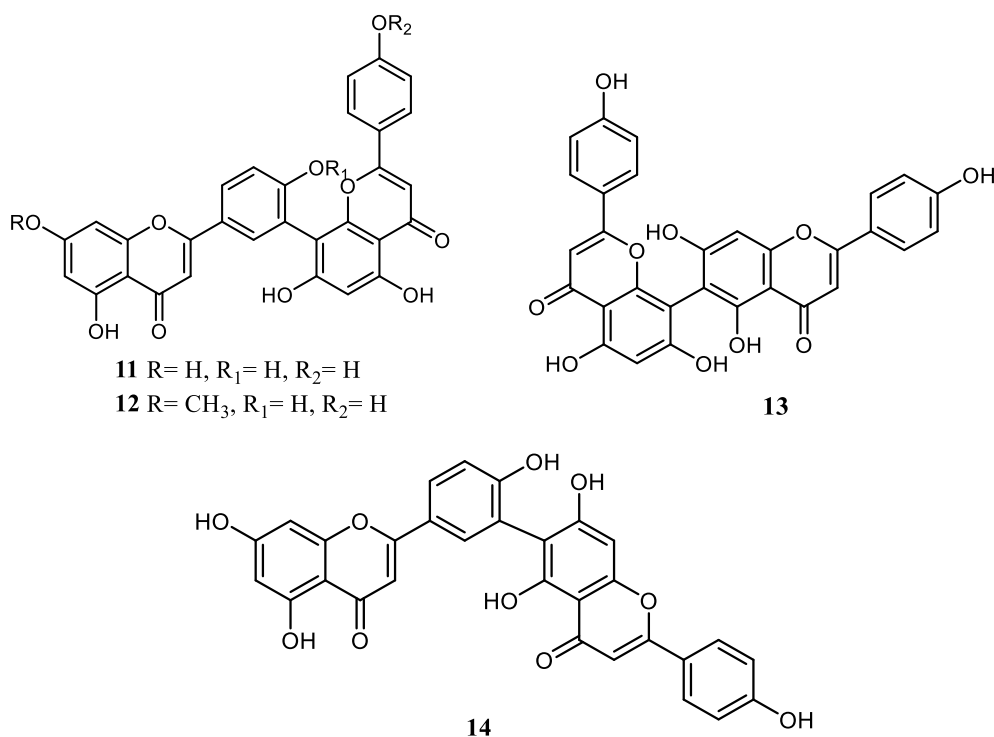
## b) Biflavonoïdes

Les biflavonoïdes constituent une classe de métabolites secondaires obtenus par condensation d'unités flavonoïdes identiques (dimères homogènes) ou d'unités flavonoïdes différentes (dimères mixtes) (Robinson, 1955). Les jonctions entre les unités flavonoïdes peuvent être de type C—C, ou de type C—O—C formée à partir du couplage oxydatif de deux radicaux libres issus d'unités chalcones suivi d'une modification de l'unité centrale en C3 (Jackson et al., 1971).

Les biflavonoïdes sont très répandus dans la famille des Ochnaceae particulièrement dans les genres *Lophira*, *Ochna*, *Ouratea* et *Campylospermum*.

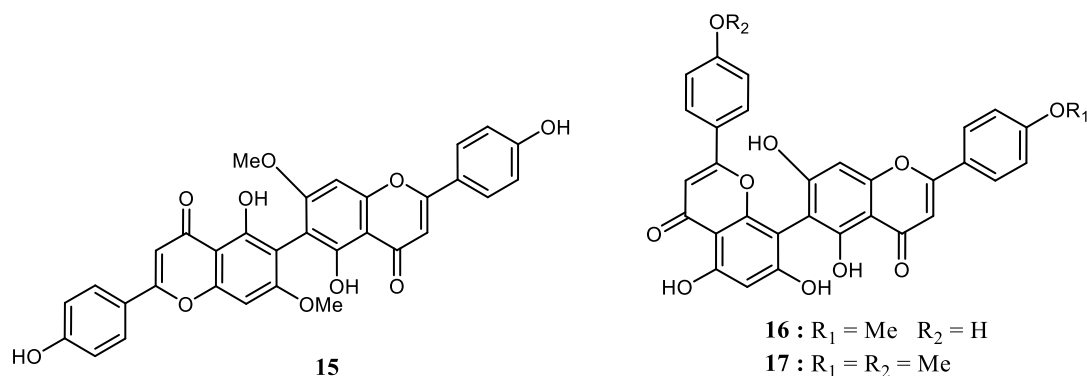
### • Les Biflavones

Des feuilles de *Campylospermum glaucum*, *Campylospermum calanthum*, *Campylospermum flavum*, et *Campylospermum manni*, Ngono et al. (2015), Bayiha et al. (2013), Ndongo et al. (2010) et Elo et al. (2009), ont isolé l'amentoflavone (**11**), la Sequoiaflavone (**12**), l'agathisflavone (**13**) et la robustaflavone (**14**).



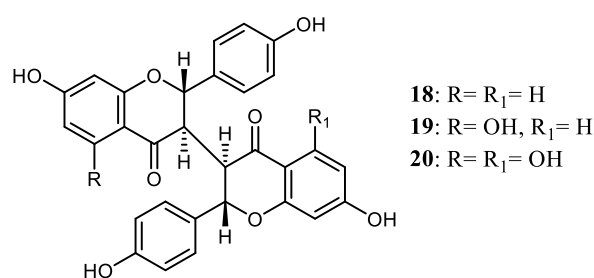
Le travail de Felicio et al. (1995) effectué sur des feuilles de *Ouratea spectabilis*, a fourni la 6,6"-bigenkwanine (**15**) possédant une activité inhibitrice sur la production de l'aflatoxine par les cultures de *Aspergillus flavus* (Gonzalez et al., 2001).

De l'extrait au MeOH des feuilles d'*Ouratea nigroviolaceae* qui a montré une activité restreinte vis-à-vis des souches microbiennes, Mbing et al. (2007) ont isolé en plus de l'agathisflavone (**13**), deux biflavonoïdes dérivés mono et diméthylés de l'agathisflavone, les ouratines A (**16**) et B (**17**).



### • Les Biflavanones

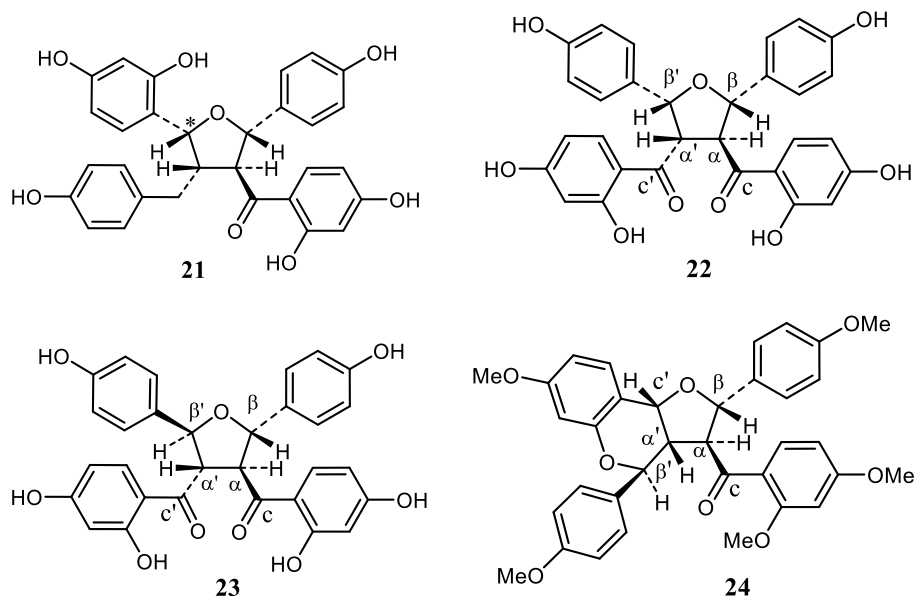
Les recherches entreprises sur les feuilles et racines de *Campylopermum manii* par Elo et al. (2009) ont conduit à l'isolement de trois biflavanones dont deux dérivés nouveaux [les campylospermones A (**18**) et B (**19**)] et un connu à savoir la chamaesjasmine (**20**).



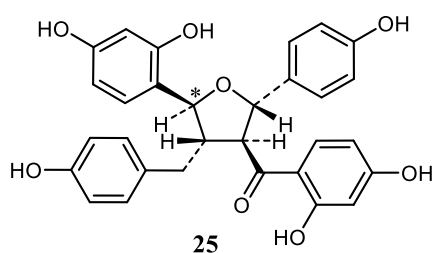
### • Les Bichalcones

Les chalcones sont structurellement un des groupes les plus variés des flavonoïdes, comme en témoigne la formation d'un grand nombre de dimères, d'oligomères, d'adduits Diels–Alder et les composés de toutes sortes. Dans le même temps, ils sont d'une grande importance dans la biosynthèse des flavonoïdes et agissent comme précurseurs immédiats de toutes les autres classes de flavonoïde. Les bichalcones résultent de la condensation de deux unités chalcones. Généralement présentes dans la famille des Ochnaceae, ils sont très répandus dans les genres *Ochna* et *Lophira*.

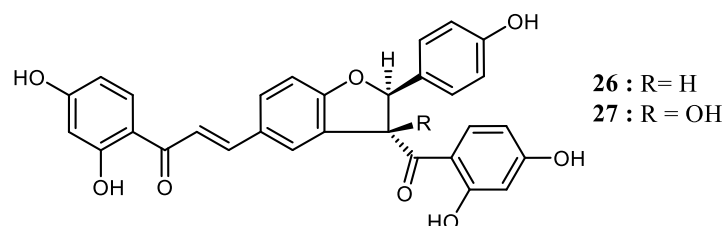
Ghogomu et collaborateurs (1989, 1994) ont isolé des racines de *Lophira lanceolata* plusieurs dérivés chalcones; l'isombamichalcone (**21**) et les lophirones F (**22**), G (**23**) et H (**24**), Les lophirones F et G étant des isomères, qui diffèrent au niveau de la configuration du carbone ( $\beta'$ ).



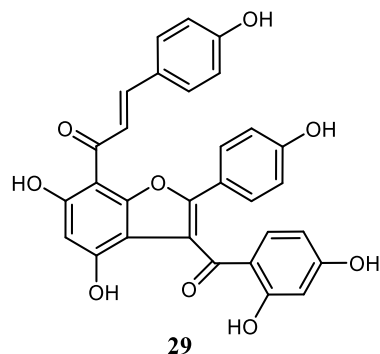
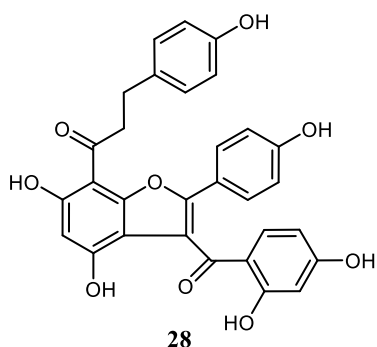
Les travaux effectués par Tih et collaborateurs (1988) sur les racines de *Lophira alata* ont permis d'isoler la mbamichalcone (**25**), isomère de l'isombamichalcone (**21**) et diffère de celui-ci au niveau de la configuration d'un seul atome de carbone.



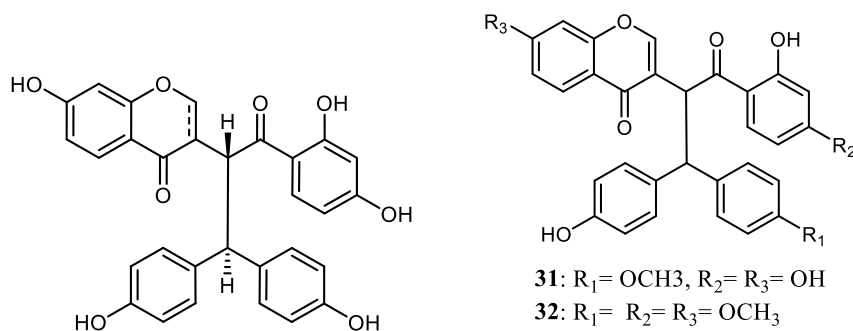
Des racines de *Ochna calodendron*, Messanga et collaborateurs (1994) ont isolé les lophirones C (**26**) et K (**27**) et les calodenines A (**28**) et B (**29**).







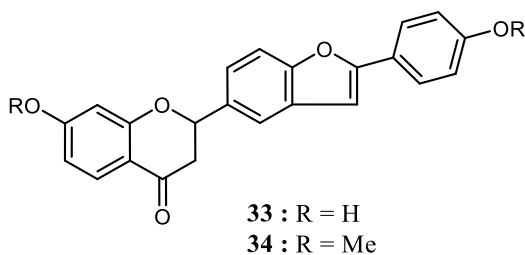
Les travaux menés par Abouem et collaborateurs (2008) ont permis d'isoler, des feuilles de *Campylopermum glaucum*, la lophirone A (**30a**) et plus tard, Nkot et collaborateurs (2018) ont isolé un mélange de biflavonoïdes dont une nouvelle, la dihydrolophirone A (**30b**) associé à la lophirone A (**30a**) des racines de *Lophira lanceolata*. Une étude phytochimique des racines d'*Ochna schweinfurthiana* a conduit à l'isolement de deux nouveaux composés, la 4'''-méthoxylophirone A (**31**), la 4,4'-4'''-triméthoxylophirone A (**32**) (Messi et al., 2016).



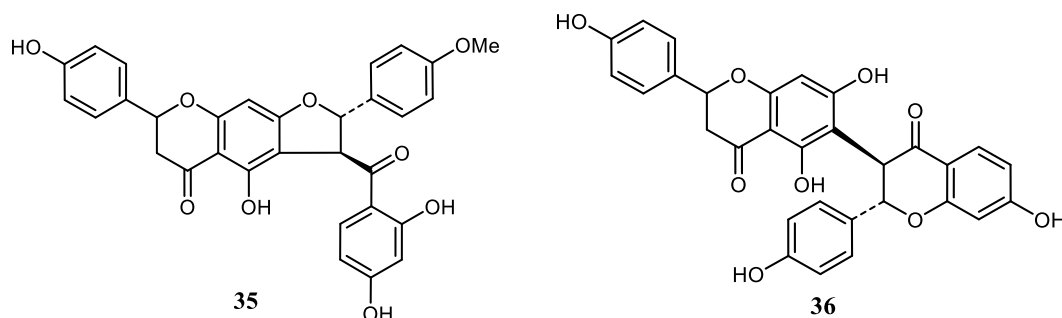
**30a** :  $\Delta^{1,2}$   
**30b** :  $\Delta^{1,2}$ -dihydro

### • Les flavanone et flavone–chalcones

Toujours sur les racines de *Lophira lanceolata*, Ghogomu et collaborateurs (1994), ont isolé les lophirones I (**33**) et J (**34**).



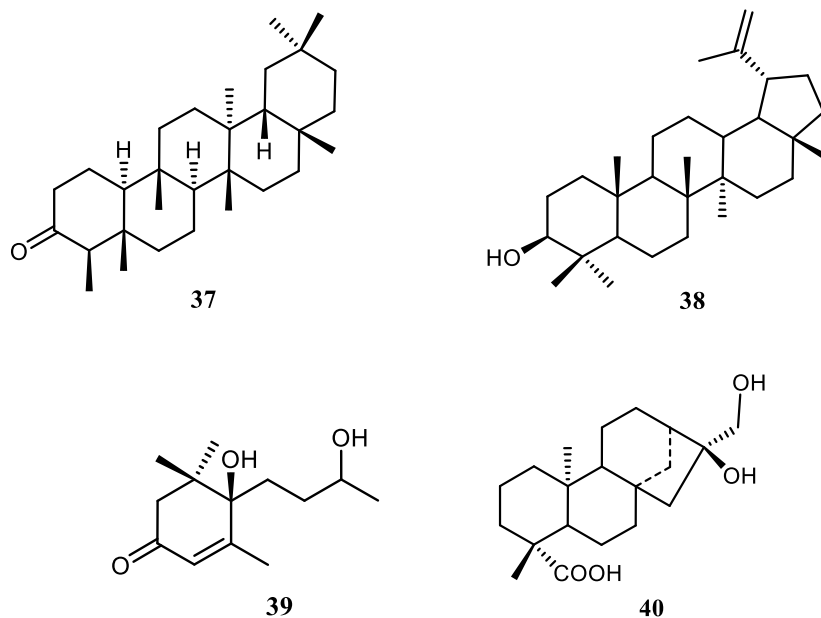
Les travaux sur l'extrait au MeOH des racines d'*Ochna afzeli* ont conduit à l'isolement des afzélones A (**35**) et B (**36**) (Pegnyemb et al., 2003).



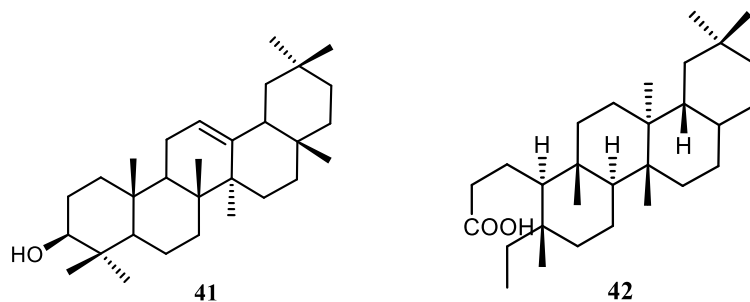
### c) Terpénoïdes

Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène  $C_5H_8$  et ont pour formule de base des multiples de celle-ci, c'est-à-dire  $(C_5H_8)_n$ . On peut considérer l'isoprène comme l'un des éléments de construction préférés de la nature.

Quelques triterpènes ont été mis en évidence dans certains représentants de la famille des Ochnaceae. Velandia et collaborateurs (2002) ont isolé la friedeline (**37**), le lupéol (**38**), la 6,8-dihydroxymegastigma-3,7-diène-3-one (**39**) et l'acide ent-16 $\alpha$ , 17-dihydroxykauran-19-oïque (**40**) des feuilles d'*Ouratea semiserrata*.



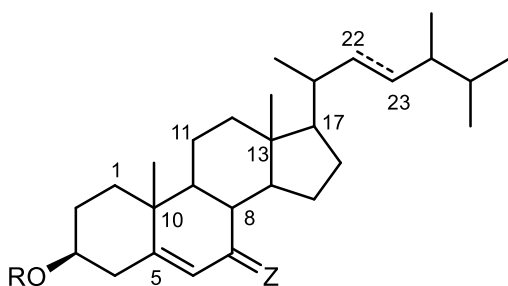
A partir des feuilles de *Ouratea nitida*, Dutra et collaborateurs (1992) ont isolé un triterpène de type oléanane, la  $\beta$ -amyrine (**41**) et l'acide 3,4-seco-friedelan-3-oïque (**42**).



#### d) Stéroïdes

Ce sont des lipides dérivant des triterpénoïdes. Généralement, les carbones C<sub>10</sub>, C<sub>13</sub> sont liés à un groupe méthyl -CH<sub>3</sub> et le carbone C<sub>17</sub> à un groupe alkyl. Nous pouvons citer entre autre le  $\beta$ -sistostérol (**43**) isolé des feuilles d'*Ouratea semiserrata* (Velandia et al., 2002) qui est ubiquitaire dans le règne végétal (Borris et al., 1988). De la même espèce ont été isolés le stigmastérol (**44**), le 7-oxostigmat-5-en-3 $\beta$ -ol (**45**), le 7-oxostigmata-5,22-dien-3 $\beta$ -ol (**46**) et le 3 $\beta$ -O-D-glucopyranosyl- $\beta$ -sistosterol (**47**).

En 2011, Ngono et collaborateurs ont isolé pour la première fois, des feuilles de *Campylopermum densiflorum*, deux acylstéryl glycosides nommés densiflosides A (**48**) et B (**49**). Des feuilles de *Campylopermum oliverianum*, Ngono et collaborateurs (2015) ont isolé le 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside de campestérol (**50**) le 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside du  $\beta$ -sitostérol (**47**), le 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside de stigmastérol (**51**).



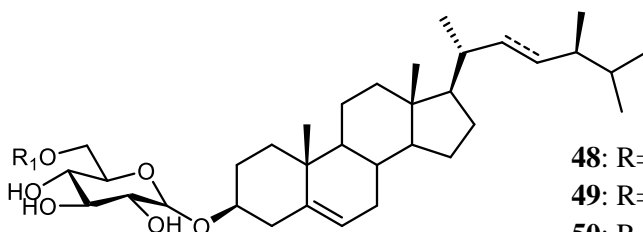
**43** : Z = H, H R = H  $\Delta^{22,23}$ -dihydro

**44** : Z = H, H R = H,  $\Delta^{22}$

**45** : Z = O R = H  $\Delta^{22,23}$ -dihydro

**46** : Z = O R = H,  $\Delta^{22}$

**47** : Z = H, H R = Glc  $\Delta^{22,23}$ -dihydro



**48**: R = CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, R<sub>1</sub> = 2-(palmitelaidoyloxy)- $\beta$ -Glu-,  $\Delta^{22,23}$ -dihydro

**49**: R = CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, R<sub>1</sub> = 2-(palmitelaidoyloxy)- $\beta$ -Glu-,  $\Delta^{22,23}$

**50**: R = CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = H,  $\Delta^{22,23}$ -dihydro

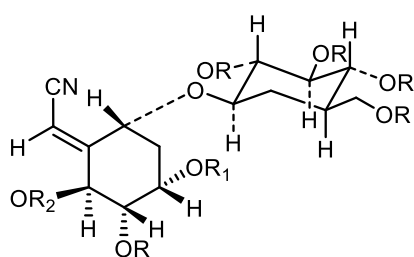
**51**: R = CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, R<sub>1</sub> = H,  $\Delta^{22,23}$

### e) Cyanoglycosides

Les cyanoglycosides peuvent être définis comme des composés résultant de l'hydrolyse et de la glycosylation des nitriles correspondants. Ce sont généralement des  $\beta$ -glycosides, des  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -hydroxynitriles dont certains sont cyanogènes (Bjarnholt et al., 2008).

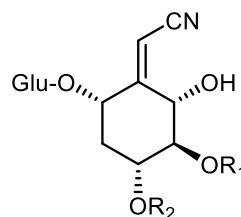
Quelques cyanoglycosides ont été mis en évidence dans la famille des Ochnaceae. Ainsi, Ghogomu et collaborateurs (1994) ont isolé des écorces et racines de *Lophira lanceolata*: les lancéolines A (**52**) et B (**53**). Tandis que la lancéoline C (**54**) fut isolée des Feuilles de *Campylopermum dybowski* et *Campylopermum glaucum* par Ngono et collaborateurs (2015).

Abouem et collaborateurs (2008) ont décrit, des feuilles de *Campylopermum glaucum*, deux nouveaux cyanoglycosides à savoir les campylosides A (**55**) et B (**56**). Zintchem et al. (2014) isolèrent deux cyanoglucosides nommés dhurrine (**57**) et menisdaurine (**58**), des feuilles de *Campylopermum sulcatum*, qui ont montré de bonnes activités cytotoxiques contre le microcrustacé *Artemia salina*.



**52** : R = R<sub>1</sub> = H R<sub>2</sub> = Bz

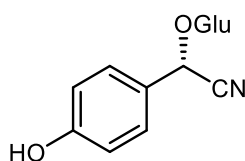
**53** : R = R<sub>2</sub> = H R<sub>1</sub> = Bz



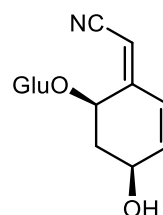
**54**: R<sub>1</sub> = Bz, R<sub>2</sub> = H (Enantiomère de **53**, (4R, 5R))

**55**: R<sub>1</sub> = Bz, R<sub>2</sub> = H (4S, 5S)

**56**: R<sub>1</sub> = pyrrole-2-ylcarbonyl, R<sub>2</sub> = Bz



**57**



**58**

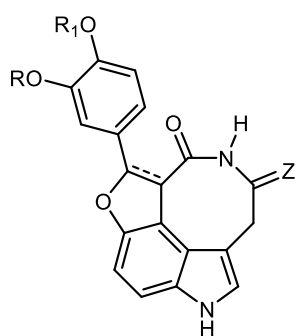
### f) Alcaloïdes

Le terme d'alcaloïde (de "al Kaly" = base en arabe) est introduit par le pharmacien allemand Wilhelm MEISSNER pour la première fois en 1819. Un alcaloïde est défini comme étant un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doué, à faible dose, de propriétés pharmacologiques (Bruneton, 1987).

Les alcaloïdes sont des principes actifs de nombreuses plantes médicinales ou toxiques connus depuis l'antiquité. Ils sont à l'origine de nombreux médicaments utilisés en thérapeutique moderne telles que la morphine, la quinine, la cocaïne, la chloroquine et l'hydroxychloroquine (Poisson, 2021).

Les travaux effectués par Abouem et collaborateurs (2008) sur *Ouratea turnerea*, ont permis d'isoler pour la première fois d'une plante de la famille des Ochnaceae, un alcaloïde indolique, la sérotobénine (**59**) reconnue pour ses propriétés antibactériennes et antioxydantes intéressantes (Kumarasamy et al., 2002).

Plusieurs alcaloïdes ont été isolés du genre *Campylosperrum* entre autres la décurzivine (**60**), la flavumindole (**61**) et la campylosperrine (**62**) des écorces de *Campylosperrum flavum* (Ngono et al., 2011; Ndongo et al., 2010), la calanthumindole (**63**) des feuilles de *Campylosperrum calanthum* (Njock et al., 2013).

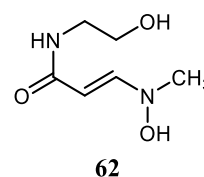


**59**: R= H, R<sub>1</sub>= CH<sub>3</sub>, Z= H, H; Δ<sup>14,15</sup>-dihydro

**60**: R= R<sub>1</sub>= CH<sub>2</sub>, Z= H, H; Δ<sup>14,15</sup>-dihydro

**61**: R= H, R<sub>1</sub>= CH<sub>3</sub>, Z= O; Δ<sup>14,15</sup>-dihydro

**63**: R= H, R<sub>1</sub>= CH<sub>3</sub>, Z= O; Δ<sup>14,15</sup>



## 1.2.2 Le genre *Rhabdophyllum*

### 1.2.2.1 Description botanique et distribution

Ce sont de petits arbres aux feuilles à pétiole court, stipules intra-axillaires, soudées à la base; les nervures secondaires sont nombreuses, serrées, parallèles et plus ou moins droites jusqu'au bord. Les inflorescences axillaires sont souvent groupées sur une tige comprimée et munies à leur base de petites écailles imbriquées (composées de deux stipules soudées à la base et portant entre elles la feuille réduite à une épine courte), persistantes ou caduques, généralement pluriflores, avec des fleurs groupées en cymes unipares réduites selon le rachis principal (alors en fausse grappe), lequel est parfois très court. Les fleurs, sont actinomorphes et longuement pédicellées ; les sépales sont persistants et accrescents, quelques-uns avec leur bord dédoublé en deux lames qui engrènent les bords simples des sépales voisins; les pétales jaunes, rapidement caducs, elliptiques-obovés, ne dépassant guère les sépales en longueur, avec des bords internes s'insinuant dans le bouton entre les étamines ; les étamines 10, forment un manchon autour du

style, anthères presque sessiles, ridées transversalement ; le gynécée a 5 carpelles libres, uniovulés; style unique, gynobasique, vert. Les fruits à pédicelle et réceptacle accrescents, sont rouges ou roses comme les sépales persistants; les drupéoles sphériques ou réniformes, sont brunes ou noires ; les cotylédons sont incombants, iso- ou hétérocotylés.

Le genre comprend huit espèces, connu de l’Afrique tropicale, depuis la Guinée-Conakry et la Sierra Leone à l’Ouest jusqu’à la République Démocratique du Congo, l’Angola et la Zambie, à l’Est (Sosef, 2008).

### 1.2.2.2 Utilisations ethnomédicinales

*Rhabdophyllum calophyllum* (Oliv.) van Tiegh

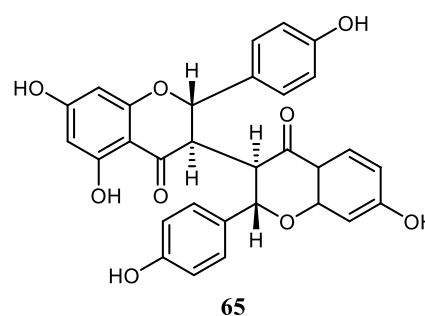
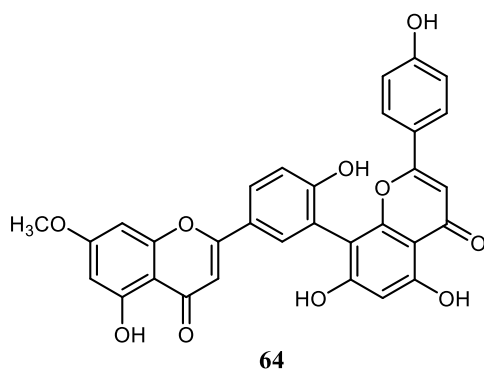
Au Congo les feuilles, prises avec des fruits d’*Aframomum melegueta* K. Schum., sont considérées comme aphrodisiaque (Lemmens, 2012). Les Mbaamba mangent les feuilles avec des graines de maniguette, accompagnées d'un bon verre de vin rouge pour stimuler l’appetit sexuel. Les Téké en font boire la décoction aux malades atteints de coxalgie (Bouquet, 1969).

*Rhabdophyllum welwitschii* van Tiegh.

Utilisé contre le mal des côtes, ou lorsqu'on se sent fatigué, affaibli, ou après une maladie, un verre d'une tisane préparée avec les racines est bu comme reconstituant, tous les jours. Dans la Likouala (Congo) la plante est assez prisée comme aphrodisiaque (Bouquet, 1969)

### 1.2.2.3 Principaux métabolites secondaires isolés du genre *Rhabdophyllum*

Le genre *Rhabdophyllum* demeure très peu exploré et la seule étude antérieure est celle de Baleba et collaborateurs (2016) qui, de l’extrait à l’acétate d’éthyle des feuilles de *Rhabdophyllum calophyllum*, ont isolé quatre biflavonoïdes nommées : agathisflavone (**13**), amentoflavone (**11**), 7-*O*-méthylamentoflavone (**64**) et campylospermone B (**65**).



### 1.2.3 *Rhabdophyllum arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh

#### 1.2.3.1 Présentation

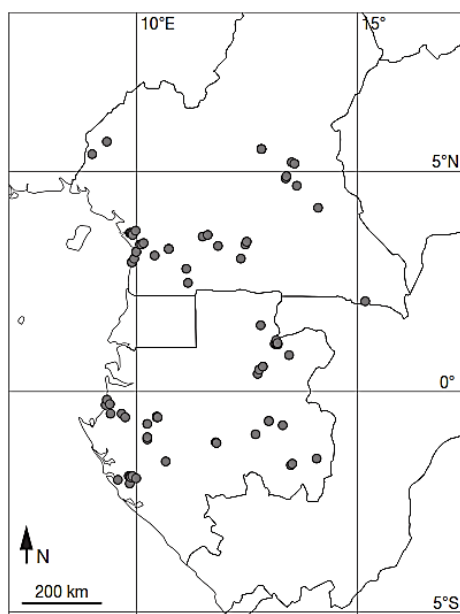
C'est un arbre atteignant 15 m de hauteur, à tiges grêles avec des feuilles à stipules rapidement caduques et un pétiole de 2-5 mm de longueur ; le limbe étroitement elliptique-obovale, est cunéé à la base, acuminé à caudé au sommet, de 6,5-14(-18) × 24(-5) cm, papyracé ; la marge est entière ou légèrement denticulée ; les nervures secondaires sont denses, non hiérarchisées, peu saillantes en dessous. Les inflorescences (3-)7-13(-17) cm de longueur, ont au moins 10 fleurs ; les cymules portant (2-)3-7 fleurs, ont des axes de moins de 1 mm de longueur ; les écailles à la base de l'inflorescence sont peu ou non persistantes. Les fleurs ont des pédicelles de 6-11 mm avec des sépales de 4-6 × 2-3 mm et des pétales de 4-6 mm de longueur. Les fruits à pédicelle, réceptacle et sépales rouges ou rose saumon avec des méricarpes réniformes, d'abord jaunes, puis noirs à maturité (Sosef, 2008).

Il est localisé du Nigéria jusqu'au Soudan et à l'est de la République Démocratique du Congo, au Cameroun, en Guinée Équatoriale, au Gabon, à Sao Tomé et au Congo (Sosef, 2008).



**Figure 5 : Photo d'une branche de *Rhabdophyllum arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh**

(<https://www.gbif.org/fr/species/5552793>, consulté le 27 Mars 2019)



**Figure 6 : Distribution des 81 échantillons de *Rhabdophyllum arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh. au Cameroun et au Gabon. (Sosef, 2008)**

### 1.2.3.2 Utilisations ethnomédicinales

Au Congo, les Mbôsi utilisent *Rhabdophyllum arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh pour traiter les maux de cœur et de ventre en faisant manger les feuilles accommodées en légumes avec de la viande ou du poisson (Bouquet, 1969)

### 1.2.4 *Rhabdophyllum affine* (Hook. F.) Tiegh

#### 1.2.4.1 Présentation

*Rhabdophyllum affine* (Hook. F.) Tiegh est une espèce très variable. En particulier, la largeur des feuilles, la proéminence de la nervation, la longueur de l'inflorescence, la longueur du pédicelle et la cymule, montrent une variation extrême. C'est un arbuste à tiges grêles. Les feuilles sont à stipules persistantes, le pétiole mesure 2-4(-5) mm de longueur, le limbe elliptique à étroitement elliptique, cuné à la base, aigu à acuminé ou rarement acuminé-caudé au sommet, 4,5-16,5(-18,5) × (1,0-) 1,5-5,5(-6,5) cm, papyracé; la marge est entière ou ondulée, parfois denticulée et les nervures secondaires sont denses, non hiérarchisées, peu saillantes en dessous. Les inflorescences de 2-13(-16) cm de longueur, sont parfois très réduites, avec (1-) 3-+ fleurs, les cymules portant 1-3 fleurs, à axes de 1-5 mm de longueur et les écailles à la base de l'inflorescence sont faiblement persistantes. Les fleurs à pédicelle de 4-15 mm ont des sépales de 5-7 × 2-3 mm



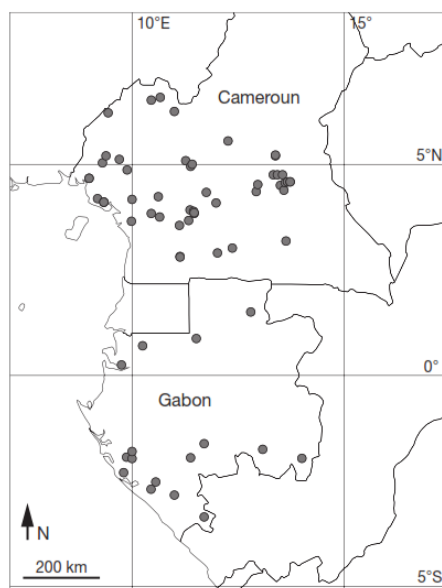
et des pétales de 4-5 mm de longueur. Les fruits à pédicelle ont des sépales et réceptacle rouges et des méricarpes sphériques, noirs (Sosef, 2008).

Il est réparti de la Guinée-Conakry jusqu'au Gabon, l'ouest du Congo (Brazzaville) et au nord-est de la République Démocratique du Congo (Fig. 7) (Sosef, 2008)



**Figure 7 : Photo d'une branche de *Rhabdophyllum affine* (Hook.f.) Van Tiegh**

(<https://www.gbif.org/fr/occurrence/1934860517>, consulté le 27 Mars 2019)



**Figure 8 : Distribution des 67 échantillons de *Rhabdophyllum affine* (Hook.f.) Tiegh. au Cameroun et au Gabon (Sosef, 2008)**

A notre connaissance, aucune étude biologique ou chimique antérieure n'a été faite sur les espèces *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh. et *R. affine* (Hook.f.) Van Tiegh.

## 1.2.5 La famille des Fabaceae

### 1.2.5.1 Classification systématique et aspects botaniques

#### a) Taxonomie et phylogénie

Avec presque 19500 espèces réparties en plus de 751 genres (LPWG, 2013), la famille des *Fabaceae* constitue par ordre d'importance le troisième ensemble des Phanérogames (après les *Asteraceae* et les *Orchidaceae*) (Botineau, 2010). Son nom est tiré du mot latin (*Faba*, fève). L'ordre des Fabales renferme uniquement quatre familles: *Fabaceae*, *Surianaceae*, *Quillajaceae* et *Polygaceae*. Les plantes de cet ordre, se caractérisent par leur gynécée qui est formé soit d'un seul carpelle, soit de plusieurs carpelles mais généralement libres entre eux, et de fleurs souvent zygomorphes (Botineau, 2010).

En classification phylogénétique APG II (2003), la famille des *Fabaceae* ou *Leguminosae* a été divisée en trois sous-familles :

- ✓ *Caesalpinioideae*
- ✓ *Mimosoideae*
- ✓ *Faboideae* ou *Papilionoideae*.

Si les deux dernières sont monophylétiques, les *Caesalpinioideae* étaient largement polyphylétiques. Une nouvelle classification (LPWG, 2017) reconnaît 6 sous-familles :

- ✓ *Duparquetioideae* (LPWG, stat. nov.) : 1 genre, 1 espèce
- ✓ *Cercidoideae* (LPWG, stat. nov.) : 12 genres, 335 espèces
- ✓ *Detarioideae* Burmeister : 84 genres, 760 espèces
- ✓ *Dialioideae* (LPWG, stat. nov.) : 17 genres, 85 espèces
- ✓ *Caesalpinioideae* DC. (y compris le clade des mimosoïdes) : 148 genres, 4400 espèces : par exemple *Caesalpinia*, *Cassia*, *Ceratonia*, *Delonix*, *Leucaena*, *Senna* plus les mimosoïdes.
- ✓ *Papilionoideae* DC. : 503 genres, 14 000 espèces

La position systématique de la famille des *Fabaceae* est présentée dans le tableau 2 (Engler et Prantl, 1889; Cronquist, 1981; Thorne, 1992; Haston et al., 2009).

**Tableau 2 : Classifications évolutives de la famille des Fabaceae jusqu'en 2009.**

	<b>Engler (1889-1921)</b>	<b>Cronquist (1981)</b>	<b>Thorne (1992)</b>	<b>APG II (2003)*</b>	<b>APG III (2009)*</b>
Règne	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae
Embranchement	Embryophyta	Magnoliophyta	Spermatophytæ	Spermatophytæ	Spermatophytæ
Sous-embranchement	Angiospermae		Angiospermae	Angiospermae	Angiospermae
Classe	Dicotyledonae	Magnaliopsida	Magnoliidae	Eudicotyledonae	Aquisetopsida
Sous-classe	Archichlamydeae	Rosidae	Rutanae	Rosidae	Magnoliidae
Ordre	Rosales	Fabales	Rutales	Fabales	Fabales
Sous-ordre	Leguminosinae		Fabinae	Eurosidae I	
Famille	Leguminosae	Fabacea (= Papilionaceae) Mimosaceae Caesalpinaceae	Fabaceae	Fabaceae (=Leguminosae)	Fabaceae (=Leguminosae)
Sous-famille	Faboideae Caesalpinaceae Mimosaceae		Faboideae Caesalpinaceae Mimosaceae Swartzioideae	Faboideae Caesalpinaceae Mimosaceae	Faboideae Caesalpinaceae Mimosaceae

\*Angiosperm Phylogeny Group (APG) : est un groupe de botanistes travaillant sur la phylogénétique végétale, en utilisant les techniques moléculaires, génétiques et l'analyse des clades (= branches)

En 2017, la classification phylogénétique et sous-familiale des Leguminosae, basée sur l'analyse de séquences peptidiques de 81 protéines codées par des plastes a permis de faire ressortir six sous-familles à savoir: les Cercidodeae, les Detarioideae, les Duparquetioideae, les Dialioideae, les Caesalpinioideae, et les Papilionoideae (LPWG, 2017).

### **b) Description botanique**

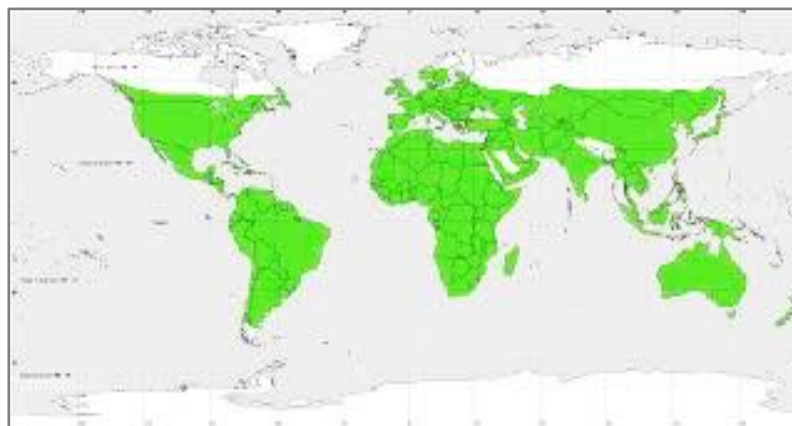
La famille des Fabaceae est généralement constituée de plantes herbacées, arbustes, arbres ou plantes grimpantes à lianes volubiles ou à vrilles. Elles possèdent un métabolisme azoté élevé et renferment des acides aminés non protéogéniques. Ces plantes sont souvent constituées de nodules racinaires contenant des bactéries fixatrices d'azote (*Rhizobium*). Dans de nombreux cas, elles sont constituées d'alcaloïdes, parfois de composés cyanogénétiques (Spichiger et al., 2002). La longueur des poils est variable et les feuilles sont généralement alternes, composées pennées (ou bipennées) à composés palmés, trifoliolés, ou unifoliolés. Elles sont entières à parfois dentées serrées, à nervation pennée. Les folioles sont parfois transformées en vrilles. Ces plantes sont constituées de renflements moteurs à la base de la feuille et des folioles bien développées,

produisant généralement des mouvements de veille et de sommeil. Les stipules sont présentes, minuscules à foliacées, parfois transformées en épines (Spichiger et al., 2002). Les Inflorescences sont presque toujours indéterminées, parfois réduites à une fleur solitaire, terminales ou axillaires. Les fleurs sont généralement hermaphrodites, actinomorphes à zygomorphes, à hypanthium court, généralement cupuliforme. Les sépales sont généralement au nombre de 5, libres ou soudés, valvaires ou imbriqués, tous semblables, ou le pétale postérieur différent par la forme, la taille et la couleur, disposé intérieurement ou extérieurement dans le bouton, les deux pétales inférieurs étant souvent soudés ou adhérents et formant une carène, ou largement étalés (Spichiger et al., 2002). Les étamines sont parfois nombreuses, mais généralement au nombre de 10, abritées dans le périanthe ou longuement exsertes, parfois bien évidentes. Les grains de pollen sont tricolporés, tricolpés, ou triporés, généralement en monades, mais parfois en tétrades ou en polyades. Le carpelle est souvent unique, libre, généralement allongé, au sommet d'un court gynophore. L'ovaire est supère, à placentation pariétale. Le fruit est généralement une gousse, parfois une samare, un fruit lomentacé, une gousse indéhiscente, un akène, une drupe ou une baie (Spichiger et al., 2002).

Les caractères floraux permettent de distinguer les six sous-familles récemment mises en évidence dans la famille des Fabaceae (LPWG, 2017).

### c) Distribution géographique

La famille des Fabaceae constitue la troisième famille des angiospermes de par le nombre de ses représentants. Elles ont une distribution quasi cosmopolite et se trouvent dans les zones tropicales, subtropicales ou tempérées (figure 10). Cette famille s'accommode d'une très large gamme d'habitats, et inclut autant de plantes herbacées, aquatiques ou xérophytes, que des arbustes, des arbres ou des plantes grimpantes à lianes volubiles ou à vrilles (Heywood, 1996).



**Figure 9 : Distribution de la famille Fabaceae (Heywood, 1996).**

### 1.2.5.2 Importance économique

C'est une famille qui a une grande importance économique. Les légumineuses riches en graines (jusqu'à 70% du poids sec) représentent, d'une part, une source de protéines végétales pour l'alimentation humaine : *Phaseolus* (haricots), *Pisum sativum* (pois), *Lens culinaris* (lentilles), *Vicia faba* (fève), *Cicer arietinum* (pois chiche), *Glycine max* (soja). Par ailleurs, un certain nombre d'espèces à graines oléagineuses comme l'*Arachis hypogaea* L., une herbe qui permet d'obtenir l'huile d'arachide; on consomme aussi les graines, qui sont les cacahuètes. De même, le *Glycine max* (L.) Merr. (Soja), dont l'huile est de plus en plus consommée. D'autre part, beaucoup de Fabaceae sont cultivées comme plantes fourragères, destinées à l'alimentation animale, sous forme de prairies « naturelles » à *Trifolium repens* (trèfles) et *Lotus* ou « artificielles » à *Onobrychis viciifolia* Scop. (Sainfoin), et surtout à *Medicago sativa* (luzernes) (Spichiger et al., 2004; Botineau, 2010).

Certains *Dalbergia* spp. d'Afrique, de Madagascar, d'Asie, produisent des bois précieux (ébène d'Afrique, palissandres, bois de rose). Alors que, certaines espèces (*Spartium junceum*, *Crotalaria juncea* ou chanvre du Bengale) fournissent des fibres textiles. D'autre part, les copals (résines) provenant en particulier du *Hymenaea courbaril* L., source du copal du Brésil, et de *H. verrucosa* Gaertn, de l'Est de l'Afrique, source du copal de Madagascar, sont utilisés dans l'industrie des vernis (Botineau, 2010).

Par ailleurs, il a été mentionné que la gomme arabique (= hétéroglycane), obtenue à partir de *Acacia senegal* (L.) Willd. est utilisée comme stabilisant et émulsionnant [E414], alors que, la gomme adragante issue d'un sous-arbrisseau très épineux, *Astragalus gummifer* Labillardière, est utilisée comme épaississant [E413] (Botineau, 2010).

De plus, l'agriculture utilise très largement la famille des Fabaceae dans la rotation culturale du fait de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique grâce à leurs nodules racinaires contenant des bactéries fixatrices d'azotes (rhizobiums) (Judd et al., 2002). Il s'ensuit une symbiose entre la plante infestée et la bactérie : celle-ci fixe l'azote atmosphérique en empruntant l'énergie nécessaire dans les sucres fournis par la plante, et en retour, la plante utilise l'ammoniac synthétisé par la bactérie (Botineau, 2010).

### 1.2.5.3 Utilisations ethnomédicinales

Certaines espèces appartenant à la famille des Fabaceae font l'objet d'usages médicinaux traditionnels à travers le monde. Le tableau 3 suivant répertorie quelques-uns de ces usages.

**Tableau 3 : Quelques usages ethnomédicinaux répertoriés dans la famille des Fabaceae**

Plantes	Partie	Utilisation	Références
<i>Acacia albida</i> Del.	Ecorce de la racine, et du tronc	Elle est utilisée pour traiter les infections, les troubles nerveux et les troubles respiratoires.	(Zerbo et al., 2011)
	Ecorce du tronc	Le décocté est utilisé pour traiter la toux longue « coqueluche ».	(Zerbo et al., 2007)
<i>Acacia seyal</i> Del.	Ecorce du tronc	Elle est utilisée pour traiter colique, dysenterie, conjonctivite.	(Zerbo et al., 2007)
		Astringente et hémostatique.	(Baba-Aïssa, 2011)
<i>Colutea arborescens</i> L.	Feuilles et gousses	Elles possèdent une action laxative et purgative.	(Baba-Aïssa, 2011)
<i>Galega officinalis</i> L.	Plante entière	Elle est préconisée notamment comme stimulant des sécrétions lactées, et a une action diurétique, galactagogue, hypoglycémiant.	Baba-Aïssa, 2011
<i>Mimosa tenuiflora</i>	Ecorce	Elle est utilisée depuis la civilisation des Mayas au Mexique dans le traitement des affections dermatologiques, en particulier dans le cas de brûlures.	Spichiger et al., 2004; Botineau, 2010
<i>Melilotus indica</i> (L.) All.	Plante	Connue pour ses activités ethnomédicinales telles que: antibactériennes, anticoagulant, astringent, émollient, laxatif et narcotique. La plante est également utilisée dans la diarrhée infantile et est appliquée de l'extérieur comme cataplasme ou plâtre sur les gonflements.	Dildar et Hira, 2012
<i>Ononis spinosa</i> L.	plante	Elle a des actions antiseptiques urinaires, astringentes, dépuratives, diurétiques et sudorifiques, l'infusion de racine accroît la sécrétion de l'urine et agit contre la goutte.	Baba-Aïssa, 2011
<i>Retama monosperma</i> (L.) Boiss.	Tige	Le décocté est utilisé pour traiter les maladies de la gencive.	Bouayyadi et El Hafian, 2015
<i>Tamarindus indica</i>	Gomme	Riche en pectine, sucres simples ainsi qu'en acides organiques (tartrique, malique, citrique), elle est utilisée comme laxatif doux.	Spichiger et al., 2004; Botineau, 2010

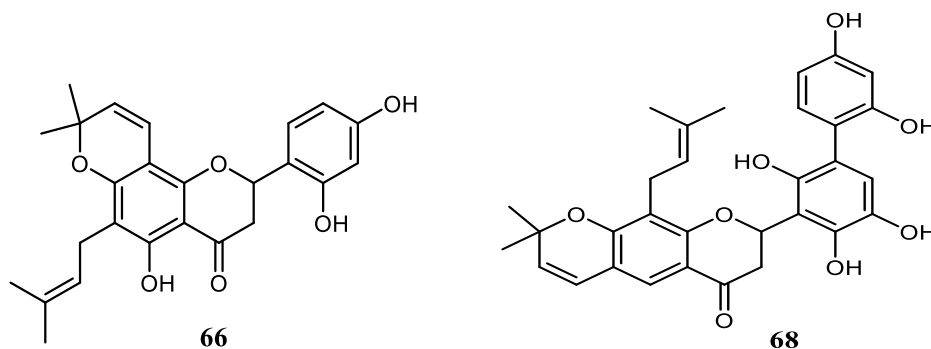
#### 1.2.5.4 Principaux métabolites secondaires isolés de la famille des Fabaceae

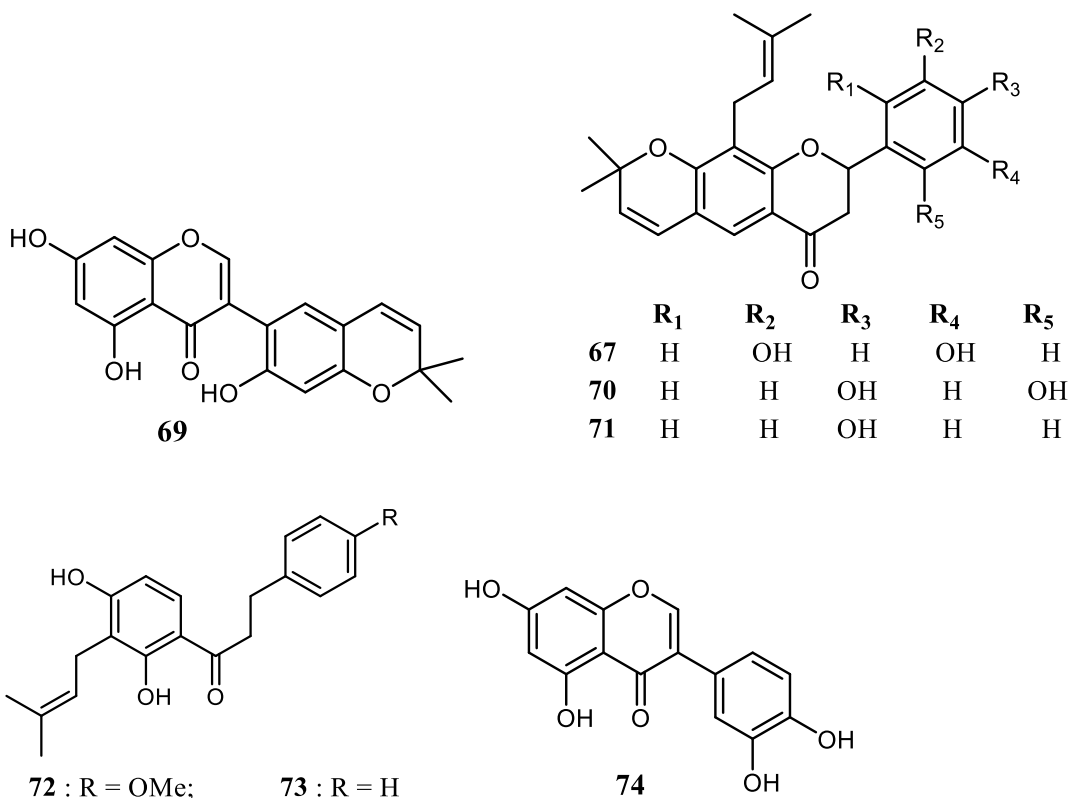
La famille des Fabaceae produit une grande diversité de métabolites secondaires qui servent de composés de défense contre les herbivores et les microbes, mais aussi comme composés de signal pour attirer les animaux pollinisateurs. En tant qu'organismes fixateurs d'azote, les légumineuses produisent plus de métabolites secondaires contenant de l'azote que les autres familles de plantes. Les composés contenant de l'azote incluent les alcaloïdes et les amines, les acides aminés non protéiques, les glucosides cyanogéniques et les peptides. Les métabolites secondaires sans azote sont les phénoliques (phénylpropanoïdes, flavonoïdes, isoflavones, catéchines, anthocyanes, tanins, lignanes, coumarines et furanocoumarines), les polycétides (anthraquinones) et les terpénoïdes (en particulier les triterpénoïdes, les saponines stéroïdiennes, les tétraterpènes). Si certains métabolites secondaires ont une large distribution (flavonoïdes, triterpènes, pinitol), d'autres se retrouvent cependant dans un nombre limité de taxons, c'est le cas des anthraquinones (Wink, 2013).

##### a) Flavonoïdes

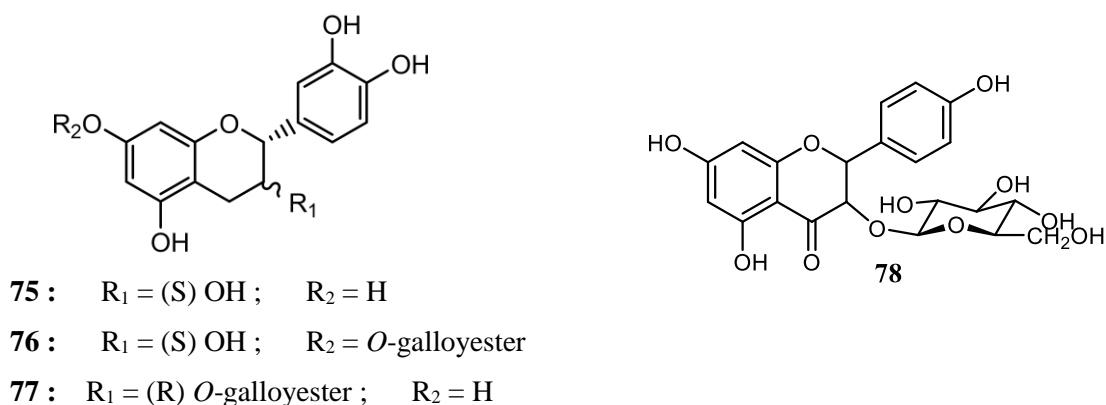
Des flavonoïdes ont été identifiés comme principaux constituants dans la famille des Fabaceae. Les ériosémaones A (**66**), B (**67**), C (**68**) et D (**69**) et la flémichine D (**70**), isolées de l'extrait au dichlorométhane des racines d'*Eriosema Tuberosum*, ont été les premiers flavonoïdes isolés du genre et présentant une activité antifongique, cytotoxique et antimycobactérienne pour l'ériosémone A (**66**) et la flémichine D (**70**). Une recherche plus approfondie sur la même espèce a permis d'isoler la lupinifoline (**71**) (Awouafack et al., 2015).

Deux dihydrochalcones, les erioschalcones A (**72**) et B (**73**) ont été isolées pour la première fois de l'extrait dichlorométhane / méthanol (1:1) de la plante entière d'*Eriosema glomerata*, ainsi qu'un flavonol, la quercétine (**7**) et une isoflavone, l'isolutéoline (**74**), tous démontrant des propriétés antimicrobiennes (Awouafack et al., 2015).





De l'écorce de *Detarium microcarpum*, la catéchine (**75**), l'épicatéchine (**5**), la catéchine-7-*O*-galloylester (**76**) et l'épicatéchine-3-*O*-galloylester (**77**) ont été isolés tandis que le kaempférol-3-*O*-β-glucopyranoside (**78**) a été isolé de ses feuilles. L'activité anti-HIV-1 de ces composés a été évaluée sur une lignée cellulaire infectée par la souche HIV-1<sub>IIIB</sub> (exception faite du composé **78**), et le composé **77** a montré une forte toxicité (Cavin, 2007).



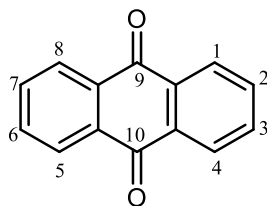
## b) Anthraquinones

Les anthraquinones sont l'un des plus grands groupes de quinones naturelles, comprenant plus de 170 composés naturels (Thomson, 1997; Harborne et al., 1999). Les benzoquinones et les naphthoquinones font également partie de ce groupe. (Simpson et Amos, 2017). La moitié des



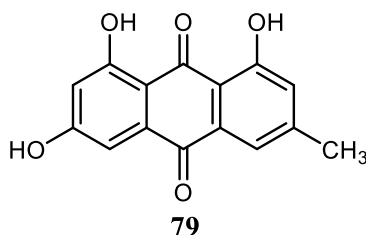
anthraquinones naturelles se trouve dans les champignons inférieurs, en particulier chez les espèces *Penicillium* et *Aspergillus* et chez les Lichens. D'autres se trouvent dans les plantes supérieures et, dans certains cas, montrent leur présence dans les insectes (Evans, 1996).

Les anthraquinones sont structurellement apparentées à l'anthracène et possèdent le noyau 9,10-anthracenedione (figure 11). Ils sont parfois appelés 9,10-dioxoanthracène. Les anthraquinones se produisent généralement sous leurs formes glycosidiques.



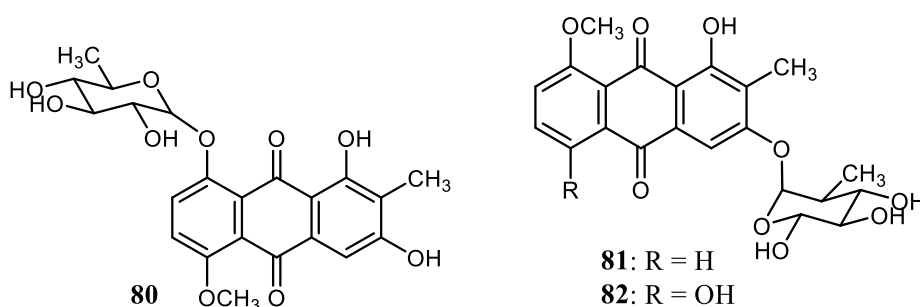
**Figure 10 : Squelette de base des anthraquinones**

La présence d'anthraquinones semble être étroitement liée aux processus physiologiques de la plante, et le schéma de substitution le plus fréquent est celui de l'émodyne (**79**) (Fairbairn, 1967; Trease, 1989).

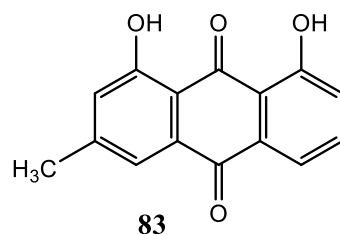


Les anthraquinones sont également utilisées comme laxatifs et possèdent des activités antifongiques et antivirales (Simpson et Amos, 2017).

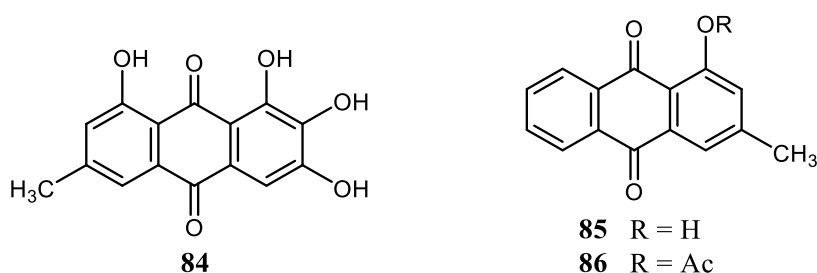
De l'extrait éthanolique des racines de *Acacia leucophloea*, deux nouveaux glycosides d'anthraquinones ont été isolés et caractérisés : 1,3-dihydroxy-5-methoxy-2-methylantraquinone-8-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (**80**) et le 1-hydroxy-8-methoxy-2-methylantraquinone-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (**81**), ainsi qu'un glycoside d'anthraquinone connu le 1,5-dihydroxy-8-methoxy-2-methylantraquinone-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (**82**) (Saxena et Srivastava, 1986).



L'analyse par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CG-SM) de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces d'*Amburana cearensis* a révélé la présence du chrysophanol (**83**), une anthraquinone reconnue pour ses propriétés antioxydante, antiplasmodiale et laxative entre autres (Negri et al., 2004).



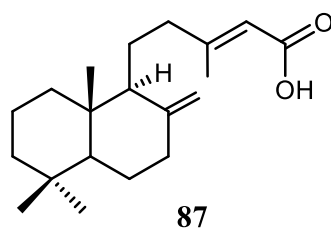
Une nouvelle anthraquinone phytotoxique, appelée lentisone (**84**), a été isolée et caractérisée d'*Ascochyta lentis* comme la (1S\*, 2S\*, 3S\*)-1,2,3,8-tétrahydroxy-1,2,3,4-tétrahydro-6-méthylantraquinone avec la pachybasine (**85**) bien connue (1-hydroxy-3-méthylantraquinone) et la 1-O-acétylpachybasine (**86**). La lentisone a démontré une activité phytotoxique sur les lentilles (Andolfi et al., 2013).



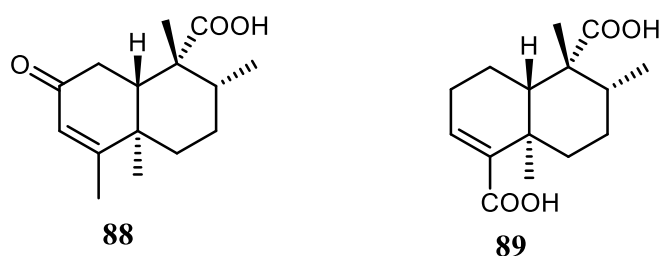
### c) Terpénoïdes

Ils constituent l'une des classes de composés les plus abondants dans la famille, (en particulier les triterpénoïdes, les saponines stéroïdiennes, les tétraterpènes).

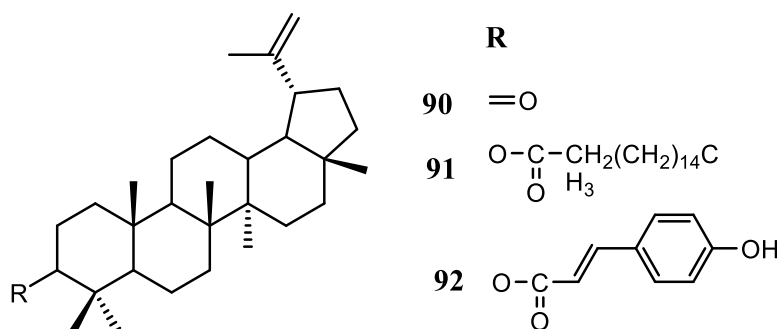
Un diterpène de type labdane, l'acide copalique (ou acide *ent*-8(17),13*E*-labdadièn-15-oïque) (**87**) a été isolé de l'écorce (Ikhiri et Ilagouma, 1995) et a montré *in vitro* une forte inhibition de la croissance de certaines bactéries : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *S. epidermis* (Tincusi et al., 2002).



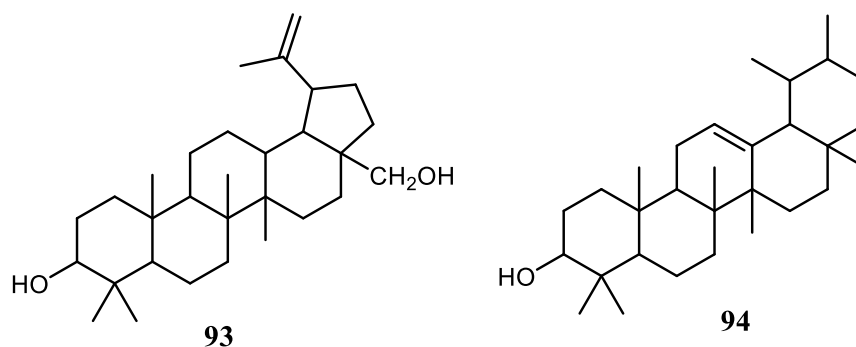
Des travaux de Hosoe et al. deux tétranorditerpènes ont été isolés de l'extrait chloroformique de l'écorce : l'acide 7-oxo-1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1,2,4a,5-tétraméthyl-1-naphtalène-acétique (**88**) et l'acide 5-carboxy-1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1,2,4a-triméthyl-1-naphtalène-acétique (**89**) (Aquino et al., 1992). Cette classe de composés est peu commune dans les plantes, et à ce jour, seules des activités inhibitrices de la croissance des levures *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans* ont été reportées (Hosoe et al., 1999).



Des recherches entreprises sur les feuilles, les fleurs et les graines d'*Acacia dealbata*, quatre triterpènes de type lupène : la lupénone (**90**), le lupéol (**38**), le palpimate de lupényle (**91**) et le cinnamate de lupényle (**92**) ont été isolés (Pereira et al., 1996).



Deux autres triterpènes pentacycliques, la bétuline (**93**) et l' $\alpha$ -amyrine (**94**) ont été identifiés dans l'extrait benzénique de l'écorce de tige d'*Acacia modesta* (Sarwar, 2016).

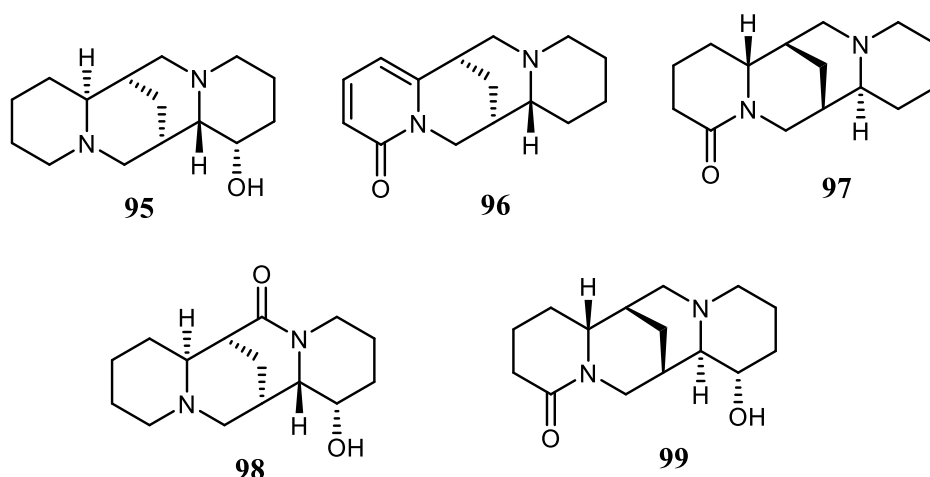


#### d) Alcaloïdes

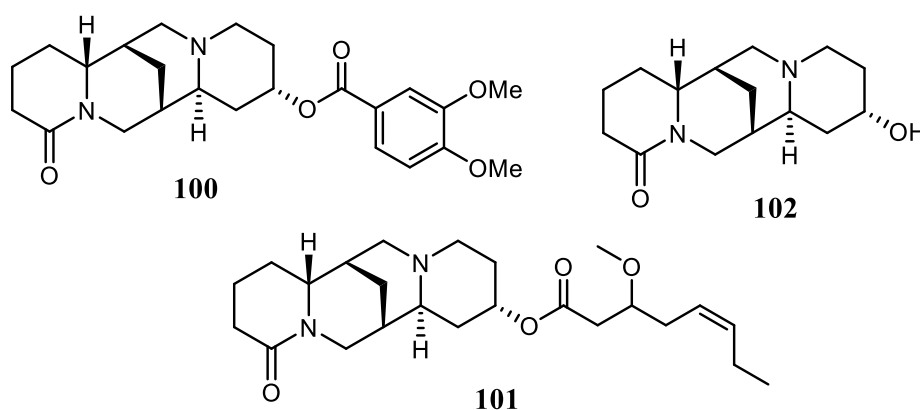
Du fait de leur facilité à fixer l'azote atmosphérique, les légumineuses peuvent produire plus de métabolites secondaires contenant de l'azote que les autres plantes qui n'en fixent pas. Ces

composés ont démontré des propriétés pharmacologiques importantes telles que anxiolytique, antimicrobienne, antioxydante, anticancéreuse, hypoglycémiant, hépatoprotectrices, anticonvulsante, analgésique et anti-inflammatoire (Rambo et al., 2019). Depuis l'identification du premier alcaloïde en 1806, plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés des plantes (Bruneton, 1999).

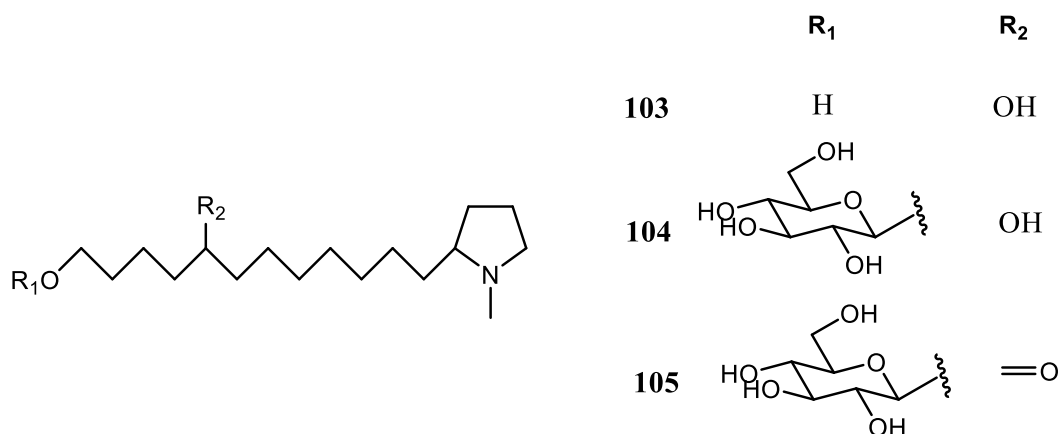
L'investigation phytochimique de la plante *Genista ephedroides* (Pistelli et al., 2001) a conduit à l'isolement de cinq alcaloïdes quinolizidine : retamine (**95**), anagryne (**96**), lupanine (**97**), 17-oxoretamine (**98**), 12- $\alpha$ -hydroxylupanine (**99**). Leurs structures ont été identifiées par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la masse GC/MS.



Le travail réalisé par Rensen et ses collaborateurs en 1993, sur l'espèce *Genista cinerea*, a permis de caractériser deux esters d'alcaloïdes: la cineverine (**100**), la cineroctine (**101**), et un 13  $\alpha$ -hydroxylupanine (**102**).



L'étude phytochimique de l'extrait méthanolique de l'écorce des racines de *Dichostachys cinerea* a conduit à l'isolement et à la caractérisation de 3 nouveaux composés dérivés de la pyrrolidine possédant une chaîne latérale à 12 carbones et leurs glycosides : Dichrostamine A (**103**), B (**104**) et C (**105**) (Dade et al., 2016).



## 1.2.6 Le genre *Cassia*

### 1.2.6.1 Description botanique et distribution

Le genre *Cassia* Linn., qui appartient à la famille des Fabaceae et à la sous-famille des Caesalpinioideae, est un grand genre tropical avec environ 600 espèces d'herbes, d'arbustes et d'arbres (Hemen et Lalita, 2012) et certaines de ces espèces donnent des colorants (Hutchinson, 1958 ; Hutchinson, 1973 ; Ghanzanfar, 1989). Toutes les espèces de *Cassia* ont des fleurs jaune vif de forme caractéristique. La fleur typique se compose de cinq sépales et pétales similaires. Les Caesalpinioideae ont généralement de très petites bractéoles, ne ressemblant ni ne prenant la place du calice, qui est normalement développé et plus ou moins apparent. Les étamines polymorphes sont au nombre de dix, les 2 à 3 supérieures étant souvent réduites. Les gousses peuvent être cylindriques ou aplaties, déhiscentes ou indéhiscentes, avec ou sans septa entre les graines, rétrécies ou non entre les graines. Les feuilles sont paripennées (Hutchinson, 1973 ; Ghanzanfar, 1989).

Les espèces de *Cassia* sont des plantes sauvages et sont cultivées dans la plupart des régions de l'Inde. C'est une plante annuelle fétide, de 30-90 cm de haut. Les feuilles sont de couleur verte, pennées, atteignant 6-8cm de long, les folioles sont en 3 paires, nettement pétiolées, opposées, coniques à une extrémité, ovales, oblongues et obliques de base (Pawar, 2011). Les fleurs sont de couleur jaune pâle, généralement en paires presque sessiles à l'aisselle des feuilles à cinq pétales, la partie supérieure est très serrée. Les cosses sont sous-coudées ou à 4 angles, 6-12 pouces de long, incomplètement cloisonnées, membraneuses avec de nombreuses graines rhomboédriques oblongues brunes (Maitya et al., 1997).

Les espèces de *Cassia* poussent dans les pays tropicaux, dans les zones côtières basses, les berges des rivières, et sont abondantes dans les zones de déchets et d'autres endroits humides comme les champs non cultivées (Mondal, 2014).

<b>Règne:</b>	Plantae
<b>Division:</b>	Magnoliophyta
<b>Classe:</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe :</b>	Rosidae
<b>Ordre:</b>	Fabales
<b>Famille:</b>	Fabaceae/Leguminoceae
<b>Sous-famille:</b>	Caesalpinaceae
<b>Tribu :</b>	Cassieae
<b>Sous-tribu :</b>	Cassiinae
<b>Genre:</b>	<i>Cassia</i> L.

**Figure 11 : Classification taxonomique du genre *Cassia* (Neelam et al., 2011)**

#### 1.2.6.2 Utilisations ethnomédicinales

Les espèces de *Cassia* ont montré un vif intérêt pour la recherche phytochimique et pharmacologique en raison de leurs excellentes valeurs médicinales. Elles sont bien connues en médecine populaire pour leurs utilisations laxatives et purgatives (Dalziel, 1948 ; Abo et Lasaki, 1999 ; Hennebelle et al., 2009). Elles sont également largement utilisés pour le traitement des plaies (Bhakta et al., 1998), des maladies cutanées telles que la teigne, la gale et l'eczéma, les troubles gastro-intestinaux comme les ulcères (Benjamin, 1980; Abo et Lasaki, 1999; Elujoba et Abere, 1999; Jacob et Odeh, 2002) et la jaunisse (Pieme et al., 2006).

La décoction de racines de *C. abbreviata* ou ses racines séchées réduites en poudre dans de l'eau se boivent pour traiter les troubles gastro-intestinaux, les maux d'estomac, la bilharziose, les maladies vénériennes, la pneumonie, les hystéralgies, les règles abondantes, et les morsures de serpent ; on les prend en outre pour leurs vertus purgatives, stomachiques, aphrodisiaques, abortives et vermifuges. Le paludisme (y compris la fièvre biliaire hémoglobinurique) est également traité avec des extraits de racines. Un extrait à l'eau des racines s'utilise en collyre pour soigner l'ophtalmie (Schmelzer et al., 2008).

Une infusion des feuilles de *C. nigricans* Vahl est administrée en purgatif et vermifuge au Sénégal et en Guinée-Conakry (Irvine, 1961; Dalziel, 1948). Une pincée de ses feuilles broyées est prise avec de l'eau pour le traitement des ulcères peptiques (Akah et al., 1998).

En Tanzanie, la décoction de racine de *C. angolensis* Welw. se boit comme remède aux maladies vénériennes et les feuilles fraîches se consomment contre la toux (Schmelzer et al., 2008).

*Cassia nodosa* Buch.-Ham. est utilisé pour le traitement de différentes affections comme les vers annulaires, les piqûres d'insectes et les rhumatismes (Wealth, 1963)

En Tanzanie, au Zimbabwe et au Mozambique, les gousses de *C. fistula* servent de remède contre le paludisme, l'empoisonnement du sang, l'anthrax et la dysenterie. A l'île Maurice, la pulpe du fruit en décoction se prend comme remède contre les calculs rénaux, comme vermifuge et comme laxatif. En Papouasie-Nouvelle-Guinée, on fait des bandages contenant des copeaux d'écorce et de jus de feuille sur les fractures et les ulcères tropicaux. En Thaïlande, l'écorce ou les feuilles s'emploient couramment pour traiter les problèmes de peau. En Inde, les racines servent à traiter la fièvre. En Amérique tropicale, les gousses sont utilisées pour traiter le diabète (Schmelzer et al., 2008).

La plante entière de *C. Alata* est utilisée comme anthelminthique et dans les infections et troubles de l'utérus (Herman et al., 1978; Igoli et al., 2005). Ses feuilles sont anti-parasitaires et sont utilisées contre l'eczéma, la bronchite, l'asthme, la teigne et dans les piqûres d'insectes toxiques. Son écorce est utilisée comme diurétique, anti-inflammatoire et pour traiter les maladies de la peau. (Chopra 1958; Bejoy, 2002)

Au Sénégal, l'infusion de la plante entière de *C. sieberiana* se donne contre toutes les maladies infantiles. En Ouganda, la poudre de différentes parties végétales s'applique sur les dents pour soigner les douleurs dentaires ; mélangée à du beurre, elle sert à traiter les maladies de la peau. Au Sénégal et au Burkina Faso, on prescrit un bain de vapeur de rameaux feuilles bouillis dans l'eau pour aider à lutter contre les crises de paludisme et la fièvre. L'infusion de feuilles sucrée avec du miel se prend contre les maux d'estomac, les ulcères et la diarrhée. Les feuilles fraîches bouillies et pressées s'appliquent en emplâtre pour soigner la pleurésie ou les brûlures. Les femmes atteintes de gonorrhée sont traitées à la poudre de feuille mélangée à la nourriture. Au Bénin, les rameaux sont utilisés pour traiter la maladie du sommeil (Schmelzer et al., 2008).

### 1.2.6.3 Etudes biologiques et pharmacologiques antérieures

En outre, les espèces de *Cassia* ont montré des propriétés anti-inflammatoires (Chidume et al., 2001), antioxydantes (Yen et Chen, 1998; Yen, 2000), hypoglycémiantes (Bhakta et al., 1997), antiplasmodiales (Iwalewa et al., 1990; 1997), larvicides (Yang et al., 2003), antimutagènes (Silva et al., 2008; Yadav et al., 2010) et anticancéreuses (Prasanna et al., 2009; Yadav et al., 2010).

Les extraits des racines et des feuilles de *C. abbreviata* Oliv. ont montré une forte activité antiplasmodiale in vitro. L'injection chez des rats d'un extrait brut de l'écorce de tige a provoqué une baisse de la pression sanguine liée à la dose. Des extraits au méthanol, à l'acétone et à l'eau de l'écorce de la tige ont montré une inhibition significative contre un certain nombre de bactéries gram-positives et gram-négatives (Schmelzer et al., 2008).

L'extrait de feuille de *C. alata* (L.) Roxb. a démontré des activités anti-inflammatoires (Palanichamy et al., 1990a) analgésiques et antimutagènes (Palanichamy et al., 1990b) Divers extraits organiques de feuilles et d'écorce de tige ont présenté des activités antibactériennes (Palanichamy et al., 1991 ; Pukumpuang et al., 2012), antifongiques (Sakharkar et al., 1998), en particulier contre les champignons dermatophytiques (Villasenor et al., 2002) et des activités antioxydantes (Pukumpuang et al., 2012).

L'extrait alcoolique de *C. angustifolia* Vahl a présenté une activité hypotensive significative et inactivé le virus *Herpes simplex* de type I. (Sydiskis et al., 1991)

L'extrait éthanolique de fleurs de *C. auriculata* (L.) Roxb. a montré un effet antihyperlipidémique et antioxydant sur les rats hyperlipidémiques (Panneerselvam et al., 2013) tandis que les extraits aqueux de fleurs et de graines ont montré une activité hypoglycémiant (Satyavati et al., 1976). L'extrait alcoolique de racines a présenté une activité antivirale (Satyavati et al., 1976). L'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles a montré une activité antioxydante significative (Jain et al., 2009) tandis que son extrait aqueux de feuille a montré une activité antidiabétique contre les rats diabétiques (Gupta et al., 2010).

Les extraits méthanoliques et aqueux de feuilles, d'écorces et de graines de *C. fistula* L. ont montré des activités antimicrobiennes (Samy et al., 2013) et cytotoxiques (Satyal et al., 2013) significatives. L'extrait méthanolique de l'écorce a montré une activité antioxydante élevée (Kumar et al., 2012) tandis que l'extrait alcoolique et aqueux a démontré des activités hypoglycémiantes et antidiabétiques (Vijayalakshmi et al., 2009).



L'extrait de *C. nigricans* Vahl a présenté des propriétés antiulcérogènes ainsi que des effets anti-inflammatoires et analgésiques (Akah et al., 1998).

Les extraits aqueux et éthanoliques de *C. tora* L. se sont avérés présenter une activité antimicrobienne significative (Jayasutha et al., 2011). Les fractions d'éther diéthylique et de chloroforme de l'extrait méthanolique de graines avaient une forte activité de promotion antitumorale (Park et al., 2011). L'extrait méthanolique de feuilles de cette plante a présenté des activités purgatives (Maity et al., 2003), hépatoprotectrices (Maity et al., 1997).

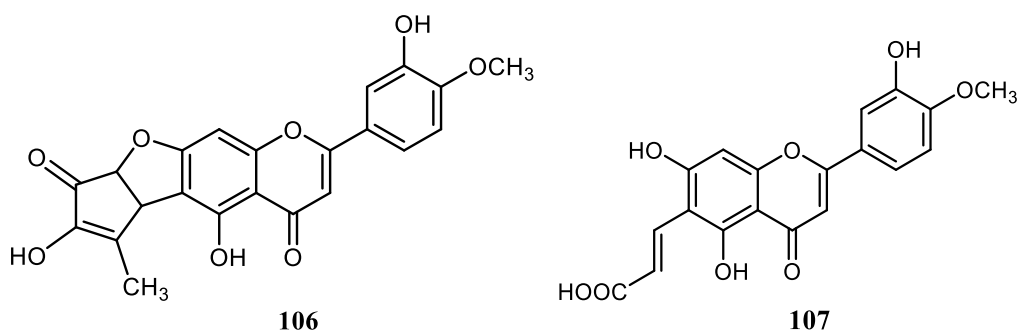
#### 1.2.6.4 Principaux métabolites secondaires isolés du genre *Cassia*

La recherche phytochimique et pharmacologique a montré un vif intérêt pour les espèces de *Cassia* en raison de leurs excellentes valeurs médicinales. Elles sont riches en polyphénols, dérivés d'antraquinone, flavonoïdes et polysaccharides. Les propriétés médicinales de ces espèces sont dues à leur contenu en dérivés d'hydroxyanthraquinone (Ayo, 2010).

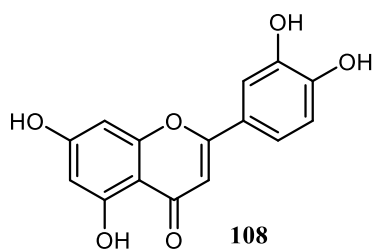
##### a) Flavonoïdes

Ils constituent l'une des classes de composés les plus caractéristiques des plantes supérieures. Les flavonoïdes peuvent être extraits de différentes parties des plantes, telles que les graines, les feuilles, les tiges et les gousses. La recherche sur la structure chimique de ces flavonoïdes isolés du genre *Cassia* a révélé de nombreuses classes de composés différentes, en particulier les flavones, ce qui traduit la complexité du métabolisme du genre *Cassia* (Zhao et al., 2016).

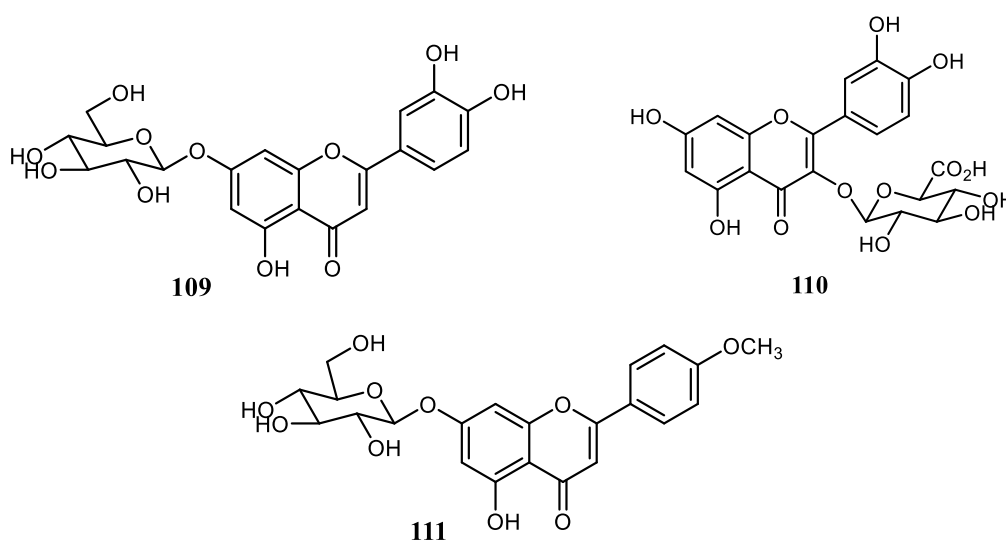
Deux nouvelles flavones, la torosaflavone C (**106**) et D (**107**), furent isolées des feuilles de *C. torosa* Cav. par Kitanaka et al., (1991) et la première démontra une activité cytotoxique *in vitro* sur des souches de cellules KB du cancer épidermoïde de la cavité buccale.



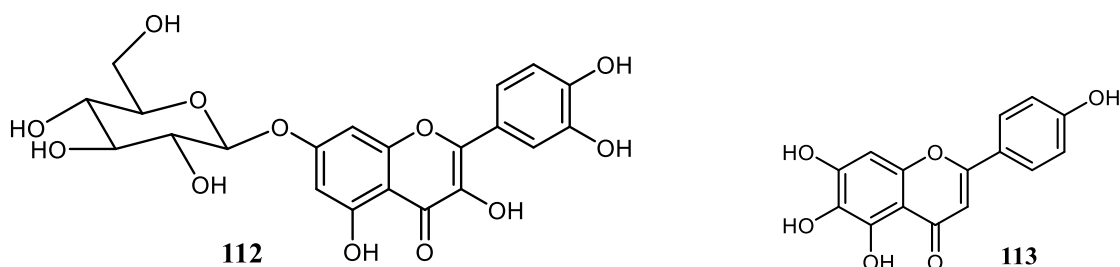
Il a été reporté que les feuilles de *C. nigricans* Vahl contiennent un flavonoïde pharmacologiquement actif (activité antimicrobienne), la lutéoline (**108**) (Ayo, 2010).



Les travaux entrepris par Durgesh et al. en 2013 sur l'extrait des feuilles de *C. tora*, ont conduit à l'isolement et la caractérisation de la quercétine (**7**) tandis que Vijayalakshmi et Madhira 2014 isolèrent trois flavonoïdes, à savoir la lutéoline-7-*O*- $\beta$ -glucopyranoside (**109**), la quercétine-3-*O*- $\beta$ -D-glucuronide (**110**) et la formononétine-7-*O*- $\beta$ -D-glucoside (**111**) qui a démontré une activité antipsoriasique.

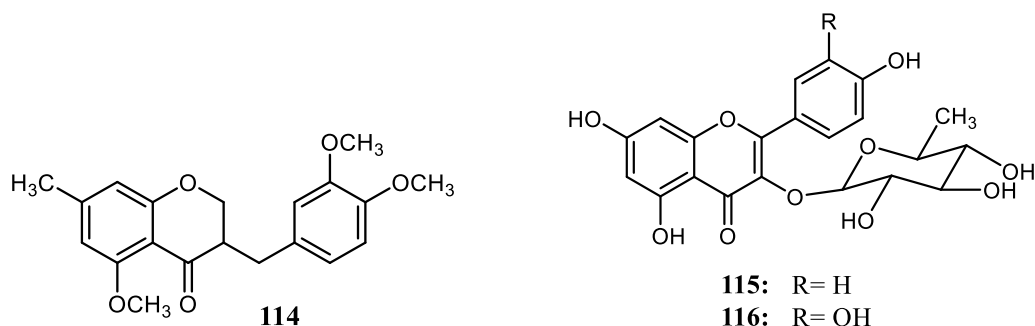


Le criblage bio-guidé des extraits de *C. angustifolia* a conduit à l'isolement et à l'identification de trois flavonoïdes, la querciméritrine (**112**), la scutellaréine (**113**) et la rutine (**9**) qui ont montré une activité anticancéreuse et antioxydante significative (Ahmed et al., 2016).



La chromatographie sur colonne de différentes fractions de feuilles, fleurs, écorces et tiges de *C. nodosa* Buch.-Ham. ex Roxb. a permis d'isoler des composés purs comprenant une

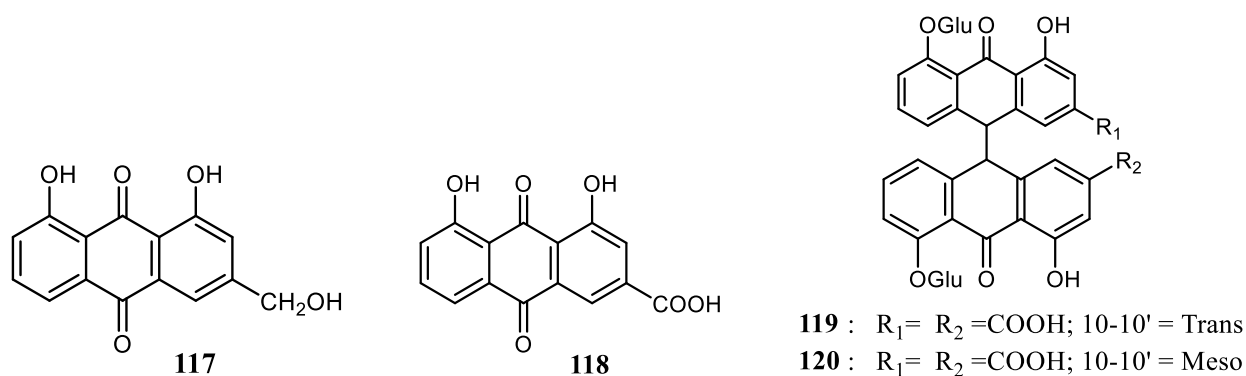
homoisoflavanone qui a été identifiée comme la 5,3',4'-triméthoxy-7-méthyl-3-benzyl chromanone (**114**) ; et deux flavonoïdes qui ont été identifiés comme: le kaempférol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnoside (**115**) et la quercétine-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnoside (**116**) (Suzy et al., 2016).



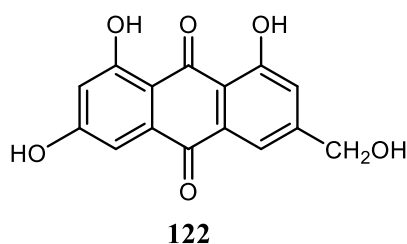
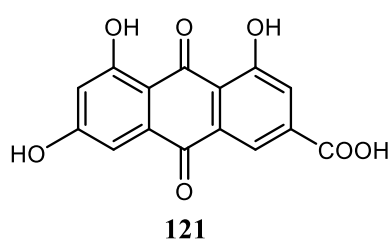
### b) Anthraquinones

Les espèces de *Cassia* sont une riche source d'antraquinones connues comme colorants naturels, et qui prennent de l'importance ces dernières années en raison de la pollution de l'environnement causée par les colorants synthétiques. En plus des propriétés de production de colorants, ils sont utilisés dans les cosmétiques et les produits pharmaceutiques. Ainsi, les espèces de plantes *Cassia* peuvent servir de source commerciale d'antraquinones naturelles (Hemen et Lalita, 2012).

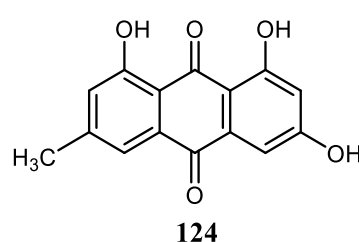
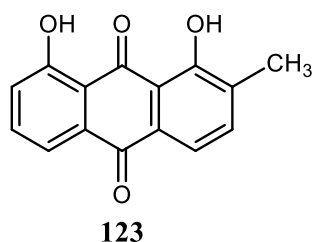
Il a été découvert que dans le semis de *C. senna*, le chrysophanol (**83**) était la première anthraquinone formée, puis l'aloé-émodyne (**117**) apparaissait, et enfin la rhéine (**118**) qui a démontré une bonne activité purgative (Ganapaty et al., 2002). Au cours du développement du fruit, les quantités de glycoside d'aloé-émodyne et de glycoside de rhéine diminuent nettement et les senosides A (**119**) et B (**120**) s'accumulent dans le péricarpe (Fairbairn, 1967; Trease, 1989).



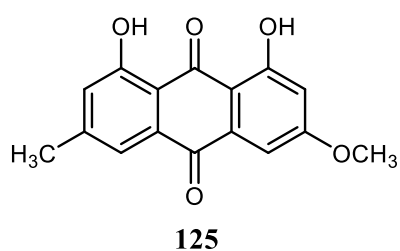
Au cours d'une étude détaillée sur les extraits de feuilles de *C. nigricans* Vahl, un constituant actif, le 1,6,8-trihydroxy-3-méthylantraquinone (émودية) (**79**) a été isolé (Obodozie et al., 2004; Ayo et Amupitan, 2007) de même qu'à partir de tissus *in vivo* (feuilles) et *in vitro* (callus) de *C. tora* L. (Durgesh, 2013). En 2008, l'isolement bio-guidé effectué par Georges et al. sur l'extrait de feuilles de *C. nigricans* Vahl a conduit à des anthraquinones : l'acide émodyne (**121**) et la citréoroséine (**122**).



Des feuilles de *C. alata* des quinones telles que l'émودية (**79**), l'aloé-émودية (**117**), le chrysophanol (**83**), l'isochrysophanol (**123**), la rhéine (**118**) (Saito et al., 2012) et la 1,3,5-trihydroxy-7-méthylantracène-9,10-dione (**124**) ont été isolés (Mitra et al., 2016).



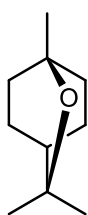
De l'extrait au méthanol des écorces de tige de *Cassia siamea*, deux anthraquinones ont été isolés, le chrysophanol (**83**) et le physcion (**125**), et ce dernier a démontré une bonne capacité à inhiber l'effet cytopathique du poliovirus en culture tissulaire (Ogbole et al., 2014). Une pléthore d'études a montré diverses propriétés pharmacologiques du chrysophanol, incluant les activités anticancéreuses, hépatoprotectrices, neuroprotectrices, anti-inflammatoires, antiulcéreuses, antidiabétiques et antimicrobiennes (Prateeksha et al., 2019).



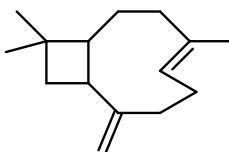
### c) Terpénoïdes

Les terpénoïdes constituent une autre grande famille de métabolites secondaires, composée de plus de 40 000 composés différents. Ceux issus du genre *Cassia* ont démontré une grande biodiversité de classes et des propriétés pharmacologiques importantes. Les monoterpènes, sesquiterpènes et diterpènes se sont révélés posséder une activité antioxydante notable dans différents tests *in vitro*. Il a été démontré que les tétraterpènes et les caroténoïdes possèdent une puissante activité antioxydante dans les études *in vivo* et *in vitro*, cependant, certains caroténoïdes précieux tels que le bêta-carotène ont montré des effets prooxydants à haute concentration et pression d'oxygène (Savarinayagam et Shanmugavadivelu, 2019).

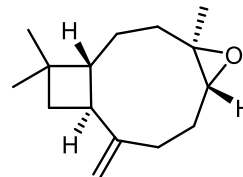
Des huiles essentielles des feuilles de *C. alata*, ont été isolés une variété de composés actifs tels que le 1,8-cinéole (**126**), le  $\beta$ -caryophyllène (**127**), l'oxyde de caryophyllène (**128**), la limonène (**129**), le germacrène D (**130**) et l' $\alpha$ -selinène (**131**) (Ogunwande et al., 2010).



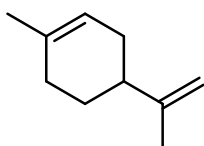
**126**



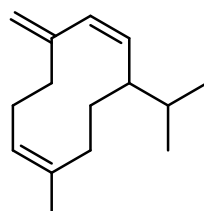
**127**



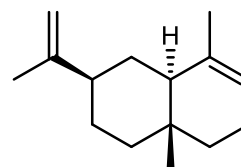
**128**



**129**

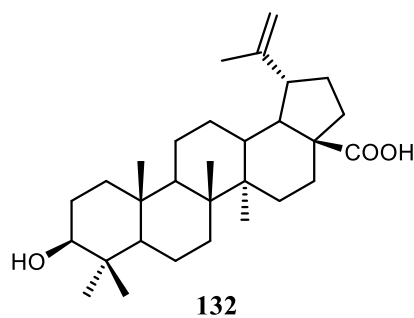


**130**

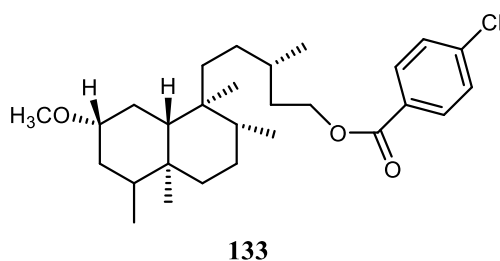


**131**

Au cours de la même année 2010, Sob et al. isolèrent trois triterpènes de l'extrait à l'acétate d'éthyle des brindilles de *C. obtusifolia* : Lupéol (**38**), l' $\alpha$ -amyrine (**94**) et l'acide butilinique (**132**) qui furent précédemment isolés respectivement de *C. siamea*, *C. italica* et *C. greggii*.



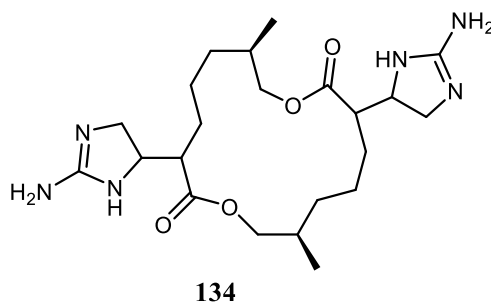
La chromatographie sur colonne de différentes fractions de feuilles, de fleurs et d'écorce de tige de *C. nodosa* Buch.-Ham. ex Roxb. a donné un triterpénoïde identifié comme le lupéol (**38**), ainsi qu'un diterpène, le 2-méthoxy-3-ène-15-O-(4'-chlorobenzoyl) clérodane (**133**) (Suzy et al., 2016).



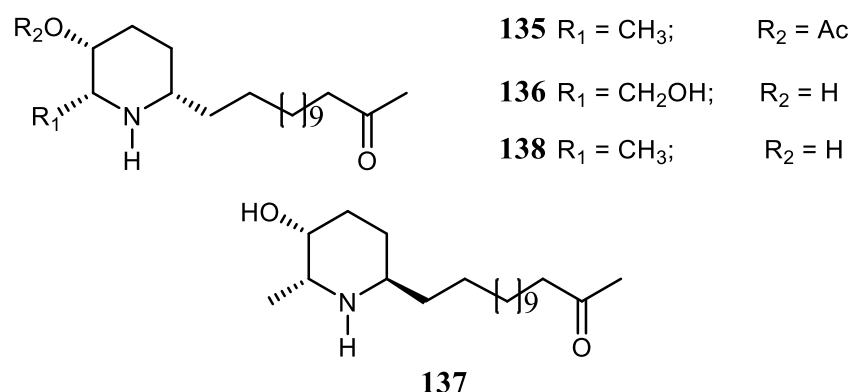
#### d) Alcaloïdes

Depuis l'identification du premier alcaloïde en 1806, plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés des plantes (Bruneton, 1999). En fait, les alcaloïdes forment un groupe hétérogène, du point de vue de la structure et des propriétés chimiques que des effets biologiques qu'ils manifestent.

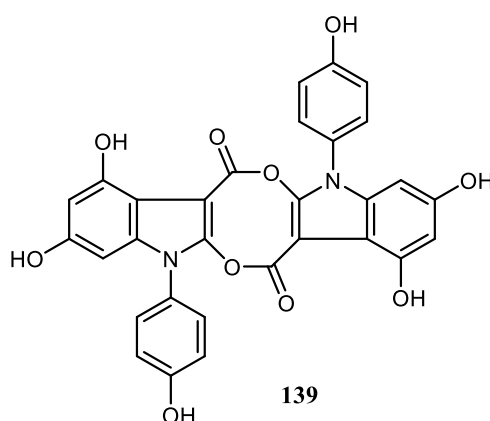
L'investigation phytochimique des feuilles et des racines de la plante de *C. absus* par Krishna et al. (1979) a conduit à l'isolement d'un alcaloïde imidazole, la chaksine (**134**) qui inhibe l'activité musculaire et le sens de l'équilibre. Elle a également des effets hypotenseurs et antibactériens (Schmelzer et al., 2008).



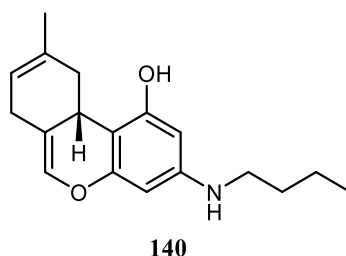
Les fleurs de *Cassia spectabilis* ont produit trois nouveaux alcaloïdes de pipéridine, (-) - 3-*O*-acétylspectaline (**135**), (-)-7-hydroxyspectaline (**136**) et iso-6-spectaline (**137**), ainsi qu'un alcaloïde connu, la (-)-spectaline (**138**) (Viegas et al., 2004).



La cassiaindoline (**139**), un nouveau dimère d'alcaloïde indolique isolé des feuilles de *C. alata* L., a montré une activité analgésique et anti-inflammatoire sur des souris (Villaseñor, 2009).

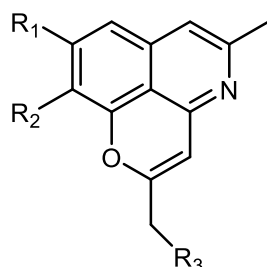


L'étude chimique des constituants bioactifs des graines de *C. alata* Linn. a conduit à l'isolement d'un nouvel alcaloïde cannabinoïde : le 4-butylamino-6-hydroxy-10-méthyl-dronabinol cannabinoïde (**140**) (Okwu, 2011).



Trois nouveaux alcaloïdes tricycliques, les siamalcaloïdes A – C (**141–143**), ainsi que trois alcaloïdes connus (**144–146**) ont été isolés des rameaux de *Cassia siamea*. Ces composés

ont été testés pour leur activité antivirale de la mosaïque du tabac (anti-VMT), et le composé **143** a présenté une activité anti-VMT élevée avec un taux d'inhibition de 34,5%, supérieur à celui du contrôle positif (Wu, et al., 2016).

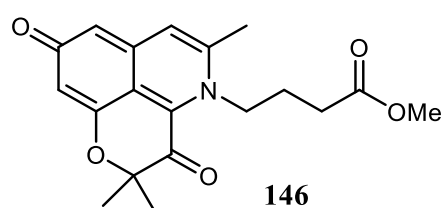
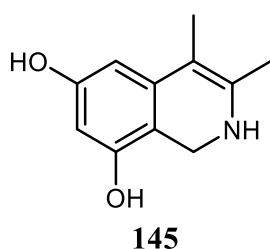


**141:** R<sub>1</sub> = OMe R<sub>2</sub> = H R<sub>3</sub> = OH

**142:** R<sub>1</sub> = OH R<sub>2</sub> = H R<sub>3</sub> = OH

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

**144:** R<sub>1</sub> = OH R<sub>2</sub> = H R<sub>3</sub> = H



## 1.2.7 *Cassia arereh* Delile

### 1.2.7.1 Présentation

*Cassia arereh* Delile est un arbre pouvant atteindre 10 m de hauteur, avec un fût droit de 30 cm de diamètre possédant des inflorescences terminales simples et des gousses marron-déhiscentes de 30-60 cm de long. Son écorce gris foncée, est écailleuse et d'une coupe brun clair. Ses feuilles vert clair pourprâtes, ses pétales jaunes et son fruit brun foncé (Arbonnier, 2004).

C'est une plante ligneuse à feuilles caduques qui se rencontre souvent dans les endroits rocheux ou dans les habitats riverains. Elle est largement répandue en Inde et en Afrique dans le nord du Nigeria, au Cameroun, en Éthiopie, au Soudan et en Érythrée (Arbonnier, 2004; Olusola et al., 2011).



**Figure 12 : Ecorces du tronc de *Cassia arereh* Delile (Botanica, 2019)**



### 1.2.7.2 Utilisations ethnomédicinales

Presque toutes les parties de la plante sont utilisées localement comme médicament. La décoction de la racine et de l'écorce de tige est utilisée contre des maladies telles que la diarrhée, la dysenterie, les maux d'estomac, l'ascite, les maux de tête, la toux, les rhumatismes, le mal de dos, la cicatrisation, la faiblesse sexuelle, la peste aviaire, la fièvre jaune et le paludisme (Arbonnier, 2004; Musa et al., 2011).

Les racines sont utilisées comme agent anticancéreux dans l'état de Borno, au Nigeria (Ngulde et al., 2015).

Les feuilles sont utilisées comme diurétique, antipyrétique, analgésique et dans le traitement de la pleurésie, des brûlures, de la diarrhée, de la dysenterie, de la dermatite, du paludisme, des infections cutanées et des maladies du foie (Arbonnier, 2004; Musa et al., 2011).

La pulpe du fruit est utilisée comme laxatif tandis que la graine est utilisée pour le traitement de la pneumonie et à des fins magico-religieuses (Arbonnier, 2004; Musa et al., 2011).

### 1.2.7.3 Propriétés biologiques et pharmacologiques

La plante présente différentes activités biologiques telles que des propriétés antimicrobiennes, antitrypanosomiales *in vitro*, larvicides, antiplasmodiales et cytotoxiques. Les études affirment que *C. arereh* Delile contient des alcaloïdes, des anthraquinones, des hydrates de carbone, des glycosides cardiaques, des flavonoïdes, des phénols, des saponines, des stéroïdes, des tanins et des terpénoïdes (Olusola et al., 2011; De et Maori, 2009; Ngulde et al., 2010; Akanbi et Nnakaogu, 2012; Ngulde, 2013; Imam et Abd Alla, 2013; Ado et Garba, 2014).

Les activités antioxydante et anti-hémolytique (Laure et al., 2015) des feuilles de *C. arereh* Delile ont été démontrées tandis que Abbas et al. en 2017 ont montré leur activité hépatoprotectrice sur des rats.

Les racines de *C. arereh* Delile ont montré sur des rats albinos un potentiel anti-trypanosomal (Ngulde, 2013) et des propriétés gastroprotectrices, antioxydantes et antibactériennes sur un modèle de rats Wistar (Mezui et al., 2017).

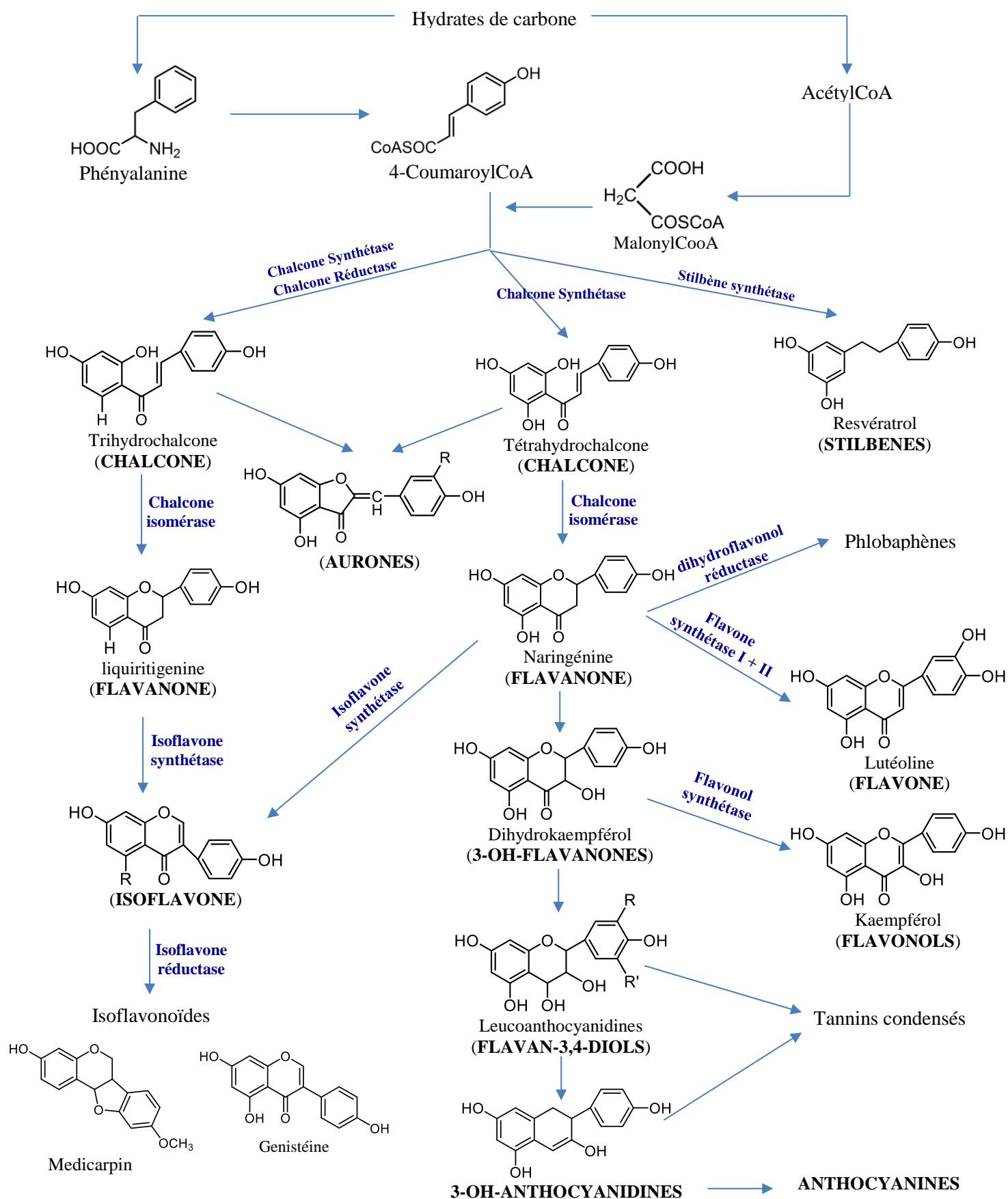
## 1.3 Biosynthèse de quelques classes de composés

### 1.3.1 Biosynthèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont synthétisés dans les plantes au niveau des chloroplastes. Ces métabolites secondaires ont pour composés de départ la malonyl-CoA et les dérivés-CoA de l'acide cinnamique (cinnamoyl-CoA) : ces derniers se forment avec l'intervention de cinnamoyl-CoA ligase. C'est l'acétyl-CoA carboxylase qui prépare le malonyl-CoA où trois molécules de cette dernière et la cinnamoyl-CoA produisent à l'aide de la chalcone synthase, la structure de base en C-15 sous forme d'une chalcone soit la 4,2',4',6'-tetrahydrochalcone (Kupchan et Bauerschmidt, 1971). Cette chalcone est l'intermédiaire caractéristique de la biosynthèse des divers flavonoïdes. Elle est en équilibre avec les flavanoïdes. Cet équilibre étant contrôlé par une enzyme la chalcone isomérase, cette dernière induit une fermeture stéréospécifique du cycle (addition syn. sur la double liaison) conduisant à la seule (2S)-flavanone (Herz et al., 1972).

- Les aurones dérivent directement des chalcones;
- L'oxydation des flavanones suivi de réarrangement, c'est-à-dire le déplacement d'un groupement aryle de C-2 à C-3 en présence d'enzyme isoflavone synthase conduit à la formation d'isoflavone ; elle est considérée comme une réaction spécifique pour la biogenèse des isoflavonoïdes (Gottlieb et Mors, 1980) où le composé 2-hydroxy isoflavone est considéré comme un intermédiaire (Rajbhandari et Roberts, 1983);
- L'introduction d'une double liaison entre C-2 et C-3 dans les flavanones conduit à la formation des flavones. Cette réaction est catalysée par deux types d'enzymes différentes: la flavone synthase I et la flavone synthase II ;
- L'hydroxylation des flavanones en position 3 conduit aux dihydroflavonols, cette réaction est catalysée par l'enzyme flavanone 3-hydroxylase;
- Le dihydroflavonol est considéré comme un intermédiaire direct pour la synthèse des flavonols et des flavan-3,4-diols. Ce dernier est un intermédiaire biosynthétique dans la formation des proanthocyanidines des anthocyanidines et catéchines (flavanols);
- Les flavonols sont formés par l'introduction d'une double liaison entre C-2 et C-3 dans les dihydroflavonols en présence d'enzyme flavonol synthase (Winkel-Shirley, 2001).

Toutes ces étapes sont illustrées dans la figure 13 suivante.



**Figure 13 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Winkel-Shirley, 2001 ; Weston et Mathesius, 2013)**

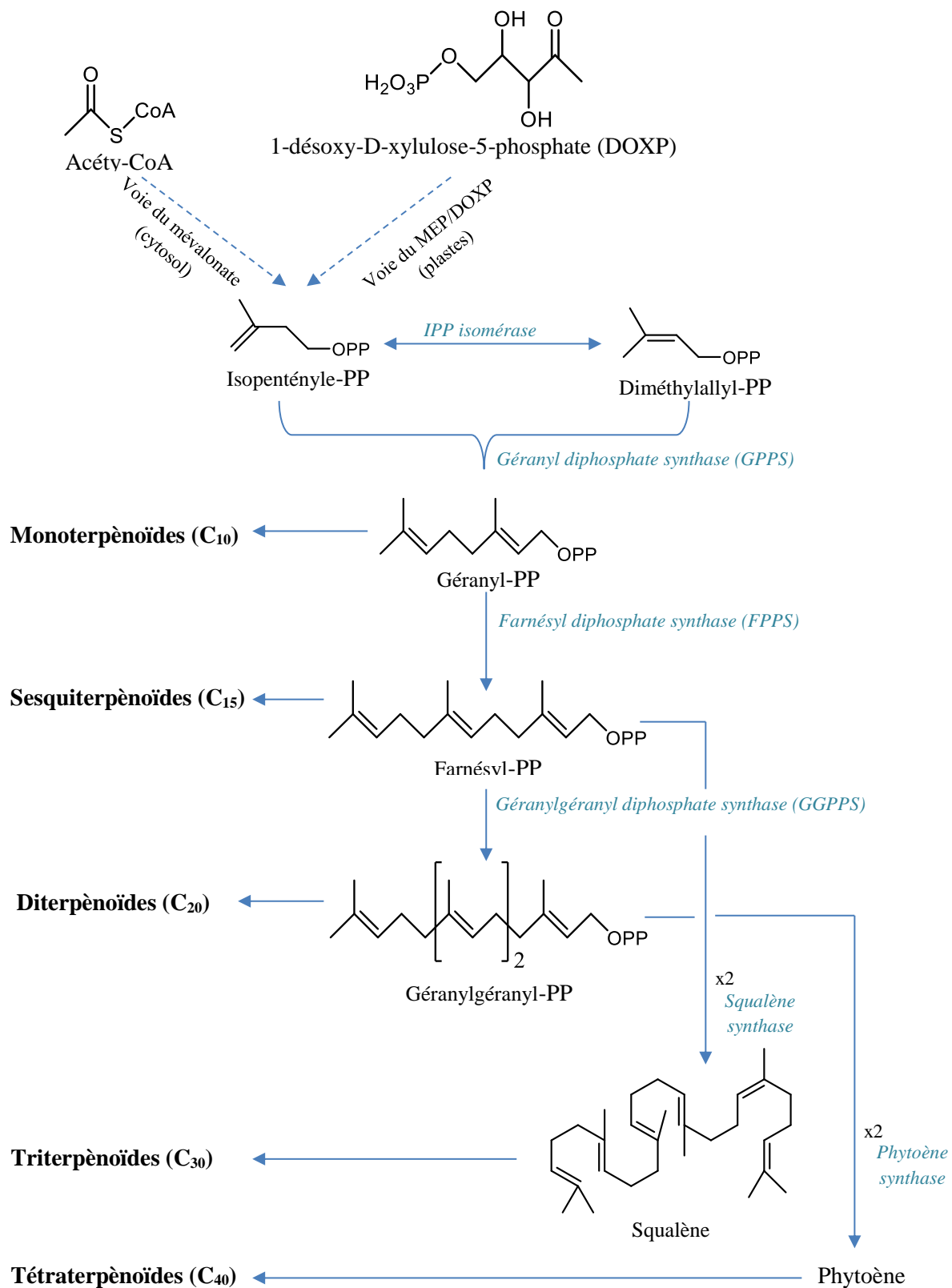
### 1.3.2 Biosynthèse des terpénoïdes

À partir de l'acétyl-CoA, la biosynthèse des composés terpéniques (Fig. 14) débute par une unité structurale commune : l'unité isoprène (Sell, 2003).

L'existence des motifs isopréniques est suggérée pour la première fois par Wallach en 1887. Il fut le premier à proposer l'hypothèse que des condensations successives d'unités isoprènes de manière « tête-à-queue » donnent des composés chimiques à  $n$  fois cinq atomes de carbone (Wallach, 1887). Quelques dizaines d'années plus tard (1953), le chimiste Léopold Ruzicka, transformait cette hypothèse en une règle générale dite « la règle isoprénique » dont le principe a été, depuis confirmé expérimentalement (Bruneton, 1999).

Plus précisément, les terpènes peuvent être biosynthétisés par deux voies principales soit à partir du 3-isopentényle pyrophosphate (IPP) et du 3,3-diméthylallyle pyrophosphate (DMAPP), eux-mêmes formés à partir de l'acétyl-CoA (Bohlmann et al., 1999; Sell, 2003). Par la suite, à l'aide d'enzymes situés dans différents compartiments de la cellule végétale, l'IPP et le DMAPP peuvent se lier et former le géranyle pyrophosphate (GPP), qui est le précurseur et la base de tous les monoterpènes. Ainsi, le géranylgéranyle pyrophosphate (GGPP) et le géranylfarnésyle pyrophosphate (GFPP) sont synthétisés en ajoutant un à un les unités d'IPP nécessaires sur les molécules d'IPP ou de DMAPP selon la molécule finale voulue (Bohlmann et al., 1999). Donc, à partir de ces différentes unités, la plupart des terpènes peuvent être générés et ainsi contribuer au métabolisme de la plante. Dans son ensemble, les composés terpéniques se biosynthétisent grâce à la présence d'enzymes qui sont nécessaires à leur production (Gershenzon et al., 1989; Wang et al., 2008).

Une classe d'enzymes dénommées prényltransférases entre en jeu dans la synthèse des monoterpénoïdes, sesquiterpénoïdes et diterpénoïdes. Ces enzymes catalysent le transfert des unités IPP à des accepteurs allyliques diphosphate (Akhtar et al., 2013). Parmi celles-ci, la géranyl diphosphate synthase catalyse la formation de géranyl diphosphate (IPP + diméthylallyl diphosphate), la farnésyl diphosphate synthase, la formation de farnésyl diphosphate (géranyl diphosphate + 1 unité de IPP) et la géranylgéranyl diphosphate synthase, la formation de géranylgéranyl diphosphate (farnésyl diphosphate + 1 unité IPP). D'autres enzymes interviennent pour la synthèse des triterpénoïdes et des tétraterpénoïdes. La squalène synthase catalyse la formation du squalène résultant de l'association de deux farnésyl diphosphates (Liang et al., 2002). De même la conversion de géranylgéranyl diphosphate en phytoène est catalysée par la phytoène synthase et constitue la première étape dans la biosynthèse des caroténoïdes (Fraser et al., 2002)



**Figure 14 :** Voie de biosynthèse simplifiée des terpénoïdes

- **Biosynthèse des triterpènes pentacycliques**

Dans les plantes supérieures, l'oxydosqualène est l'intermédiaire biosynthétique commun des stéroïdes et des triterpènes. Le squalène formé est oxydé par le squalène oxydase (Fig. 15). La cyclisation enzymatique du 2, 3-oxydosqualène peut se faire selon des conformations «chaise-bateau-chaise» pour donner le cation protostenyle, lui-même converti ensuite en cycloartenol ou lanostérol. Ces cyclisations sont catalysées respectivement par les 2,3-oxydosqualène cyclase (OSCS), le cyclosynthase (CS) et le lanostérol synthase (LS) (Goodwin, 1979). La synthèse des triterpènes peut se faire également selon des conformations «chaise-chaise-chaise» pour donner le cation dammarenyle tétracyclique. Ce dernier peut subir ultérieurement des réarrangements conduisant à la formation des triterpènes pentacycliques (Fig. 15) (Manitto, 1980).



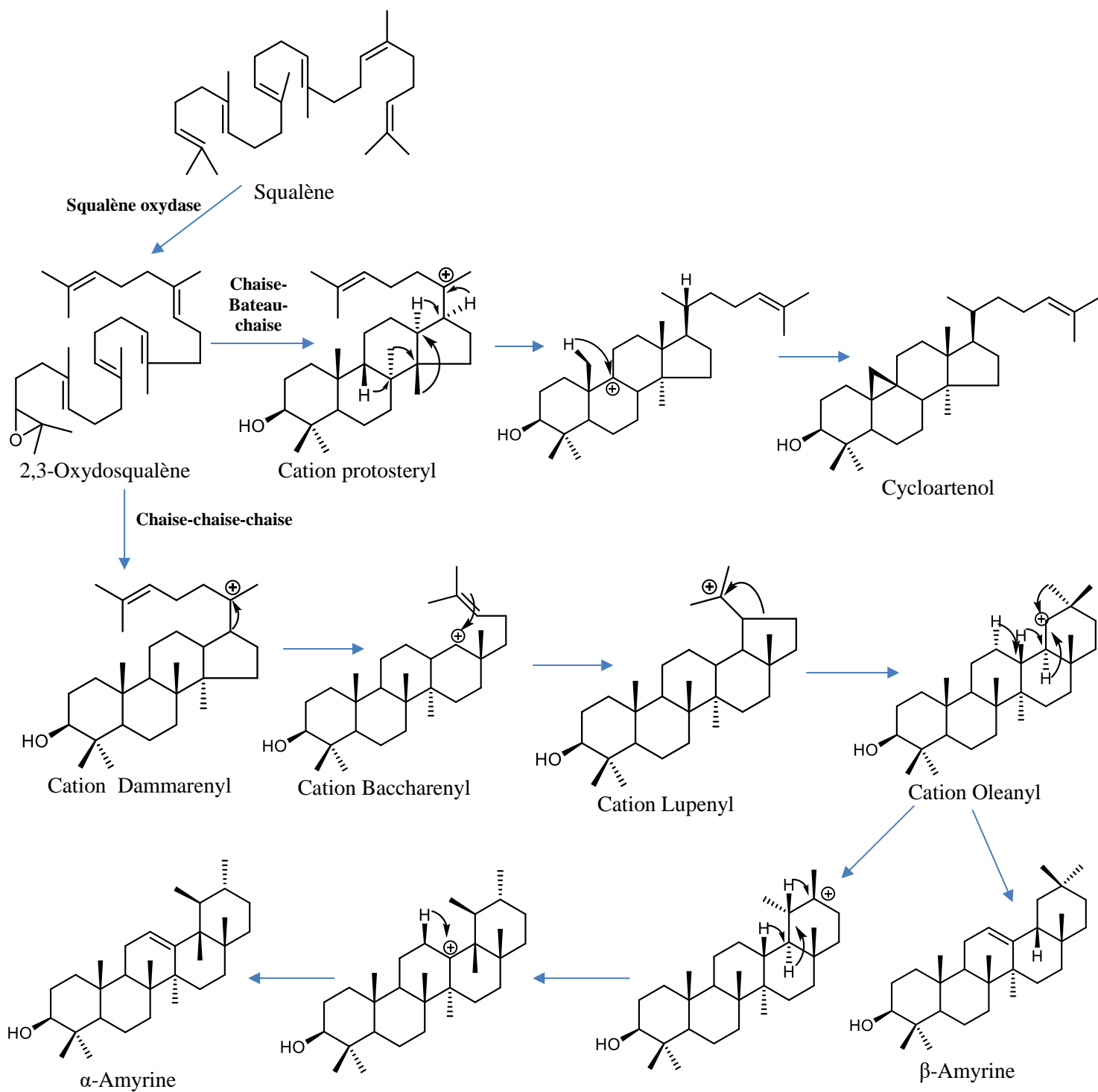


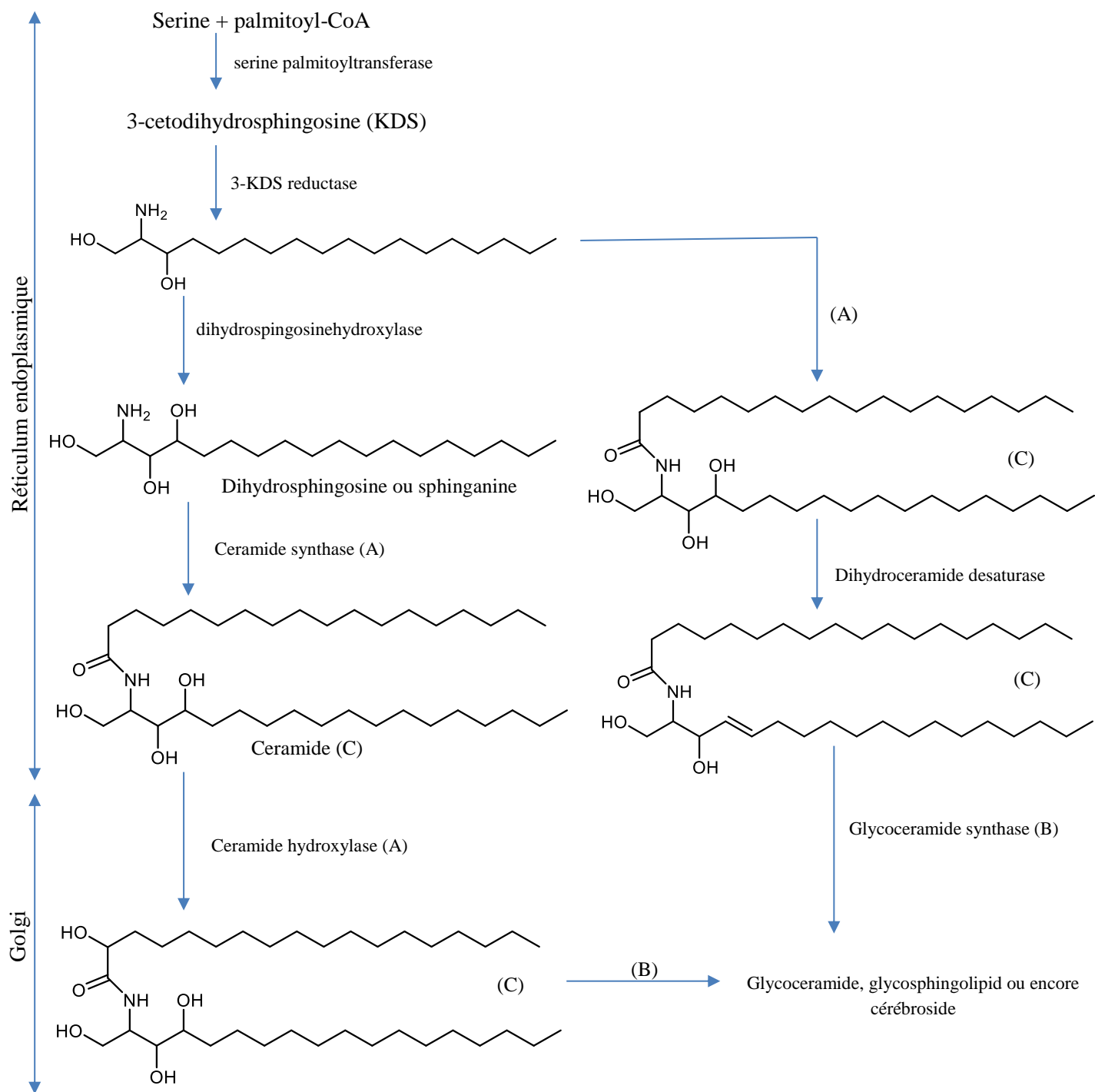
Figure 15 : Biosynthèse de triterpènes pentacycliques (Goodwin, 1979; Manitto, 1980)

### 1.3.3 Biosynthèse des céramides

Les céramides sont largement distribués dans les membranes cellulaires où ils jouent un rôle structurel important. Ils participent également à la signalisation intracellulaire et à la régulation de la croissance, de la migration, de l'apoptose et de la différenciation cellulaires (Hannun et Obeid, 2008). Les céramides sont constitués d'une base sphingoïde à longue chaîne qui est liée à un acide gras par une liaison amide.

Les céramides sont principalement issus de la voie de synthèse *de novo*, à partir d'acides gras saturés (en particulier le palmitate) (figure..). Cette synthèse, qui s'effectue dans le réticulum endoplasmique, est le résultat de différentes réactions qui commencent par la condensation de la sérine avec le palmitoyl-CoA. Cette réaction est catalysée par la sérine palmitoyl-transférase et génère le 3-keto-dihydrosphingosine, qui sera réduit en dihydrosphingosine par la 3-keto-dihydrosphingosine réductase. La dihydrosphingosine est ensuite N-acylée par différentes enzymes isoformes de céramide synthases (CerS) pour former des dihydrocéramides de différentes longueurs de chaîne. Ces enzymes catalysent la même réaction chimique, mais elles présentent des caractéristiques spécifiques quant à la longueur des chaînes d'acyl-CoA qu'elles utilisent pour la N-acylation. C'est donc de la nature des isoformes de CerS que dépend la composition en acides gras des céramides. La chaîne carbonée de la partie sphingoïde, constituant la dihydrocéramide, sera finalement désaturée par la dihydrocéramide désaturase pour former un céramide (Hannun et Obeid, 2018) (fig. 16).





**Figure 16 : Biosynthèse des céramides (Beckmann et al., 2003 ; Hanada, 2005 ; Guan et wenk, 2006)**

## 1.4 Généralités spectroscopiques (RMN 1D) pour la détermination de quelques classes de composés

La résonance magnétique nucléaire ou RMN est une technique utilisée pour l'analyse des structures de nombreuses molécules chimiques. Elle sert principalement à la détermination structurale des composés organiques. Les principaux noyaux étudiés sont le proton  $^1\text{H}$ , le carbone  $^{13}\text{C}$ , le phosphore  $^{31}\text{P}$ , et l'azote  $^{15}\text{N}$ .

Cette méthode repose essentiellement sur le phénomène de magnétisme. En effet, les noyaux de certains atomes ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , etc....) possèdent un moment magnétique nucléaire, c'est-à-dire qu'ils se comportent comme des aimants microscopiques caractérisés par une grandeur quantique appelée «le spin». La technique de RMN étudie le comportement des noyaux atomiques en présence d'un champ magnétique externe. Le champ magnétique appliqué aux produits entraîne un dédoublement des niveaux d'énergie du spin nucléaire, de sorte qu'on puisse induire des transitions entre eux, suite à l'absorption d'une radiation électromagnétique adéquate. Les échantillons sont dissous dans un solvant deutéré qui peut être du méthanol, du chloroforme, de la pyridine etc. Ces solvants possèdent des déplacements chimiques spécifiques. Le tube contenant l'échantillon est soumis au champ magnétique permettant l'obtention des spectres utiles à la l'élucidation structurale (Wilson et al., 1968).

Nous nous attarderons dans la suite sur la RMN monodimensionnelle (RMN – 1D) proton  $^1\text{H}$  et carbone  $^{13}\text{C}$ .

Le spectre RMN du proton est une méthode puissante utilisée dans la détermination structurale des composés organiques inconnus. Il fournit de nombreuses informations telles que, les différents types d'hydrogènes présents dans la molécule analysée, les différents types d'hydrogènes présents dans l'environnement électronique, le nombre d'hydrogènes "voisins" d'un hydrogène donné et le déplacement chimique caractéristique de chaque proton (Günther, 1994).

Dans l'expérience RMN  $^{13}\text{C}$ , chaque atome de carbone qui est dans un environnement unique provoque une crête distincte sur un spectre. Généralement, cette technique permet de mettre en évidence tous les carbones de la molécule. L'analyse se base sur les déplacements chimiques observés en fonction de l'environnement de chacun des atomes de carbone. Cette expérience permet la mise en évidence des carbones primaires ( $\text{CH}_3$ ), secondaires ( $\text{CH}_2$ ), tertiaires ( $\text{CH}$ ) et dans une moindre mesure les carbones quaternaires (Günther, 1994).

### 1.4.1 Analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN) des flavonoïdes

Concernant l'analyse des flavonoïdes, la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire de proton (RMN  $^1\text{H}$ ) permet de visualiser les relations existant entre les protons des différents noyaux et déduire leur degré de substitution. Elle permet également de repérer les groupements méthoxylés, de dénombrer les sucres et d'envisager leur mode de liaison à la génine.

Les positions relatives des protons sur les noyaux A et B sont facilement déductibles grâce aux valeurs des constantes de couplage.

Lorsque le noyau A est disubstitué par des OH en 5 et 7, les protons H-6 et H-8 présentent deux doublets, respectivement entre 6,16 et 6,25 ppm avec une constante de couplage  $J = 2,5$  Hz et entre 6,39 et 6,56 ppm avec la même constante de couplage. La substitution des OH en positions 5 et/ou 7 conduit au déblindage des deux protons voisins (Markham et Geiger, 1994).

Le déplacement chimique des protons du noyau B se trouve entre 6,7-7,9 ppm. Ce déplacement chimique est basé sur les substituants dans le noyau B et le degré d'oxydation du noyau C. Quand le noyau B est monosubstitué en 4', les quatre protons H-2', H-3', H-5' et H-6' présentent deux doublets dont les constantes de couplages sont identiques (8,5 Hz). Les protons H-2' et H-6' résonnent toujours à des champs inférieurs à ceux des protons H-3' et H-5' (Markham et Geiger, 1994).

Le proton H-3 d'une structure flavone résonne entre 6 et 7 ppm sous forme d'un singulet (Markham et Geiger, 1994), pouvant être confondu avec les protons H-6 et H-8.

Concernant l'analyse des signaux provenant des protons de la partie osidique, le proton anomérique apparaît sur le spectre sous forme d'un doublet déblindé par rapport aux autres protons osidiques. La valeur de la constante de couplage permet de distinguer les anomères  $\beta$  ( $J = 7-8$  Hz) des anomères  $\alpha$  ( $J = 2,5-4$  Hz) (Markham et Mabry, 1975). Le proton anomérique lié à un autre ose, devient relativement loin de l'influence du noyau flavonique, et résonne à champ plus fort que le proton anomérique lié à la génine. A titre d'exemple dans le cas de Kampférol 3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside, le proton H-1''' du rhamnose résonne à 4,54 ppm dans le méthanol deutérié (Sang et al., 2002) alors que dans le cas du Kampférol-3-*O*-rhamnoside le proton anomérique H-1'' résonne à 5,43 ppm avec une constante de couplage  $J = 2,1$  Hz (Bilia et al., 1996).

La RMN carbone  $^{13}\text{C}$  quant à elle donne des informations utiles et nécessaires pour identifier la molécule, telles que le nombre total d'atomes de carbone du composé flavonique

ainsi que leur environnement. Egalement, elle nous renseigne sur le type des liaisons –C et / ou –O sucres. Les carbones présentant de faible densité électronique, de nature carbonyle ou aromatique, résonnent aux champs faibles ( $\delta_C$  130-185 ppm) alors que les autres carbones (aliphatiques par exemple) ont des signaux RMN qui se situent dans la gamme  $\delta_C$  0-110 ppm (Aramendia et al., 1995 ; Markham, 1976).

#### 1.4.2 Analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN) des triterpènes

Les triterpènes ont fait l'objet de plusieurs études consacrées à leur analyse structurale (Kuo et al., 2000; Thanakijicharoenpath et al., 2007; Andras et al., 2008; Chiy et al., 2008).

Le spectre RMN  $^1H$  des triterpènes est peu spécifique. Il présente néanmoins une série de pics caractéristiques dans l'intervalle  $\delta_H$  0,5 - 2 ppm, correspondant aux groupements méthyles. Le profil (nombre, multiplicité, déplacement) permet une orientation concernant le type et la série du noyau triterpénique (Hans et al., 1973; Marcia et al., 1999; Yu et al., 2006; Mario et al., 1999; Andras et al., 2008; Chiy et al., 2008;). L'examen de la région  $\delta_H$  2 à 6 ppm indique l'environnement auquel sont soumis les protons fonctionnels (hydroxyle, double liaison,...).

Le spectre RMN  $^{13}C$  est très précieux dans la détermination structurale des noyaux triterpéniques. Il nous permet de bien mettre en évidence les 30 atomes de carbone qui constituent le squelette des triterpènes, et en particulier les groupements carbonyles, acide carboxylique et alcool, par leurs déplacements chimiques spécifiques (environ  $\delta_C$  210 ppm pour un carbonyle,  $\delta_C$  170 ppm pour un acide carboxylique et  $\delta_C$  70 ppm pour un alcool) (Marcia et al., 1999; Mario et al., 1999).

#### 1.4.3 Analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN) des céramides

Le spectre de RMN du proton présente généralement un doublet intégrant pour un proton vers  $\delta_H$  8,70 ppm ayant une constante de couplage  $J = 8,8$  Hz, ceci lorsque le solvant de dissolution ne contient pas de trace d'eau deutérée. Celui-ci est échangeable à l'eau lourde et correspond au proton porté par l'azote de l'amide. Ce spectre de RMN  $^1H$  présente également le triplet vers  $\delta_H$  0,8 ppm intégrant pour 6 protons qui sont attribuables aux méthyles terminaux ainsi qu'un singulet large entre  $\delta_H$  1,20-1,40 ppm qui est la séquence successive des méthylènes, un multiplet entre  $\delta_H$  2.20 et 2.00 ppm représentant les protons en position allylique au cas où la molécule a des doubles liaisons ou en position  $\beta$  du carbonyle. Dans le cas où le composé a une double liaison de configuration *cis*, deux multiplets presque confondus sont

observés autour de 5,40ppm et très distincts autour  $\delta_H$  5,70 et 5,45 ppm si elle est de configuration *trans* (Ishii et al., 2006).

Le spectre de RMN  $^{13}C$  exhibe deux pics très voisins ou chevauchants vers  $\delta_C$  130,0 ; 134,0 et 136,0 ppm pour la double liaison. Ce même spectre montre deux carbones caractéristiques autour de  $\delta_C$  54,0 et 175,5 ppm correspondant au carbone aliphatique lié à l'azote et au carbonyle de la fonction amide. On observe aussi le signal caractéristique de la succession de méthylènes entre  $\delta_C$  29,0 et 33,0 ainsi qu'un signal à  $\delta_C$  14,4 ppm attribuable aux méthyles terminal (Ishii et al., 2006).

Toutefois, des analyses complémentaires sont nécessaires pour déterminer la longueur des chaînes sphingosine et acide grâce à une réaction de méthanolyse du céramide, suivie d'une analyse en spectrométrie de masse. Et pour le positionnement des insaturations sur les longues chaînes carbonées (si la molécule en possède) cela est rendu possible au travers d'une réaction du céramide avec le diméthyldisulfure (DMDS), suivi d'une analyse en spectrométrie de masse.

## 1.5 Généralités sur les pathologies ciblées

### 1.5.1 Infections microbiennes

Les maladies infectieuses sont les maladies les plus fréquentes ; plus d'un tiers des malades hospitalisés reçoivent au moins un antibiotique. Au début du 21<sup>ème</sup> siècle, les maladies infectieuses ont été responsables d'environ un quart des décès dans le monde, causant au moins 10 millions de décès par ans, principalement dans les pays tropicaux (Dye, 2014). Au Cameroun par exemple, ils ont été responsables d'environ 54% de décès en 2016 (CDC, 2019). Parmi les maladies infectieuses, on distingue les maladies bactériennes, les maladies fongiques, les maladies parasitaires et virales (Labayle, 2001).

#### 1.5.1.1 Les bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires) (Nauciel et Vildé, 2005).

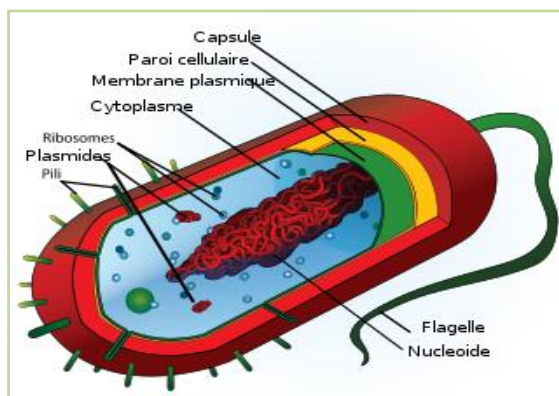


Figure 17: Cellule bactérienne (Futura-Science, 2019)

#### 1.5.1.2 Les champignons

Ce sont des microorganismes pourvus de noyaux (eucaryotes). Plusieurs espèces de champignons sont pathogènes chez l'homme. En effet, certains *Candida* sont responsables de mycoses et les dermatophytes sont responsables de plusieurs variétés de teignes. Les champignons peuvent envahir les organes internes (poumons) et provoquer une infection pulmonaire. Ces infections surviennent chez des personnes qui ont subi une dépression du système immunitaire (Nielsen et Heitman, 2007).

### 1.5.1.3 Mode d'action des antibiotiques

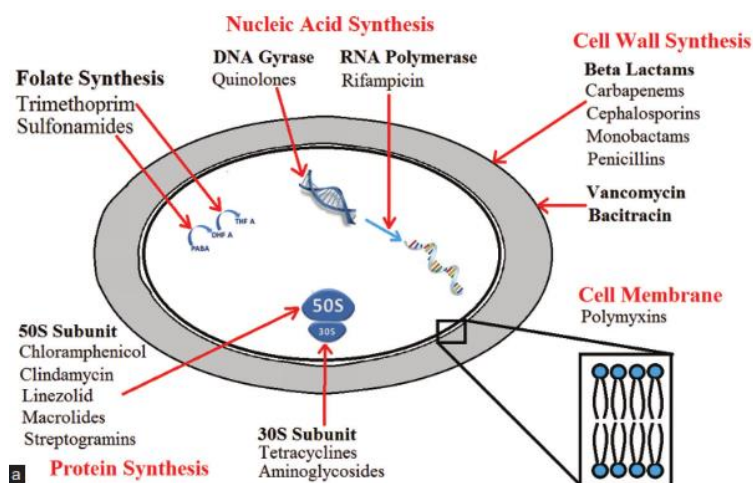
Une substance antibiotique est un médicament ayant la propriété de tuer de façon ciblée des microbes (bactéries, champignons) ou d'empêcher leur prolifération.

Le mode d'action des antibiotiques consiste à bloquer les processus métaboliques vitaux spécifiques des bactéries et des champignons sensibles et arrêtent ainsi leur développement, le plus souvent seulement temporairement (effet bactériostatique ou fongistatique selon le cas) mais parfois définitivement (effet bactéricide ou fongicide selon le cas). Cet effet ne se manifeste qu'à partir d'une certaine concentration de l'antibiotique, la concentration minimale inhibitrice (CMI). Si la concentration descend en-dessous de la CMI, la croissance microbienne reprend le plus souvent (Walsh, 2003).

Chaque antibiotique possède un spectre d'action, qui est la flore microbienne sur laquelle il exerce son activité bactéricide ou bactériostatique, il est d'autant plus large, ou étendu, que le nombre des espèces microbiennes sensibles est grand. Le spectre d'action varie d'un antibiotique à l'autre.

Ainsi, les antibiotiques ont été classés (Dupont, 1987; Cos et al., 2006) selon leur mode d'action en:

- ✓ Antibiotiques inhibiteurs des synthèses du peptidoglycane : ils affectent la paroi de la bactérie en inhibant sa synthèse. C'est l'exemple de l'inhibition du peptidoglycane par la pénicilline ou par les polyphénols.
- ✓ Antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires : Ils altèrent la membrane plasmique pour inhiber la croissance de la bactérie ou conduire à sa mort. La membrane plasmique agit comme une barrière sélective. Elle régularise l'entrée et la sortie des substances chez les microbes.
- ✓ Antibiotiques inhibiteurs des synthèses protéiques : Ils agissent en inhibant l'incorporation des acides aminés dans les chaînes polypeptidiques ou en inhibant la combinaison aminoacide : ARN de transfert (ARNt) avec le ribosome ou encore inhibant même la formation de la liaison peptidique par les peptidyltransferases dans la bactérie.
- ✓ Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques : les métabolites secondaires de plantes peuvent bloquer la synthèse de l'ADN ou de l'ARN. La vie de la bactérie peut être compromise par toute perturbation du fonctionnement de l'ARN et de l'ADN.



**Figure 18 : Cibles antibiotiques (Cheesman et al., 2017)**

#### 1.5.1.4 Résistance bactérienne et mécanismes

L'émergence rapide de bactéries résistantes se produit dans le monde entier, mettant en danger l'efficacité des antibiotiques, qui ont sauvé des millions de vies. La crise de cette résistance aux antibiotiques a été attribuée à la surconsommation et à la mauvaise utilisation de ces médicaments, ainsi qu'au manque de développement de nouveaux médicaments par l'industrie pharmaceutique en raison de la réduction des incitations économiques et des exigences réglementaires difficiles (Ventola, 2015).

Le spectre d'activité d'un antibiotique (ATB) ou d'un extrait de plante recense les espèces bactériennes sensibles à cet ATB, mais lorsqu'une expérience est dite "non sensible", il n'entre pas dans ce spectre et par conséquent possède une résistance dite naturelle liée aux caractères génétiques propres à l'espèce. L'utilisation des ATB depuis de nombreuses années a contribué à sélectionner des souches résistantes au sein d'espèce normalement sensibles : c'est la résistance acquise.

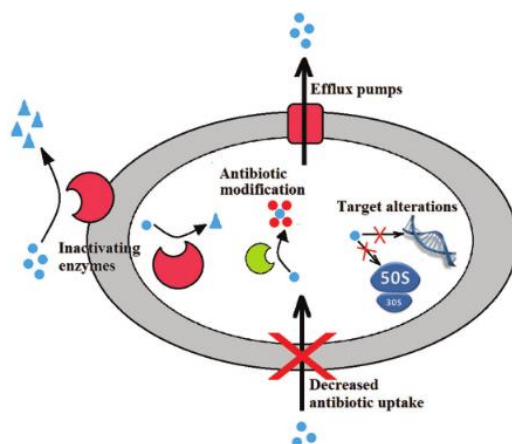
Au laboratoire, on définit une bactérie résistante à un ATB lorsque cette bactérie supporte des concentrations inhibitrices de cet ATB (supérieures aux concentrations que l'on peut obtenir dans l'organisme) sans être affectée. La résistance est toujours exprimée par rapport à une valeur de référence qui est la CMI (concentration minimale inhibitrice). On distingue la :

- ✓ Résistance naturelle : elle est programmée sur le génome bactérien. Elle est fixe et constante à l'intérieur du taxon ; elle est transmissible à la descendance naturelle et constitue un critère d'identification.
- ✓ Résistance acquise : Une souche bactérienne devient résistante lorsqu'elle peut croître en présence d'une concentration d'ATB plus élevée que la concentration qui inhibe les



souches normalement sensibles. Les mécanismes de résistance acquise sont nombreux et ont un support génétique, chromosomique ou plasmidique. Ce sont respectivement (Li et al., 2007):

- l'absence de pénétration de l'ATB ou de l'extrait par diminution ou suppression de la perméabilité pariétale ou membranaire.
- l'altération de la cible moléculaire par modification ou dégradation enzymatique de la cible.
- la sortie excessive de l'ATB ou de l'extrait hors de la bactérie ce qui entraîne une diminution de la concentration.
- l'inactivation enzymatique de l'ATB (l'hydrolyse par les pénicillinases comme les  $\beta$ -lactamases que produisent certaines bactéries ou par modification même de la structure chimique de l'ATB (cas des acétylases et les amilosides).



**Figure 19 : Mécanismes de résistance bactérienne (Cheesman et al., 2017)**

**Tableau 4 : Développement d'une résistance aux antibiotiques clés: chronologie des événements (Wenzler et Rodvold, 2015; Cheesman et al., 2017)**

<b>Classe d'antibiotiques;</b> Exemple	<b>Source</b>	<b>Année de découverte</b>	<b>Année d'introduction</b>	<b>Premier rapport sur la résistance observée (Année)</b>
<b>Sulfamide;</b> prontosil	Synthétique	1932	1936	<i>Balantidium coli</i> (1942)
<b><math>\beta</math>-lactamase;</b> pénicilline	Naturelle	1928	1938	<i>Staphylococci</i> (1940)
<b>Amino glycoside;</b> streptomycine	Naturelle	1943	1946	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (1946)
<b>Chloramphenicol;</b> chloramphenicol	Naturelle	1946	1948	<i>Escherichia coli</i> (1950)
<b>Macrolide;</b> érythromycine	Naturelle	1948	1951	<i>Staphylococci</i> (1955)
<b>Tétracycline;</b> chlortétracycline	Naturelle	1944	1952	<i>Shigella dysenteriae</i> (1950)
<b>Rifamycine;</b> rifampicine	Naturelle	1957	1958	<i>M.tuberculosis</i> (1962)
<b>Glycopeptide;</b> vancomycine	Naturelle	1953	1958	<i>Enterococci</i> (1980)
<b>Fluoroquinolone;</b> ciprofloxacine	Synthétique	1976	1986	<i>Enterobacteriaceae</i> (1990)
<b>Streptogramine;</b> streptogramine B	Naturelle	1963	1998	<i>Staphylococci</i> (1980)
<b>Oxazolidinone;</b> linezolide	Synthétique	1955	2000	<i>Staphylococcus</i> <i>Enterococcus</i> <i>faecium</i> (1999)
daptomycine	Naturelle	1986	2003	<i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Enterococcus</i> spp. (2005)
<b>Fidaxomicine</b> (ciblant <i>Clostridium difficile</i> )	Naturelle	1948	2011	<i>Clostridium difficile</i> (1977)
<b>Lipoglycopeptide;</b> Télavancine	Sémi- synthétique	2000	2009	<i>Staphylococcus aureus</i> (2013)
<b>Diarylquinoline;</b> bédaquiline	Naturelle	1997	2012	<i>M.tuberculosis</i> (2006)
<b><math>\beta</math>-lactamase ;</b> Zebraxa	Sémi- synthétique	/	2014	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (2017)

### 1.5.1.5 Produits naturels antimicrobiens

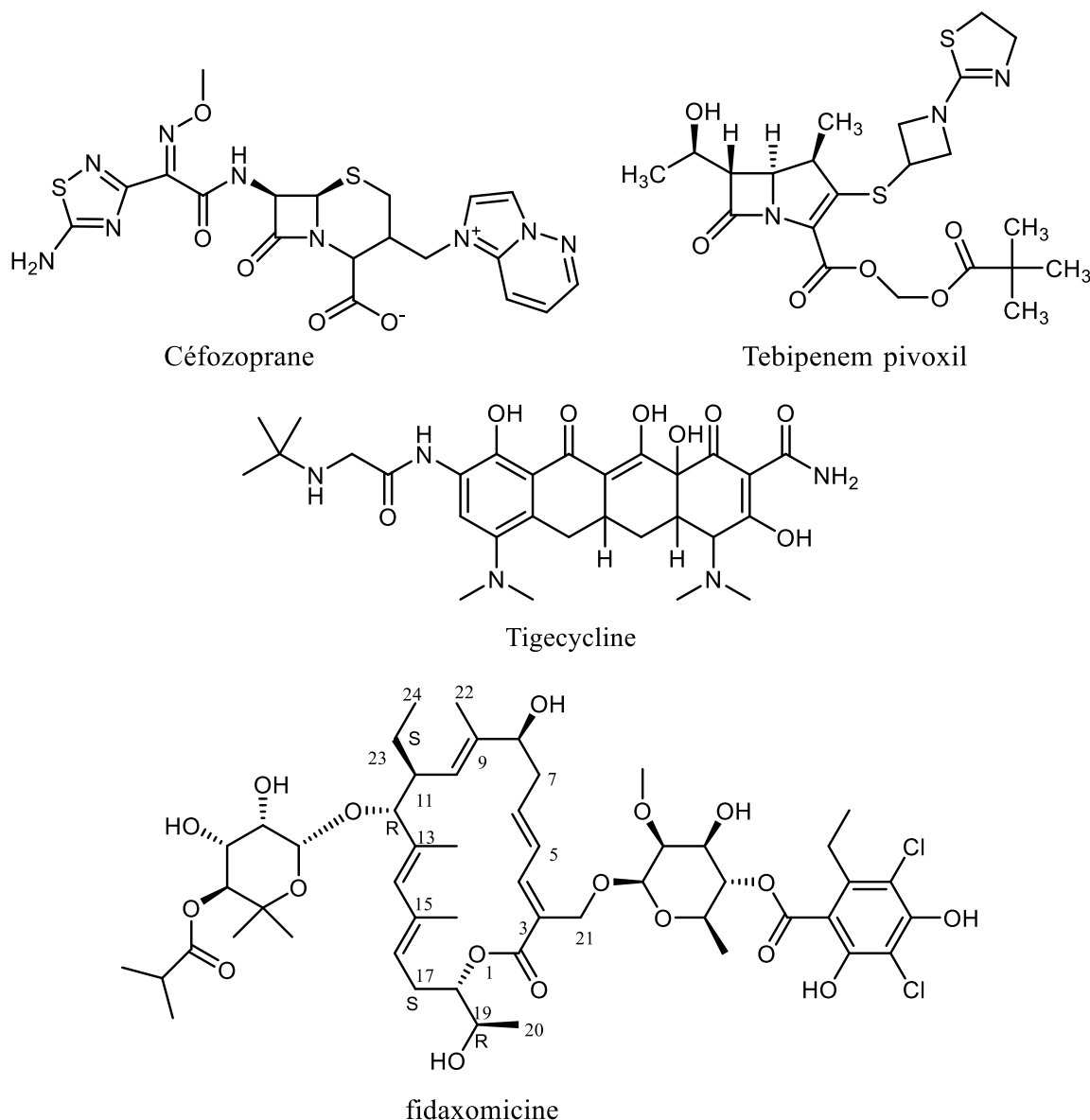
Depuis une soixantaine d'années, la chimiothérapie des infections bactériennes est dominée par les produits naturels et leurs variantes semi-synthétiques (Dougherty et Pucci, 2012). Les années 40 ont révolutionné la pratique médicale en diminuant radicalement les taux de mortalité associés aux infections bactériennes (Newman et al. 2000; Sneader, 2005). Ces découvertes ont conduit à une recherche concertée de nouveaux médicaments antibactériens au cours des 30 années suivantes et ont abouti à la découverte de la plupart des classes de médicaments antibactériens connues aujourd'hui, dont beaucoup dérivait de produits naturels (Sneader, 2005; Walsh et Wright, 2005 ; Finch et al., 2003). Grâce à ce succès, l'antibiotique topique mupirocine en 1985, l'oxazolidinone linézolide en 2000 et le lipopeptide daptomycine en 2003, sont entrés sur le marché depuis 1970. Au cours des 30 dernières années, 99 nouveaux médicaments antibactériens ont été lancés qui sont obtenus à partir de produits naturels (tableau 5).

**Tableau 5 : Médicaments antibactériens dérivés de produits naturels (PN) lancés depuis 1995, par an en référence à leurs principaux composés et à leur classification (Diganta, 2015).**

Année	Nom générique (nom commercial)	Composé de base	Classification
1995	Céfozoprane (Firstcin)	Cephalosporine	Dérivé-PN
1997	Cefcapène pivoxil (Flomox)	Cephalosporine	Dérivé-PN
1997	Faropénème (Farom)	Carbapénème	Dérivé-PN
1997	Flurithromycine (Ritro)	Erythromycine	Dérivé-PN
1998	Cefosélis (Wincef)	Céphalosporine	Dérivé-PN
1999	Dalfopristine et quinupristine (70:30 mélange) (Synergique)	Streptogramine B et streptogramine A	Dérivé-PN
2001	Ertapénem (Invanz <sup>TM</sup> )	Thienamycine	Dérivé-PN
2001	Télithromycine (Ketek)	Erythromycine	Dérivé-PN
2002	Biapénem (Omegacin)	Thienamycine	Dérivé-PN
2003	Daptomycine (Cubicin)	Daptomycine	PN
2005	Doripénem (Finibax/Doribax)	Thienamycine	Dérivé-PN
2005	Tigecycline (Tygacil)	Tétracycline	Dérivé-PN
2007	Retapamulin (Altabax/Altargo)	Pleuromutiline	Dérivé-PN
2008	Ceftobiprole médocarile (Zeftera, Zevtera)	Céphalosporine	PN Sémisynthétique
2009	Tébipénem pivoxil	Vancomycine	Dérivé-PN

Année	Nom générique (nom commercial)	Composé de base	Classification
	(Orapenem)		
2009	Tebipénem pivoxile (Orapénem)	Thienamycine	PN Sémisynthétique
2010	Monobactam aztreonam (Cayston)	Aztreonam	Dérivé-PN
2010	Céftaroline fosamile (Teflaro)	Céphalosporine	PN Sémisynthétique
2011	Fidaxomicine (Dificid)	Fidaxomicine	PN

PN: Produit Naturel



**Figure 20 : Structures de quelques principes actifs de médicaments antibactériens issus des produits naturels**

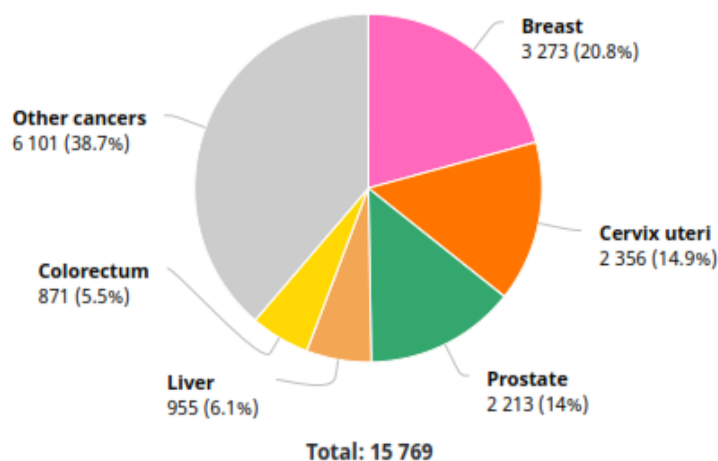
## 1.5.2 Cancer

### 1.5.2.1 Définition

Le terme «cancer» désigne la prolifération des cellules de façon incontrôlée et qui envahissent le tissu sain.

Il existe plus de deux cents types de cancers différents. On distingue les tumeurs solides, qui se développent à partir des cellules d'un organe et qui forment une masse ou un nodule (le cancer du sein), et les cancers qui prennent naissance dans le système sanguin ou lymphatique (les leucémies, par exemple) (LSC, 2016).

Au Cameroun, les formes les plus répandues de cette maladie sont le cancer du sein (20,8%), le cancer du col de l'utérus (14,9%), le cancer de la prostate (14%), le cancer du foie (6,1%) et le cancer colorectal (5,5%) (GLOBOCAN, 2018) (Fig. 21).



**Figure 21 : Répartition des formes de cancer au Cameroun (GLOBOCAN, 2018).**

### 1.5.2.2 Causes du cancer

Principalement avec le vieillissement de la population et l'industrialisation, l'incidence du cancer a fortement augmenté. Il est difficile de cibler les causes exactes d'un cancer. Il s'agit d'un ensemble variant d'un individu à l'autre. Il existe plusieurs facteurs environnementaux bien connus et certains facteurs génétiques. Toutefois, l'importance de la génétique dans le développement du cancer ne fait pas consensus. Elle semble varier d'un cancer à l'autre et en fonction des gènes mutés. Beaucoup de variations génétiques constitueraient plutôt une prédisposition (Joncas, 2017).

Parmi les facteurs environnementaux, on retrouve plusieurs éléments liés à notre mode de vie tels que la qualité de l'alimentation ainsi que le niveau d'activité physique. En effet,

l'embonpoint est responsable de près de 4% des cancers mondialement, mais son implication peut atteindre jusqu'à 50 % dans certains cancers. La consommation d'alcool et le tabagisme sont aussi d'importants facteurs. Certaines infections chroniques, causées surtout par des virus affectant un organe spécifique, peuvent favoriser l'apparition d'une tumeur dans l'organe en question. On connaît, par exemple, le virus de papillome humain qui cause le cancer du col de l'utérus et les virus hépatiques qui favorisent le cancer du foie et la bactérie *Helicobacter pylori* est à l'origine du développement du cancer de l'estomac. Enfin, certaines substances chimiques industrielles ainsi que des radiations, telles que les rayons ultra-violet, peuvent aussi causer un cancer en fonction du degré d'exposition. Certains de ces facteurs environnementaux induisent des modifications directement dans notre ADN qui s'accumulent avec l'âge, et qui sont très similaires aux modifications retrouvées dans les tumeurs. Il semble donc que nous ayons chacun un certain contrôle sur nos risques de développer un cancer à long terme (Joncas, 2017).

### 1.5.2.3 Traitements anticancéreux

Dès le diagnostic d'un cancer, un plan de traitement adapté est mis sur pied. Il existe différentes modalités de traitement conventionnelles qui sont disponibles pour traiter et gérer le cancer. Cependant, de nouvelles options de traitement sont explorées en continu car plus de 60% de tous les essais expérimentaux actuels dans le monde se concentrent sur la guérison des tumeurs. Le succès du traitement dépend du type de cancer, de la localisation de la tumeur et de son stade de progression (Abbas et Rehman, 2018).

La chirurgie, la radiochirurgie (Gamma knife), la radiothérapie et la chimiothérapie sont quelques-unes des options traditionnelles de traitement et les plus utilisées. Parmi d'autres méthodes modernes on peut citer la thérapie hormonale, les traitements anti-angiogéniques, les thérapies à base de cellules souches et l'immunothérapie à base de cellules dendritiques (Abbas et Rehman, 2018).

La chirurgie permet d'enlever physiquement la tumeur si elle est accessible sans endommager les tissus sains. Dans ce cas, on parle de résection d'une tumeur. Sinon, la chirurgie peut servir à réduire la taille de la tumeur. Cela améliore l'efficacité des thérapies subséquentes (Castinetti et Brue, 2009).

La radiothérapie est un traitement qui cible la tumeur et ses environs. Elle consiste à irradier la tumeur à l'aide de rayons X pour provoquer des dommages à l'ADN des cellules. Cela provoque l'arrêt du cycle cellulaire et la mort des cellules ciblées par des mécanismes

variables en fonction de la dose de radiations ionisantes. Cette deuxième méthode est un peu plus efficace et provoque moins d'effets secondaires (Castinetti et Brue, 2009). Si elle est effectuée avant la chirurgie, une radiothérapie est administrée avec l'intention de réduire la tumeur. Si cela est fait après la chirurgie, les radiations vont détruire les cellules tumorales laissées derrière et réduire la rechute du cancer (Abbas et Rehman, 2018).

La radiochirurgie quant à elle utilise des rayons gamma, beaucoup plus puissants que les rayons X et est plus précise que la radiothérapie. Elle permet d'utiliser une dose théoriquement inférieure à celle utilisée dans la radiothérapie conventionnelle (Castinetti et Brue, 2009).

Comme la radiothérapie agit de manière localisée pour traiter les cancers systémiques, la chimiothérapie est utilisée seule ou en combinaison avec la radiothérapie. La chimiothérapie est considérée comme la méthode la plus efficace et la plus utilisée dans la plupart des types de cancers. Les médicaments de chimiothérapie ciblent les cellules tumorales et produisent principalement des espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui détruisent largement les cellules tumorales par génotoxicité. Cependant, la chimiothérapie nuit également aux cellules ordinaires, ce qui entraîne diverses conséquences secondaires liées à la dose, telles que la fatigue, les nausées, la perte de cheveux et les vomissements ou même la mort dans les cas extrêmes (Abbas et Rehman, 2018).

Parmi les techniques avancées de traitement du cancer, l'immunothérapie à base de cellules dendritiques est considérée comme le traitement le plus efficace car elle manipule le système immunitaire de manière à détruire les tumeurs sans aucun effet secondaire (Abbas et Rehman, 2018).

#### **1.5.2.4 Produits naturels utilisés dans le traitement du cancer**

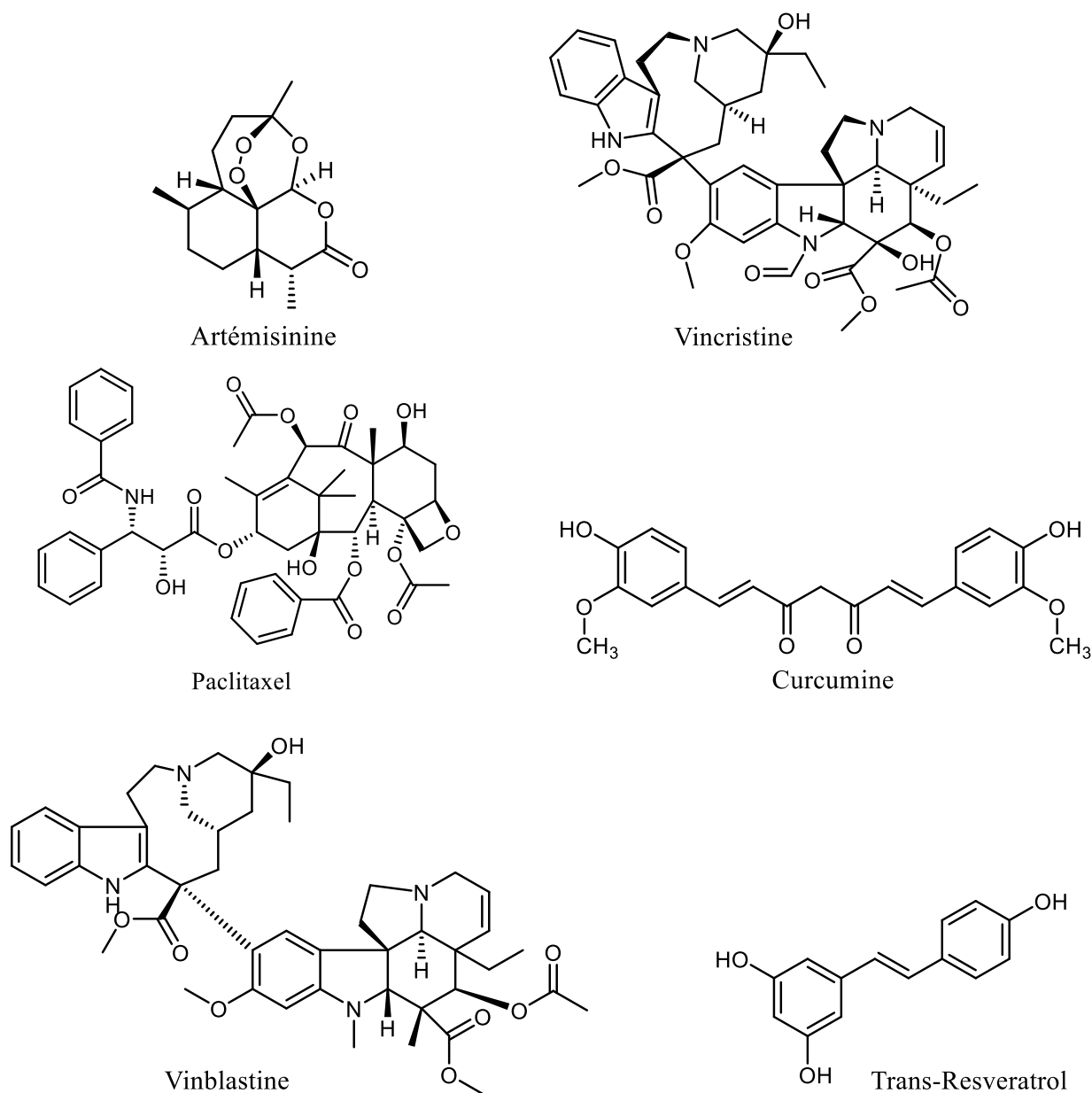
Récemment, l'identification, la caractérisation et le développement de molécules naturelles possédant des propriétés anticancéreuses est devenu un domaine majeur de la recherche sur le cancer (Johnson et Mukhtar, 2007) du fait de la cytotoxicité élevée des médicaments anticancéreux existants tant sur les cellules tumorales que celles normales (Lichota et Gwozdziński, 2018). Cette recherche est menée aussi bien sur les plantes terrestres et marines, que sur des microorganismes. Ces substances d'origine naturelle qui présentent des propriétés antitumorales appartiennent à divers groupes de composés, tels que les alcaloïdes, les diterpènes, la diterpénoquinone, les composés à base de purine, le sesquiterpène lactonique, les peptides, les protéines, les polyéthers macrocycliques, etc (Lichota et Gwozdziński, 2018).

Le tableau 6 ci-dessous recense quelques composés naturels importants utilisés en clinique et leurs usages thérapeutiques.

**Tableau 6 : Composés anticancéreux naturels connus, leur source et usage thérapeutique (Ashraf, 2020; Lichota et Gwozdziński, 2018)**

Composé	Source	Usages thérapeutiques
5-Fluorouracil	<i>Withania somnifera</i>	Cancer du col utérin
Vindesine	<i>Catharanthus roseus</i>	Leucémies, cancer des testicules, du sein et du poumon
Vincristine	<i>Catharanthus roseus</i>	Leucémie lymphocytaire
Vinblastine	<i>Catharanthus roseus</i>	Leucémie lymphocytaire
Colchicine	<i>Colchicum autumnale</i>	Tumeurs solides multiples
Larotaxel	<i>Taxus baccata</i>	Cancer du sein, de la vessie et du pancréas
Cabazitaxel	<i>Taxus baccata</i>	cancer de la Prostate
Paclitaxel	<i>Taxus brevifolia</i>	Cancer du sein et de l'ovaire
Acide gallique	<i>Leea indica</i>	Carcinome d'ascite d'Ehrlich
Bryophylline A	<i>Bryophyllum pinnatum</i>	Cervical cancer
Cannabinoïde	<i>Cannabis sativa</i>	Cancer du poumon, du pancréas, du sein, de la prostate et colorectal
Artémisinine	<i>Artemisia annua</i>	Cancer du foie, du sein et du pancréas
Theabrownine	<i>Camellia sinensis</i>	Cancer du poumon
Solamargine	<i>Solanum nigrum</i>	Cancer du sein, du foie, du poumon et de la peau
Psoralidine	<i>Psoralea corylifolia</i>	Cancer de l'estomac et de la prostate
Thymoquinone	<i>Nigella sativa</i>	Cancer du côlon, de la prostate, du sein et du pancréas
Kaempferol galactoside	<i>Bauhinia variegata</i>	Cancer du sein, du poumon et du foie
Ginger	<i>Zingiber officinale</i>	Ovaire, col de l'utérus, colon, foie et chancre urinaire
Actéine	<i>Actaea racemosa</i>	Cancer du foie et du sein
Lutéoline	<i>Capsicum annum</i>	Cancer colorectal
Skimmianine	<i>Aegle marmelos</i>	Cancer du foie
Acide boswellique	<i>Boswellia serrata</i>	Cancer de la prostate
Resveratrol	<i>Polygonum cuspidatum</i>	Cancer colorectal, cutané et hépatique
Curcumine	<i>Curcuma longa</i>	Cancer du sein, du poumon, du côlon, de l'œsophage de la prostate, du foie et de la peau
Acide bétulinique	<i>Betula utilis</i>	Mélanomes
Panaxadiol	<i>Panax ginseng</i>	Cancer du côlon humain
Acide ursolique	<i>Oldenlandia diffusa</i>	Cancer des poumons, des ovaires, de l'utérus, de l'estomac, du foie, du côlon, du rectum et du cerveau
Punarnavine	<i>Boerhavia diffusa</i>	Cancer du mélanome malin
Apigénine	<i>Matricaria chamomilla</i>	Cancer colorectal
Resveratrol	<i>Polygonum cuspidatum</i>	Cancer colorectal, cutané et hépatique





**Figure 22 : Structures de quelques principes actifs de médicaments cytotoxiques issus des produits naturels**

### 1.5.3 Agents infectieux et cancers

#### 1.5.3.1 Historique

Les suspicions autour de l'implication d'agents infectieux dans des cancers commencèrent dès la fin du XIXe siècle et concernèrent alors des parasites, notamment l'agent de la bilharziose, qui sévit dans les régions tropicales et subtropicales. L'infection chronique par ce parasite peut conduire au cancer de la vessie, mais il fallut 50 ans pour que les preuves de son implication émergent. Aujourd'hui, il est établi que trois parasites peuvent être à

l'origine de cancers : celui de la bilharziose donc, et deux autres vers parasites, l'un endémique dans certains pays d'Asie du Sud-Est (Thaïlande, Laos, Vietnam, Cambodge...) et l'autre en Extrême-Orient, tous deux associés à des cancers de la vésicule et des voies biliaires (de Martel, 2012).

La deuxième grande étape dans l'histoire des cancers d'origine infectieuse débute en 1958 : un chirurgien britannique, Denis Burkitt, décrit un lymphome touchant les enfants en Afrique Equatoriale (nommé depuis « lymphome de Burkitt ») et émet l'hypothèse d'une origine infectieuse de ce cancer. En 1964, son compatriote Michael Epstein découvre des particules virales dans des cellules cultivées à partir de ces lymphomes. Il fut démontré au début des années 70 que le virus « d'Epstein-Barr » était bien à l'origine du lymphome de Burkitt. Présent chez la majorité des individus, heureusement le plus souvent sans conséquences, ce virus est également associé à un cancer du nasopharynx. C'est le tout premier virus qui fut formellement impliqué dans la survenue de cancers humains (de Martel, 2012).

### 1.5.3.2 Les principaux agents infectieux

Les agents infectieux seraient responsables d'environ 20 % des cancers dans le monde, la plupart se produisant dans les pays en développement (Oh et al., 2014).

Les principaux agents en cause sont (Parkin 2011) :

- les papillomavirus humains (HPV), associés au développement de cancers de la zone anogénitale : cancers du col de l'utérus, de l'anus, du pénis et de la cavité orale (en particulier de l'oropharynx) ;
- les virus des hépatites B et C, (VHB-VHC), associés à la survenue de cancers du foie (hépatocarcinome) et de lymphomes non hodgkiniens ;
- la bactérie *Helicobacter pylori*, responsable d'au moins 80% des cancers de l'estomac et des lymphomes gastriques non hodgkiniens (MALT et DLBC). Toutefois, elle n'induit un cancer que dans environ 1% des cas. Mais le risque de cancer est majoré chez les proches (enfants, frères/sœurs, parents) d'un patient ayant eu un cancer de l'estomac ;
- le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), augmente fortement les risques de sarcome de Kaposi et de cancer du col de l'utérus. L'infection par le VIH apparaît aujourd'hui également

associée à un accroissement du risque de plusieurs autres cancers : lymphomes malins hodgkiniens et non-hodgkiniens, cancers de l'anus, de la peau, du poumon, du foie...

- le virus d'Epstein-Barr (EBV), à l'origine de lymphomes de Burkitt, de lymphomes hodgkiniens et non-hodgkiniens, de cancers du nasopharynx.



# **CHAPITRE 2 :**

# **RESULTATS ET DISCUSSION**

## 2.1 Extraction, isolement et détermination structurale des composés isolés

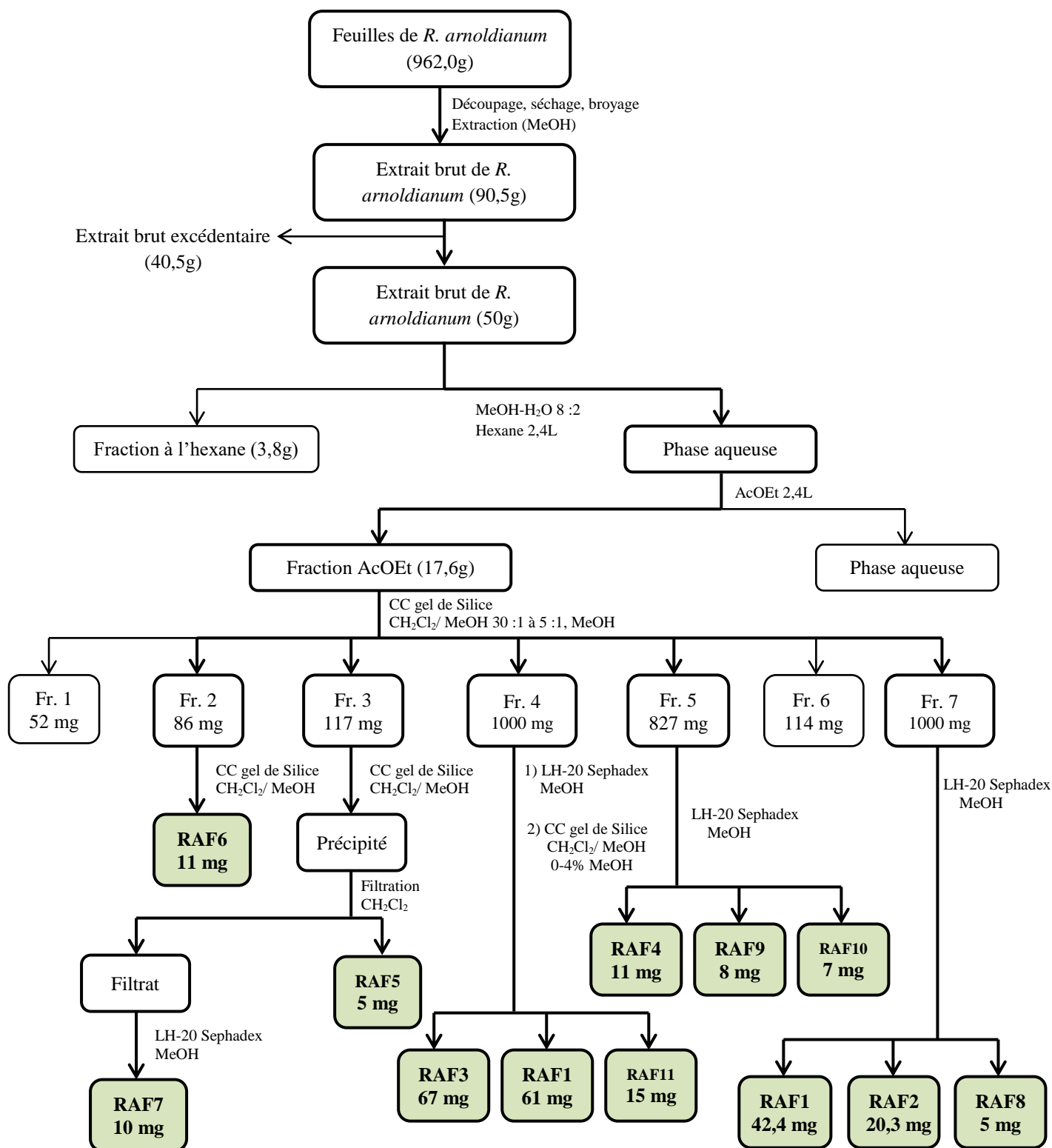
### 2.1.1 Extraction et isolement des composés

#### 2.1.1.1 Extraction et isolement des composés des feuilles de *Rhabdophyllum arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh

Les feuilles *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh ont été récoltées à Fifinda, Département de l'Océan, Région du Sud Cameroun, en Août 2009 et identifiées par M. Victor Nana (botaniste). Un échantillon de référence au N° HNC 31403 se trouve à l'Herbier National du Cameroun. Le matériel végétal a été ensuite séché à l'air libre et à l'abri de la lumière du soleil pendant 2 semaines puis broyé.

La poudre des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh (462,0 g) a subi une extraction au méthanol à température ambiante pendant 72 heures. Après filtration, le filtrat a été concentré et un extrait brut de 90,5 g a été obtenu. 50 g de cet extrait a été mis en suspension dans le mélange MeOH-H<sub>2</sub>O (8:2). Cette solution hydro-méthanolique a subi une délipidation avec du n-hexane (300ml x 8), puis a été soumise à une extraction liquide-liquide avec EtOAc (300ml x 8). La fraction à l'acétate d'éthyle obtenue (17,6 g) a été soumise à une chromatographie sur colonne (CC) de gel de silice en phase normale et éluée avec des mélanges CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH de polarité croissante (30:1 à 5:1, MeOH). Les sous-fractions obtenues ont été combinées en sept fractions principales (Frs 1-7) sur la base de leur profil chromatographique CCM.

La purification des fractions par différentes méthodes chromatographiques a permis d'isoler onze composés. Le schéma 1 ci-après présente les différentes étapes d'isolement des composés de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh.



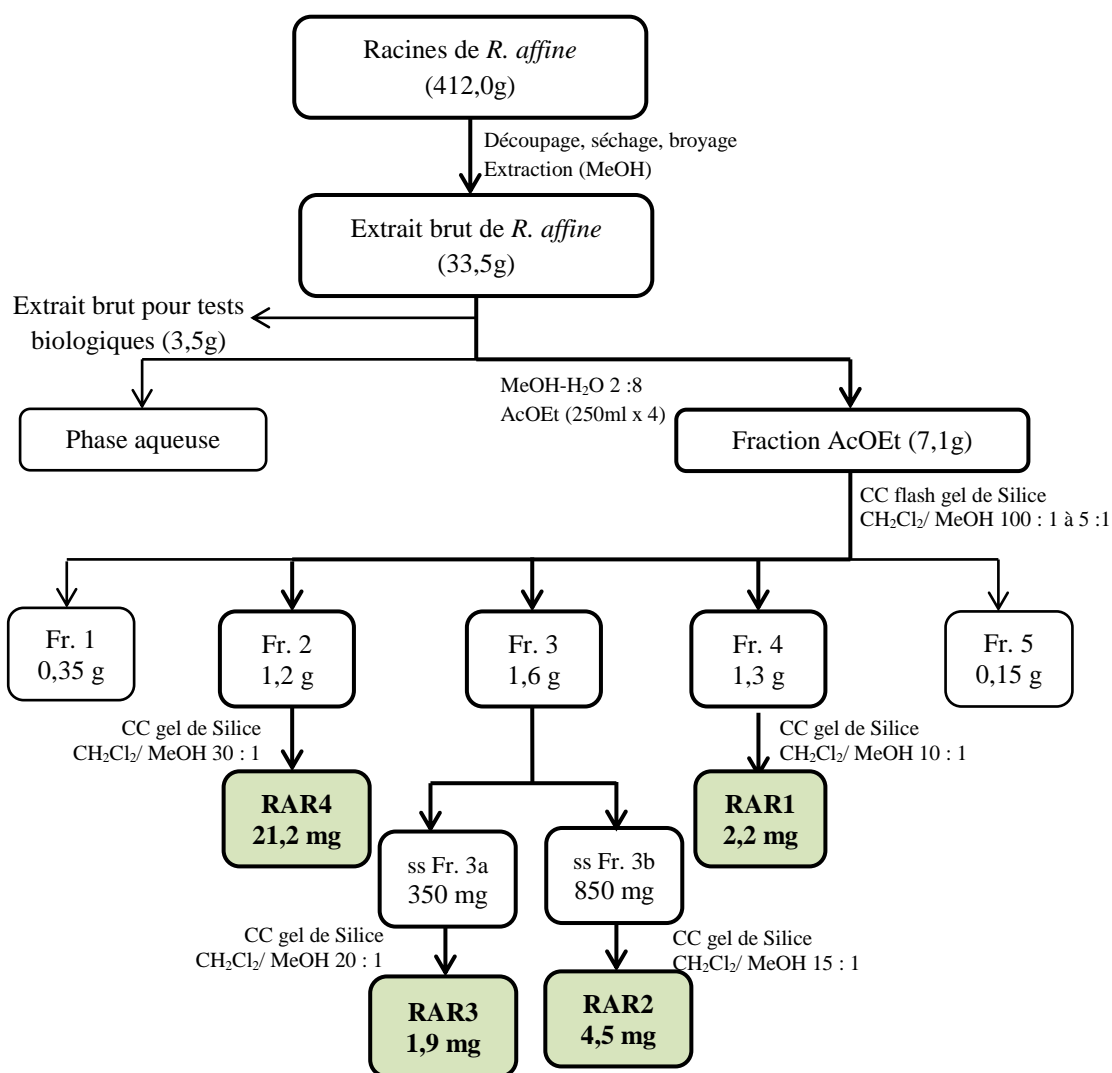
**Schéma 1 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh**

### 2.1.1.2 Extraction et isolement des composés des racines de *Rhabdophyllum affine* (Hook. F.) Tiegh

Les racines de *R. affine* (Hook. F.) Tiegh ont été identifiées et collectées au sommet du Mont Kala, dans le Département de la Mefou-et-Akono, Région du Centre Cameroun en décembre 2016 par M. Victor Nana (botaniste). L'identité du matériel végétal a été confirmée à l'Herbier National du Cameroun où un échantillon de référence s'y trouve au N° HNC 27869

Les racines de *R. affine* (Hook. F.) Tiegh ont été découpées, séchées puis broyées. La poudre obtenue (412,0 g) a subi une extraction par macération au méthanol, à température ambiante pendant 48 heures. Cette opération a été répétée deux fois nous permettant d'obtenir, après filtration et évaporation du solvant, un extrait brut de 33,5 g. Cet extrait a été mis en solution dans 500 ml d'un mélange eau – méthanol (8 : 2) et a par la suite subi une extraction liquide – liquide à l'aide de l'acétate d'éthyle (250 ml x 4). La fraction à l'acétate obtenue (7,1g) a été soumise à une CC flash de gel de silice avec un gradient de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH. Cinq fractions principales ont été obtenues et indexées Fr.1 à 5. La purification des fractions 2 (1,2g), 3 (1,6g) et 4 (1,3g) par différentes méthodes chromatographiques a permis d'isoler quatre composés. Le schéma 2 ci-dessous présente les différentes étapes d'isolement des composés de *R. affine*.





**Schéma 2 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines de *R. affine* (Hook. F.) Tiegh**



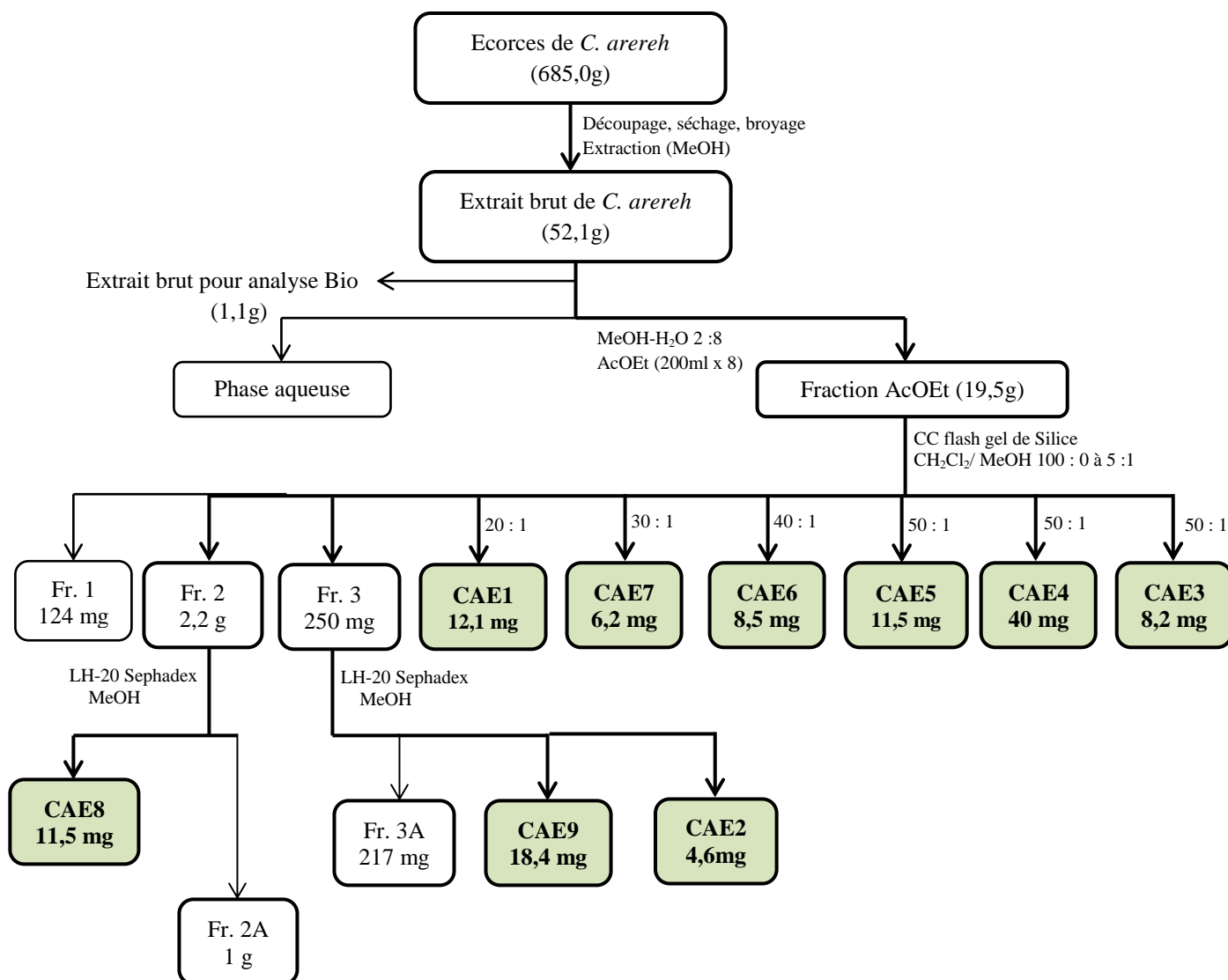
### 2.1.1.3 Extraction et isolement des composés des écorces du tronc de *Cassia arereh* Delile

Les écorces de *C. arereh* Delile ont été prélevées à Yagoua dans Région du Nord Cameroun. L'identité du matériel végétal a été confirmée à l'Herbier National du Cameroun où un échantillon de référence s'y trouve au N° 24093 SFRCAM

Après avoir été séchées à l'air libre, les écorces du tronc de *C. arereh* Delile ont finement été broyées et la poudre obtenue (685,0 g) a été extraite au méthanol à froid pendant 48h. Après filtration et évaporation du solvant, nous avons obtenu un extrait brut de 52,1g qui a été mis en suspension dans un mélange hydro-méthanolique (H<sub>2</sub>O-MeOH, ratio 8:2) et partitionné par extraction liquide-liquide avec EtOAc (250 ml x 8). La fraction à l'acétate obtenue (19,5 g) a été soumise à une séparation sur colonne de gel de silice en phase normale et élué avec des mélanges CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH de polarité croissante (100:1 à 5: 1), permettant l'isolement de six composés. Les autres sous-fractions ont été combinées en trois fractions principales (Frs 1 à 3) sur la base de leurs profils CCM. Les fractions 2 (2,2 g) et 3 (250 mg) ont été purifiées à répétition à l'aide du Sephadex LH-20 et du MeOH pur comme solvant, pour donner trois autres composés.

Le schéma 3 ci-après présente les différentes étapes d'isolement des composés de *C. arereh* Delile.





**Schéma 3 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces du tronc de *C. arereh* Delile**

Au terme des différents processus de séparation et de purification, il en ressort que 20 composés distincts ont été isolés des trois plantes : 7 flavonoïdes (5 flavones et 2 flavanols), 1 isoflavonoïde, 2 biflavonoïdes, 6 triterpènes, 1 phytostérol, 1 alcaloïde, 1 céramide, 1 benzoylglycoside (Tableau 7).

**Tableau 7 : Récapitulatif des composés isolés des trois plantes**

Sources	Composés isolés	Masses (mg)	Sources	Composés isolés	Masses
Feuilles de <i>R. arnoldianum</i>	RAF1	61	Racines de <i>R. affine</i>	RAR4	21,2
	RAF2	20,3		RAR1	2,2
	RAF3	67		RAR2	4,5
	RAF4	11	RAR3	1,9	
	RAF5	5	Ecorces de <i>C. arereh</i>	CAE1	12,1
	RAF6	11		CAE2	8,2
	RAF7	10		CAE3	4,6
	RAF8	5		CAE4	40
	RAF9	8		CAE5	11,5
	RAF10	7		CAE6	8,5
	RAF11	15		CAE7	6,2
		CAE8		11,5	
		CAE9		18,4	

### 2.1.2 Détermination structurale des composés isolés

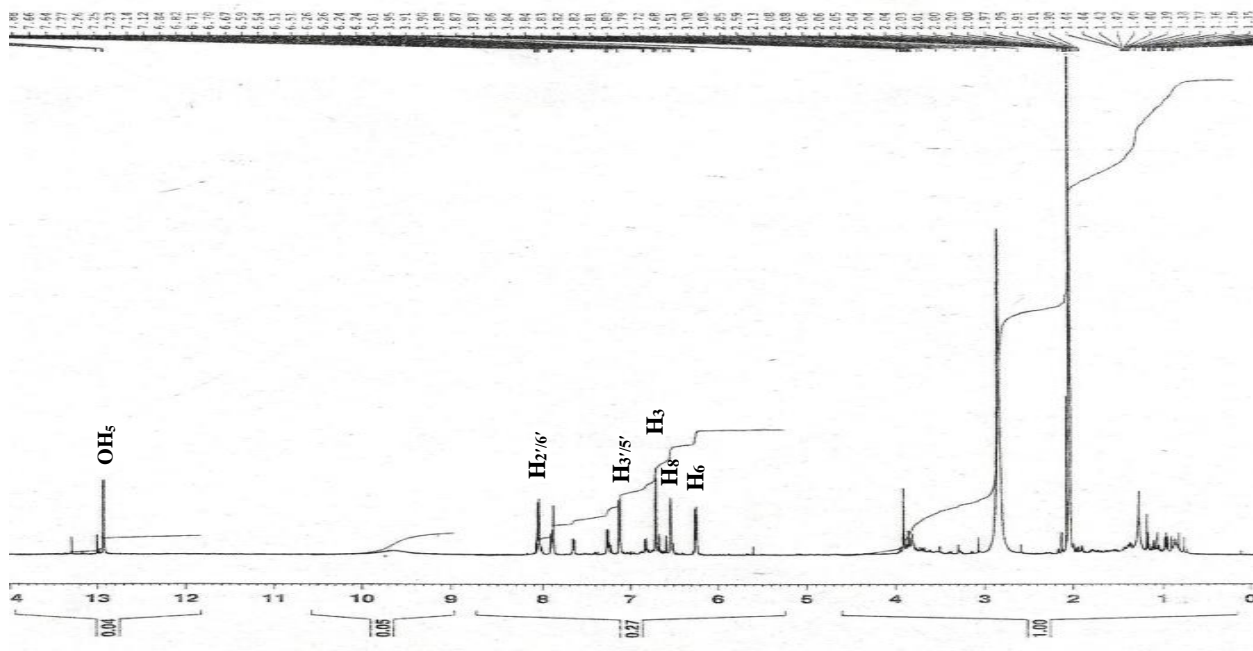
Afin de faciliter la présentation des composés isolés de nos trois extraits de plantes (*R. arnoldianum*, *R. affine* et *C. arereh*), nous avons entrepris de les regrouper par classes de métabolites secondaires auxquels ils appartiennent.

#### 2.1.2.1 Détermination structurale des composés de type flavone

##### a) Identification du composé RAF5

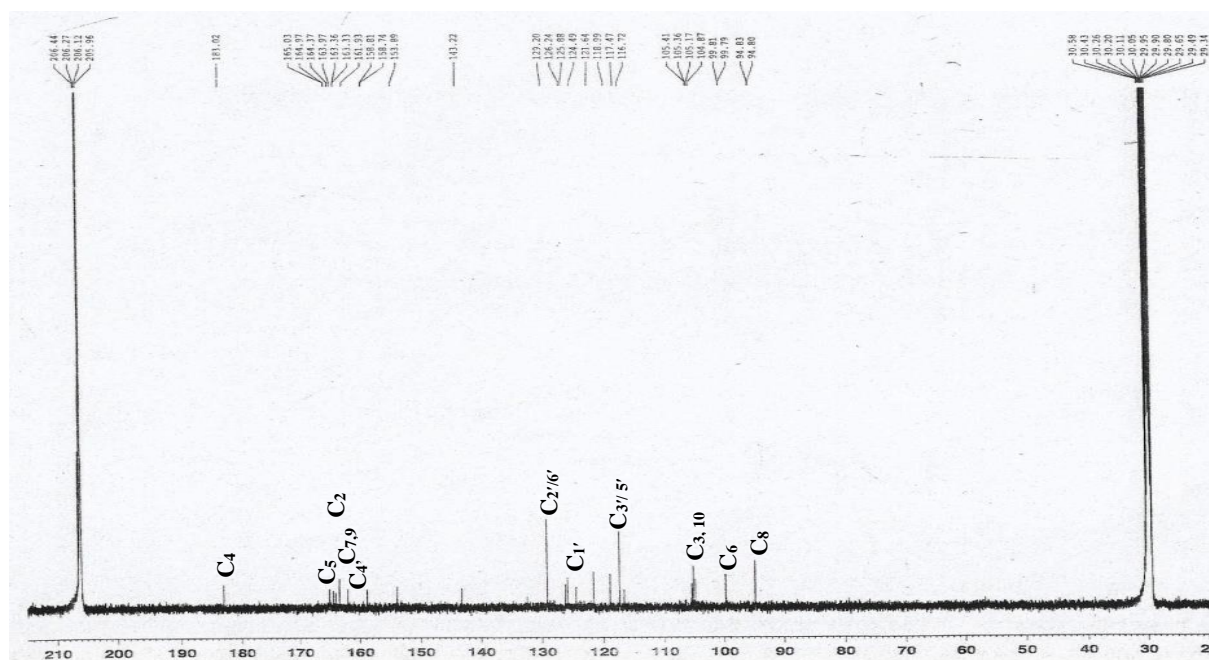
Le composé **RAF5**, isolé des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, a été obtenu sous forme de poudre jaune, soluble dans l'acétone et il répond positivement au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. Sa formule moléculaire  $C_{15}H_{10}O_5$  a été établie à partir de ses données spectrales de masse qui ont montré un ion pseudo-moléculaire  $[M + H]^+$  à  $m/z = 271,0601$ .

Son spectre RMN  $^1H$  met en évidence la présence d'un singulet à  $\delta_H$  12,94 correspondant à un groupement hydroxyle chélaté en position 5. Il présente également deux doublets aromatiques *mé*ta couplés à  $\delta_H$  6,25 (1H, *d*,  $J = 2,0$  Hz, H-6) et  $\delta_H$  6,52 (1H, *d*,  $J = 2,0$  Hz, H-8) correspondant aux protons H-6 et H-8 du cycle A, un système  $A_2B_2$  de deux doublets à  $\delta_H$  7,14 (2H, *d*,  $J = 9,0$  Hz, H-3'/5') et  $\delta_H$  8,05 (2H, *d*,  $J = 9,0$  Hz, H-2'/6') attribuables aux protons du cycle B, et un singulet à  $\delta_H$  6,71 ppm correspondant au proton H-3, caractéristique d'un flavone 5,7,4'-trisubstitué (Geiger, 1994).

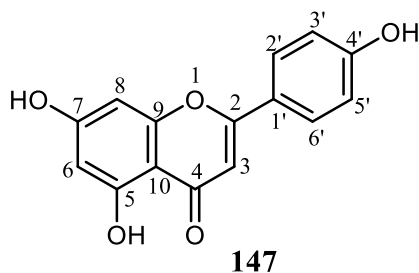


**Figure 23 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, Acetone- $d_6$ ) du composé RAF5**

Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  ont mis en évidence **treize signaux de carbone**, dont sept carbones quaternaires, cinq carbones méthines et un carbone carbonyle insaturé. Les signaux à  $\delta_{\text{C}}$  129,2 (C-2'/6') et à  $\delta_{\text{C}}$  117,4 (C-3'/5') représentant deux carbones chacun et correspondant aux carbones du noyau B des flavonoïdes (Markham, 1994). Les valeurs RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  ont été attribuées sur la base des corrélations HSQC et HMBC. Une recherche dans la littérature a suggéré que les données spectrales de **RAF5** étaient cohérentes avec la 4',5,7-trihydroxyflavone, également connue sous le nom d'apigénine (Markham, 1994; Virinder et al., 1994; Da Silva et al., 2015).



**Figure 24 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, Acetone- $d_6$ ) du composé RAF5**



### Apigénine

**Tableau 8 : Comparaison des données RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C du composé RAF5 avec celles de la littérature (Da Silva et al., 2015)**

N°	Expérimental (500-125 MHz, Acetone- <i>d</i> <sub>6</sub> )		Littérature (500-125 MHz, MeOD- <i>d</i> <sub>4</sub> )	
	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$
2	-	164,3	-	166,3
3	6,71 s	105,1	6,60 s	102,9
4	-	183,0	-	183,9
5	-	163,5	-	163,2
6	6,25 d (2.0)	99,8	6,21 d (2.1)	100,2
7	-	165,0	-	166,1
8	6,52 d (2.0)	94,8	6,46 d (2.1)	95,0
9	-	163,3	-	159,5
10	-	105,4	-	105,3
1'	-	125,8	-	123,3
2'/6'	8,05 d (9.0)	129,2	7,85 d (8,9)	129,6
3'/5'	7,14 d (9.0)	117,4	6,93 d (8,9)	117,1
4'	-	161,9	-	162,7
5 (OH)	12,94 s	-	12,49 s	-

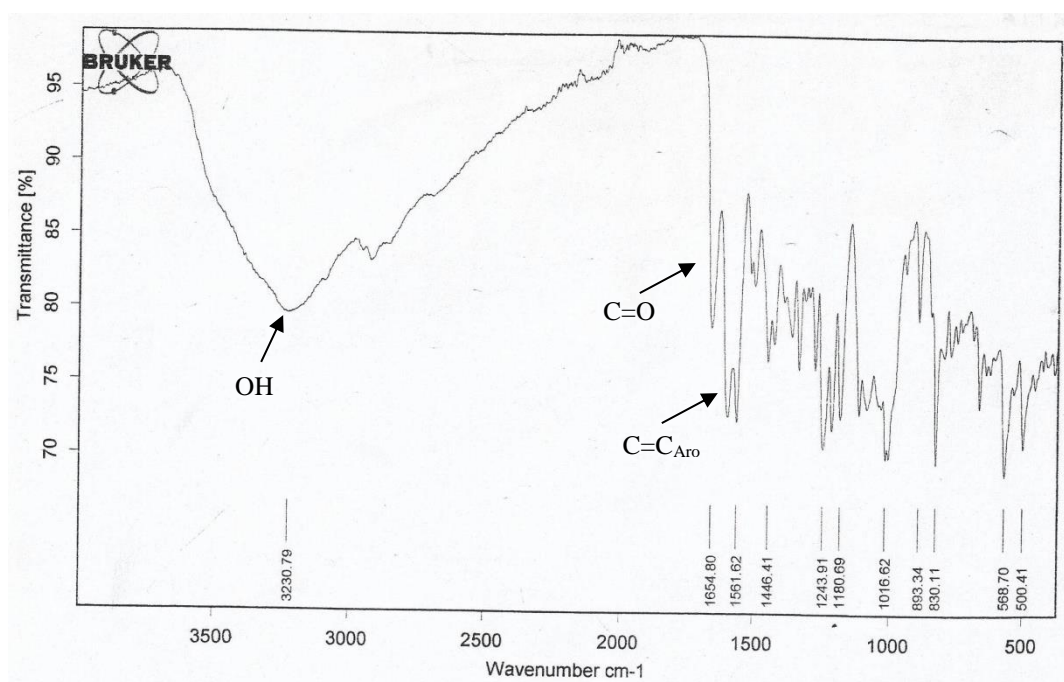
#### b) Identification du composé RAR2

Le composé **RAR2**, isolé des racines de *R. affine* (Hook. F.) Tiegh, a également été identifié à l'apigénine **147** (voir tableau 8).



### c) Identification du composé RAF4

Le composé **RAF4** isolé des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, possède des données physico-chimiques et spectrales qui se rapprochent de celles du composé **RAF5**. Isolé sous forme de poudre jaune, soluble dans l'acétone, il répond positivement au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. Son spectre IR, présente des groupes hydroxyle ( $3230\text{ cm}^{-1}$ ), carbonyle ( $1654\text{ cm}^{-1}$ ), de cycles aromatiques ( $1561$  et  $1446\text{ cm}^{-1}$ ) et d'un cycle benzénique *p*-disubstitué ( $830\text{ cm}^{-1}$ ). Sa formule brute  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$  ayant 12 insaturations a été déduite de son spectre de masse HR-ESIMS en mode positif qui présente le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire  $[\text{M}+\text{H}]^+$  à  $m/z$  447,12848 (masse calculée 447,12857).

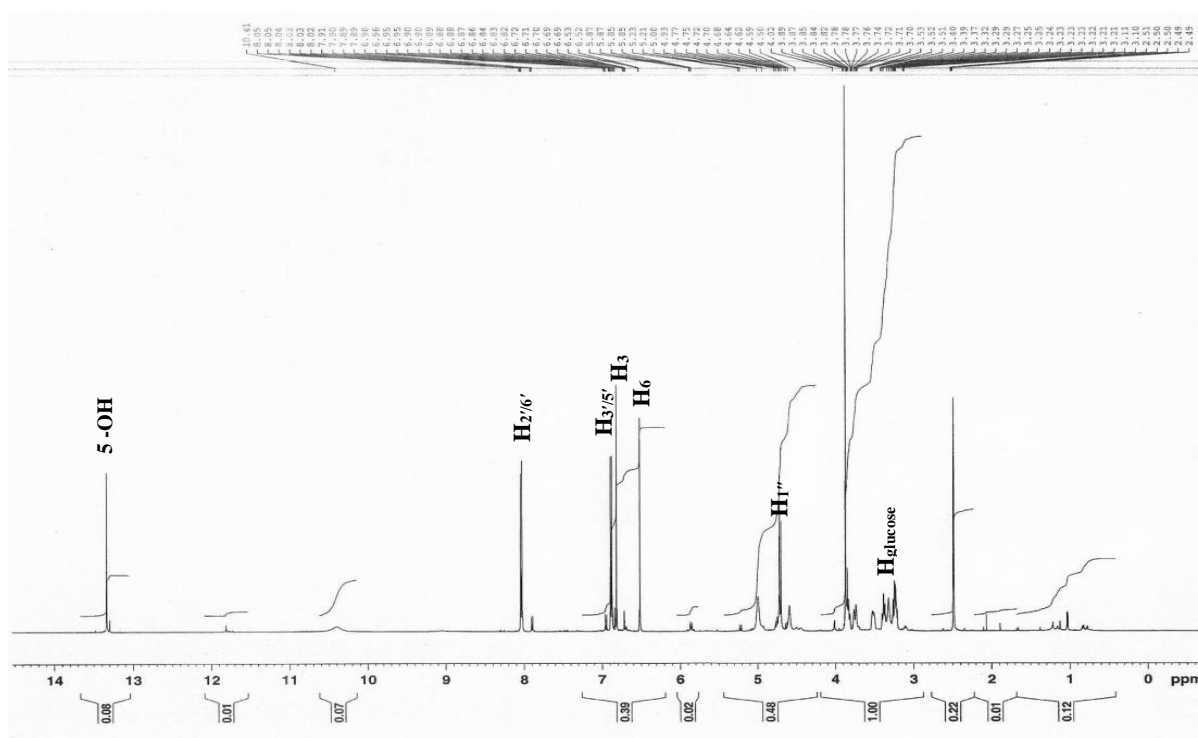


**Figure 25 : Spectre IRTF du composé RAF4**

L'étude du spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **RAF4** (Fig. 26) montre un profil relativement simple qui permet de mettre en évidence la présence d'un singulet à  $\delta_{\text{H}}$  13,40 correspondant à un groupement hydroxyle chélaté en position 5, un groupement méthoxyle à  $\delta_{\text{H}}$  3,85 ; un singulet à  $\delta_{\text{H}}$  6,83 attribuable au proton en position 3 du noyau C de la flavone (Geiger, 1994), un autre à 6,51 attribuable à un proton benzénique pentasubstitué. Un système  $\text{A}_2\text{B}_2$  d'un noyau benzénique 1,4-disubstitué à  $\delta_{\text{H}}$  8,02 (2H, *d*,  $J = 8,8\text{ Hz}$ , H-2'/6') et  $\delta_{\text{H}}$  6,91 (2H, *d*,  $J = 8,8\text{ Hz}$ , H-3'/5') attribuable aux protons du noyau B d'une unité apigénine.

L'analyse du spectre COSY, conjointement avec celle des spectres HMBC et HSQC du composé **RAF4** permet de caractériser un C-glucosyle dont le proton glucosidique résonne à  $\delta_{\text{H}}$  4,99 (1H, *d*,  $J = 9,9\text{ Hz}$ ). La constante de couplage  $J$  obtenue ( $J > 7\text{ Hz}$ ) suggère un couplage

trans-diaxial entre les protons H-1'' et H-2'' de la fraction de sucre, lui conférant une configuration  $\beta$ .



**Figure 26 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé RAF4**

La comparaison des spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé **RAF4** avec ceux du composé **RAF5** indique que les seules différences entre ces deux composés sont dues à l'apparition du signal à  $\delta_{\text{C}}$  54,6 ppm correspondant à un groupement méthoxyle, ainsi que cinq signaux d'oxyméthines à  $\delta_{\text{C}}$  70,4 ; 70,7 ; 73,1 ; 78,6 ; 81,9 ppm et un signal d'oxyméthylène à  $\delta_{\text{C}}$  61,2 ppm correspondant à un fragment hexosyle caractéristique d'une unité de sucre glucosidique et confirmé par le HMBC. Une corrélation hétéronucléaire HMBC sans ambiguïté entre le proton glucosidique à  $\delta_{\text{C}}$  4,71 ppm de l'unité  $\beta$ -glucose et le carbone C-8 du squelette flavone a permis de confirmer la position d'attache du sucre.

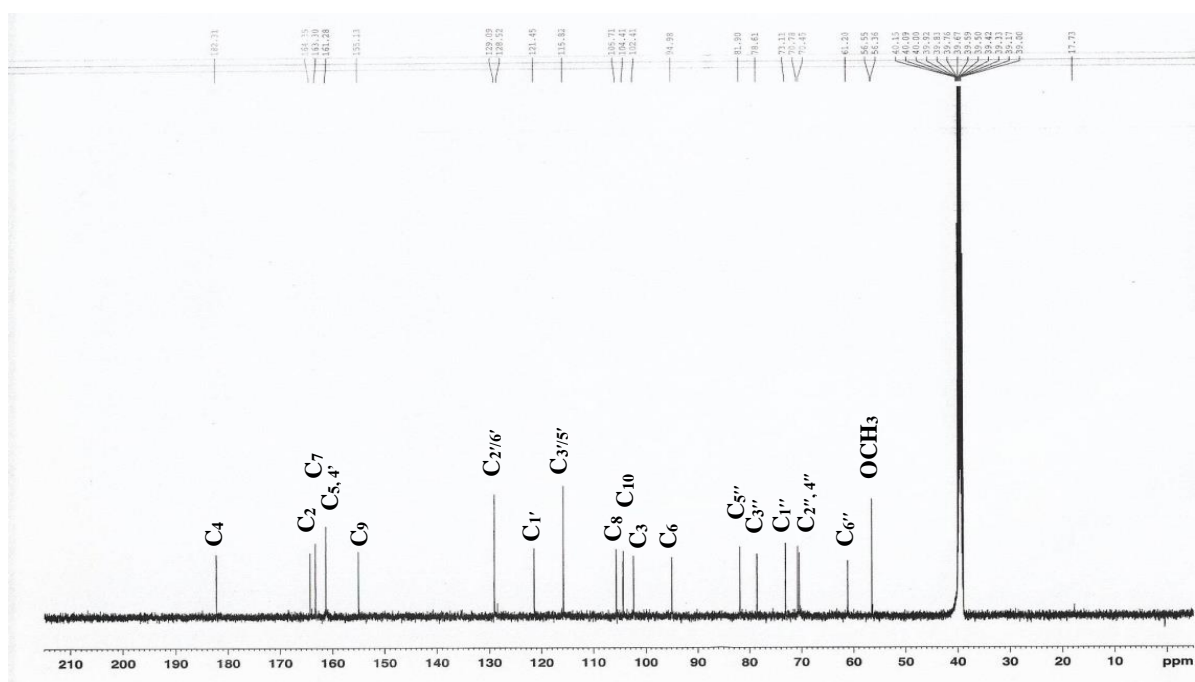
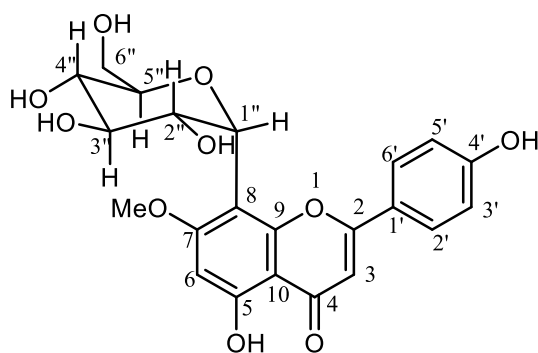


Figure 27 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé **RAF4**

Les valeurs RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  pour tous les carbones ont été attribuées sur la base des corrélations HSQC et HMBC. L'ensemble des données précédentes nous permet d'identifier le composé **RAF4** à la 7-*O*-méthylvitexine (isoswertisine), composé connu, précédemment isolé des feuilles de *Swertia japonica* par Komatsu et al. (1967), et des fleurs de *Trollius chinensis* par Wang et al. (2004).



148

**7-*O*-méthylvitexine**



**Tableau 9 : Comparaison des données RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé RAF4 avec celles de la littérature (Wang et al., 2004)**

N°	Expérimental (500-125 MHz, DMSO- $d_6$ )		Littérature (500-125 MHz, DMSO- $d_6$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2	-	164,1	-	164,4
3	6,83 s	102,4	6,82 s	102,4
4	-	182,3	-	182,3
5	-	161,2	-	161,3
6	6,51 s	94,9	6,52 s	95,0
7	-	163,3	-	163,3
8	-	105,7	-	105,7
9	-	155,1	-	155,1
10	-	104,4	-	104,4
1'	-	121,4	-	121,5
2'/6'	8,02 d (8,8)	129,1	8,05 d (8,4)	129,1
3'/5'	6,91 d (8,8)	115,8	6,90 d (8,7)	115,8
4'	-	161,3	-	161,4
1''	4,71 d (9,9)	73,1	4,73 d (10,2)	73,1
2''	3,12 m	70,7	-	70,8
3''	3,24 m	78,6	-	78,6
4''	3,17 m	70,4	-	70,5
5''	3,45 m	81,9	-	81,9
6''	3,70 m	61,2	-	61,2
	3,40 m		-	-
5 (OH)	13,40 s	-		-
OCH <sub>3</sub>	3,85	54,6	3,87 s	54,6

### d) Identification du composé RAF3

Le composé **RAF3**, isolé des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, se présente sous forme de cristaux jaunes, solubles dans l'acétone et il répond positivement au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. Son spectre IR, similaire à celui de **RAF4**, a révélé la présence de groupes hydroxyle ( $3335\text{ cm}^{-1}$ ), de deux groupes carbonyle ( $1724$  et  $1650\text{ cm}^{-1}$ ), des cycles aromatiques ( $1591$ ,  $1442$  et  $1364\text{ cm}^{-1}$ ) et d'un cycle benzénique *p*-disubstitué ( $835\text{ cm}^{-1}$ ). Son spectre de masse HRESI montre le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  489,1364 suggérant la formule moléculaire  $C_{24}H_{24}O_{11}$  (masse calculée 489,1397 pour  $C_{24}H_{25}O_{11}$ ).

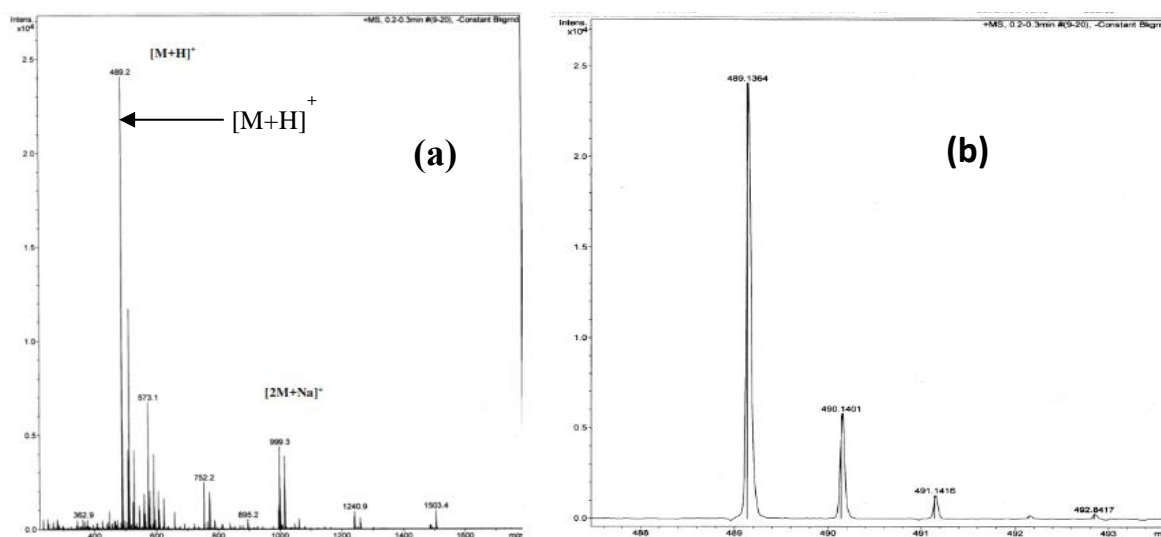


Figure 28 : Spectres de masse ESI (a) et HR-ESIMS ((b) du composé RAF3

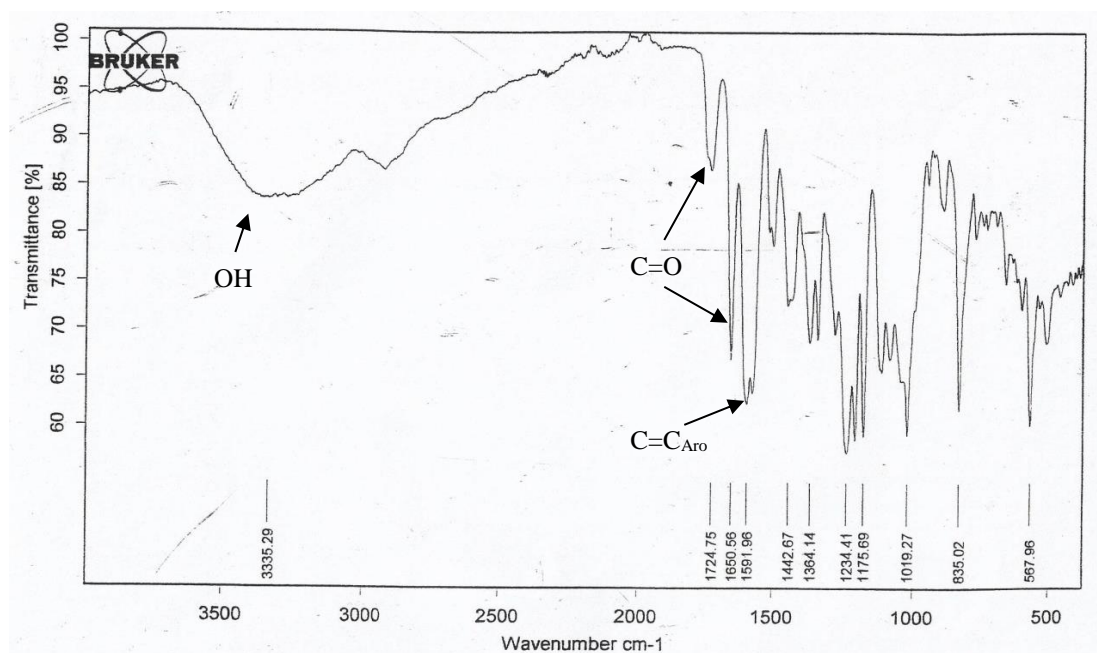
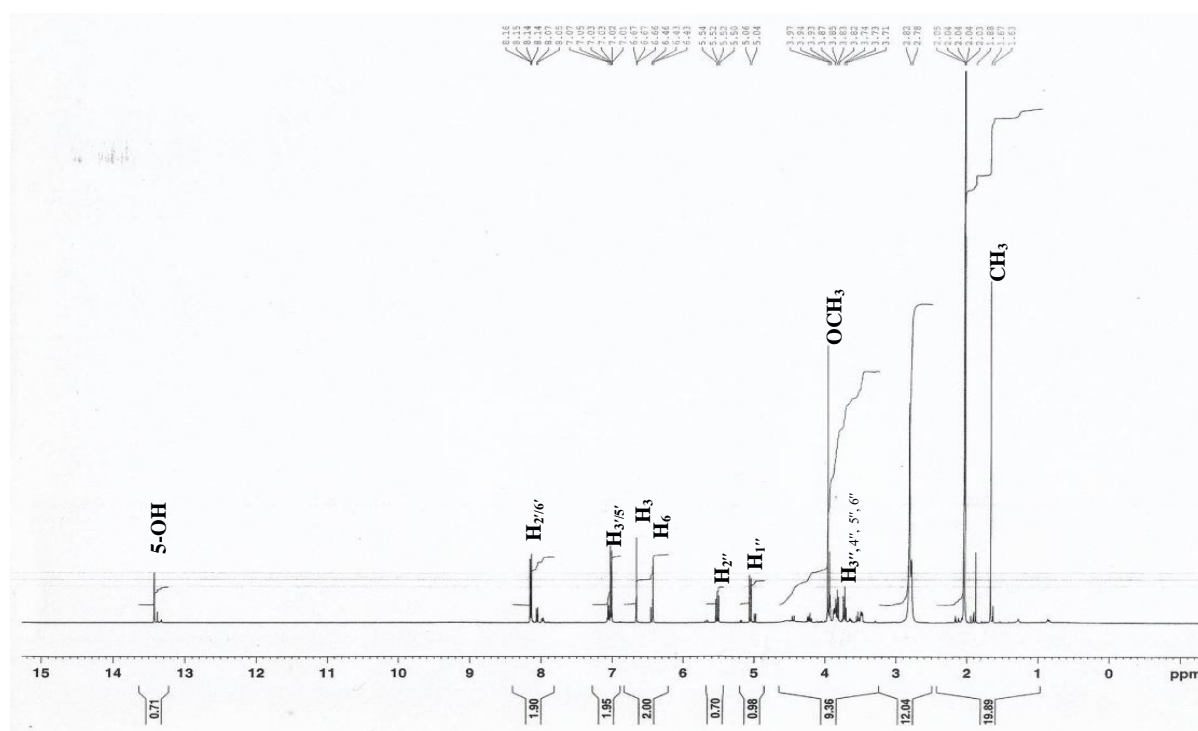


Figure 29 : Spectre IRTF du composé RAF3

L'analyse de son spectre RMN  $^1\text{H}$ , superposable à celui du composé **RAF4** précédent, nous a permis de mettre en évidence la présence d'un singulet à  $\delta_{\text{H}}$  13,45 correspondant à un groupement hydroxyle chélaté en position 5, un groupement méthoxyle à  $\delta_{\text{H}}$  3,97 ; un singulet à  $\delta_{\text{H}}$  6,67 attribuable au proton en position 3 du noyau C de la flavone (Geiger, 1994), un autre singulet à  $\delta_{\text{H}}$  6,43 attribuable à un proton benzénique pentasubstitué. Un système  $\text{A}_2\text{B}_2$  d'un noyau benzénique 1,4-disubstitué à  $\delta_{\text{H}}$  8,15 (2H,  $d$ ,  $J = 8,9$  Hz, H-2'/6') et  $\delta_{\text{H}}$  7,02 (2H,  $d$ ,  $J = 8,9$  Hz, H-3'/5') attribuable aux protons du noyau B d'une unité apigénine. On note la présence d'un proton osidique qui résonne à  $\delta_{\text{H}}$  5,05 (1H,  $d$ ,  $J = 10,1$  Hz).



**Figure 30 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, Acetone- $d_6$ ) du composé RAF3**

Son spectre RMN  $^{13}\text{C}$  montre 22 signaux de carbone, parmi lesquels cinq méthines à  $\delta_{\text{C}}$  72,0 ; 72,2 ; 73,4 ; 77,5 et 82,6 correspondant à un fragment hexosyle et confirmé par le HMBC. Tous les carbones protonés ont été attribués à partir du spectre HSQC. Les positions des groupements méthoxyle et acétoxyle ont été assignées à partir du spectre NOESY où les corrélations observées entre les protons à  $\delta_{\text{H}}$  8,15 (H-2') et  $\delta_{\text{H}}$  7,02 (H-3'),  $\delta_{\text{H}}$  6,67 (H-3) et  $\delta_{\text{H}}$  8,15 (H-2') et  $\delta_{\text{H}}$  6,43 (H-6) et  $\delta_{\text{H}}$  3,97 (MeO-7) indiquent que le groupement méthoxyle est lié à C-7 de l'unité flavone. Pour l'unité de sucre, les corrélations observées entre  $\delta_{\text{H}}$  5,52 (H-2'') et 3,84 (H-4'') et  $\delta_{\text{H}}$  3,73 (H-3'') et  $\delta_{\text{H}}$  1,67 (MeCOO-2'') indiquent que le groupement acétoxyle est lié au carbone C-2''.

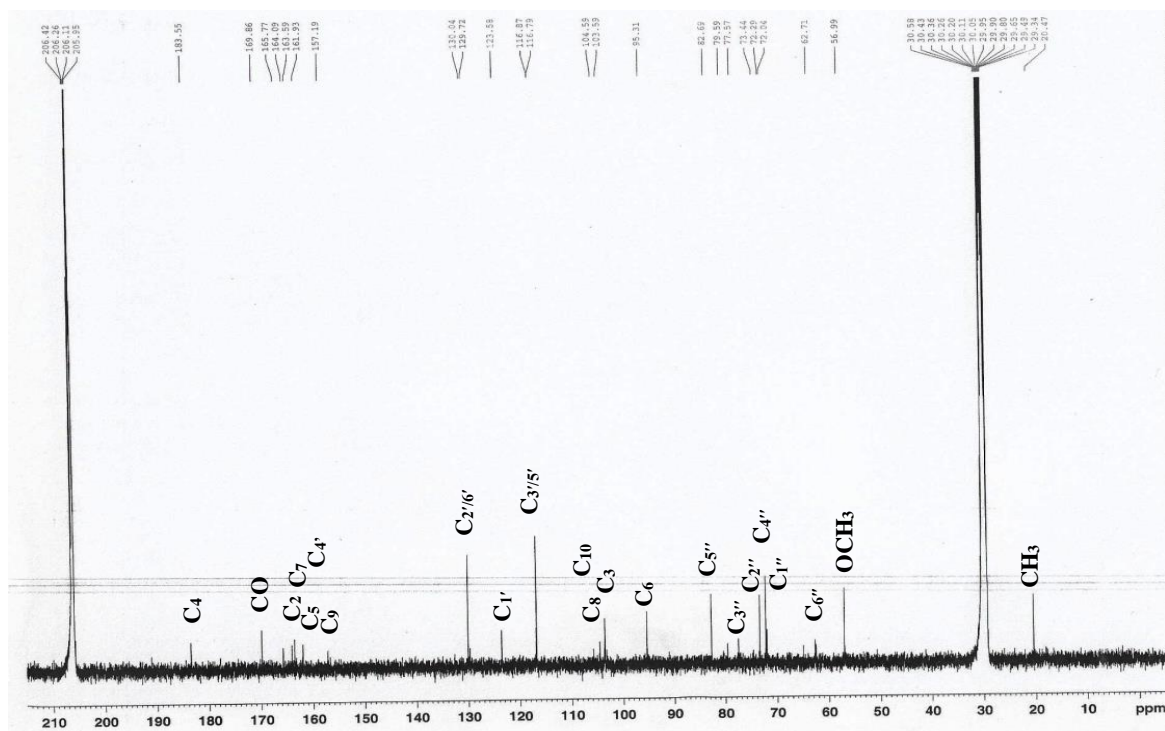
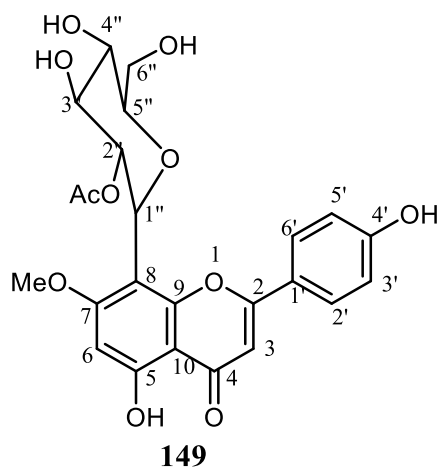


Figure 31 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, Acetone- $d_6$ ) du composé RAF3

Sur la base de ces données RMN, la structure du composé **RAF3** a été identifiée comme étant la 2''-O-acétyl-7-O-méthylvitexine, composé isolé précédemment de *Brackenridgea zanguebarica* (Bombardelli et al., 1974) et de *Ouratea zenkeri* (Ngo Mbing et al., 2009).



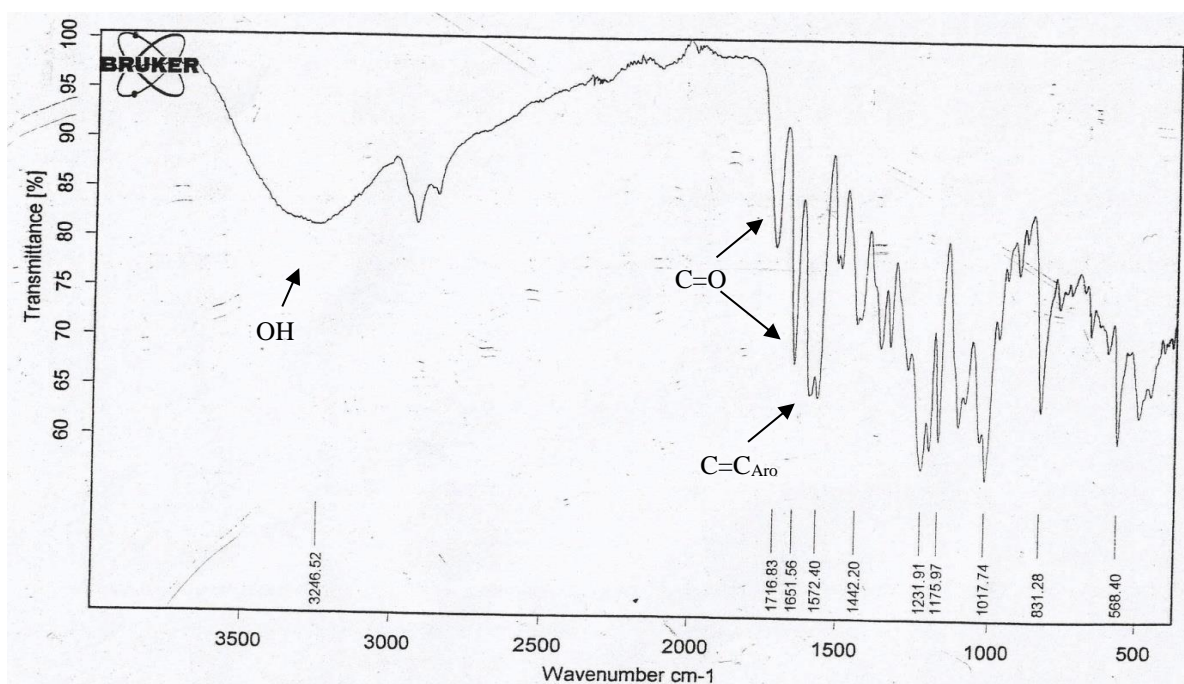
2''-O-acétyl-7-O-méthylvitexine

**Tableau 10 : Comparaison des données RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé RAF3 avec celles de la littérature (Ngo Mbing et al., 2009)**

N°	Expérimental (500-125 MHz Acetone- $d_6$ )		Littérature (500-125 MHz DMSO- $d_6$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2	-	165,7		164,0
3	6,67 s	103,5	6,85 s	102,4
4	-	183,5		182,2
5	-	163,5		161,7
6	6,43 s	95,3	6,50 s	94,8
7	-	164,0		162,7
8	-	104,5		103,4
9	-	157,1		155,5
10	-	105,8		104,3
1'	-	123,5		121,4
2'/6'	8,15 dd (8,9 ; 2,0)	130,0	8,10 dd (9,0 ; 3,0)	129,1
3'/5'	7,02 (8,7 ; 2,0)	116,7	6,92 dd (9,0 ; 3,0)	115,9
4'	-	161,9	-	161,4
1''	5,05 d (10,1)	72,2	4,88 d (10,0)	70,7
2''	5,52 t (10,0)	73,4	5,38 t (10,0)	72,5
3''	3,73 m	77,5	3,59 m	75,6
4''	3,84 m	72,0	3,58 m	70,4
5''	3,49 m	82,6	3,40 m	82,1
6''	3,92 m	62,7	3,81 m	60,9
5-OH	13,45 s	-	-	-
OCH <sub>3</sub>	3,97 s	56,9	3,90 s	56,7
CO-CH <sub>3</sub>	-	169,8	-	169,2
CO- <u>CH</u> <sub>3</sub>	1,67 s	20,4	1,68 s	20,3

### e) Détermination du composé **RAF1**

Le composé **RAF1**, isolé des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, a été obtenu sous forme de cristaux jaunes pâles. Soluble dans l'acétone, il répond positivement au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. Sa formule moléculaire  $C_{24}H_{24}O_{11}$  a été déterminée à partir de son spectre de masse haute résolution qui a montré un ion pseudo-moléculaire  $[M + H]^+$  à  $m/z$  489,1408. Son spectre IR a révélé la présence de groupes hydroxyles ( $3246\text{ cm}^{-1}$ ), de deux groupes carbonyles ( $1716$  et  $1651\text{ cm}^{-1}$ ), de cycles aromatiques ( $1572$ ,  $1442$  et  $1232\text{ cm}^{-1}$ ) et d'un cycle benzénique *p*-disubstitué ( $831\text{ cm}^{-1}$ ).



**Figure 32 : Spectre IRTF du composé **RAF1****

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé **RAF1**, superposés à ceux du composé **RAF3** précédent, se sont révélés quasi-similaires.

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **RAF1** met en évidence la présence d'un singulet dans les champs faibles à  $\delta_{\text{H}}$  13,63 correspondant à un proton hydroxyle chélaté en position 5. Il présente également un système  $A_2B_2$  de deux doublets à  $\delta_{\text{H}}$  8,14 (2H, *d*,  $J = 8,8\text{ Hz}$ , H-2'/6') et  $\delta_{\text{H}}$  7,06 (2H, *d*,  $J = 8,8\text{ Hz}$ , H-3'/5') attribuables aux protons du cycle B d'un noyau benzénique 1,4-disubstitué et un singulet oléfinique à  $\delta_{\text{H}}$  6,65 correspondant au proton H-3, caractéristique de la structure des flavones (Markham, 1994). On observe également les signaux d'un singulet aromatique à  $\delta_{\text{H}}$  6,46 attribuable à un proton benzénique pentasubstitué, un méthoxyle à  $\delta_{\text{H}}$  3,94 (3H, *s*) et un groupe méthyl acétoxy à  $\delta_{\text{H}}$  1,95 (3H, *s*). Le reste des signaux du spectre RMN  $^1\text{H}$  sont ceux d'une unité de sucre où on observe un proton osidique sous forme d'un doublet à

$\delta_H$  5,07 (1H, *d*,  $J = 9,7$  Hz). Les protons de l'unité de sucre ont par la suite été attribués en utilisant les spectres COSY, HSQC et HMBC.

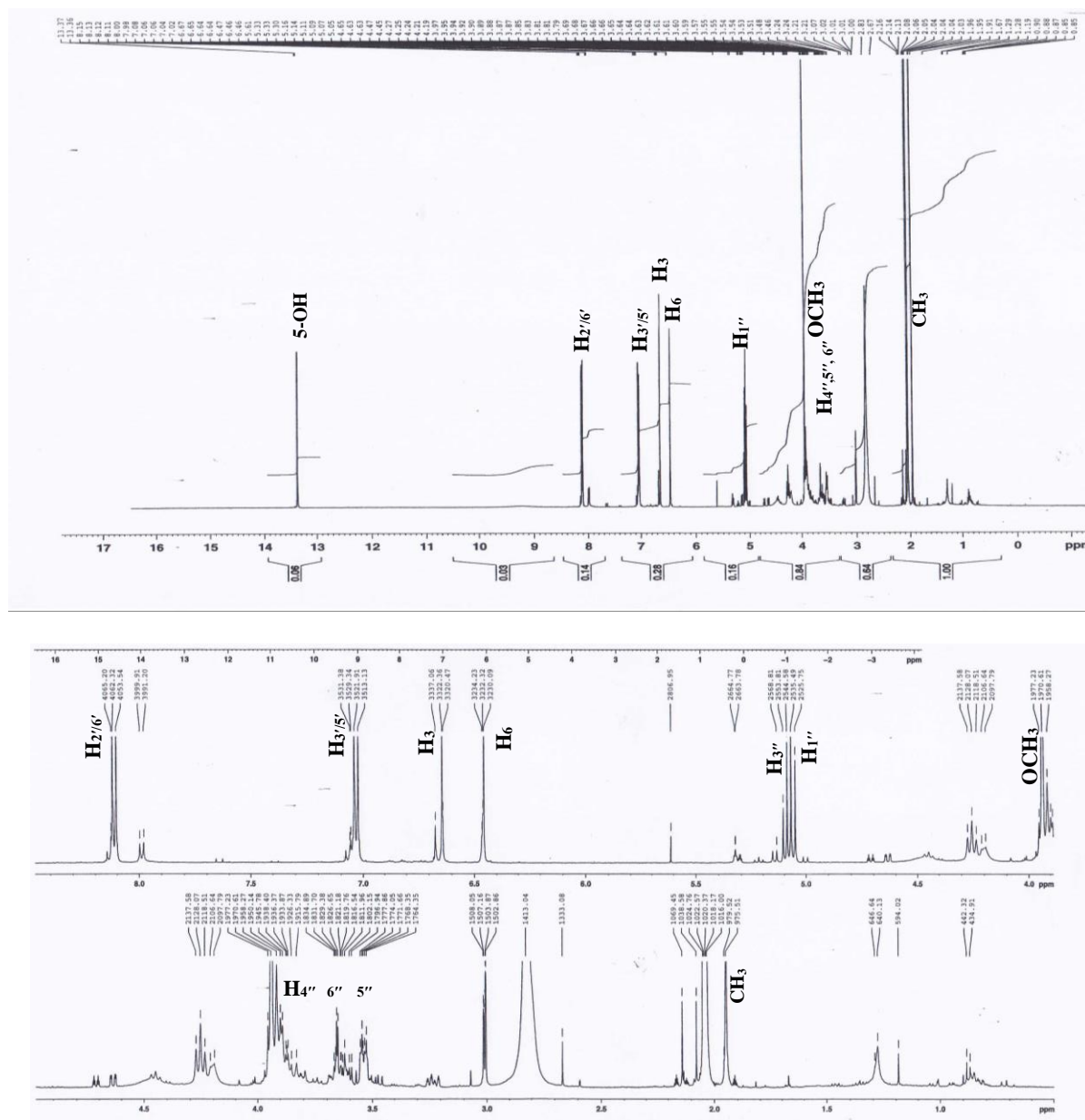


Figure 33 : Spectre RMN  $^1H$  (500 MHz, Acetone- $d_6$ ) du composé **RAF1**

Les spectres RMN du  $^{13}C$  présentent 22 signaux de carbone, ce qui suggère la présence d'une fraction flavonoïde, d'un résidu de sucre, d'un méthoxyle à  $\delta_C$  56,9 et d'un groupe acétoxy à  $\delta_C$  170,9 et 21,1 dans le composé **RAF1**. Les six signaux carbonés de la fraction du sucre apparaissent à  $\delta_C$  74,8 ; 70,5 ; 80,9 ; 70,0 ; 82,5 et 62,4, suggérant que le composé **RAF1** est un C-glycoside de flavone (Markham, 1994). La fraction sucre a été déterminée comme

étant le  $\beta$ -glucose à partir des analyses des données de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ . La constante de couplage  $J$  obtenue ( $J > 7$  Hz) suggère une relation trans-diaxiale entre tous les protons de la fraction de sucre avec la configuration  $\beta$  ( $J = 9,7$  Hz, H-1"). En comparaison avec les signaux du composé **RAF3**, les données suggèrent également la présence du fragment de squelette de la vitexine dans le composé **RAF1** (Bombardelli et al., 1974). A la différence que dans le composé **RAF1**, les signaux des carbones C-1" ( $\delta_{\text{C}}$  74,8), C-3" ( $\delta_{\text{C}}$  80,9) de la fraction de sucre subissent un déplacement vers les champs faibles de 2,5 et 3,4 ppm respectivement et celui du carbone C-2" ( $\delta_{\text{C}}$  70,5), un déplacement vers les champs forts de 2,9 ppm en comparaison avec les déplacements chimiques de ces mêmes carbones dans le composé **RAF3**.

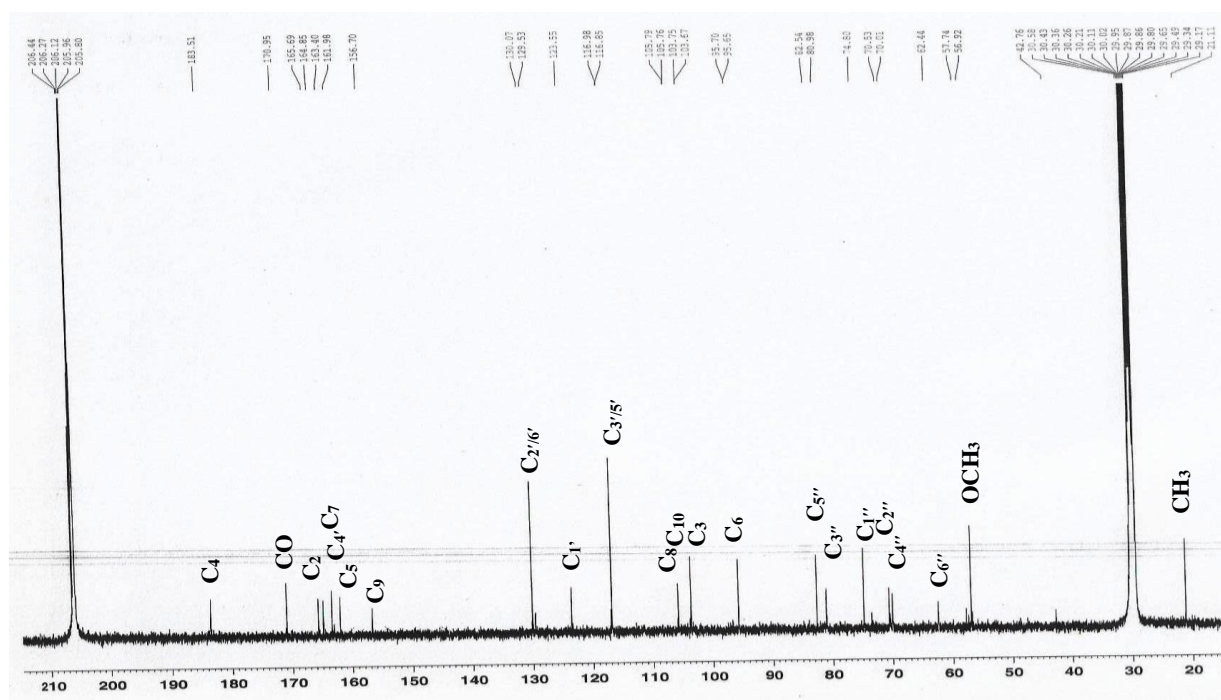


Figure 34 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, Acetone- $d_6$ ) du composé RAF1

Le spectre HSQC qui montre les corrélations en  $^1J$  entre proton et carbone, a permis de corréler chaque hydrogène à son carbone respectif.

L'expérience COSY nous révèle entre autres couplages homonucléaires en  $^3J$ , celles entre le proton à  $\delta_{\text{H}}$  5,07 (H-1", 9,7Hz) et celui à  $\delta_{\text{H}}$  4,25 (H-2", 9,5Hz), de même entre le proton à  $\delta_{\text{H}}$  3,93 (H-4") et ceux à  $\delta_{\text{H}}$  5,09 (H-3") et  $\delta_{\text{H}}$  3,54 (H-5"). Ceci permet de constituer aisément la chaîne carbonée de l'unité glucosidique (Schéma 4).



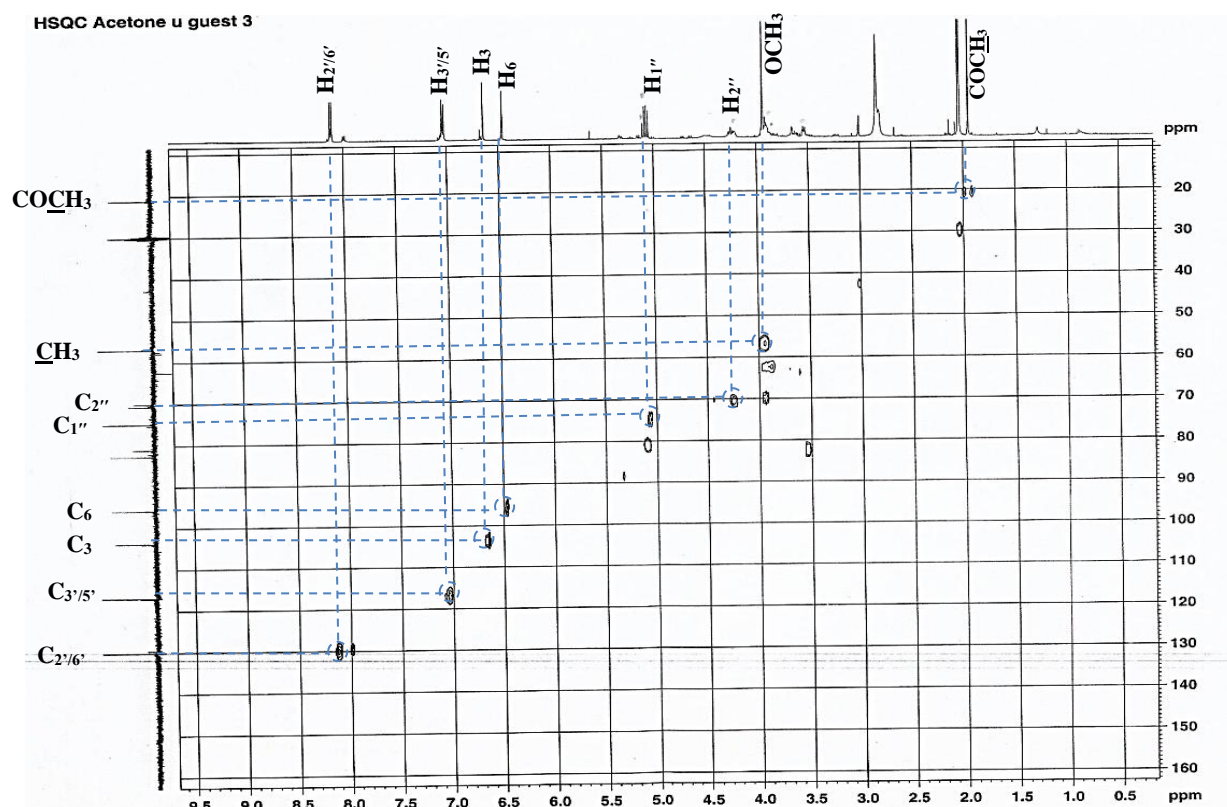


Figure 35 : Spectre RMN HSQC (500 MHz, Acetone- $d_6$ ) du composé RAF1

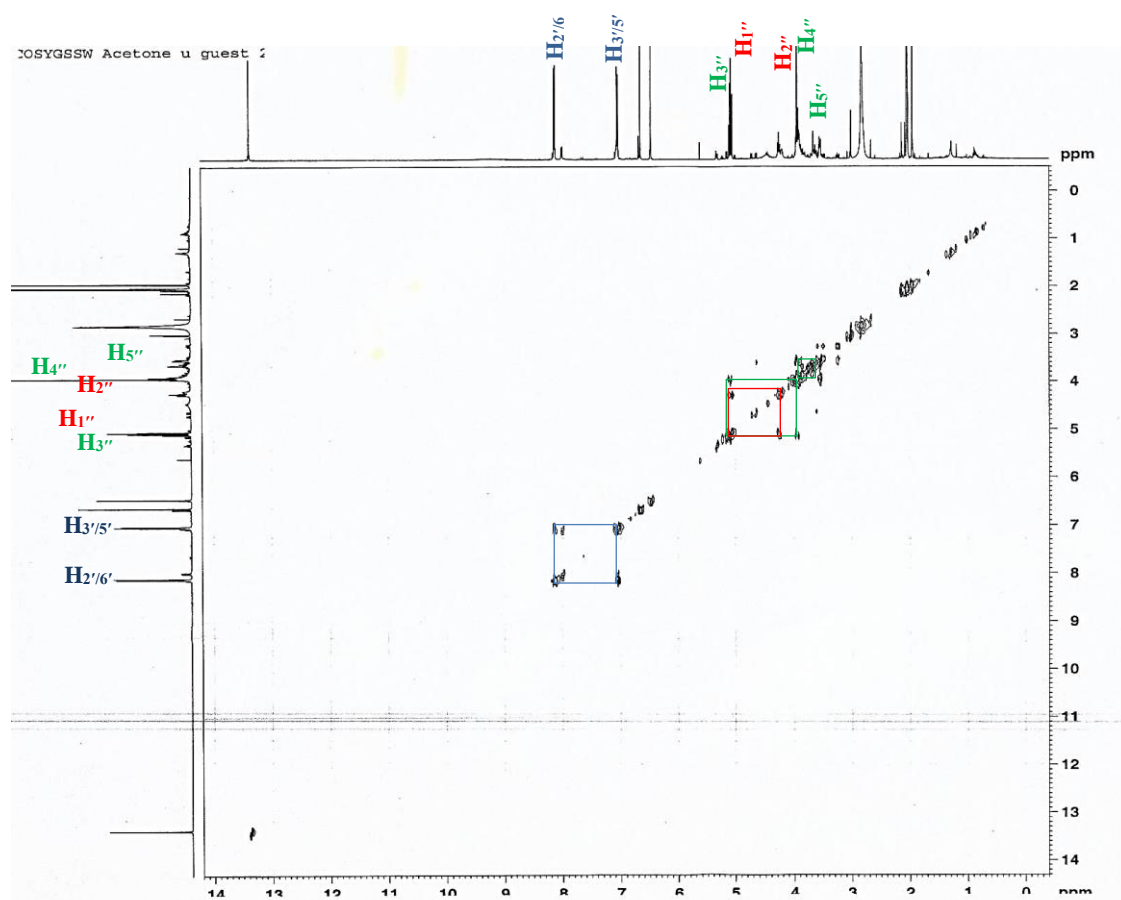


Figure 36 : Spectre RMN COSY (500 MHz, Acetone- $d_6$ ) du composé RAF1

L'expérience HMBC a permis de fixer le groupement méthoxyle et la fraction osidique sur l'unité de flavone. On observe une corrélation entre les protons du méthoxyle à  $\delta_C$  3,94 et le carbone à  $\delta_C$  164,8 (C-7), établissant la position du groupement méthoxyle en C-7 de l'unité de flavone. On note également des corrélations entre le proton osidique à  $\delta_H$  5,07 et les signaux de carbone à  $\delta_C$  105,8 (C-8), 156,7 (C-9) et 164,8 (C-7), indiquant que la fraction de sucre est attachée au C-8 de l'unité de flavone.

Les corrélations longue distance entre le signal du proton osidique du glucose à  $\delta_H$  5,07 (H-1'') et les signaux de carbone à  $\delta_C$  105,8 (C-8), 80,9 (C-3'') et 82,5 (C-5''), ont été observés. Les données du spectre HMBC ont également révélé une corrélation entre le proton à  $\delta_H$  5,09 (H-3'') et l'ester carbonyle à  $\delta_C$  170,9 établissant que le groupe acétyle est lié à la position C-3'' de l'unité osidique.

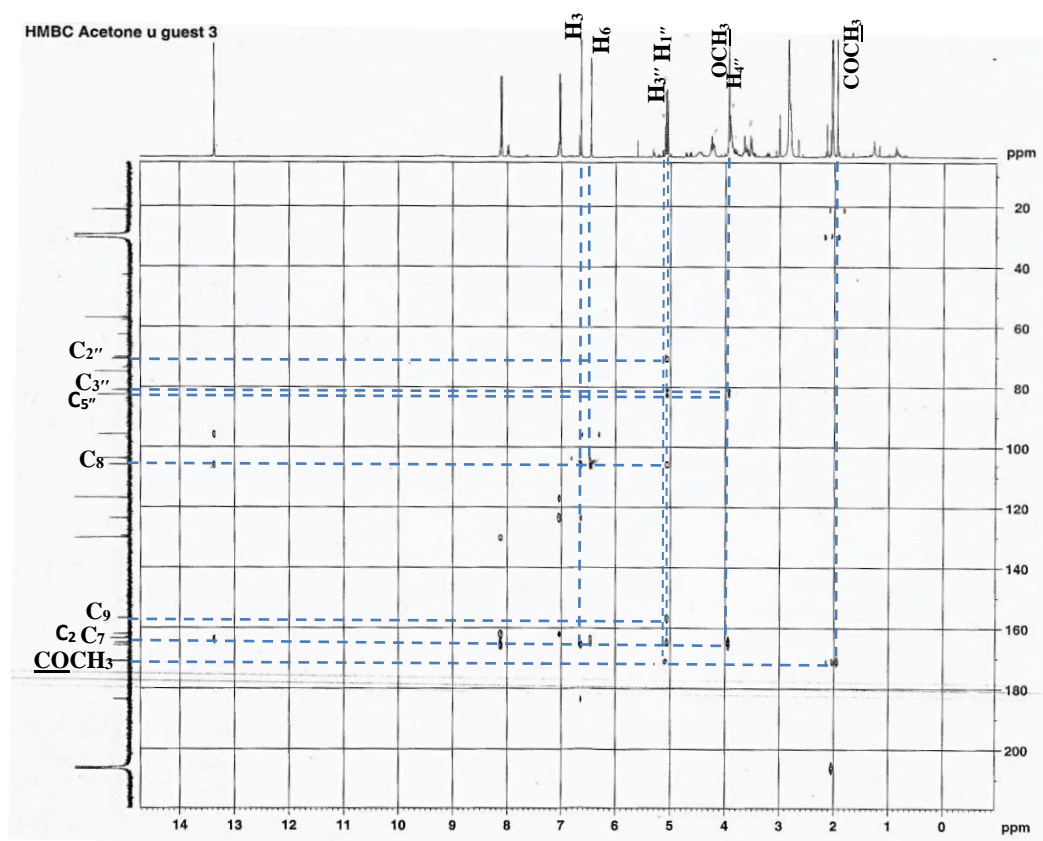
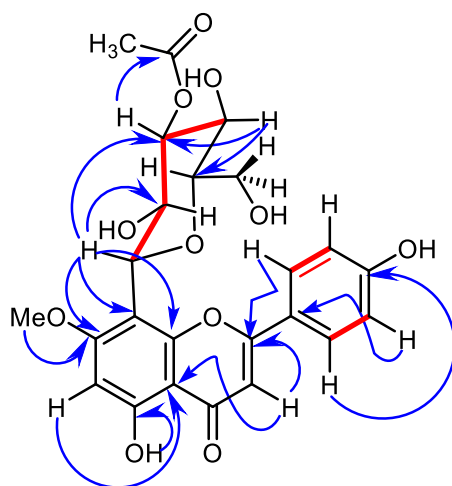
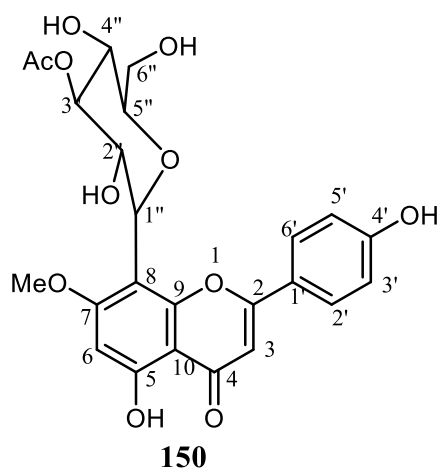


Figure 37 : Spectre RMN HMBC (500 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) du composé RAF1



**Schéma 4 : Corrélations clés HMBC (→) et COSY (—) du composé RAF1**

Sur la base de l'ensemble des données précédentes et en comparaison avec la littérature, la structure de **RAF1** a été déterminée comme étant la 3''-O-acétyl-7-O-méthylvitexine, composé nouvellement isolé appelé arnoldioside A.



**3''-O-acétyl-7-O-méthylvitexine**

**Tableau 11 : Données RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) du composé RAF1 dans l'Acetone- $d_6$  ( $\delta$  en ppm;  $J$  en Hz).**

Position	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	HMBC (C $\rightarrow$ H)
2	165,7	-	H-3 ; H-2' ; H-6'
3	103,7	6,65 s	
4	183,5	-	
5	163,4	-	OH-5
6	95,7	6,46 s	
7	164,8	-	OCH <sub>3</sub> ; H-1''
8	105,8	-	H-1''
9	156,7	-	H-1''
10	105,7	-	H-3 ; H-6
1'	123,5	-	H-3' ; H-5'
2'/6'	130,1	8,14 d (8,8)	
3'/5'	117,0	7,06 d (8,8)	
4'	162,0	-	H-2' ; H-6'
1''	74,8	5,07 d (9,7)	
2''	70,5	4,25 t (9,5)	H-1''
3''	80,9	5,09 m	H-1'' ; H-4''
4''	70,0	3,93 m	
5''	82,5	3,54 m	H-4''
6''	62,4	3,87 m	
OCH <sub>3</sub>	56,9	3,94 s	
<u>COCH</u> <sub>3</sub>	170,9	-	H-3'' ; <u>COCH</u> <sub>3</sub>
<u>COCH</u> <sub>3</sub>	21,1	1,95 s	

#### f) Identification du composé RAR1

Le composé **RAR1**, isolé des racines de *R. affine* (Hook. F.) Tiegh, a été identifié à la 3''-*O*-acétyl-7-*O*-méthylvitexine **150** (voir tableau 11).



### g) Détermination du composé RAF2

Le composé **RAF2** isolé des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, a été obtenu sous forme d'un solide jaune pâle. Soluble dans l'acétone, il répond positivement au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. Son spectre de masse HR-ESI présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M + H]^+$  à  $m/z$  593,1868 (calculé pour  $C_{28}H_{33}O_{14}$  593,1870), suggérant la formule moléculaire  $C_{28}H_{32}O_{14}$ .

L'analyse de son spectre RMN  $^1H$  permet de mettre en évidence un système  $A_2B_2$  d'un noyau benzénique 1,4-disubstitué à  $\delta_H$  7,91 (2H,  $d$ ,  $J = 8,9$  Hz, H-2'/6') et  $\delta_H$  6,92 (2H,  $d$ ,  $J = 8,9$  Hz, H-3'/5') attribuable aux protons du noyau B d'une unité apigénine. On note la présence d'un singulet à  $\delta_H$  6,62 attribuable au proton en position 3 du noyau C de la flavone (Geiger, 1994), un autre singulet à  $\delta_H$  6,49 attribuable à un proton benzénique pentasubstitué et d'un groupement méthoxyle à  $\delta_H$  3,93. On observe également deux signaux à  $\delta_H$  4,97 ( $d$ ,  $J = 7,1$  Hz) et  $\delta_H$  4,70 ( $s$ ) suggérant deux protons osidiques du glucose et du rhamnose, respectivement. Un doublet à  $\delta_H$  1,23 ( $d$ ,  $J = 6,3$  Hz) a été observé, confortant la présence d'un groupe méthyle rhamnose.

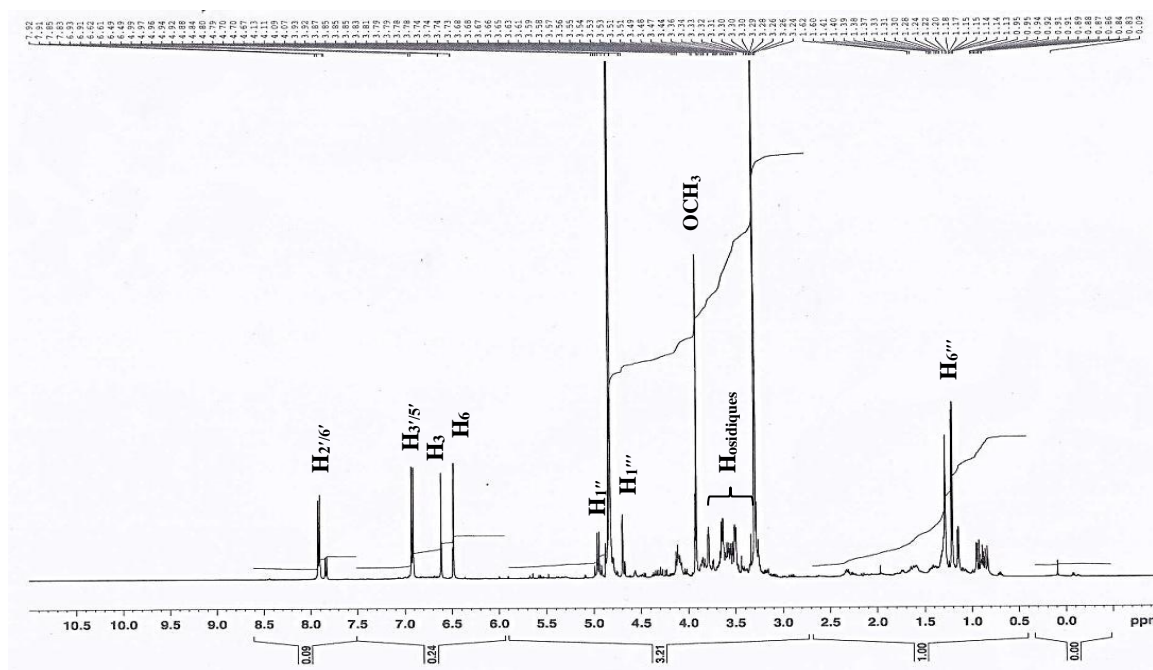
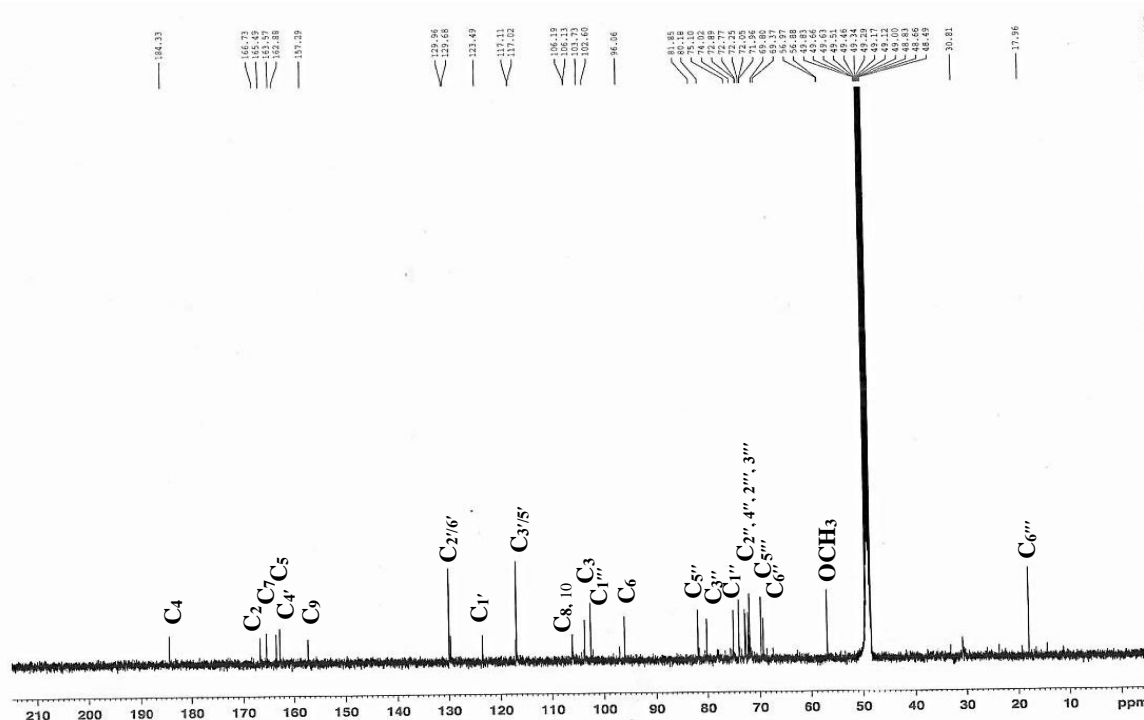


Figure 38 : Spectre RMN  $^1H$  (500 MHz,  $CD_3OD$ ) du composé RAF2

En considérant les données spectroscopiques RMN du  $^{13}\text{C}$  et les 13 degrés d'insaturation calculés à partir de la formule empirique du composé **RAF2**, il a été suggéré qu'il contient un motif de vitexine en plus d'un fragment de rhamnose. La constante de couplage du proton H-1'' ( $d, J = 7,1$  Hz) a indiqué que la fraction glucosyle était impliquée dans la  $\beta$ -glycosylation avec le noyau flavone. En outre, le déplacement vers les champs faibles du carbone méthylène (C-6'') du glucose à  $\delta_{\text{C}}$  69,4 a indiqué l'effet de glycosylation et suggère que le proton anomérique de l'unité de rhamnose  $\delta_{\text{H}}$  4,70 (s) serait lié au groupe hydroxyle C-6'' du fragment glucosyle avec une liaison  $\alpha$  (Markham 1994; Kumar et al., 2010).



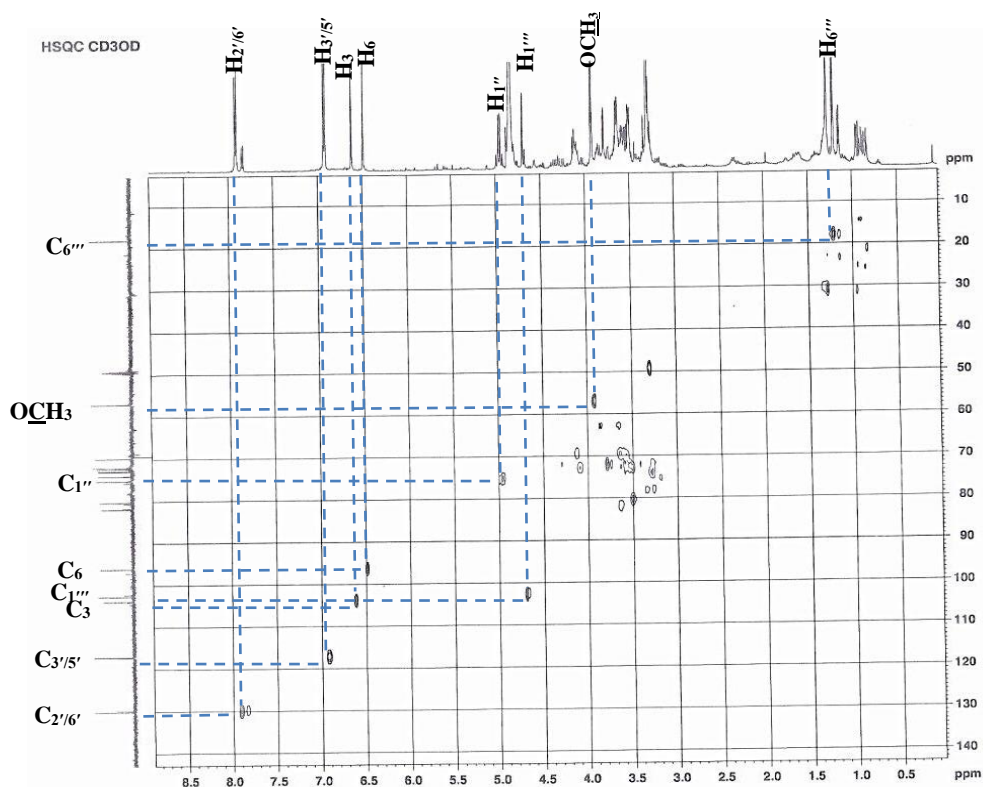


Figure 40 : Spectre RMN HSQC (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé RAF2

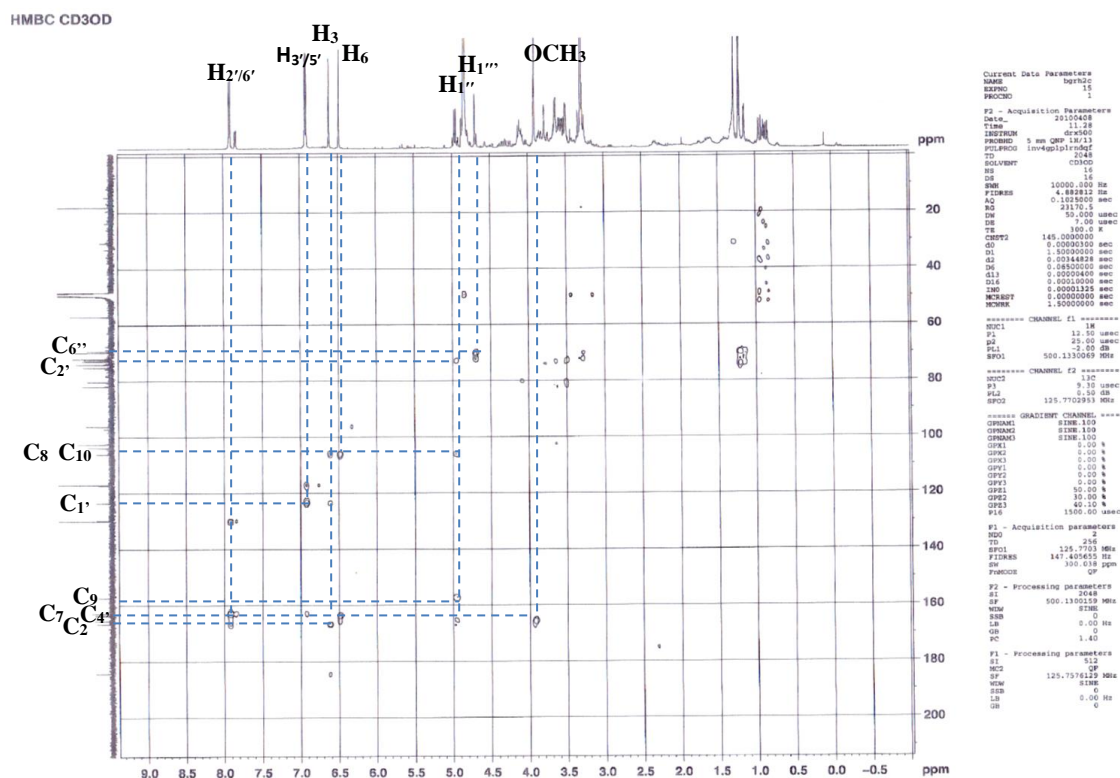
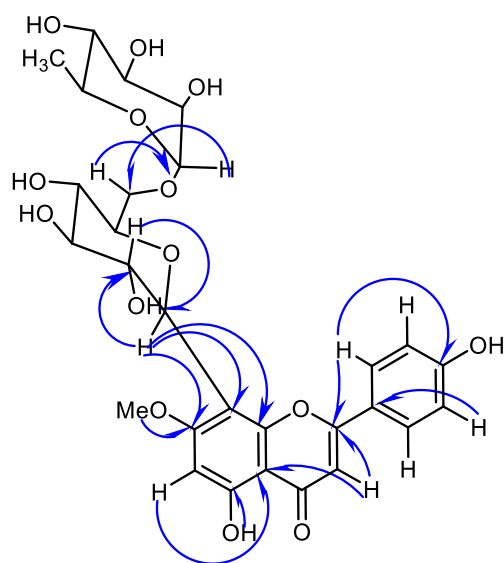
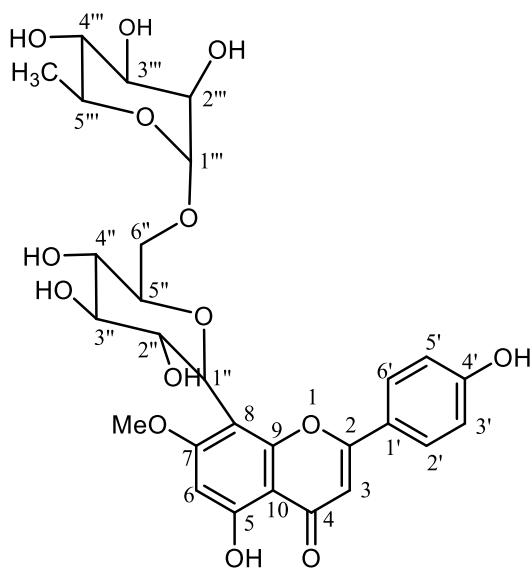


Figure 41 : Spectre RMN HMBC (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé RAF2



**Figure 42 : Corrélations HMBC clés (→) du composé RAF2**

Sur la base des données spectrales précédentes, le composé **RAF2** a été identifié comme étant l'arnoldioside B ou la 6''- $\alpha$ -rhamnopyranosyl-7-*O*-méthylvitexine, un dérivé nouveau.



**151**

**6''- $\alpha$ -rhamnopyranosyl-7-*O*-méthylvitexine**



**Tableau 12 : Données RMN <sup>1</sup>H (500 MHz) et RMN <sup>13</sup>C (125 MHz) du composé RAF2 dans le MeOD-*d*<sub>4</sub> (δ en ppm; *J* en Hz)**

Position	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub>	HMBC (C → H)
2	166,7	-	H-2' ; H-6' ; H-3
3	103,7	6,62 s	-
4	184,3	-	-
5	163,6	-	OH-5
6	96,1	6,49 s	-
7	165,5	-	OCH <sub>3</sub> ; H-1''
8	106,1	-	H-1''
9	157,3	-	H-1''
10	106,2	-	H-3 ; H-6
1'	123,5	-	H-3'
2'/6'	129,9	7,91 d (8,9)	-
3'/5'	117,1	6,92 d (8,9)	-
4'	162,9	-	H-2' ; H-6'
1''	75,1	4,97 d (7,1)	H-2''
2''	72,8	4,08 m	H-1''
3''	80,2	3,50 m	-
4''	72,9	3,58 m	-
5''	81,8	3,63 m	-
6''	69,4	4,13 m	H-1'''
1'''	102,6	4,70 s	H-6''
2'''	71,9	3,78 m	-
3'''	72,0	3,41 m	-
4'''	74,0	3,28 m	-
5'''	69,8	3,57 m	-
6'''	17,9	1,23 d (6.3)	-
OCH <sub>3</sub>	56,9	3,93 s	-

### 2.1.2.2 Détermination structurale des composés de type flavanol

#### a) Identification du composé RAF8

Le composé **RAF8**, isolé des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, se présente sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol et répond positivement au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. La détermination de sa structure a été rendue possible grâce à l'analyse des spectres de masse à haute résolution et RMN ( $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ ).

L'analyse de son spectre de masse à haute résolution en mode positif nous a donné la formule moléculaire  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$  sur la base de l'ion *pseudo*-moléculaire  $[\text{M}+\text{H}]^+$  à  $m/z$  291,0859 (masse calculée 291,0869 pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_6$ ) renfermant neuf degrés d'insaturations.

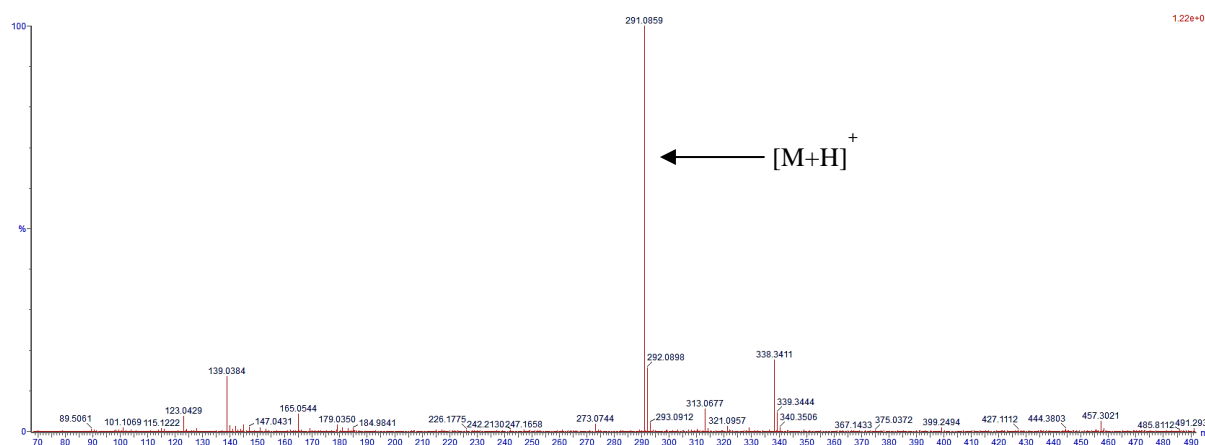
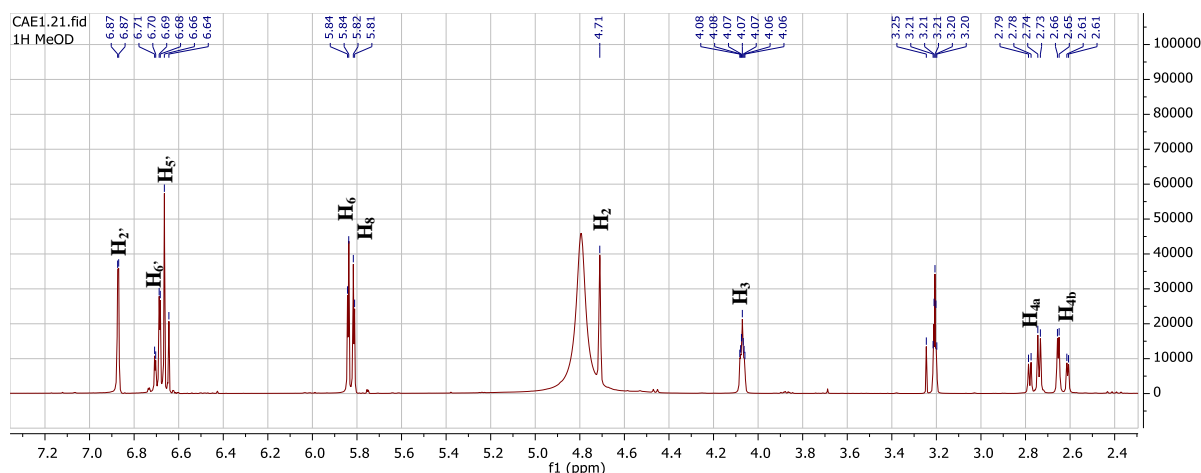


Figure 43 : Spectre HR-ESIMS du composé RAF8

L'analyse de la région aromatique du spectre RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 44) a permis de mettre en évidence la présence de deux protons aromatiques à  $\delta_{\text{H}}$  6,70 (*dd*,  $J = 8,2 ; 2,0$  Hz, H-6') et à  $\delta_{\text{H}}$  6,65 (*d*,  $J = 8,2$  Hz, H-5') dans la région des champs faibles, dont les constantes de couplage indiquent qu'ils ont une position relative ortho, ainsi qu'un doublet à  $\delta_{\text{H}}$  6,87 (*d*,  $J = 2,0$  Hz, H-2'), confirmant la présence d'un système ABX sur le cycle B.

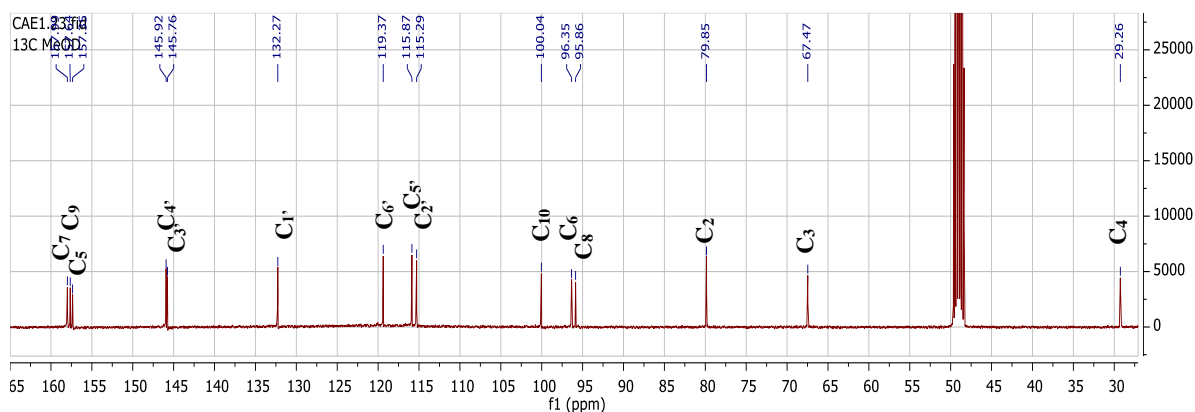
On note également les signaux de deux doublets, intégrant chacun pour un proton à  $\delta_{\text{H}}$  5,84 (*d*,  $J = 2,3$  Hz, H-6) et  $\delta_{\text{H}}$  5,81 (*d*,  $J = 2,3$  Hz, H-8), dont les constantes de couplage indiquent qu'ils ont une position relative méta sur le cycle A du flavonoïde.

Par ailleurs, des signaux à  $\delta_{\text{H}}$  4,71 (1H, *s*, H-2), 4,07 (1H, *m*, H-3), 2,76 (1H, *dd*,  $J = 16,7$  et 4,6 Hz, H-4a) et 2,63 (1H, *dd*,  $J = 16,7 ; 3,0$  Hz, H-4b) ont aussi été observés et sont caractéristiques d'un squelette de type flavan-3-ol (Davis et al., 1996).



**Figure 44 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, méthanol- $d_4$ ) du composé RAF8**

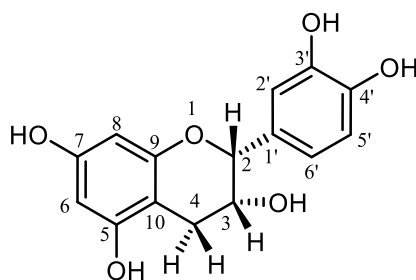
L'analyse du spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 45) a fourni plus d'indications. Ce spectre a ainsi montré cinq signaux à  $\delta_{\text{C}}$  158,0 ; 157,56 ; 157,4 ; 146,0 et 145,7 caractéristiques des carbones quaternaires, un méthylène à  $\delta_{\text{C}}$  29,3 ppm et deux méthines à  $\delta_{\text{C}}$  67,5 et 79,9.



**Figure 45 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, méthanol- $d_4$ ) du composé RAF8**

L'attribution complète des signaux a été réalisée par l'analyse des spectres de corrélations homonucléaires COSY et hétéronucléaires HSQC et HMBC.

Les constantes de couplages des protons H-4a et H-4b avec le H-3 respectivement 4,6 et 3,0 Hz, en accord avec la littérature (Davis et al., 1996), de même que  $\delta_{\text{C}}$  du C-2 à 79,9 ppm confortent la structure du composé **RAF8** comme étant celle de l'épicatéchine, précédemment isolé par Spek et al. (1984) et Usman et al. (2016).



152

**Epicatechine**

**Tableau 13 : Comparaison des données RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé RAF8 avec celles de la littérature (Usman et al., 2016)**

N°	Expérimental (400-100 MHz MeOD- $d_4$ )		Littérature (400-100 MHz MeOD- $d_4$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2	4,71 s	79,9	4,83 s	79,9
3	4,07 m	67,5	4,19 m	67,5
4	2,76 dd (4,6 ; 16,7)	29,3	2,86 dd (4,8 ; 16,80)	29,3
	2,63 dd (3,0 ; 16,7)		2,73 dd (2,7 ; 16,80)	
5	-	157,6	-	157,4
6	5,84 d (2,3)	96,3	5,93 d (2,3)	96,4
7	-	158,0	-	157,9
8	5,81 d (2,3)	95,8	5,96 d (2,3)	95,9
9	-	157,4	-	157,7
10	-	100,0	-	100,1
1'	-	132,3	-	132,3
2'	6,87 d (1,2)	115,3	6,99 (1,7)	115,3
3'	-	145,8	-	145,9
4'	-	146,0	-	145,8
5'	6,65 d (8,2)	115,9	6,77 d (8,2)	115,9
6'	6,70 dd (2,0 ; 8,2)	119,4	6,81 dd (1,7 ; 8,2)	119,4



## b) Identification du composé CAE9

Le composé **CAE9**, isolé des écorces du tronc de *C. arereh* Delile, a été obtenu sous forme d'une huile orange et répond positivement au test de Shinoda, suggérant qu'il s'agissait d'un dérivé de flavonoïde. L'analyse de son spectre IR (KBr,  $\nu_{\max}$ ) affiche de fortes bandes d'absorption pour le groupe hydroxyle ( $3417\text{ cm}^{-1}$ ), les carbones  $\text{sp}^3$  ( $2926, 1465, 827\text{ cm}^{-1}$ ); cycles aromatiques ( $1623, 1521\text{ cm}^{-1}$ ); carbones oxygénés  $\text{sp}^3$  et  $\text{sp}^2$  ( $1273, 1197, 1106\text{ cm}^{-1}$ ).

La formule moléculaire,  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$  du composé **CAE9** a été déterminée grâce à l'analyse des spectres de masse à basse résolution (mode positif) et haute résolution FAB-MS (mode positif) dans lesquelles les ions moléculaires sont apparus à  $m/z$  291,1  $[\text{M}+\text{H}]^+$  et 291,0855  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (masse calculée pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_6$ : 291,0869), respectivement (Fig. 46).

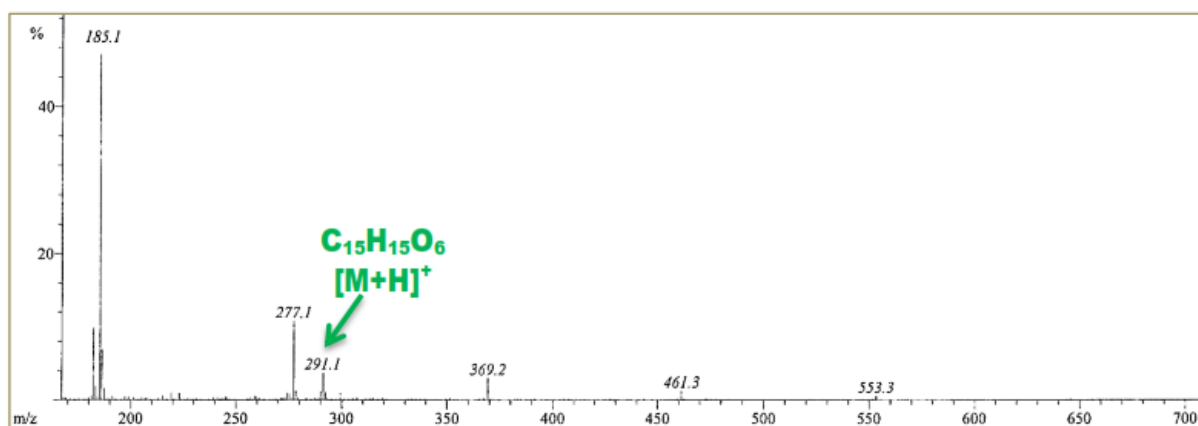


Figure 46 : Spectre de masse FAB du composé CAE9

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  de **CAE9** (Fig. 47) présente un profil similaire à celui de **RAF8** précédent. Il indique la présence de trois protons aromatiques à  $\delta_{\text{H}}$  7,95 (*d*, 2,0 H-2');  $\delta_{\text{H}}$  7,37 (*dd*, 2,0 ; 8,7 H-6') et 7,30 (*d* ; 8,7 ; H-5'), caractéristiques du benzène 1,3,4-trisubstitué sur le cycle B. De plus, le cycle C du flavan-3-ol a été caractérisé par la présence de deux protons de méthine  $\text{sp}^3$  à  $\delta_{\text{H}}$  5,39 (*d*, 7,8 H-2) et 4,74 (*m*, H-3); et un proton diastéréotopique  $\text{sp}^3$  à  $\delta_{\text{H}}$  3,44 (*dd*, 12,0; 5,6 H-4a) et 3,57 (*dd*, 12,0; 8,1 H-4b) (Hye et al., 2009). Les signaux de protons aromatiques méta-couplés à  $\delta_{\text{H}}$  6,68 (1H, *d*,  $J = 1,6\text{ Hz}$ , H-6) et  $\delta_{\text{H}}$  6,70 (1H, *d*,  $J = 1,6\text{ Hz}$ , H-8) établissent la présence du cycle aromatique tétra-substitué A.

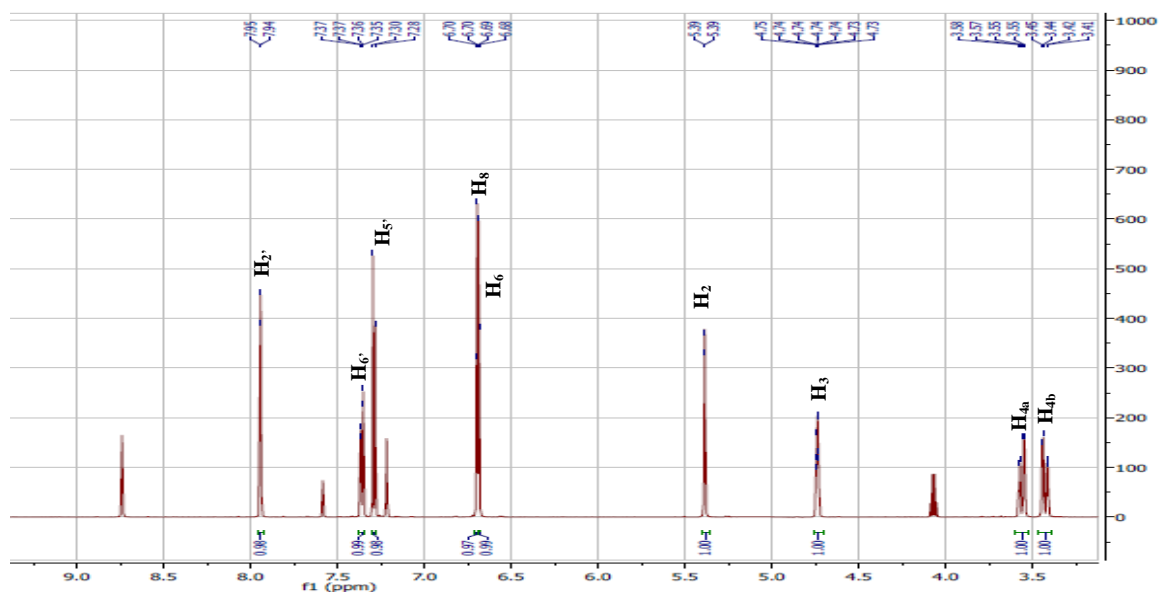


Figure 47 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) du composé CAE9

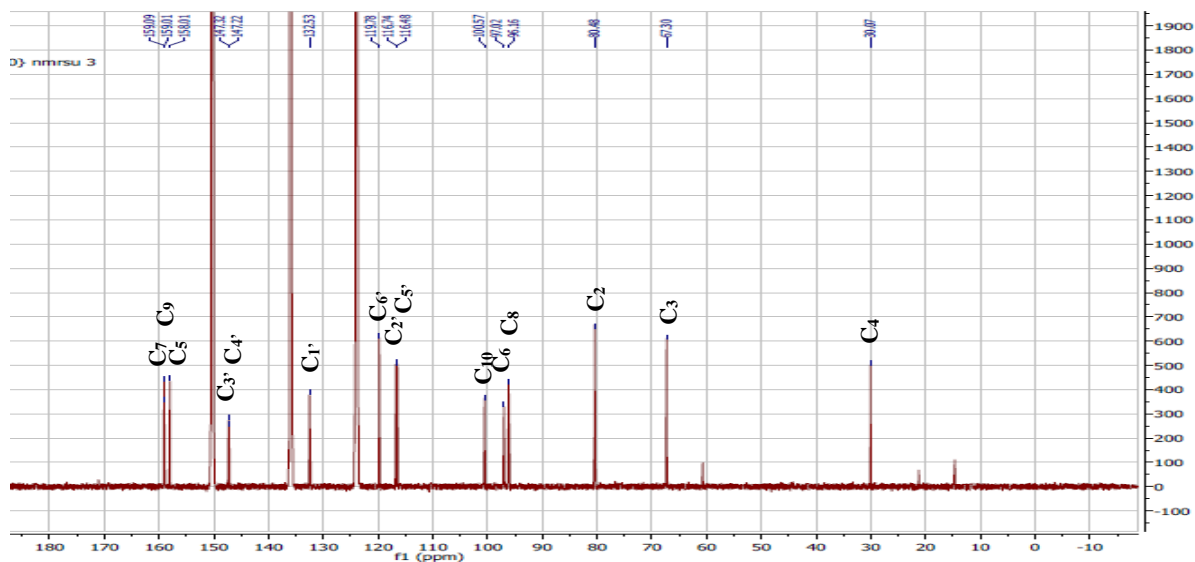
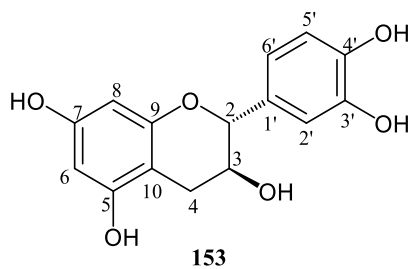


Figure 48 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) du composé CAE9

Sur la base des données spectrales RMN qui précèdent et en comparaison avec la littérature, la structure de **CAE9** a été déduite comme la catéchine (Jin et Tu, 2005; Jung et al., 2006; Yu et al., 2007).



Catéchine

**Tableau 14 : Comparaison des données RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé CAE9 avec celles de la littérature (Ryota et al., 1996)**

N°	Expérimental (600-150 MHz, pyridine- $d_5$ )		Littérature (500-125 MHz, MeOD- $d_4$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2	5,39 d (7,8)	80,5	4,56	82,7
3	4,74 m	67,3	3,99 d (8,3)	68,4
4	3,44 dd (12,0 ; 5,6)	30,1	2,91 dd (16,1 ; 5,4)	28,8
	3,57 dd (12,0 ; 8,1)		2,53 (16,1 ; 8,3)	
5	-	159,0	-	157,2
6	6,68 d (1,6)	97,0	6,02 d (2,3)	96,2
7	-	159,1	-	157,8
8	6,70 d (1,6)	96,2	5,88 d (2,3)	95,5
9	-	159,0	-	157,0
10	-	100,6	-	100,7
1'	-	132,5	-	132,3
2'	7,95 d (2,0)	116,7	6,89	11 5,3
3'	-	147,2	-	145,7
4'	-	147,3	-	145,7
5'	7,30 d (8,7)	116,5	6,79	11 5,7
6'	7,37 dd (8,7 ; 2,0)	119,8	6,75	120,1



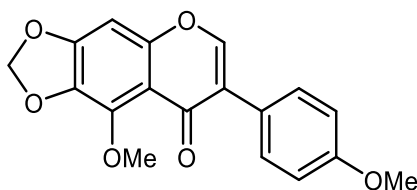
### 2.1.2.3 Détermination structurale du composé de type isoflavonoïde

#### a) Identification du composé RAF6

Le composé **RAF6**, isolé des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, possède un point de fusion compris entre 180 et 182 °C, et sa formule brute C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub> a été déduite de son spectre de masse ESI-TOF. Son spectre UV présente une absorption à 270 et 330 nm caractéristique d'un isoflavonoïde (EL-Emary et al., 1980).

Son spectre IR montre des bandes d'absorption à 1660 (C = O), 1610 (C = C) et 940cm<sup>-1</sup> traduisant un méthylènedioxy, soutenu par le singulet fin de deux protons à  $\delta_H$  6,08 et par le test de Labat (couleur verte). On observe également deux singulets à  $\delta_H$  8,00 (H-2) caractéristique d'un squelette de type isoflavone (Mabry et al., 1970; Al-Khlil et Al-Eisawi, 1994) et  $\delta_H$  6,78 (H-8) dans le spectre RMN <sup>1</sup>H du composé **RAF6** et les ions de fragments m/e 132 (du cycle B) et 194 (du cycle A), produites par le clivage rétro-Diels-Alder, dans le spectre de masse.

L'ensemble de ces données comparées avec celle de la littérature nous permet d'attribuer la structure du composé **RAF6** comme étant celle de la 4',5-dimethoxy-6,7-méthylènedioxyisoflavone, précédemment isolé des bulbes fraîches d'*Iris tingitana* par El-Emary et al. (1980).



154

4',5-dimethoxy-6,7-methylenedioxyisoflavone



#### 2.1.2.4 Détermination structurale des biflavonoïdes isolés

##### a) Identification du composé RAF10

Le composé **RAF10**, isolé des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, se présente sous forme de poudre jaune. Son spectre ESI-MS (mode ion positif) présente un pic ionique pseudo-moléculaire à  $m/z$  554,96  $[M + H]^+$ , qui suggère la formule moléculaire  $C_{30}H_{20}O_{10}$  renfermant 21 insaturations. Le spectre IR de **RAF10** a montré une large bande d'absorption du groupement OH à  $3020\text{ cm}^{-1}$  et une bande de carbonyle chélaté à  $1648\text{ cm}^{-1}$ .

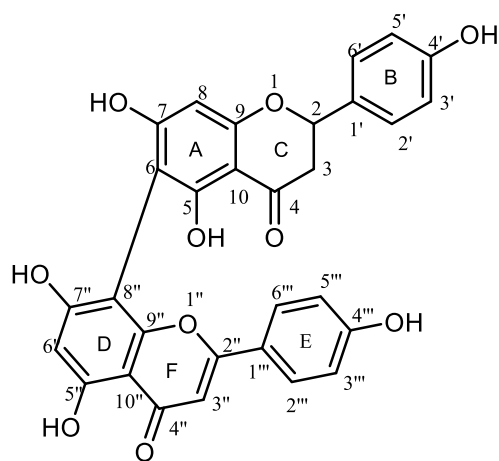
Le spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **RAF10** montre six groupes OH à  $\delta_{\text{H}}$  13,27 (s), 12,68 (s), 10,78 (2H), 10,47 (s) et 9,77 (s) dont deux signaux dans le champ faible  $\delta_{\text{H}}$  13,27 (s) et 12,68 (s) indiquant deux groupes OH chélatés en positions 5'' et 5. On observe un singulet de proton à  $\delta_{\text{H}}$  6,90 (1H, s, H-3'') et un doublet dédoublé à  $\delta_{\text{H}}$  5,68 (dd,  $J = 12$  et 3 Hz, H-2) assignables aux protons caractéristiques des unités flavone et flavanone (Chen et Lin, 1974). Un multiplet à  $\delta_{\text{H}}$  2,8 et 3,3 attribuables aux deux protons H-3 (trans) et H-3 (Cis) de l'unité flavanone.

Huit des 11 protons aromatiques sont apparus sous la forme de deux ensembles de doublets de type  $A_2B_2$  à  $\delta_{\text{H}}$  7,54 (2H, d,  $J = 8$  Hz, H-2''/6'), à  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (2H, d,  $J = 8$  Hz, H-3'/5') du cycle B et à  $\delta_{\text{H}}$  7,73 (2H, d,  $J = 9$  Hz, H-2'''/6''') et  $\delta_{\text{H}}$  7,02 (2H, d,  $J = 9$  Hz, H-3'''/5''') du cycle E. Les trois protons aromatiques restants ont montré des singulets à  $\delta_{\text{H}}$  6,90 (1H, s, H-3'');  $\delta_{\text{H}}$  6,50 (1H, s, H-6'') et  $\delta_{\text{H}}$  6,28 (1H, s, H-8).

Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  de **RAF10** a montré 26 signaux de carbones de la molécule, comprenant deux carbones  $\text{sp}^3$  et 24 carbones  $\text{sp}^2$ , qui incluent des signaux pour deux groupes carbonyle à 196,5 et 182,3 ppm.

La comparaison des données spectrales RMN  $^{13}\text{C}$  de **RAF10** avec la naringénine et l'apigénine a montré que C-6 du cycle A et C-8'' du cycle D sont impliqués dans la liaison interflavonoïde; car les résonances de ces carbones se sont déplacées vers le bas de 4,3 et 5,4 ppm, respectivement, par rapport aux résonances de carbone correspondantes de la naringénine et de l'apigénine. Le spectre HMBC de **RAF10** a en outre confirmé l'implication de ces carbones dans la liaison interflavonoïde car ces carbones montraient des corrélations avec H-8''  $\delta_{\text{H}}$  6,28 et H-6  $\delta_{\text{H}}$  6,50 respectivement.

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques des  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé **RAF10** avec celles de la littérature a permis d'identifier ce composé à la rhusflavone, composé connu, précédemment isolé de *Rhus succedanae* par Chen et al. (1974).



155

**Rhusflavone**

## b) Identification du composé RAF11

Le composé **RAF11**, isolé des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, est un solide jaune amorphe soluble dans le méthanol. Son spectre de masse en impact électronique (IE) présente l'ion moléculaire à  $m/z$  538,2 correspondant à une masse moléculaire de 538 g/mol et suggérant une formule brute  $C_{30}H_{18}O_{10}$ . Il répond positivement au test de Neu caractéristique des biflavonoïdes.

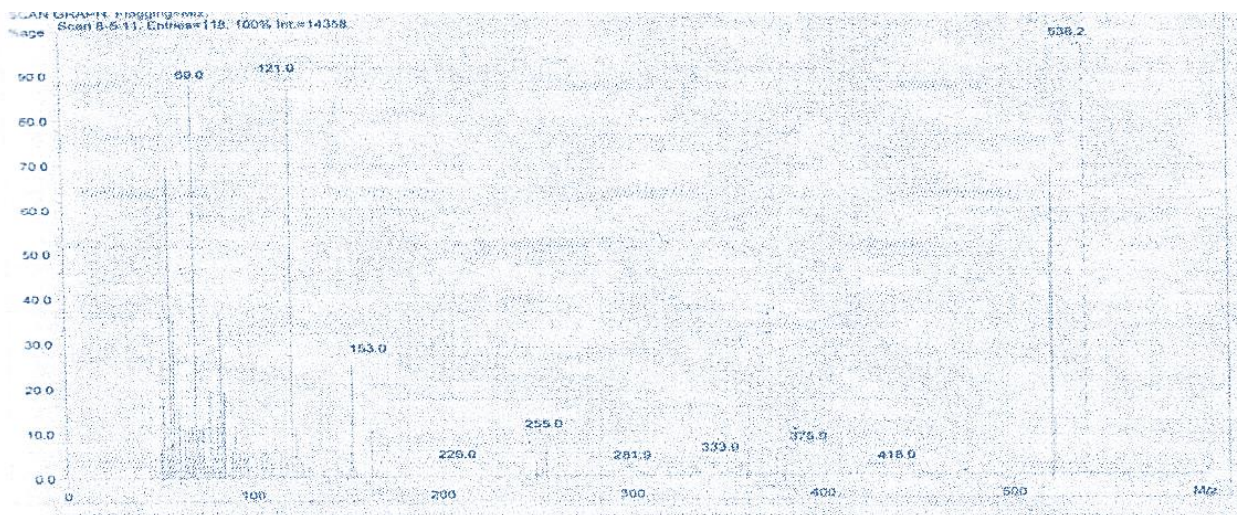
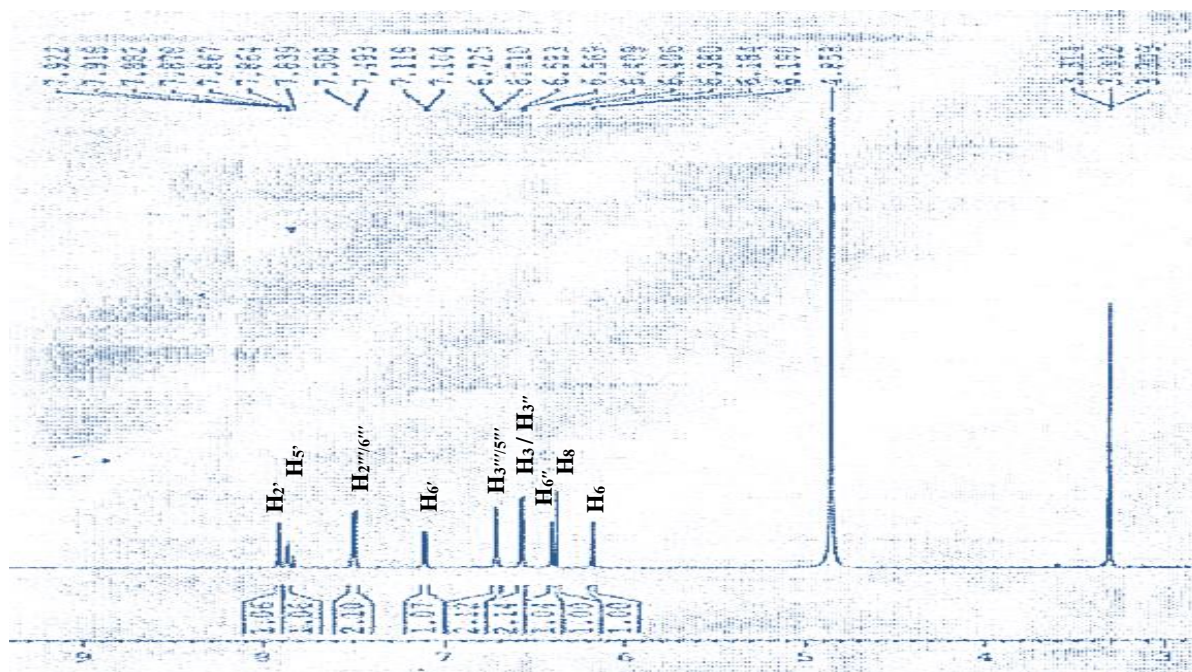


Figure 49 : Spectre de masse IE du composé RAF11

Le spectre RMN  $^1H$  (figure 50) de **RAF11** présente dix protons aromatiques et deux protons oléfiniques. L'analyse de ce spectre couplé au spectre COSY montre la présence de :

- Un noyau benzénique *para*-substitué formant un système  $A_2B_2$  :  $\delta_H$  7,50 (2H, *d*,  $J = 7,7$  Hz, H-2'''/6''') et  $\delta_H$  6,72 (2H, *d*,  $J = 7,7$  Hz, H-3'''/5''').
- Un noyau benzénique *ortho*, *para*-trisubstitué formant un système ABX :  $\delta_H$  7,11 (1H, *dd*,  $J = 7,8$  et 1,8 Hz, H-6') puis  $\delta_H$  7,88 (1H, *d*,  $J = 7,8$  Hz, H-5') et  $\delta_H$  7,92 (1H, *d*,  $J = 1,8$  Hz, H-2').
- Un noyau benzénique *tétra*-substitué formant un système AB :  $\delta_H$  6,38 (1H, *d* ;  $J = 2,0$  Hz, H-8') et  $\delta_H$  6,18 (1H, *d* ;  $J = 2,0$  Hz, H-6').
- Un noyau benzénique *penta*-substitué portant un proton à  $\delta_H$  6,40 (1H, *s*, H-6'').

Par ailleurs, nous notons aussi la présence de deux singulets à  $\delta_H$  6,58 et 6,56 ppm caractéristiques des H-3 des flavones.



**Figure 50 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOD- $d_4$ ) du composé RAF11**

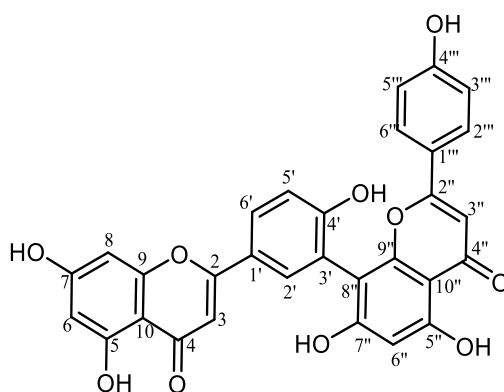
Son spectre RMN  $^{13}\text{C}$  totalement découplé présente 30 signaux correspondant à 30 atomes de carbone répartis comme suit :

- 2 carbonyles à  $\delta_{\text{C}}$  183,1 et 183,4 ppm respectivement.
- 14 atomes de carbone  $\text{sp}^2$  quaternaires dont huit sont porteurs d'un atome d'oxygène entre  $\delta_{\text{C}}$  103,8 et 162,5 ppm.
- 10 atomes de carbone aromatiques  $\text{sp}^2$  tertiaires entre  $\delta_{\text{C}}$  = 94,8 et  $\delta_{\text{C}}$  = 132,6 ppm.
- 4 atomes de carbone  $\text{sp}^2$  oléfiniques dont deux sont liés à un atome d'oxygène entre  $\delta_{\text{C}}$  163,3 et 164,9 ppm.

De cette analyse il ressort que le composé **RAF11** est constitué de deux unités flavonoïdiques dont la jonction a été effectuée grâce aux spectres 2D en occurrence le HMBC.

Le spectre HMBC a permis de ressortir la corrélation inter-flavonoïdique entre le proton à  $\delta_{\text{H}}$  7,92 (H-2') et le carbone à  $\delta_{\text{C}}$  103,8 ppm (C-8'') porté par le noyau A<sub>2</sub> et de relier les deux principales sous-structures.

Sur la base de toutes ces données et par comparaison directe avec les données de la littérature (Bais et Abrol, 2016), le composé **RAF11** a été identifié à l'amentoflavone précédemment isolé de *Campylospermum calanthum* (Njock et al., 2013).



156

### Amentoflavone

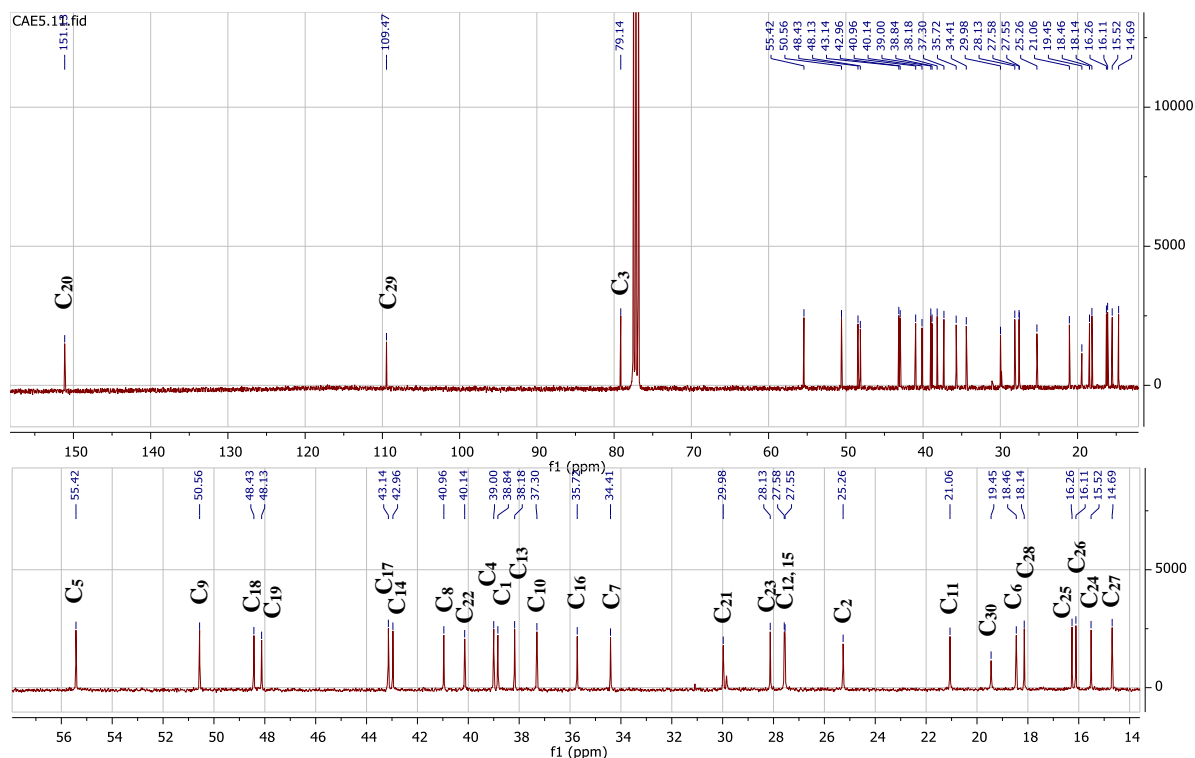
Tableau 15 : Comparaison des données RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé RAF11 avec celles de la littérature (Bais et Abrol, 2016)

N°	Expérimental (500-125 MHz Acetone- $d_6$ )		Littérature (500-125 MHz MeOH- $d_4$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2	-	164,9	-	166,0
3	6,58 s	104,3	6,60 s	102,3
4	-	183,4	-	184,6
5	-	163,3	-	163,4
6	6,18 d	99,9	6,18 br s	98,4
7	-	162,7	-	166,4
8	6,38 d	94,8	6,40 br s	93,5
9	-	161,8	-	159,8
10	-	104,2	-	105,6
1'	-	120,9	-	123,5
2'	7,92 d (1,8)	132,6	7,95 d (1,5)	131,0
3'	-	116,7	-	122,0
4'	-	160,4	-	161,6
5'	7,88 d (7,8)	117,6	7,89 d (8,0)	127,9
6'	7,11 dd (7,8 ; 1,8)	128,7	7,12 dd (8,0 ; 1,5)	116,6
2''	-	164,9	-	166,6
3''	6,56 s	103,8	6,59 s	101,8
4''	-	183,1	-	185,0
5''	-	163,3	-	163,8
6''	6,40 s	99,8	6,38 s	98,6
7''	-	162,5	-	162,8
8''	-	103,8	-	106,0
9''	-	156,1	-	159,6
10'''	-	104,5	-	105,3
1'''	-	123,3	-	123,5
2'''/6'''	7,50 d (7,7)	129,1	7,54 d (8,0)	128,2
3'''/5'''	6,72 d (7,7)	116,1	6,72 d (8,0)	115,4
4'''	-	160,4	-	163,0



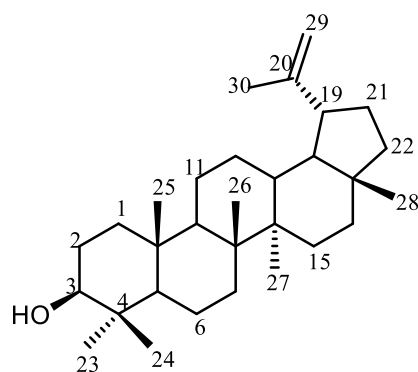


Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **CAE5** a montré 30 signaux comprenant un signal de carbone lié au groupe hydroxyle en position C-3 à  $\delta_{\text{C}}$  79,1 tandis que les carbones oléfiniques de la double liaison exocyclique sont apparus à  $\delta_{\text{C}}$  151,2 et 109,4 ppm.



**Figure 52 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé CAE5**

Les données spectrales qui précèdent (RMN et masse) confirme que le composé **CAE5** est bien un triterpène de type lupane. Sur la base de ces données et en comparaison avec celles de la littérature (Prakash et Prakash, 2012; Shwe et al., 2019), le composé **CAE5** a été identifié à une structure connue  $3\beta$ -Lup-20(29)-en-3-ol, plus communément connu sous le nom de lupéol.



157

Lupéol

**Tableau 16 : Comparaison des données RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C du composé CAE5 avec celles de la littérature (Shwe et al., 2019)**

N°	Expérimental (400-100 MHz CDCl <sub>3</sub> )		Littérature (600-150 MHz CDCl <sub>3</sub> )		N°	Expérimental (400-100 MHz CDCl <sub>3</sub> )		Littérature (600-150 MHz CDCl <sub>3</sub> )	
	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$		$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$
1	0,92 m	38,8	0,90 m	38,8	16	1,39 m	35,7	1,35 m	35,5
	1,69 m		1,65 m			1,50 m		1,45 m	
2	1,24 m	25,2	1,52 m	27,4	17	-	43,1	-	42,9
	1,70 m		1,67 m		18	-	48,4	1,36 m	48,2
3	3,18 dd (11,2 ; 5,0)	79,1	3,20 dd	78,9		-		1,37 m	
4	-	39,0	-	38,7	19	2,37 td (11,0 ; 5,8)	48,1	2,40 m	47,9
5	0,70 m	55,4	0,67 m	55,2					1,45 m
6	1,40 m	18,4	1,37 m	18,3	20	-	151,23	-	150,9
	1,52 m		1,52 m		21	1,35 m	29,9	1,3 m	28,8
7	1,41 m	34,4	1,39 m	34,2		1,94		1,91 m	
8		40,9		40,8	22	1,21 m	40,1	1,18 m	39,9
9	1,29 m	50,5	1,25 m	50,4		1,40 m		1,37 m	
10		37,3		37,1	23	1,02 m	28,1	0,90 s	27,9
11	1,28 m	21,0	1,20 m	20,9	24	0,78 s	15,5	0,76 s	15,3
	1,43 m		1,40 m		25	0,83 s	16,2	0,83 s	16,1
12	1,06 m	27,5	1,06 m	25,1	26	1,03 s	16,1	1,03 s	15,9
	1,62 m		1,62 m		27	0,96 s	14,6	0,94 s	14,6
13	1,70 m	38,1	1,66 m	38,0	28	0,82 s	18,1	0,79 s	17,9
14	-	42,9		42,8	29	4,56 d (1,9)	109,4	4,57 d (1,9)	109,3
15	1,06 m	27,5	1,05 m	27,4			4,69 d (1,9)		4,69 d (1,9)
	1,62 m		1,60 m		30	1,68 s	19,4	1,67 s	19,2





## b) Identification du composé CAE3

Le composé **CAE3**, isolé des écorces de *C. arereh* Delile, se présente sous forme de solide blanc soluble dans le chloroforme et répond positivement au test de Liebermann-Burchard caractéristique des triterpènes. Sa formule brute,  $C_{30}H_{48}O_2$ , a été déduite de son spectre de masse HR-ESIMS (Fig. 53) qui a montré un adduit de l'ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  441.3156  $[M+H]^+$  (masse calculée 441.3133 pour  $C_{30}H_{49}O_2$ ).

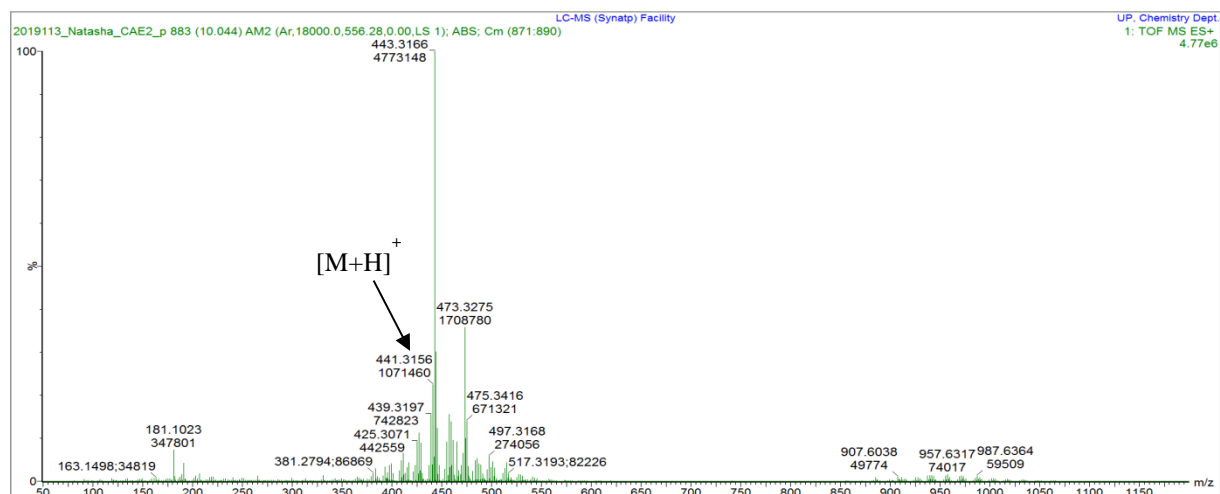


Figure 53 : Spectre HR-ESIMS du composé CAE3

Le spectre RMN  $^1H$  du composé **CAE3**, superposé à celui de **CAE5** (lupéol) précédent se révèle quasi-similaire. Il diffère de ce dernier par la présence d'un signal de proton aldéhyde à  $\delta_H$  9,67 ppm (1H, s) et six singulets de méthyles au lieu de sept. Les autres signaux sont similaires à ceux reportés pour le composé **CAE5**.

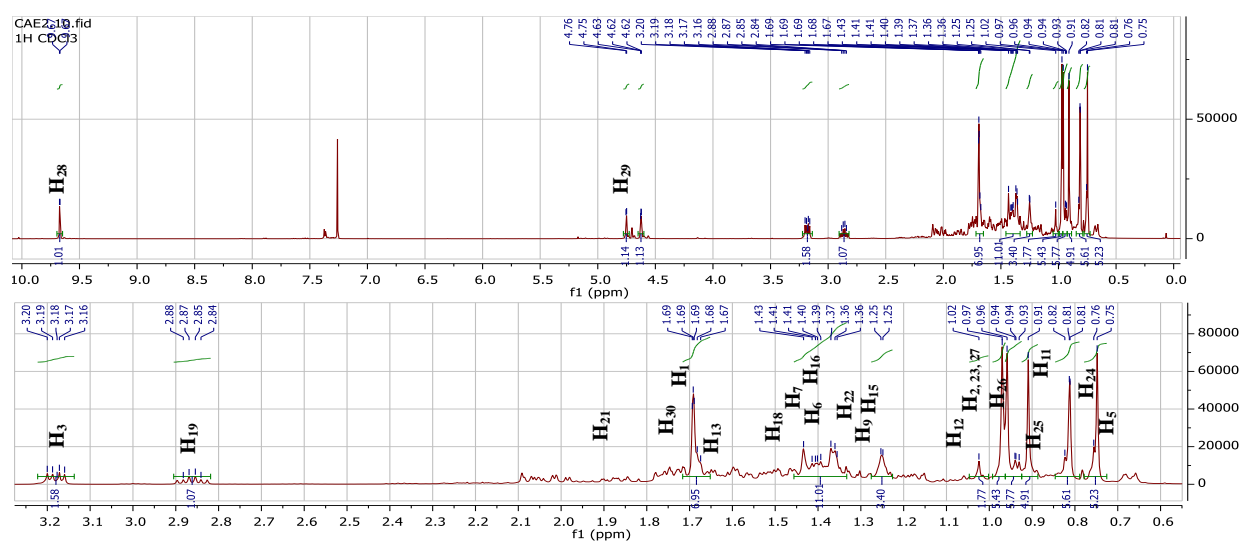
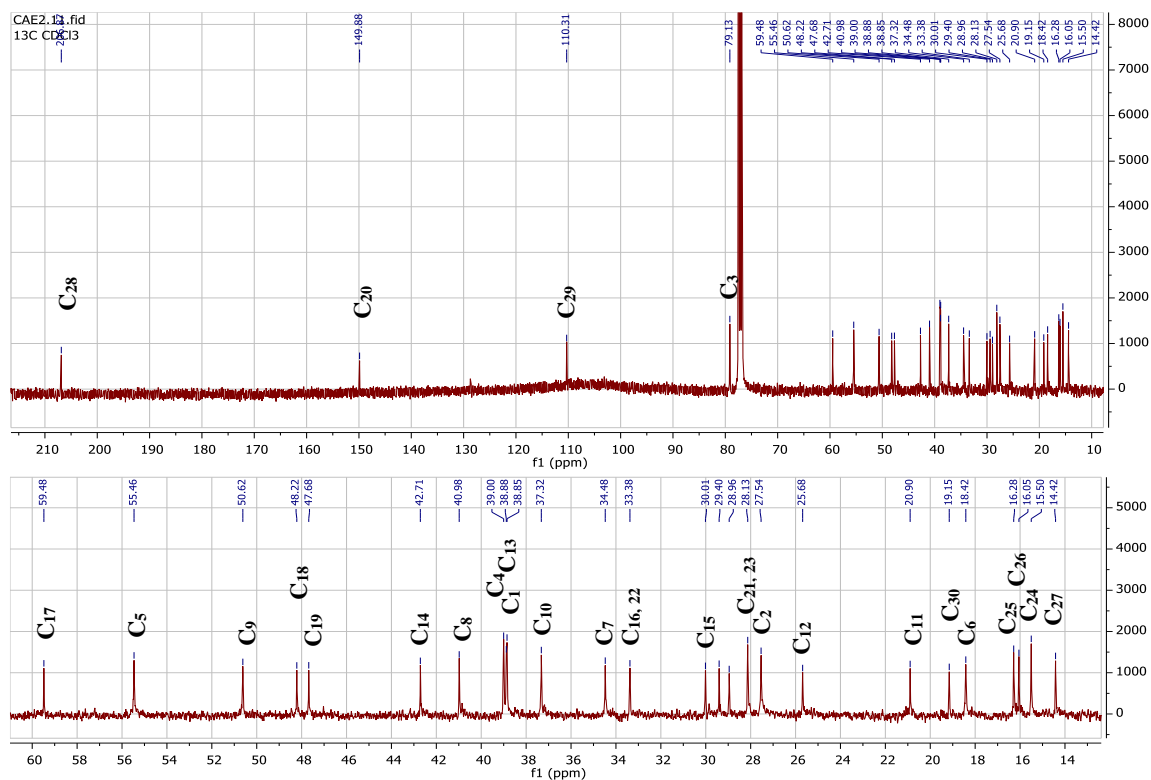


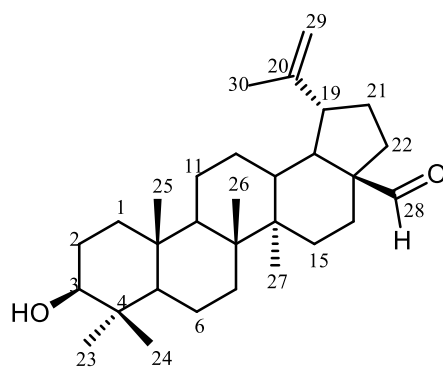
Figure 54 : Spectre RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ) du composé CAE3

Son spectre RMN  $^{13}\text{C}$  montre un triplet à  $\delta_{\text{C}}$  33,3 ppm attribué au C-16 par son déplacement vers les champs forts (-2,4 ppm) dû au groupement aldéhyde substitué en C-28 et un triplet à  $\delta_{\text{C}}$  33,4 blindé pour le C-22. Le singulet à  $\delta_{\text{C}}$  43,1 ppm dans le composé **CAE5** a été déplacé vers des champs faibles de +16,3 ppm en **CAE3**. Ceci confirme la substitution du groupe aldéhyde en position C-28. Les autres signaux de carbone furent identifiés par analogie et attribués par correspondance avec ceux du lupéol précédent, exception du carbone C-28 du groupe aldéhyde qui apparaît à  $\delta_{\text{C}}$  206,8 ppm.



**Figure 55 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé CAE3**

Sur la base de ces données spectrales RMN et par comparaison avec celles de la littérature, le composé **CAE3** s'est avéré être le (3 $\beta$ )-3-hydroxyLup-20(29)-èn-28-al, composé connu, communément appelée bétulinal (Zhong et al., 1984).



158

**Bétulinal**

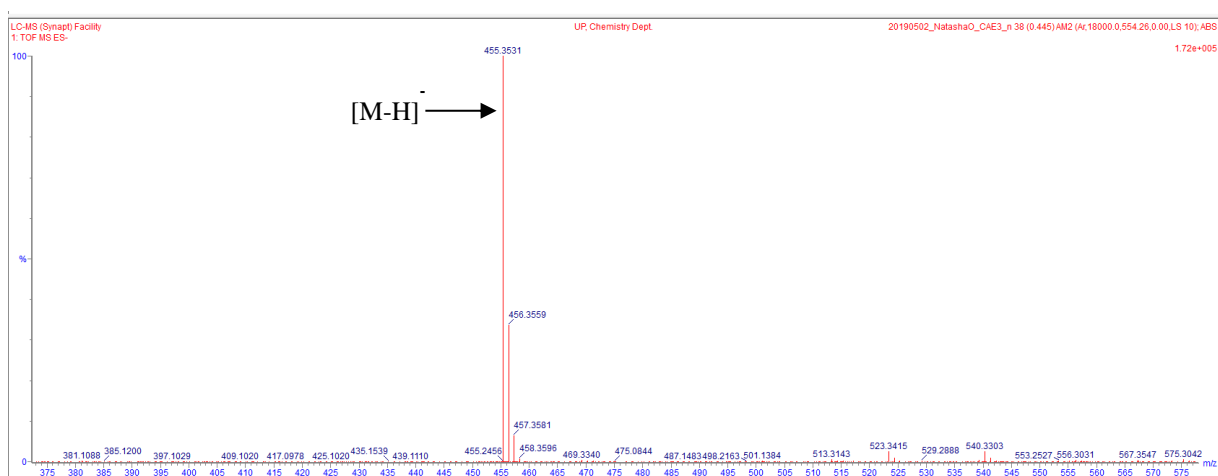
**Tableau 17 : Comparaison des données RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C du composé CAE3 avec celles de la littérature (Zhong et al., 1984)**

N°	Expérimental (400-100 MHz CDCl <sub>3</sub> )		Littérature (500-125 MHz CDCl <sub>3</sub> )		N°	Expérimental (400-100 MHz CDCl <sub>3</sub> )		Littérature (500-125 MHz CDCl <sub>3</sub> )	
	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$		$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$
1	0,92 m	38,8	0,90 m	38,7	16	1,37 m	33,3	1,35 m	32,2
	1,68 m		1,65 m			1,42 m		1,45 m	
2	0,97 m	27,5	1,52 m	27,4	17	-	59,4	-	56,3
	1,61 m		1,67 m		18	1,49 m	48,2	1,36 m	49,6
3	3,18 dd, (11,3 ; 4,9)	79,1	3,15dd, (11)	79,0				1,37 m	
4	-	39,0	-	38,9	19	2,87 td, (11,1 ; 5,8)	47,6	2,80 m	49,3
5	0,67 m	55,4	0,67 m	55,4		1,44 m		1,45 m	
6	1,39 m	18,4	1,37 m	18,3	20	-	149,8	-	150,4
	1,53 m		1,52 m		21	1,35 m	29,4	1,30 m	29,8
7	1,40 m	34,4	1,39 m	34,3		1,90 m		1,91 m	
8	-	40,9	-	40,7	22	1,28 m	33,4	1,18 m	37,0
9	1,25 m	50,6	1,25 m	50,5		1,37 m		1,37 m	
10	-	37,3	-	37,2	23	0,97 s	28,1	0,95 s	28,0
11	0,83 m	20,9	1,20 m	20,9	24	0,75 s	15,5	0,95 s	15,3
			1,40 m		25	0,81 s	16,2	0,80 s	16,1
12	1,03 m	25,6	1,06 m	25,5	26	0,91 s	16,0	0,90 s	16,0
	1,68 m		1,62 m		27	0,96 s	14,4	0,73 s	14,7
13	1,60 m	38,8	1,66 m	38,4	28	9,67 s	206,8	9,65 s	197,2
14	-	42,7	-	42,4	29	4,62	110,3	4,60	109,3
15	1,24 m	30,1	1,05 m	30,6		4,76 d, (2.2)		4,72 br.s	
	1,42 m		1,60 m		30	1,69 s	19,1	1,68 s	19,4



### c) Identification du composé CAE4

Le composé **CAE4**, isolé des écorces de *C. arereh* Delile, se présente sous forme de solide blanc soluble dans le méthanol et répond positivement au test de Liebermann-Burchard caractéristique des triterpènes. Il a été identifié par une analyse détaillée des données des spectres RMN  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$  et HR-ESIMS et toutes ces données ont été comparées à celles de la littérature. La formule brute du composé **CAE4**,  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ , a été déduite de son spectre de masse HR-ESIMS. Le pic de l'ion moléculaire  $[\text{M}-\text{H}]^-$  a été obtenu à  $m/z$  455,3531 ce qui confirme le poids moléculaire du composé isolé à 455,3525 masse calculée pour  $\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{O}_3$  (Karan et al., 2018; Cichewicz et Kouzi, 2004).



**Figure 56 : Spectre HR-ESIMS du composé CAE4**

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **CAE4** présente des signaux identiques à ceux du composé **CAE3** (betulinal) précédent, excepté le signal de proton du groupe aldéhyde à  $\delta_{\text{H}}$  9,67 qui n'apparaît plus. Il a montré six singulets de méthyle tertiaire à  $\delta_{\text{H}}$  0,64 ; 0,76 ; 0,86 ; 0,87 ; 0,93 ; 1,64 un groupe hydroxyle secondaire à  $\delta_{\text{H}}$  2,95 et deux protons oléfiniques à  $\delta_{\text{H}}$  4,56 et 4,69 représentant une double liaison exocyclique.

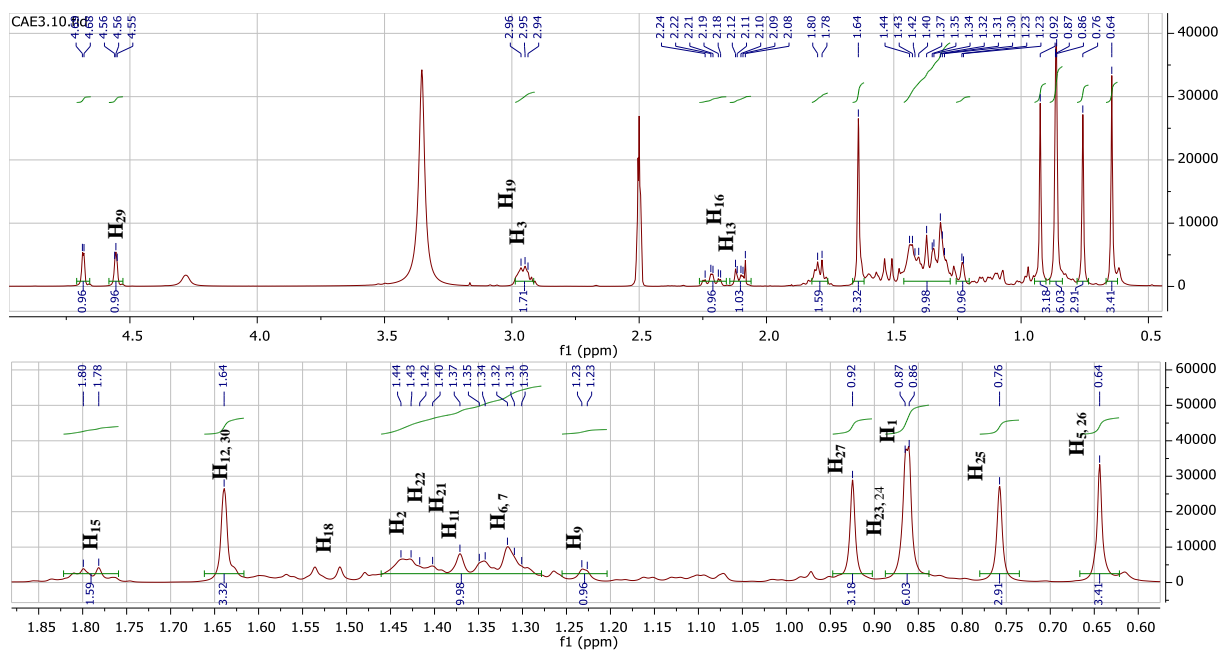


Figure 57 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé CAE4

Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  a confirmé la présence de signaux de vinyle à  $\delta_{\text{H}}$  150,3 et 109,7 (double liaison) et l'alcool secondaire à  $\delta_{\text{H}}$  76,8 ppm. L'apparition d'un groupe carbonyle à  $\delta_{\text{C}}$  177,8 dans le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  suggère la présence du groupe acide dans sa structure (Cichewicz et Kouzi, 2004; Karan et al., 2018).

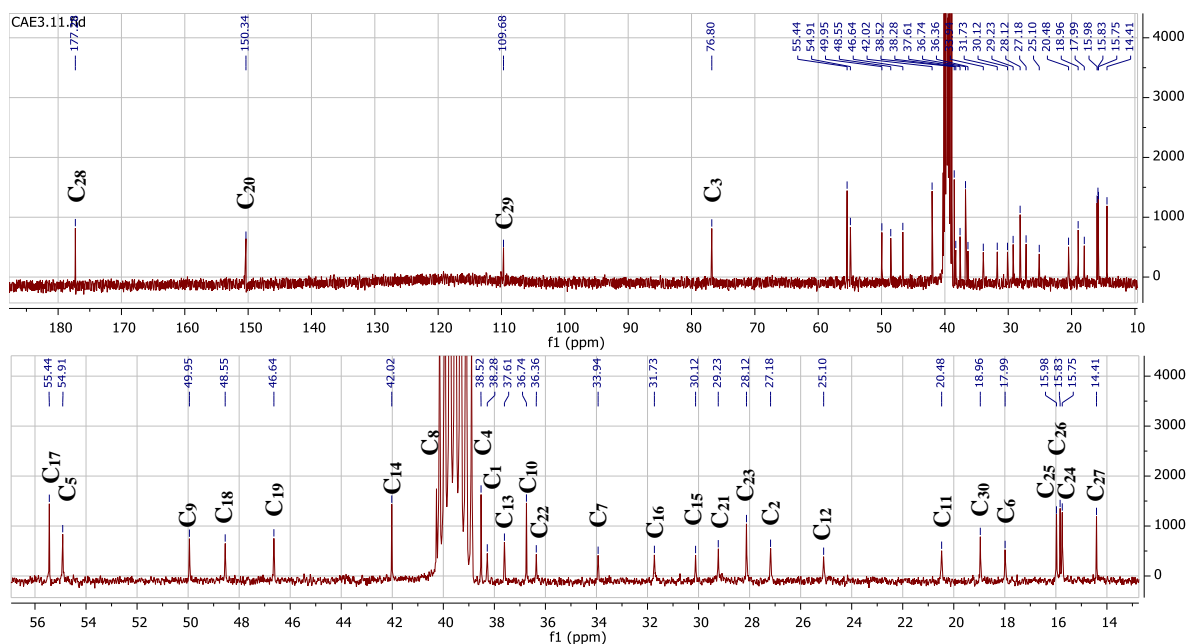
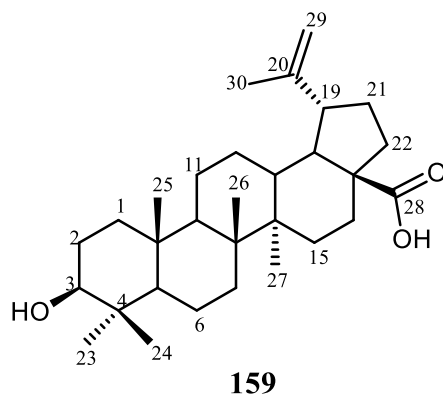


Figure 58 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé CAE4

Sur la base des données spectrales qui précèdent, le composé **CAE4** a été identifié comme étant de l'acide bétulinique, ce qui a été corroboré par les données physiques et spectrales rapportées dans la littérature (Jamila et al., 2014; Jung et al., 2014).



### Acide Bétulinique

**Tableau 18 : Comparaison des données RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C du composé CAE4 avec celles de la littérature (Jamila et al., 2014)**

N°	Expérimental (400-100 MHz DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )		Littérature (500-125 MHz pyridine- <i>d</i> <sub>5</sub> )		N°	Expérimental (400-100 MHz DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )		Littérature (500-125 MHz pyridine- <i>d</i> <sub>5</sub> )	
	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$		$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$
<b>1</b>	<b>0,86 m</b>	<b>38,2</b>	0,99 m	39,3	<b>16</b>	<b>1,37 m</b>	<b>31,7</b>	1,55 m	32,8
	<b>1,54 br</b>		1,67 d (12,9)	<b>2,12 m</b>		2,63 m			
<b>2</b>	<b>1,43 m</b>	<b>27,1</b>	1,85 m	28,3	<b>17</b>	-	<b>55,4</b>	-	56,6
<b>3</b>	<b>2,96 br</b>	<b>76,8</b>	3,45 t (8.0)	78,1	<b>18</b>	<b>1,52 m</b>	<b>48,5</b>	1,77 t (11.5)	49,8
<b>4</b>	-	<b>38,5</b>	-	39,5	<b>19</b>	<b>2,95 m</b>	<b>46,6</b>	3,52 m	47,7
<b>5</b>	<b>0,62 m</b>	<b>54,9</b>	0,82 m	55,1				1,45 m	
<b>6</b>	<b>1,44 m</b>	<b>17,9</b>	1,38 m	18,8	<b>20</b>	-	<b>150,3</b>	-	151,3
	<b>1,32 m</b>		1,56 m	<b>21</b>	<b>1,09 m</b>	<b>29,2</b>	1,53 m	31,2	
<b>7</b>	<b>1,32 m</b>	<b>33,9</b>	1,56 m	34,8		<b>1,38 m</b>		2,24 m	
			1,38 m						
<b>8</b>	-	<b>40,2</b>	-	41,1	<b>22</b>	<b>1,42 m</b>	<b>36,3</b>	1,57 m	37,5
<b>9</b>	<b>1,24 m</b>	<b>49,9</b>	1,38 m	50,9		<b>1,79 m</b>		2,25 m	
<b>10</b>	-	<b>36,7</b>	-	37,5	<b>23</b>	<b>0,87 s</b>	<b>28,1</b>	1,22 s	28,6
<b>11</b>	<b>1,20 m</b>	<b>20,4</b>	1,21 m	21,6	<b>24</b>	<b>0,86 s</b>	<b>15,7</b>	1,00 s	16,3
	<b>1,36 m</b>		1,43 m	<b>25</b>	<b>0,76 s</b>	<b>15,9</b>	0,83 s	16,4	
<b>12</b>	<b>0,96 m</b>	<b>25,1</b>	1,21 m	26,1	<b>26</b>	<b>0,64 s</b>	<b>15,8</b>	1,06 s	16,4
	<b>1,62 m</b>		1,94 m	<b>27</b>	<b>0,93 s</b>	<b>14,4</b>	1,07 s	14,9	
<b>13</b>	<b>2,21 td (12,3; 3,6)</b>	<b>37,6</b>	2,74 m	38,6	<b>28</b>	-	<b>177,8</b>	-	178,8
<b>14</b>	-	<b>42,0</b>	-	42,8	<b>29</b>	<b>4,69 d (2,5)</b>	<b>109,7</b>	4,94 d (2,4)	109,9
<b>15</b>	<b>1,31 m</b>	<b>30,1</b>	1,26 m	30,2		<b>4,56 brd</b>		4,77 d (2,4)	
	<b>1,80 m</b>		1,88 m	<b>30</b>	<b>1,64</b>	<b>18,9</b>	1,80 s	19,5	



#### d) Identification du composé CAE2

Le composé **CAE2**, isolé des écorces du tronc de *C. arereh* Delile, a été obtenu sous forme de poudre blanche. Soluble dans le chloroforme, il répond positivement au test de Liebermann-Burchard caractéristique des triterpènes. Son spectre HR-ESIMS en mode positif révèle le pic majoritaire comme étant un ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  443,3166 qui correspond à la formule moléculaire  $C_{30}H_{51}O_2$  (masse calculée 443,3189 pour  $C_{30}H_{51}O_2$ ).

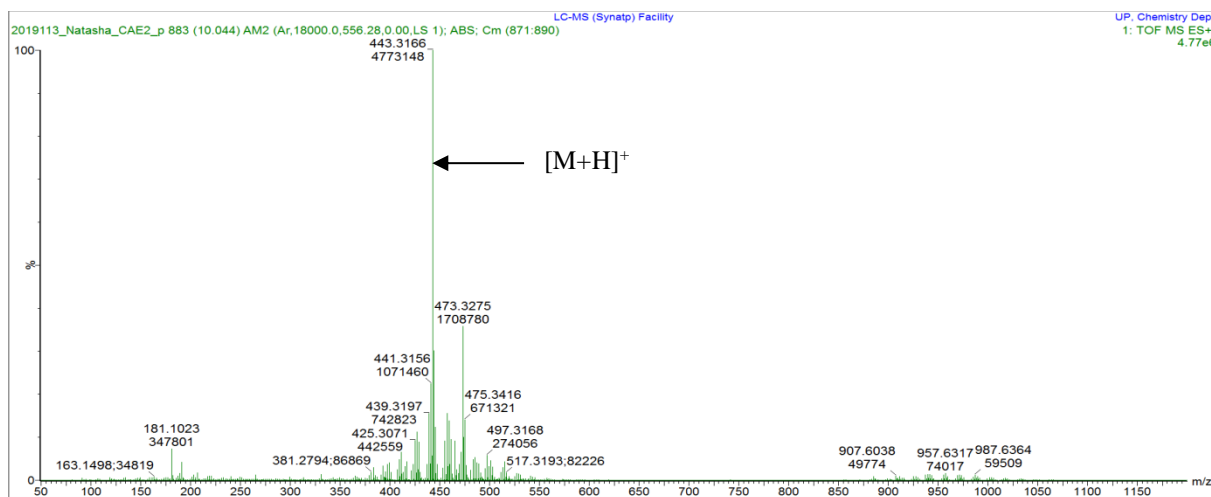
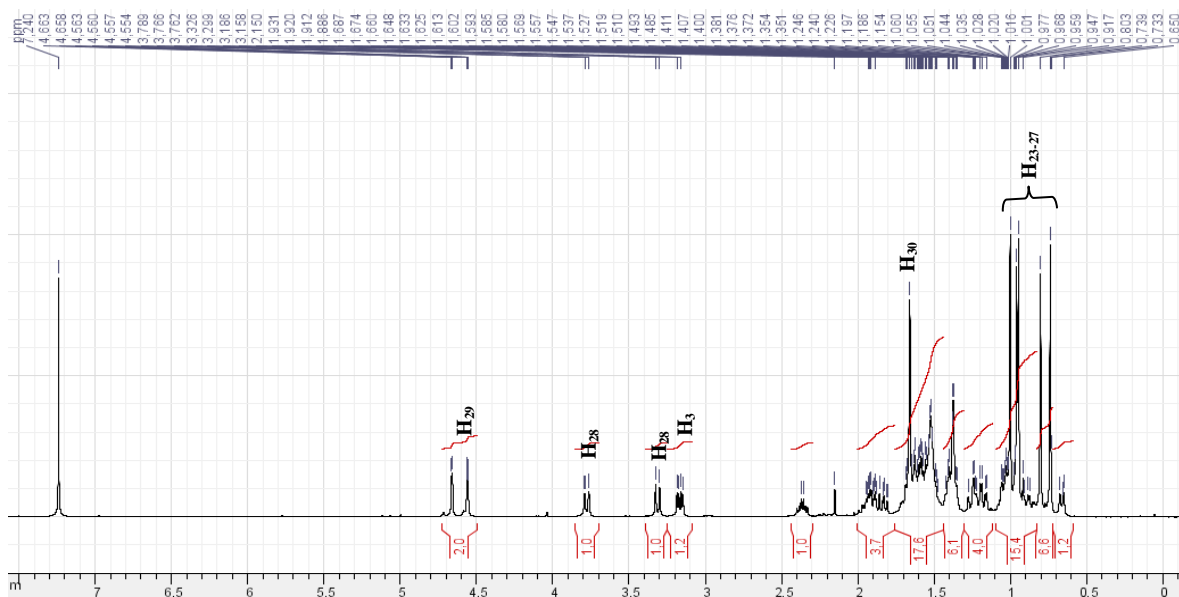


Figure 59 : Spectre HR-ESIMS du composé CAE2

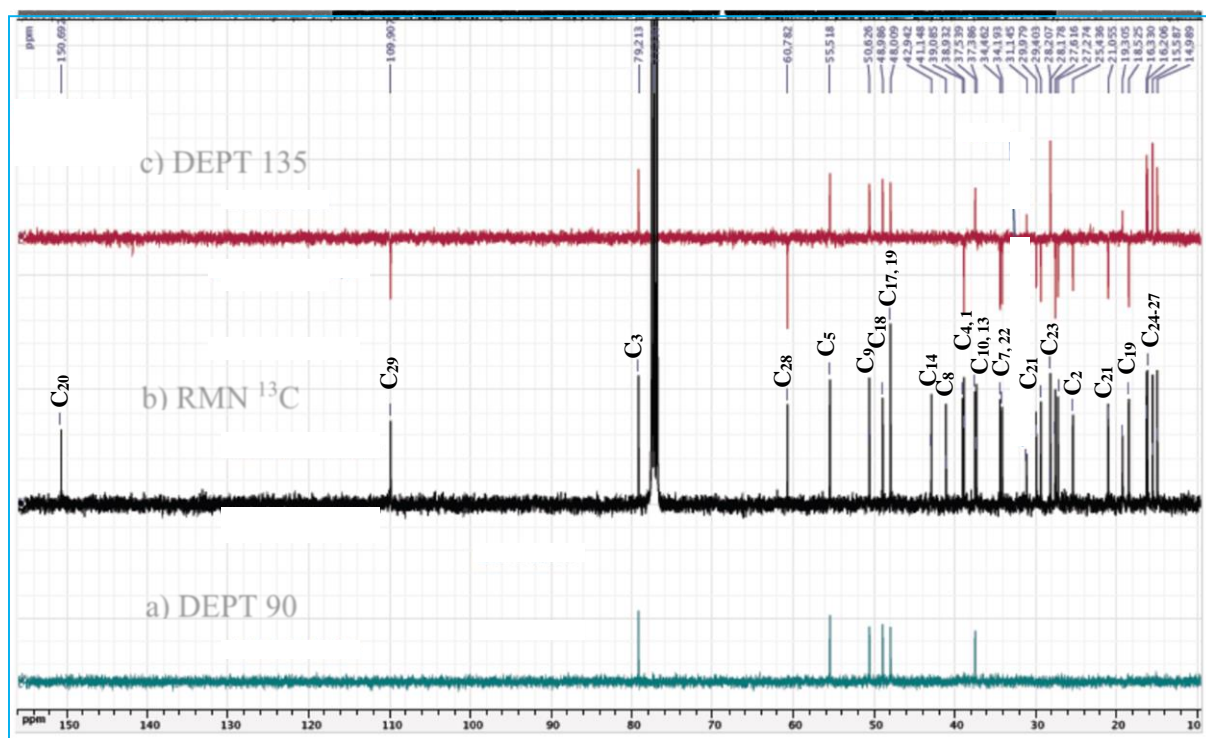
La comparaison des données spectrales de RMN  $^1H$  avec celles du composé l'acide bétulinique, révèle de nombreuses similitudes mais également quelques différences. Comme éléments de similitude, on note sur ce spectre, la présence de 5 méthyles angulaires et d'un groupement isopropényle dont les signaux résonnent à  $\delta_H$  4,66(1H, *s*, H-29a) et 4,56(1H, *s*, H-29b) et le méthyle à  $\delta_H$  1,64 (3H, *s*, H-30). On observe également un proton hydroxyméthine à  $\delta_H$  3,17 (1H, *dd*,  $J = 11,0$  et  $5,2$  Hz, H-3). L'ensemble de ces données plaide en faveur de l'existence au sein de ce composé d'un squelette de type lupane.

La différence entre les deux composés, réside en la présence sur le spectre de RMN  $^1H$  d'un système AB caractéristique des protons de l'hydroxyméthylène apparaissant à  $\delta_H$  3,78 (1H, *d*,  $J = 10,8$  Hz, H-28a) et  $\delta_H$  3,31 (1H, *d*,  $J = 10,8$  Hz, H-28b) attribuable aux protons en position C-28. Ce qui montre que la fonction acide de l'acide bétulinique a été remplacée par un hydroxyméthylène sur le composé **CAE2**.



**Figure 60 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé CAE2**

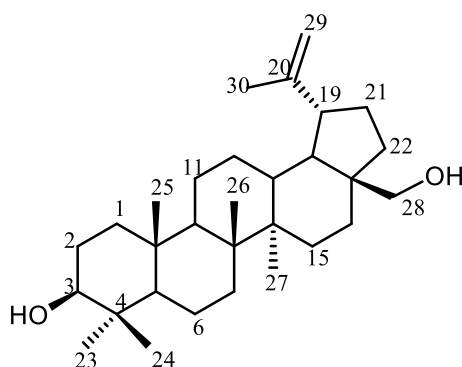
Sur le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  on note la disparition du signal à  $\delta_{\text{C}}$  117,8 et l'apparition d'un signal à  $\delta_{\text{C}}$  60,8 ppm caractéristique de l'hydroxyméthylène.



**Figure 61 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$ , DEPT (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé CAE2**



Sur la base de toutes ces données spectroscopiques, et en comparaison avec celles de la littérature (Ayatollahi *et al.*, 2009), la structure **160** a été attribuée au composé **CAE2** qui est celle de lup-20(29)-èn-3 $\beta$ ,28-diol (bétuline).



**160**

**Bétuline**

**Tableau 19 : Comparaison des données RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C du composé CAE2 avec celles de la littérature (Ayatollahi et al., 2009)**

N°	Expérimental (400-100 MHz CDCl <sub>3</sub> )		Littérature (500-125 MHz CDCl <sub>3</sub> )		N°	Expérimental (400-100 MHz CDCl <sub>3</sub> )		Littérature (500-125 MHz CDCl <sub>3</sub> )	
	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$		$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$
1	0,83 m	38,9	0,88 m	38,7	16	1,37 m	29,4	1,92 m	29,2
	1,54 m		1,63 m			2,13 m		1,19 m	
2	1,43 m	27,6	1,57 m	27,4	17	-	48,0	-	47,8
	2,96 br		1,52 m			1,52 m		48,8	
3	3,17 dd (5,0 ; 11,2)	79,2	3,18 dd (11,1 ; 5,58)	79,0	18	1,52 m	48,9	1,56 m	48,8
						2,95 m			
4	-	39,1	-	38,9	19		48,0	2,37 ddd, (5,7, 11,0)	47,8
5	1,44 m	55,5	0,67 m	55,3		20		-	
6	1,32 m	18,5	1,51 m	18,3	21	1,09 m	30,0	1,9 m	29,7
	1,32 m		1,37 m			1,38 m		1,42 m	
7		34,5	1,38 m	34,2	22	1,42 m	34,2	1,02 m	34,0
						1,79 m		1,82 m	
8	-	41,1	-	40,9	23	0,86 s	28,2	0,95s	28,0
9	1,24 m	50,6	1,26 m	50,3		24		0,86 s	
10	-	37,4	-	37,1	25	0,76 s	16,3	0,8 s	16,1
11	1,20 m	21,0	1,42 m	20,8		26		0,64 s	
	1,36 m		1,24 m		27	0,93 s	15,0	0,96 s	14,7
12	0,96 m	25,4	1,01 m	25,2	28	3,78 d (10,8)	60,8	3,79 dd (10,7 ; 4,3)	60,5
	1,62 m		1,63 m			3,31 d (10,8)		3,31dd (10,7 ; 3,7)	
13	2,21 td (12,3; 3,6)	37,5	1,62 m	37,3	29	4,66 s	109,9	4,66 s	109,7
								4,56 s	
14	-	42,9	-	42,73	30	1,64 s	19,3	1,66 s	19,1
15	1,31 m	27,2	1,67 m	27,03					
	1,80 m		1,03 m						



### e) Détermination du composé CAE8

Le composé **CAE8**, obtenu sous forme d'un solide blanc soluble dans le méthanol, a été isolé des écorces du tronc de *C. arereh* Delile et répond positivement au test de Liebermann-Burchard caractéristique des triterpènes. Sa formule brute  $C_{30}H_{50}O_4$  a été obtenue à partir du pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z$  473,3649  $[M-H]^-$  (calculé pour  $C_{30}H_{49}O_4$ : 473,3631) observé sur le spectre HR-ESIMS mode négatif (figure 62) et renferme six degrés d'insaturations.

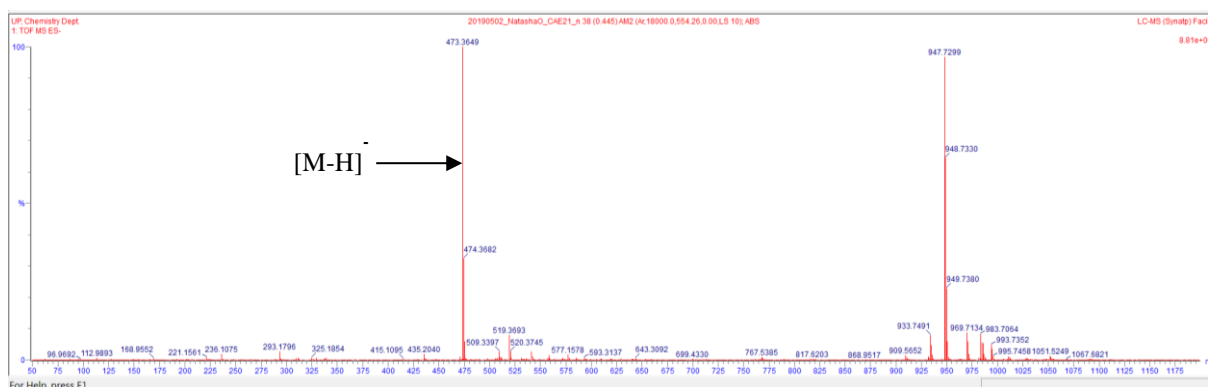
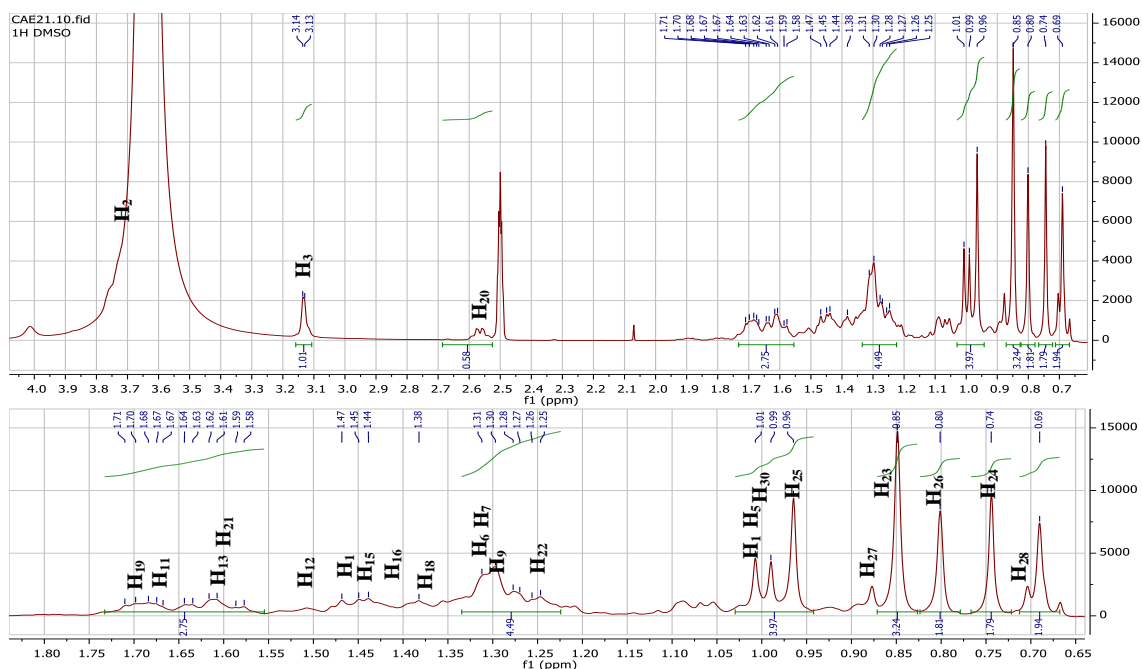


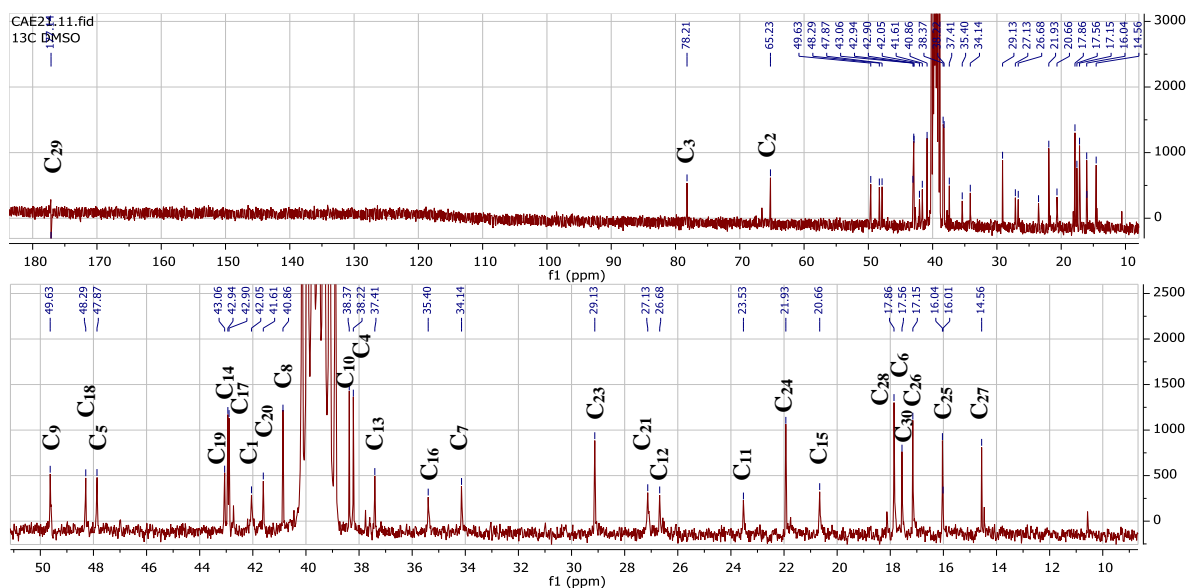
Figure 62 : Spectre HR-ESIMS du composé CAE8

Une analyse détaillée du spectre RMN  $^1H$  de **CAE8** a confirmé les signaux caractéristiques d'un squelette triterpénique de type lupane. Il est caractérisé par six signaux de groupes méthyles tertiaires à  $\delta_H$  0,70 ; 0,75 ; 0,81 ; 0,85 ; 0,86 et 0,97 (3H chacun, *s*, Me-28, Me-24, Me-26, Me-23, Me-27 et Me-25), un méthyle secondaire à  $\delta_H$  1,00 (3H, *d*,  $J = 6,9$  Hz, Me-28), deux protons carbinoliques à  $\delta_H$  3,14 et 3,75 (1H chacun, *d*, H-3 et H-2). De plus, on note l'absence de dérivé de protons de type lupényle  $H_{\beta}$ -19 à  $\delta_H$  2,38 comme décrit pour les composés dérivés du lupéol (Pereira et al., 1996). Pour le composé **CAE8**, à la place du groupement isoprényle, on note la présence d'un groupement isopropyloïque caractérisé par un déplacement du méthine H-20 à  $\delta_H$  2,57 (1H, *m*) vers les champs faibles et le déplacement vers les champs forts du signal du méthyle en position 28.

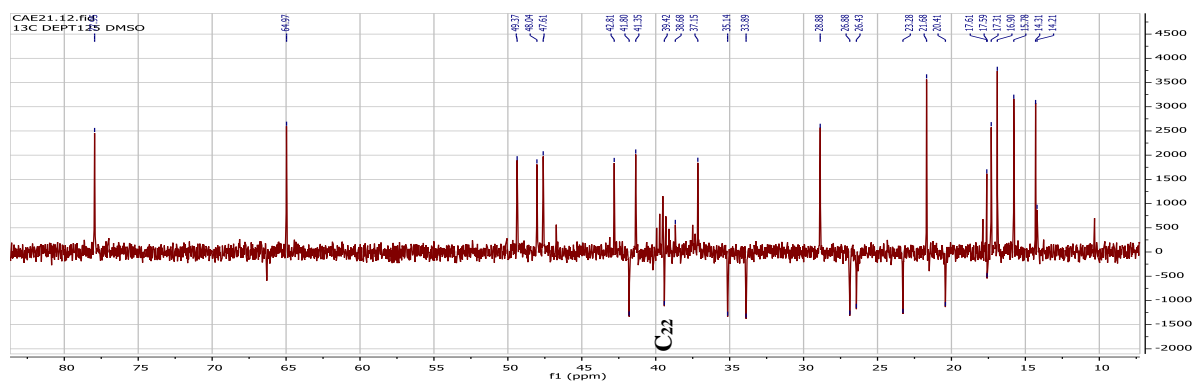


**Figure 63 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé CAE8**

Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  et DEPT ont révélé 30 signaux de carbone. Le squelette de CAE8 a été confirmé comme celui d'un triterpénoïde de type lupane par analyse couplée RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (tableau 20), mais sans les carbones isoprényliques typiques à  $\delta_{\text{C}}$  151,9 (C-20) et 110,3 (C-29) (Pereira et al., 1996; Prakash et Prakash, 2012). On dénombre sept carbones de méthyles à  $\delta_{\text{C}}$  14,5 ; 16,0 ; 17,1 ; 17,5 ; 17,9 ; 21,9 ; 29,1 ; deux carbones oxyméthines à  $\delta_{\text{C}}$  65,2 et 78,2 et un signal carboxyle à  $\delta_{\text{C}}$  177,1.

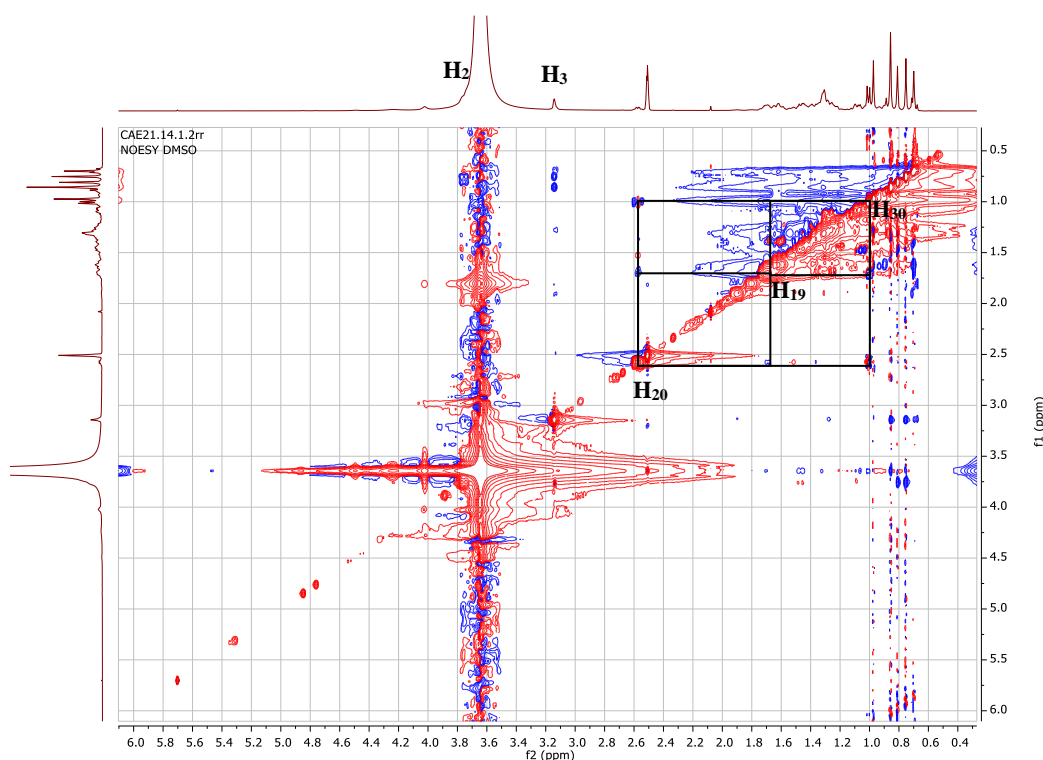


**Figure 64 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé CAE8**

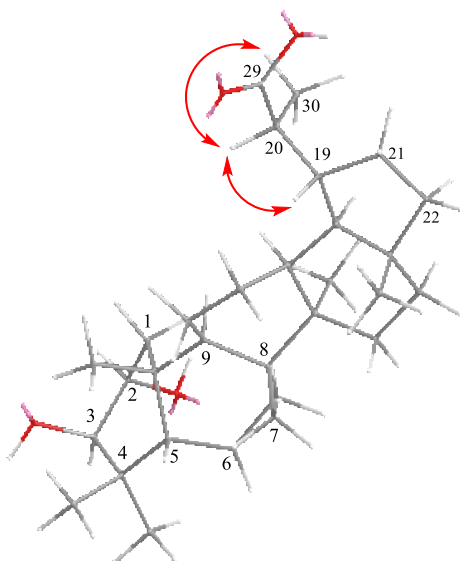


**Figure 65 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  DEPT135 (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé CAE8**

La configuration des groupes hydroxyles,  $2\beta$  et  $3\alpha$ , a été établie sur la base de l'absence d'interactions entre H-2 et H-3 dans l'expérience NOESY dans un premier temps et d'autre part, l'absence de couplage spin-spin diaxial illustré par la faible valeur  $J$  de H-3 ( $J = 2,5$  Hz) (qui indique une position équatoriale des deux protons H-2 et H-3) (Culioli et al., 2003) (Fig. 63). Ceci est en accord avec les valeurs des données spectrales de la littérature (Schmidt et al., 1995; Adnyana et al., 2000; Rungsimakan et Rowan, 2014).



**Figure 66 : Spectre NOESY (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé CAE8**



### Schéma 5 : Principales corrélations NOESY observées du composé CAE8

Dans le spectre HMBC, le signal du proton H-1 à  $\delta_H$  1,46 corrèle avec les carbones C-2 ( $\delta$  65,2), C-3 ( $\delta$  78,2), C-5 ( $\delta$  47,8) et C-10 ( $\delta$  38,2); le proton H-2 à  $\delta_H$  3,75 (1H, *m*) est en corrélation avec le carbone C-1 ( $\delta$  42,0) confirmant la position de ces protons de méthine alcoolique. La localisation de la fonction acide carboxylique en C-29 a été réalisée grâce à l'observation sur le spectre HMBC des corrélations  $^{2,3}J_{C-H}$  entre H-19 à  $\delta_H$  1,70 et H-20 à  $\delta_H$  2,57 et les carbones C-29 ( $\delta$  177,1) et C-30 ( $\delta$  17,5); le proton H-30 à  $\delta_H$  1,00 étant en corrélation avec le carbone C-29 ( $\delta$  177,1) (figure 64).

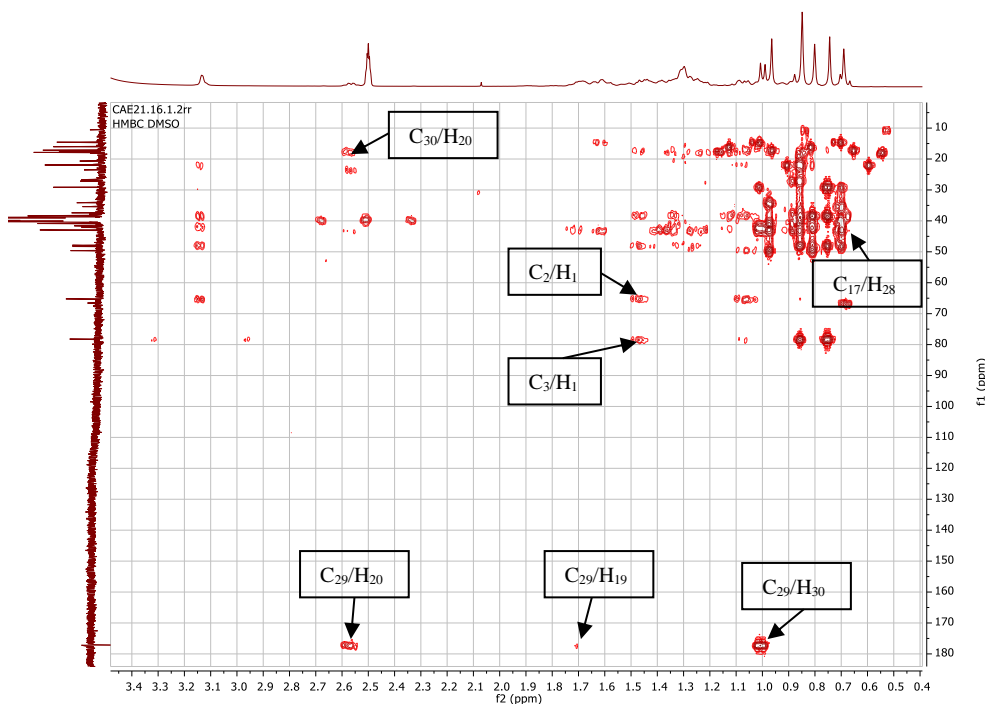


Figure 67 : Spectre HMBC (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé CAE8

De plus, le spectre COSY de **CAE8** a montré les corrélations entre les protons H-18 et H-19, H-19 et H-20, H-20 et H-30 confirmant la liaison C-19 / C-20 entre le groupe isopropylé et le squelette de lupane.

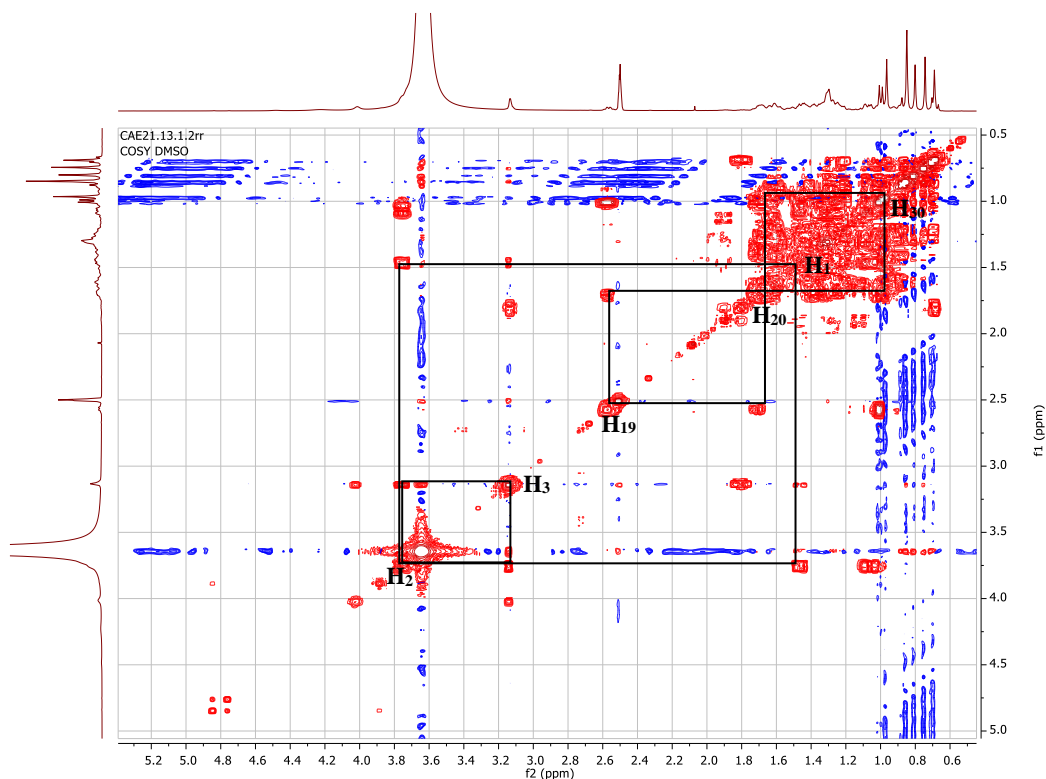


Figure 68 : Spectre COSY (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) du composé CAE8

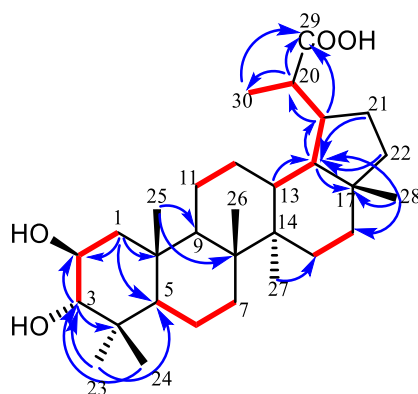
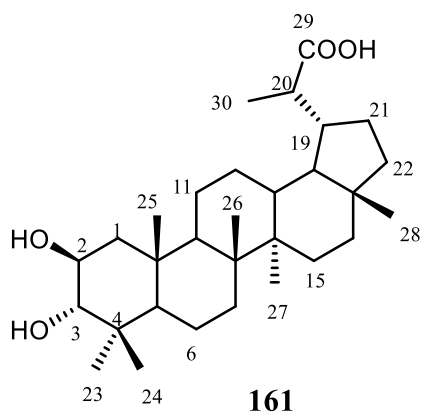


Schéma 6 : Principales corrélations COSY (Rouge) et HMBC (Bleue) observées du composé CAE8

Sur la base de ces données spectrales, et par comparaison avec la littérature, le composé **CAE8** a été caractérisé comme l'acide 2 $\beta$ ,3 $\alpha$ -dihydroxylupane-29-oïque, pour lequel le nom trivial acide cassarique a été proposé. À notre connaissance, c'est la première fois que ce composé est isolé.



Acide cassiarique

**Tableau 20 : Données RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) et RMN <sup>13</sup>C (100 MHz) du composé CAE8 dans le DMSO-*d*<sub>6</sub> ( $\delta$  en ppm; *J* en Hz).**

Position	$\delta_C$	$\delta_H$ ( $\delta$ en ppm; <i>J</i> en Hz)	HMBC (C→H)	Position	$\delta_C$	$\delta_H$ ( $\delta$ en ppm; <i>J</i> en Hz)	HMBC (C→H)
1	42,0	1,08 <i>m</i> 1,46 <i>m</i>	-	16	35,4	1,22 <i>m</i> 1,41 <i>m</i>	H-28 -
2	65,2	3,75 <i>m</i>	H-1 ; H-3	17	42,9	-	H-18 ; H-28
3	78,2	3,14 <i>br.d</i> (2,5)	H-23 ; H-24	18	48,2	1,37 <i>m</i>	H-13 ; H-21 ; H-22 ; H-28
4	38,3	-	H-3	19	43,0	1,70 <i>m</i>	H-18
5	47,8	1,09 <i>m</i>	H-1 ; H-23	20	41,6	2,57 <i>m</i>	-
6	17,8	1,09 <i>m</i> 1,32 <i>m</i>	-	21	27,1	0,91 <i>m</i> 1,61 <i>m</i>	- -
7	34,1	1,31 <i>m</i>	-	22	39,6	1,00 <i>m</i> 1,25 <i>m</i>	- -
8	40,8	-	H-25	23	29,1	0,85 <i>s</i>	-
9	49,6	1,30 <i>m</i>	H-25	24	21,9	0,75 <i>s</i>	-
10	38,2	-	H-1	25	16,0	0,97 <i>s</i>	-
11	23,5	1,69 <i>m</i> -	-	26	17,1	0,81 <i>s</i>	-
12	26,6	1,33 <i>m</i> 1,52 <i>m</i>	-	27	14,5	0,86 <i>s</i>	-
13	37,4	1,62 <i>m</i>	-	28	17,9	0,70 <i>s</i>	-
14	42,9	-	-	29	177,1	-	H-19 ; H-20 ; H-30
15	20,6	1,31 <i>m</i> 1,45 <i>m</i>	H-27 -	30	17,5	1,00 <i>d</i> (6,9)	H-19 ; H-20



## f) Identification du composé CAE6

Le composé **CAE6**, isolé des écorces du tronc de *C. arereh* Delile, a été obtenu sous forme d'aiguilles incolores. Soluble dans l'acétone, il répond positivement au test de Liebermann-Burchard caractéristique des triterpènes. Son spectre HR-ESIMS (Fig. 69) a montré un adduit de l'ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  487,3427  $[M+H]^+$  (masse calculée 487,3423 pour  $C_{30}H_{47}O_5$ ) correspondant à la formule brute  $C_{30}H_{46}O_5$  et renfermant 8 degrés d'insaturations.

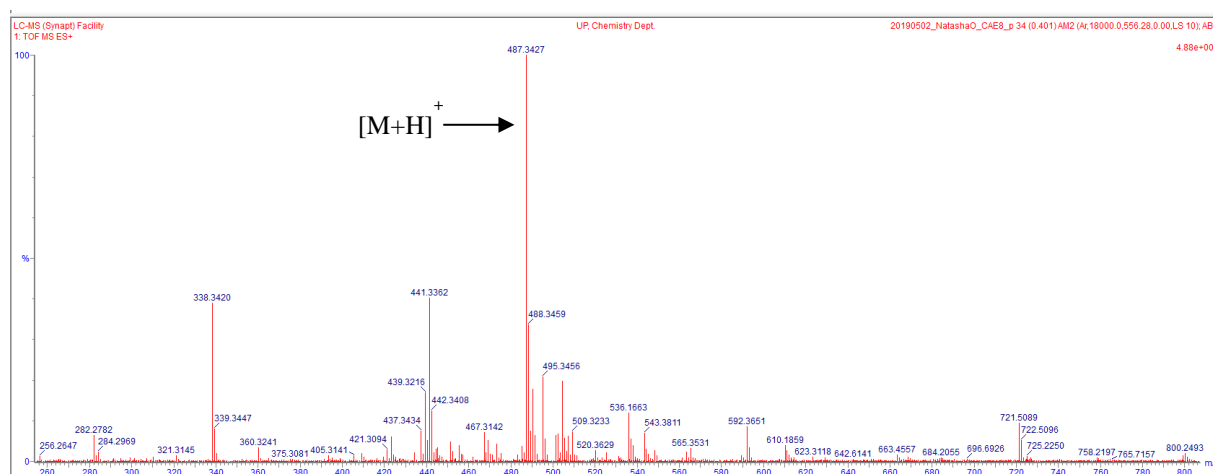
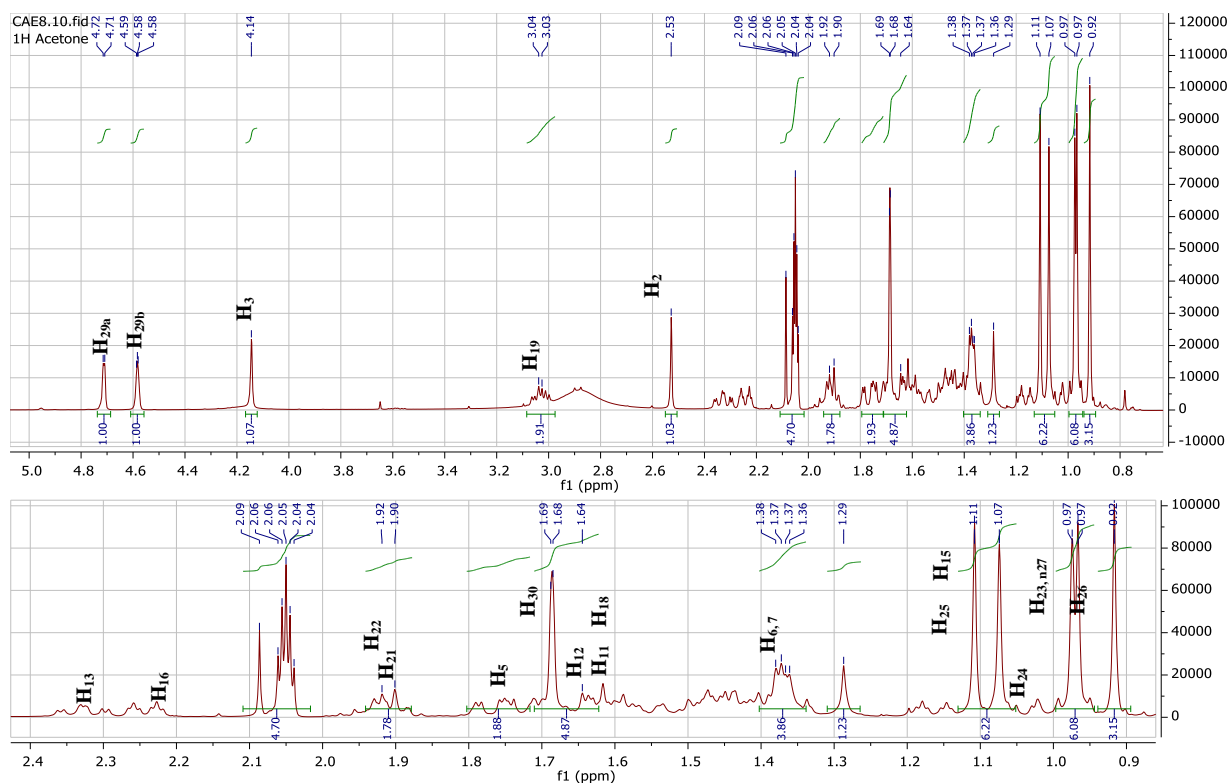


Figure 69 : Spectre HR-ESIMS du composé CAE6

Le spectre RMN  $^1H$  de **CAE6** (fig. 70) révèle la présence de six groupes méthyles à  $\delta_H$  0,92 (3H, *s*, H-26), 0,97 (2 x 3H, *s*, H-23/27), 1,06 (3H, *s*, H-24), 1,11 (3H, *s*, H-25) et 1,69 (3H, *s*, H-30), un proton de carbinol méthine à  $\delta_H$  4,14 (1H, *s*, H-3) et deux protons oléfiniques à  $\delta_H$  4,58 (1H, *d*,  $J = 2,4$  Hz, 29a) et 4,72 (1H, *d*,  $J = 2,4$  Hz, 29b). Il diffère du composé **CAE4** (acide bétulinique) par un déplacement vers les champs faibles des signaux de protons à  $\delta_H$  4,14 et 2,53 ppm des protons 2 et 3, traduisant la présence dans leur environnement d'un groupement supplémentaire attracteur d'électrons.





**Figure 70 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, Acetone- $d_6$ ) du composé CAE6**

Son spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (DEPT) (fig. 71) affiche 30 signaux de carbone (6 x  $\text{CH}_3$  ; 9 x  $\text{CH}_2$  ; 7 x  $\text{CH}$  ; 8 x  $\text{C}$ ). Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  a également indiqué la présence de deux groupes carboxyliques à  $\delta_{\text{C}}$  176,4 (s) et 177,5 (s), un groupe isopropényle à  $\delta_{\text{C}}$  151,5 (s), 110,0 (t) et un carbinol méthine à  $\delta_{\text{C}}$  85,0 confirmant ainsi que la structure de **CAE6** possédait les caractéristiques du triterpénoïde de type lupane. La position du groupement carboxyle (COOH-1)  $\delta_{\text{C}}$  176,4 a été confortée par les corrélations HMBC en  $^2\text{-}^3J_{\text{C-H}}$  avec les protons H-2 et H-3  $\delta_{\text{H}}$  2,53 et 4,14 respectivement.

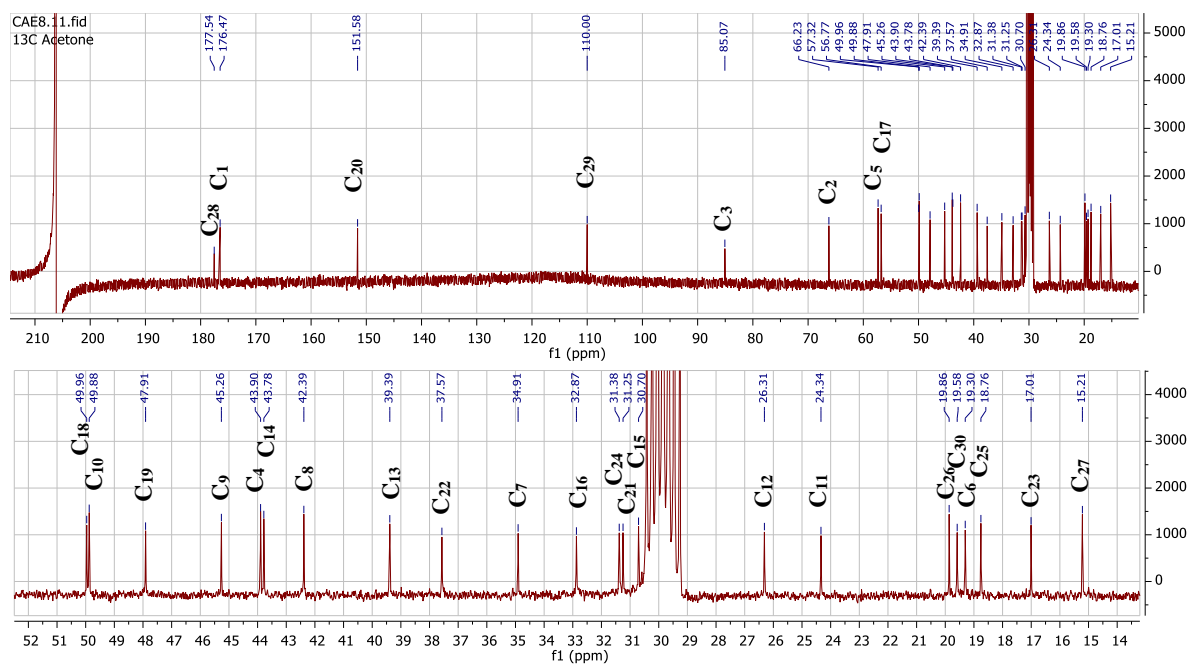


Figure 71 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, Acetone- $d_6$ ) du composé CAE6

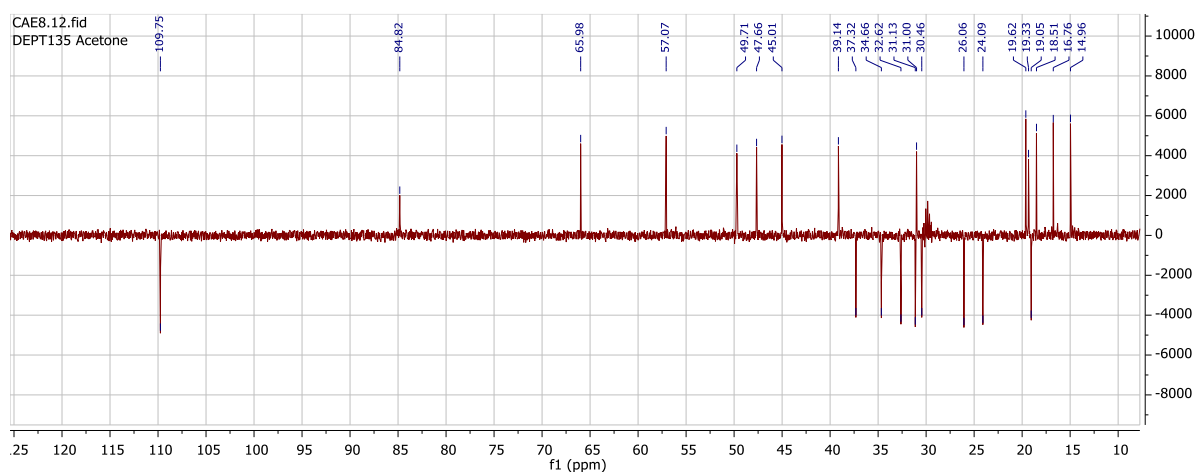
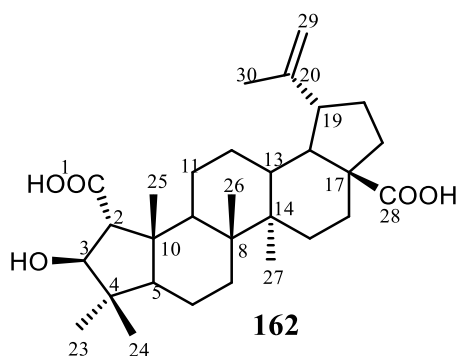


Figure 72 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  DEPT (100 MHz, Acetone- $d_6$ ) du composé CAE6

Sur la base des données spectrales qui précèdent, la structure du composé **CAE6** a été identifiée comme étant de l'acide ceanothique, ce qui a été corroboré par les données physiques et spectrales rapportées dans la littérature (Rambabu et al., 2011; Jagadeesh et al., 2000).



**Acide ceanothique**

**Tableau 21 : Comparaison des données RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé CAE6 avec celles de la littérature (Rambabu et al., 2011).**

N°	Expérimental (400-100 MHz Acetone- $d_6$ )		Littérature (500-125 MHz pyridine- $d_5$ )		N°	Expérimental (400-100 MHz Acetone- $d_6$ )		Littérature (500-125 MHz pyridine- $d_5$ )	
	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$		$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_C$
1		176,4	-	178,4	16	1,44 m ; 2,23 m	32,8	1,50 ; 2,61 d (11,4)	33,3
2	2,53 s	66,2	3,22 m	67,4	17		56,7	-	57,0
3	4,14 s	85,0	4,84 m	85,1	18	1,61 m	49,9	1,71 m	50,1
4		43,9	-	44,2	19	3,02 m	47,9	3.51 d (2,3)	48,0
5	1,72	57,3	2,23 d, (2,8)	57,4	20	-	151,5	-	
6	1,36 m	19,3	1,45 m	19,5	21	1,36 m	31,3	1,50 m	31,7
7	-		-			1,90 m		2,23	
8	1,36 m	34,9	1,54 m	35,1	22	1,47 m	37,5	1,50 m	38,0
9	-	43,2	-	42,5		1,91 m		2,23	
10	-	45,2	2,23 d (2,8)	45,5	23	0,97 s	17,0	1,09 s	17,4
		49,8	-	50,0					
11	1,60 m	24,3	1,60 m	24,6	24	1,06 s	31,2	1,41 s	31,9
	1,42 m		2,11 d (11,4)		25	1,11 s	18,7	1,29 s	19,2
12	1,03 m	26,3	1,34 m	26,6	26	0,92 s	19,8	1,17 s	20,7
	1,65 m		1,98 d (10,5)		27	0,97 s	15,2	1,68 s	15,5
13	2,32 ddd (13,0 ; 11,5 ; 3,6)	39,3	2,79 dd (2,8 ; 8,5 ; 1H)	39,5	28	-	177,5	-	179,3
14	-	43,7	-	43,9	29	4,58 m	110,0	4,68 s	110,1
15	1,16 m	30,7	1,25 m	30,9		4,72 d (2,4)		4,87 d (10,0)	
	1,56 m		1,92 dd (2,8 ; 10,5)		30	1,69 s	19,5	1,44 s	20,0



## 2.1.2.6 Détermination structurale d'autres classes de composés isolés

### a) Identification du composé RAF7

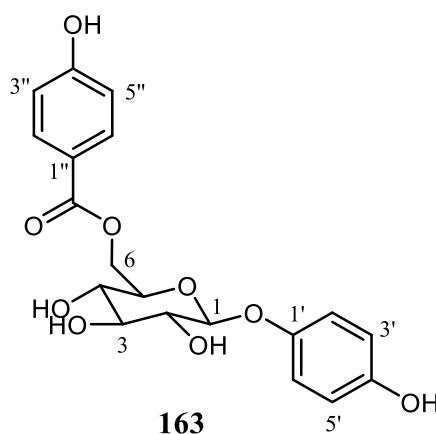
Le composé **RAF7**, isolé des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, se présente sous forme d'un solide amorphe jaune pâle. Sa formule brute, C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>, a été déduite de son spectre de masse haute résolution, et son spectre IR présente des bandes d'absorption caractéristiques à 3325 cm<sup>-1</sup> (hydroxyle), 1632 cm<sup>-1</sup> (carbonyle conjugué) et 1540 cm<sup>-1</sup> (aromatique).

Sur le spectre RMN <sup>1</sup>H du composé **RAF7**, le proton anomérique du sucre apparait sous forme d'un doublet à  $\delta_H$  4,80 (1H, *d*, *J* = 7,3 Hz, H-1), tandis que les signaux des autres protons du sucre ont été trouvés entre  $\delta_H$  3,56 et 4,85. Comme autres substituants on observe un groupe *p*-hydroxybenzoyle [ $\delta_H$  6,66 (2H, *m*, H-2''/6'); 6,95 (2H, *m*, H-3''/5'')] et un groupe *p*-hydroxyphénoxy [ $\delta_H$  7,92 (2H, *m*, H-2'''/6'''); 6,94 (2H, *m*, H-3'''/5''')]. Une confirmation supplémentaire de ces données est venue de l'hydrolyse acide de **RAF7**, qui a donné de l'acide *p*-hydroxybenzoïque, du *p*-hydroxyphénol et un sucre identifié comme glucose.

Son spectre RMN <sup>13</sup>C présente des signaux pour 19 atomes de carbone, parmi lesquels une cétone carbonyle, huit méthines aromatiques, quatre carbones *sp*<sup>2</sup> quaternaires (trois portant un oxygène) et six méthines *sp*<sup>3</sup> (portant chacun un substituant oxygène).

Dans le spectre HMBC du composé **RAF7**, des corrélations ont été observées entre le proton H-1 du glucose et le carbone C-1' du résidu *para*-hydroxyphénol, établissant que la liaison glucosidique est entre C-1 et C-1'. Il a également montré des corrélations entre le benzoyle carbonyle et les protons méthylène du résidu de glucose.

Sur la base des données spectrales ci-dessus, la structure du composé **RAF7** a été identifiée comme étant la lancéoloside A, isolé pour la première fois par Pegnyemb et al. en 1998.

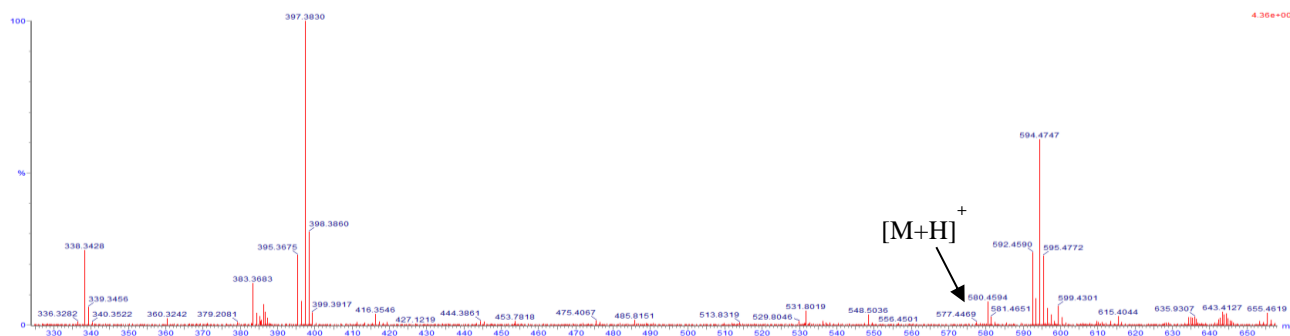


**lancéoloside A**

## b) Identification du composé RAF9

Le composé **RAF9**, isolé des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, se présente sous forme d'une poudre blanche. Soluble dans le méthanol, et répond positivement au test de Liebermann-Burchard caractéristique des stérols. Sa formule brute  $C_{35}H_{60}O_6$  a été déduite de son spectre de masse HR-ESIMS (Fig. 73) qui a montré un adduit de l'ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  577,4469  $[M+H]^+$  (masse calculée 577,4468 pour  $C_{35}H_{61}O_6$ ).

Son spectre IR a montré la présence d'un hydroxyle ( $3430\text{ cm}^{-1}$ ) et d'une liaison C–O ( $1100, 1055\text{ cm}^{-1}$ ), d'une double liaison C=C ( $1629, 883\text{ cm}^{-1}$ ) et des groupements  $CH_2$  et  $CH_3$  ( $2931, 2865, 1465, 1375\text{ cm}^{-1}$ ).

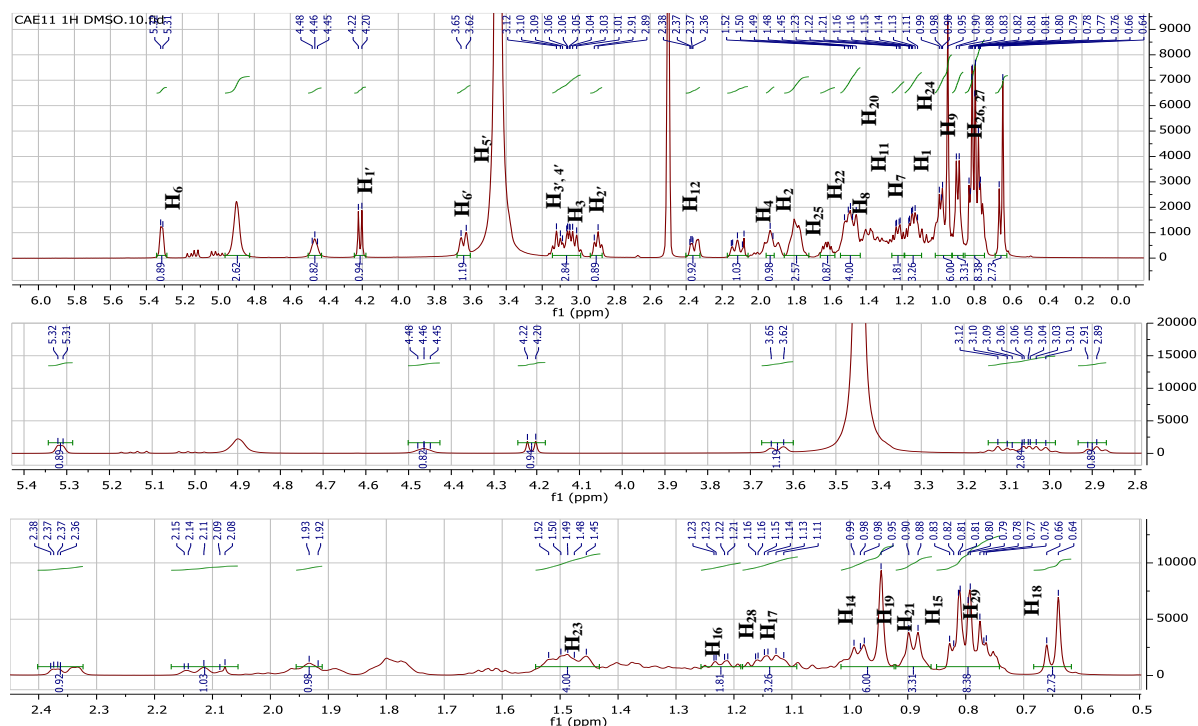


**Figure 73 : Spectre HR-ESIMS du composé RAF9**

Son spectre RMN  $^1H$  révèle la présence de trois signaux méthyles apparaissant sous forme de doublets à  $\delta_H$  0,79 (3H, *d*,  $J = 7,6$  Hz, H-27) ; 0,80 (3H, *d*,  $J = 7,5$  Hz, H-26) et 0,90 (3H, *d*,  $J = 7,5$  Hz, H-21) ; deux signaux de méthyles sous forme de singulets résonant à  $\delta_H$  0,64 (3H, *s*, H-18) et 0,95 (3H, *s*, H-19) , et le signal d'un méthyle terminal  $\delta_H$  0,82 (3H, *m*, H-29) apparaissant sous forme d'un multiplet, un méthine portant un atome d'oxygène à  $\delta_H$  3,06 (1H, *m*, H-3) et un proton oléfinique  $\delta_H$  5,32 (1H, *ld*, H-6) suggérant la présence d'une double liaison sur un squelette stigmastane ou poriférestane (Gupta et Lal, 1981), qui sont des stéréoisomères en C-24.

Le spectre RMN  $^1H$  du composé **RAF9** (Fig. 74) montre la présence d'un proton anomérique H-1' d'une unité glycosidique apparaissant sous forme de doublet à  $\delta_H$  4,22 ; sa liaison  $\beta$  suivie d'une constante de couplage  $J$  à 7,9 Hz, et les protons H-6' méthylènes ont été observés sous forme de deux doublets dédoublés large à  $\delta_H$  3,64 et 3,40 ppm.

Les protons du  $\beta$  glucose apparaissent clairement à  $\delta_H$  2,89 pour H-2',  $\delta_H$  3,12 pour H-3',  $\delta_H$  3,02 pour H-4' et  $\delta_H$  3,45 pour H-5' dans le spectre RMN  $^1H$  du composé **RAF9**, et leur attribution a été rendue aisée grâce au spectre HSQC.



**Figure 74 : Spectre RMN  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) de RAF9**

Le spectre RMN  $^{13}C$  du composé **RAF9** indique 35 signaux de carbone, dont six pour le fragment sucre et 29 attribuables au fragment aglycone. Le carbone anomérique de l'unité D-glucose apparaît à  $\delta_C$  100,8 (C-1') et les autres signaux carbones résonnent à  $\delta_C$  77,1 (C-5'), 76,8 (C-3'), 73,5 (C-2'), 70,2 (C-4') et 61,1 (C-6') dans le spectre RMN  $^{13}C$  et ceci a été confirmé par le spectre HSQC. La position de la double liaison entre C-5 et C-6 plutôt qu'entre C-9 et C-11 ou C-7 et C-8 a été établie sur la base des déplacements chimiques des carbones C-5, C-6 et C-19.

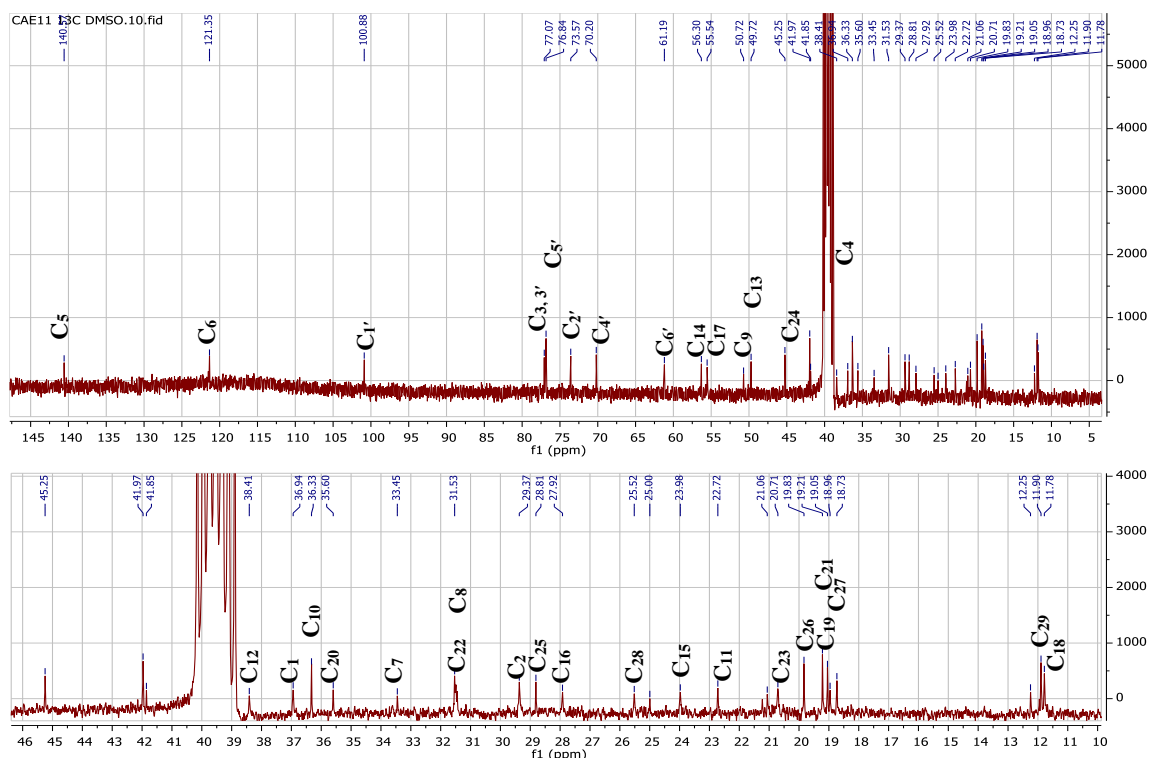
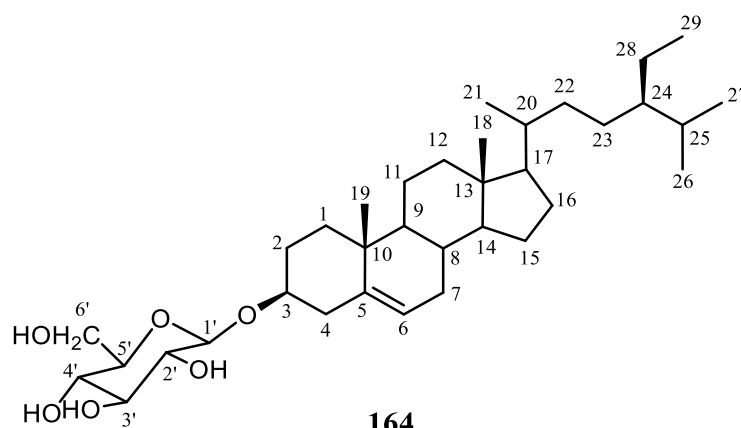


Figure 75 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de RAF9

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques des  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé **RAF9** avec celles de la littérature a permis d'identifier le composé **RAF9** à la 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-sistostérol, composé connu, précédemment isolé par Peshin et Kar (2017).



**3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-sistostérol**

**Tableau 22 : Comparaison des données RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé RAF9 avec ceux de la littérature (Peshin et Kar, 2017)**

N°	Expérimental (400-100 MHz, DMSO- $d_6$ )		Littérature (400-100 MHz, CD $_3$ OD)		N°	Expérimental (400-100 MHz, DMSO- $d_6$ )		Littérature (400-100 MHz, CD $_3$ OD)	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$		$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1,00 m	36,9	1,0 m	36,79	17	1,10 m	55,5	1,20 m	55,38
	1,80 m		1,40 m		18	0,64 s	11,7	0,70 s	11,64
2	1,82 m	29,3	1,58 m	29,23	19	0,95 s	19,1	0,94 s	19,07
	1,48 m		1,26 m		20	1,34 m	35,6	1,40 m	35,45
3	3,06 m	76,8	2,98 m	76,85	21	0,90 d (7,5)	18,7	0,95 d (6,5)	18,58
4	1,96 m	39,4	2,26 dt, (4,69 ; 8,10)	39,28	22	1,52 m	31,5	1,20 m	33,29
	1,14 m		1,98 ddd (1,98 ; 12,94 ; 12,94)		23	1,40, m 1,48, m	20,7	1,25 m	25,36
5	-	140,5	-	140,41	24	0,91 m	45,2	0,94 m	45,09
6	5,32 (br)	121,3	5,35 t, (3,6)	121,20	25	1,63 m	28,8	1,68 m	28,64
7	1,05 m	33,5	1,73 ddd, (2,5 ; 7,0 ; 16,0)	31,38	26	0,80 d (7,5)	19,8	0,87 d (7,0)	19,69
	1,30 m		1,95 ddd, (16,0 ; 2,5 ; 7,0)		27	0,79 d (7,6)	18,9	0,88 d (7,0)	18,89
8	1,39 m	31,5	1,36 m	31,26	28	1,15 m	25,5	1,30 m	22,06
9	0,89 m	49,7	0,85 m	49,55	29	0,82 m	11,9	0,97 t (7,5)	11,75
10	-	36,3	-	36,18	1'	4,22 d (7,9)	100,8	4,20 d (7,9)	100,73
11	1,23 m	22,7	1,42 m	20,56	2'	2,89 t (8,0)	73,5	2,89 dt (4,5 ; 8,0)	73,42
	1,21 m		1,42 m		3'	3,12 m	76,8	3,27 dt ; 8,0 (4,5 ; 8,0)	76,86
12	2,36 dd (4 ; 12)	38,4	1,52 dd, (4,3 ; 12,37)	38,26	4'	3,02 m	70,2	3,00 dt (4,5 ; 8,0)	70,04
	2,12 m		1,20 m		5'	3,45 m	77,1	3,06 dt (4,5 ; 8,0)	76,72
13	-	41,9	-	41,82	6'	3,64 m ; 3,40 m	61,1	4,55 dd, (2,5 ; 11,77)	62,82
14	0,98	56,3	0,95 m	56,13				4,40 dd (5,2 ; 11,77)	
15	0,81 m	23,9	1,05 m	23,83	2'(OH)	-	-	3,56 d (4,5)	-
	1,19 m		1,57 m		3'(OH)	-	-	3,56 d (4,5)	-
16	1,23 m	27,9	1,25 m	27,76	4'(OH)	-	-	3,40 d (4,5)	-
	1,79 m		1,85 m		5'(OH)	-	-	3,60 t ((4,5)	-

### c) Identification du composé CAE1

Le composé **CAE1**, isolé des écorces de *C. arereh* Delile a été identifié à la 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-sistostérol **164** (voir tableau 22).

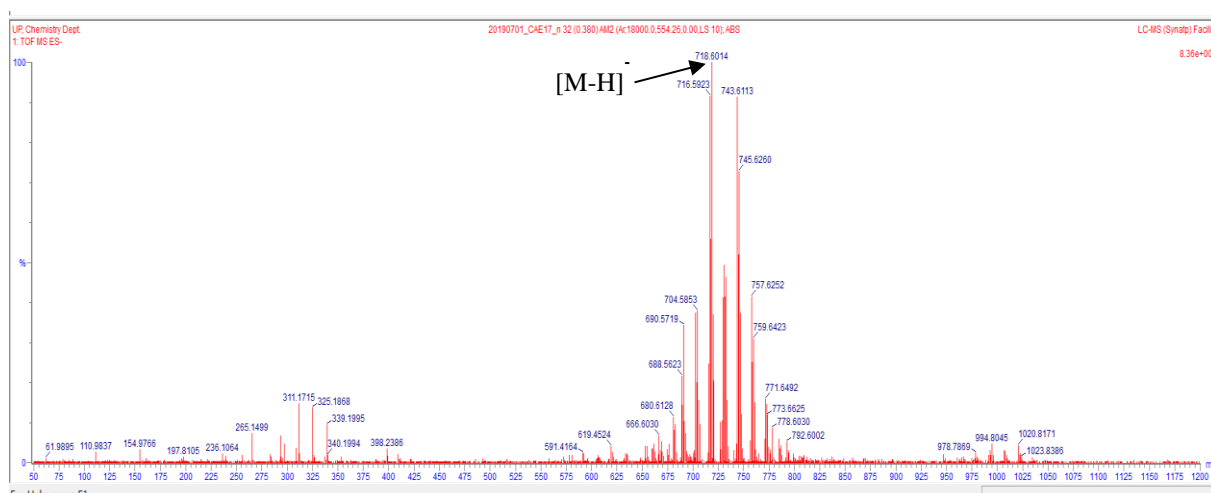
### d) Identification du composé RAR3

Le composé **RAR3**, isolé des racines de *R. affine* (Hook. F.) Tiegh, a également été identifié à la 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-sistostérol **164** (voir tableau 22).



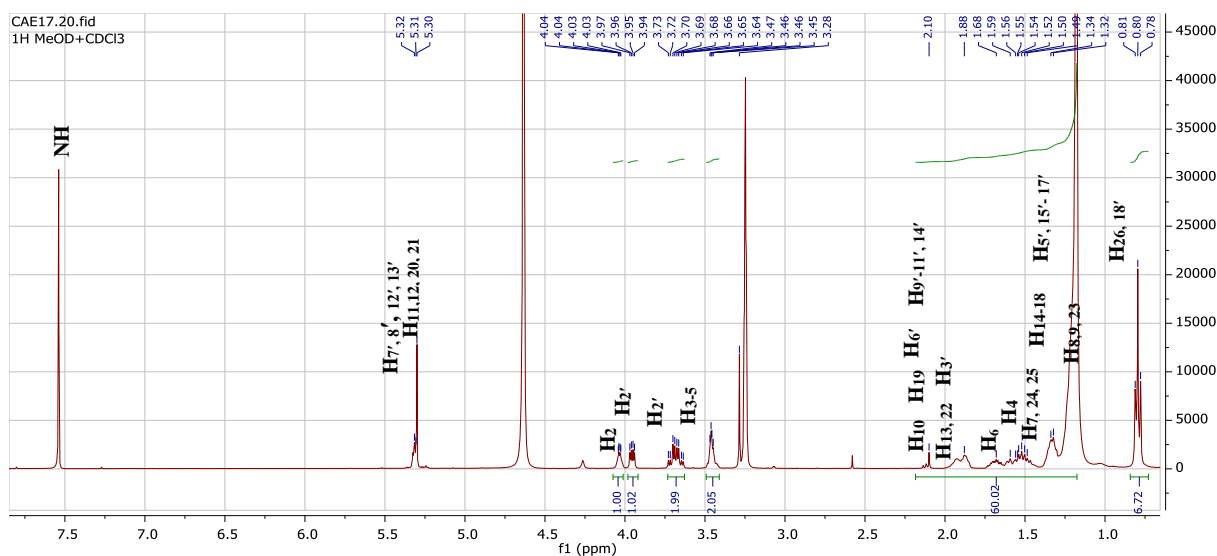
### e) Détermination du composé CAE7

Le composé **CAE7**, isolé des écorces de *C. arereh* Delile, se présente sous forme d'une poudre amorphe blanche, isolé au système d'éluion CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 30/1. L'analyse de son spectre HR-ESIMS en mode négatif (Fig. 76) montre un ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  718,6014 ([M-H]<sup>-</sup>), conforme à la formule brute C<sub>44</sub>H<sub>80</sub>NO<sub>6</sub> (calculée pour C<sub>44</sub>H<sub>80</sub>NO<sub>6</sub> : 718,6017) et renfermant cinq degrés d'insaturations. Son spectre IR révèle la présence d'un groupe amino N-H (3350 cm<sup>-1</sup>), de groupes hydroxyle (3331 cm<sup>-1</sup>), amide (1622 et 1544 cm<sup>-1</sup>) et méthylène (722 cm<sup>-1</sup>) dans la molécule. On observe également une **épaule** (1067 et 1022 cm<sup>-1</sup>) à une fréquence plus élevée traduisant les vibrations de déformation d'un carbonyle suivie d'une bande à 964 cm<sup>-1</sup>, qui caractérise une double liaison *trans* carbone-carbone (Natori et al., 1994).



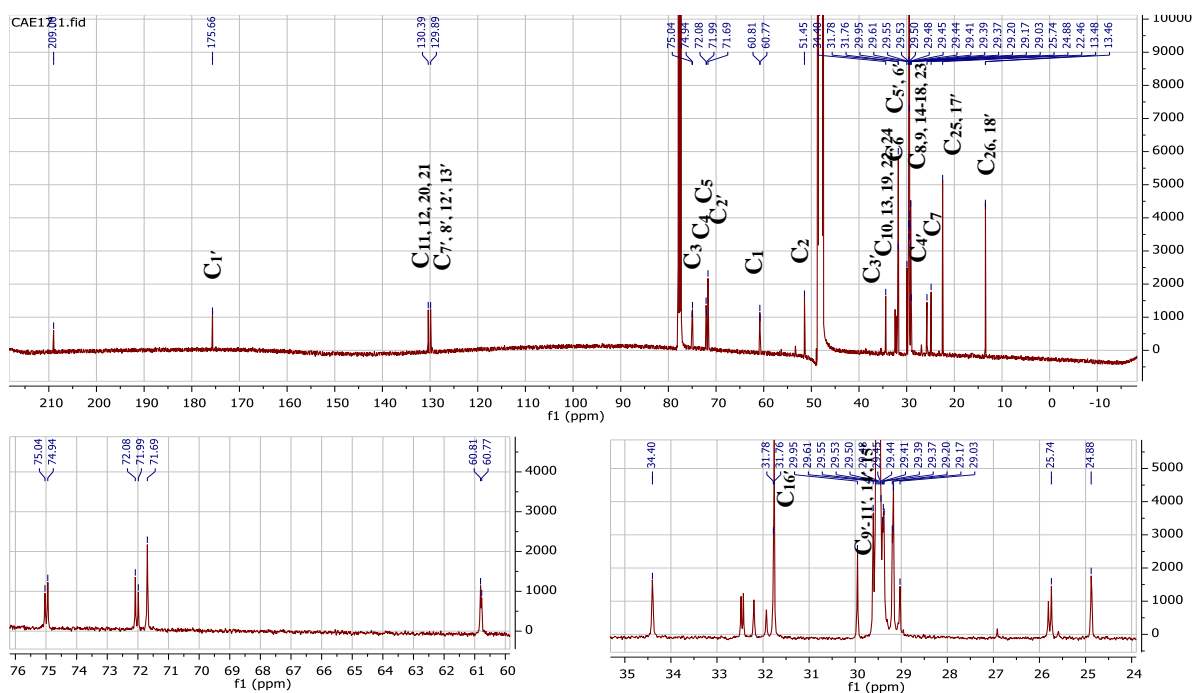
**Figure 76 : Spectre HR-ESIMS du composé CAE7**

Le spectre RMN <sup>1</sup>H (Fig. 77) de **CAE7** indique un large signal dans l'intervalle de  $\delta_H$  1,28–2,17 (*m*, groupes CH<sub>2</sub>) et un triplet à  $\delta_H$  0,89 (6H; *J* = 6,7 Hz) de deux groupes méthyles terminaux (Me-26 et Me-18') attribué à deux longues chaînes aliphatiques. Un signal à  $\delta_H$  5,40 (8H, *m*) suggère une double liaison de protons oléfiniques. Ainsi, des cinq insaturations que possède le composé **CAE7**, quatre d'entre elles pourraient être attribuées aux doubles liaisons oléfiniques et la dernière au carbonyle du groupement amide. Enfin, la présence de quatre méthines oxygénés à  $\delta_H$  3,52 ; 3,54 ; 3,56 et 4,04 nous a permis de déduire que la structure du composé **CAE7** est cohérente avec celle d'un céramide (Natori et al., 1994; Rho et Kim, 2005; Sharma et al., 2014).



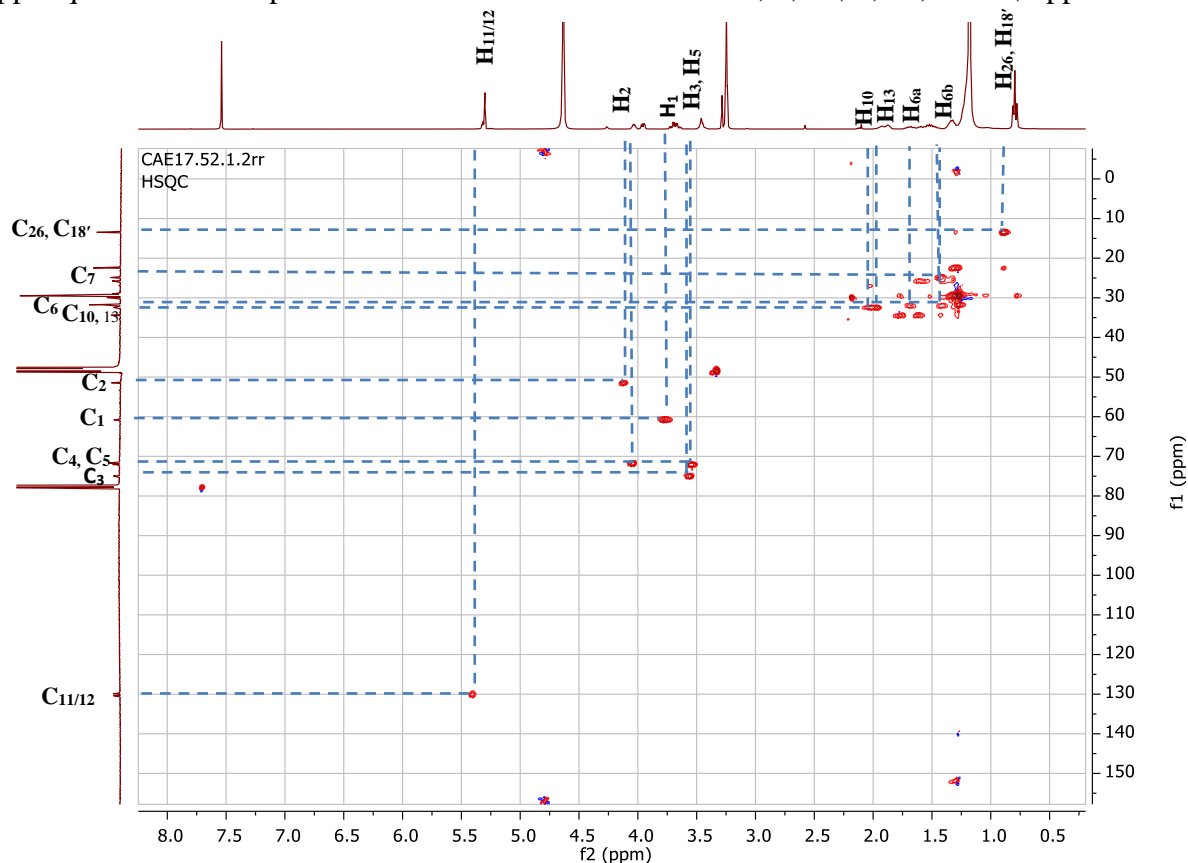
**Figure 77 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, MeOD- $d_4$  +  $\text{CDCl}_3$ ) de CAE7**

Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  révèle un signal carbonyle à  $\delta_{\text{C}}$  175,7 ppm et un signal à  $\delta_{\text{C}}$  51,4 ppm (C–N) confortant la présence d'un groupe amide. On observe également des signaux à  $\delta_{\text{C}}$  130,1 et 130,4 attribuables aux protons oléfiniques localisables sur les chaînes latérales insaturées et des signaux à  $\delta_{\text{C}}$  74,9 ; 72,0 ; 72,1 et 71,6 attribuables aux quatre méthines oxygénés suscités et confortant le squelette d'un céramide (Natori et al., 1994; Rho et Kim, 2005; Sharma et al., 2014).



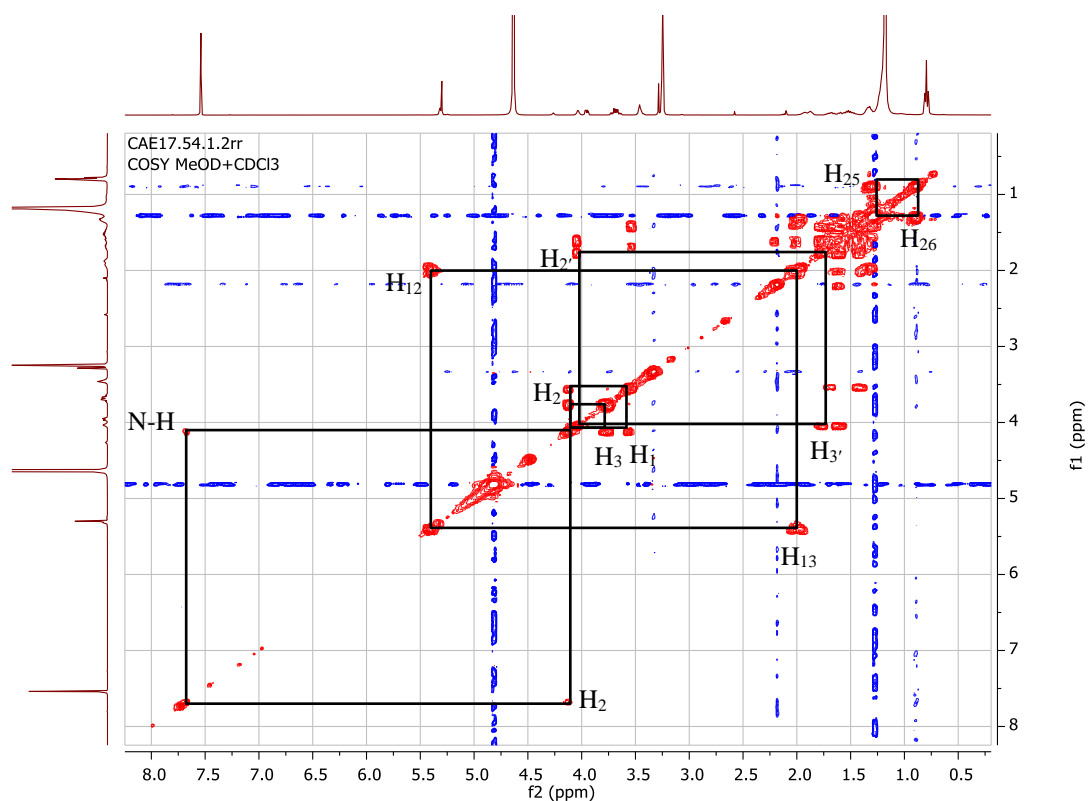
**Figure 78 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, MeOD- $d_4$  +  $\text{CDCl}_3$ ) de CAE7**

Sur le spectre HSQC nous observons plusieurs signaux, entre autres un signal caractéristique d'un oxyméthylène à  $\delta_H$  3,77 ppm (H-1) qui corrèle avec le carbone à  $\delta_C$  60,8 ainsi que quatre signaux d'oxyméthynes à  $\delta_H$  3,56 (H-3); 3,52 (H-4) ; 3,54 (H-5) et 4,04 (H-2') ppm qui corrèlent respectivement avec les carbones à  $\delta_C$  74,9 ; 72,0 ; 72,1 et 71,6 ppm.



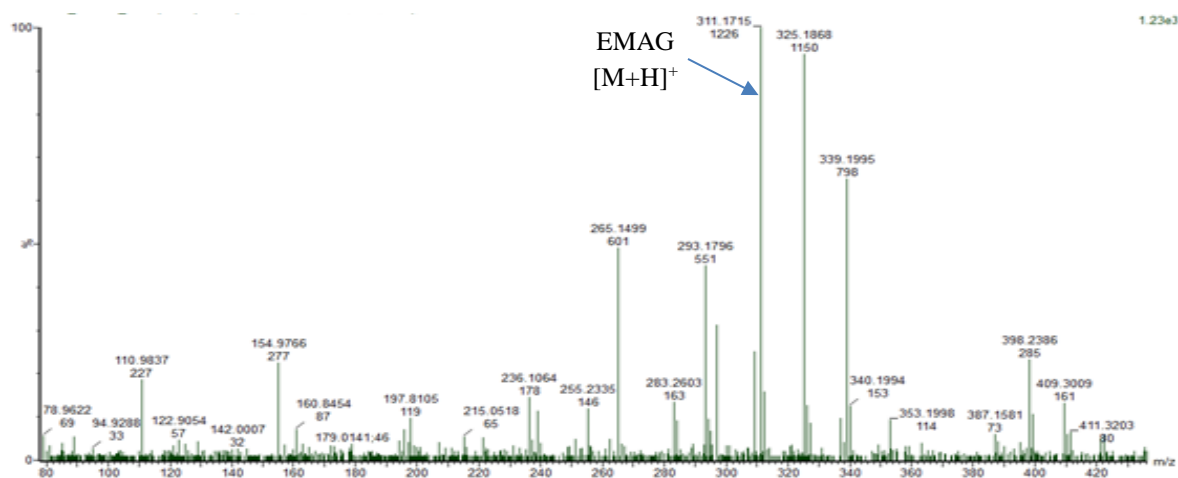
**Figure 79 : Spectre RMN HSQC (400 MHz, MeOD- $d_4$  +  $CDCl_3$ ) de CAE7**

Les assignations de divers protons et carbones dans les spectres RMN ont été faites sur la base d'expériences  $^1H - ^1H$  COSY (Fig. 80) et HMBC (Fig. 84). Le spectre COSY révèle entre autres couplages  $^{2,3}J_{H-H}$ , celui du méthine lié à l'azote à  $\delta_H$  4,12 (H-2) avec l'oxyméthylène à  $\delta_H$  3,77 (H-1) et l'oxyméthine à  $\delta_H$  3,56 (H-3) d'une part, mais également d'autre part avec le proton de l'azote à  $\delta_H$  7,38 (NH). Les positions des groupes hydroxyles ont été confirmées grâce au spectre HMBC dans lequel le signal du proton de l'oxyméthine à  $\delta_H$  3,56 (H-3) montre des corrélations avec les signaux de carbone à  $\delta_C$  72,0 (C-4) et 72,1 (C-5). Le signal du méthine à  $\delta_H$  4,12 (H-2) présente des corrélations avec le carbonyle à  $\delta_C$  175,7 (C-1'). De plus, la corrélation HMBC entre le signal protonique à  $\delta_H$  4,04 (H-2') et le carbonyle à  $\delta_C$  175,7 (C-1') a confirmé la présence d'une longue chaîne latérale d'acide gras  $\alpha$ -hydroxylé.



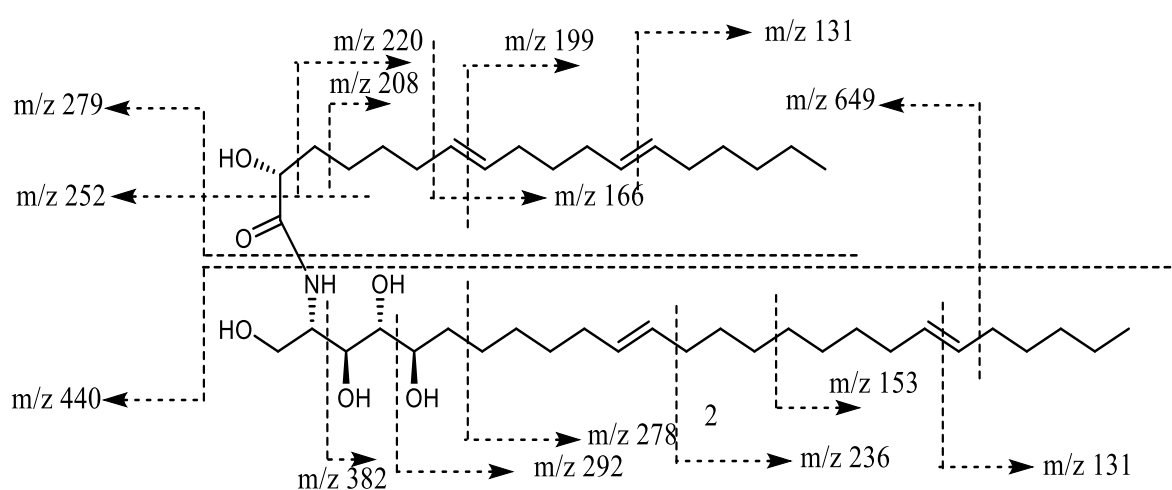
**Figure 80 : Spectre RMN COSY (400 MHz, MeOD- $d_4$  +  $CDCl_3$ ) de CAE7**

Le spectre de masse, effectué à l'issue de la méthanolyse de **CAE7**, a montré le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M + H]^+$  à  $m/z$  311,1715 (calculé 311,1884) reconnu comme l'unité d'ester de méthyl d'acide gras (EMAG) : le 2-hydroxy-octadéca-7,12-diénoate de méthyle. Ceci permet de conclure que la longue chaîne d'acide gras (LCAG) du céramide **CAE7** est constituée de 18 atomes de carbones tandis que celle basique de l'unité sphingosine renferme 26 atomes de carbones avec chacune deux liaisons oliféniques.



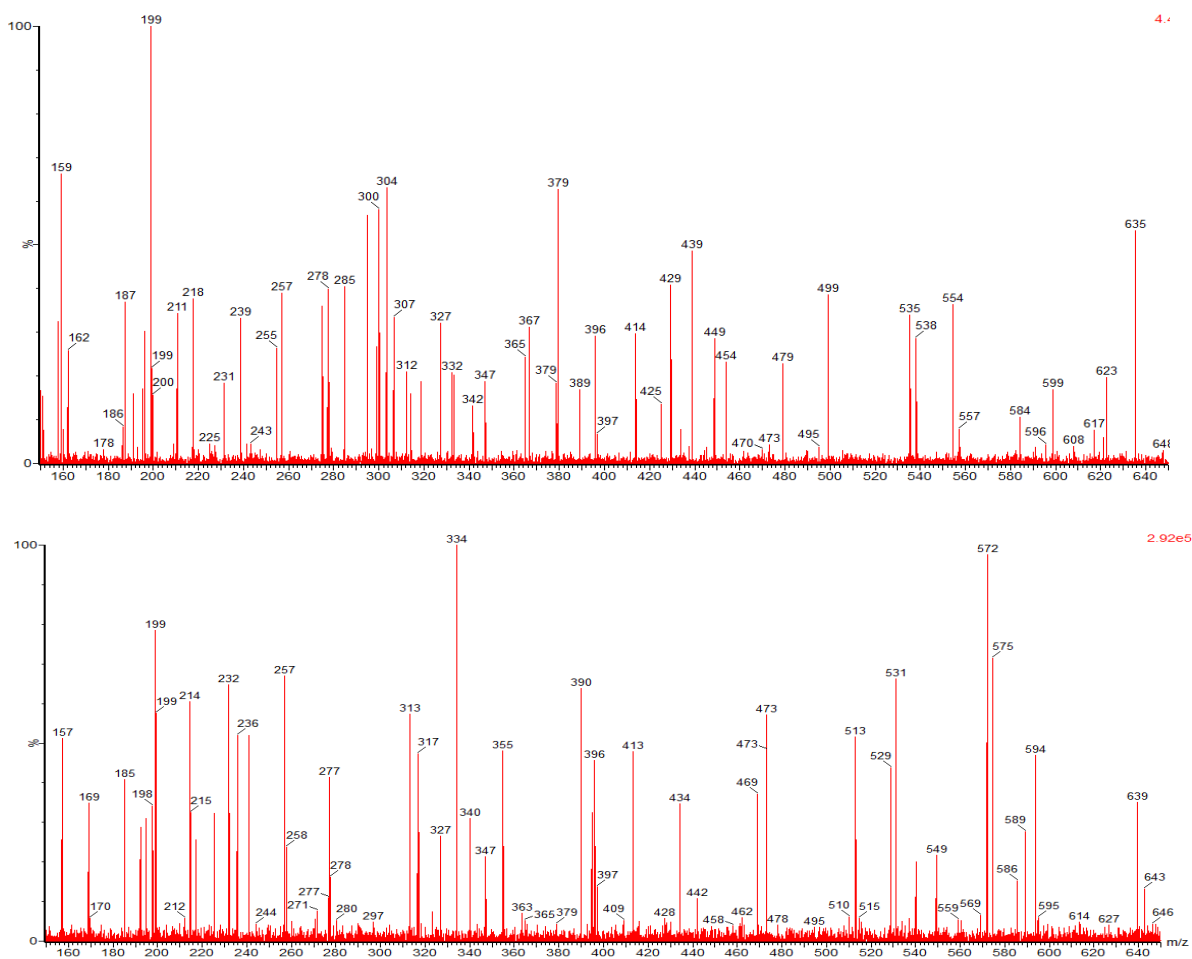
**Figure 81 : Spectre LC-MS après méthanolyse de CAE7**

Le positionnement des liaisons oléfiniques dans la chaîne latérale a été déduit de l'analyse du spectre de masse des dérivés  $\alpha$ ,  $\beta$ -bis-méthylthiolés correspondants, après réaction de la céramide avec le diméthyldisulfure (DMDS), qui fournissent des fragments facilement reconnaissables après bombardement électronique (Figure 83). La réaction de dérivation a conduit à des dérivés méthylthiolés, dont le spectre de masse a montré deux fragments à  $m/z$  131 (clivage C-12' et C-13', ainsi qu'entre C-20 et C-21, respectivement) et  $m/z$  199 (C-7' et C-8'), indiquant la présence de doubles liaisons séparées par trois ou plusieurs groupes méthylènes.



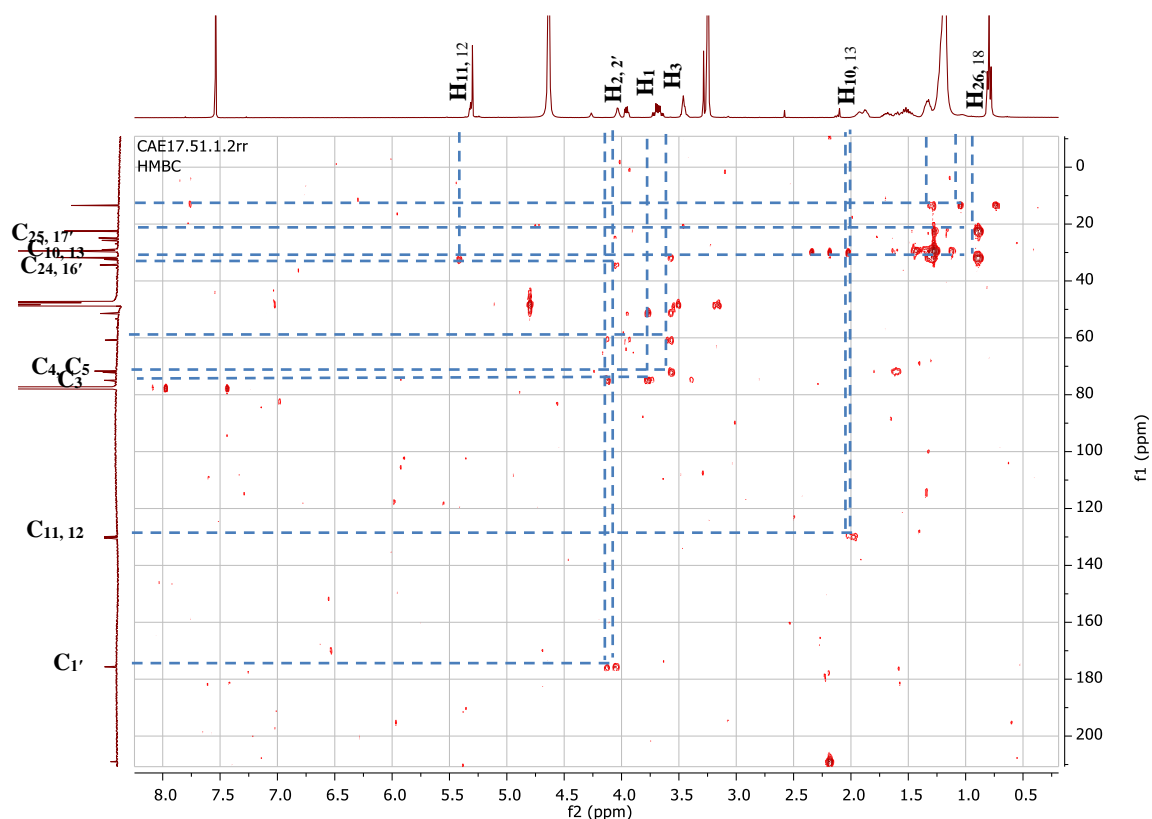
**Figure 82 : Schéma de fragmentation possible de CAE7, ions méthylthiolés  $m/z = 199$  et  $131$  inclus**

De plus, la formule moléculaire a été confirmée par les pics d'ions de fragments à  $m/z = 166, 252, 279, 382, 440$  et  $649$  dans son spectre UPLC (Fig. 83). La longue chaîne basique 1,3,4,5 tétrahydroxylée a été confirmée par la présence de l'ion  $m/z 440$  ( $C_{16}H_{33}NO_3$ ).

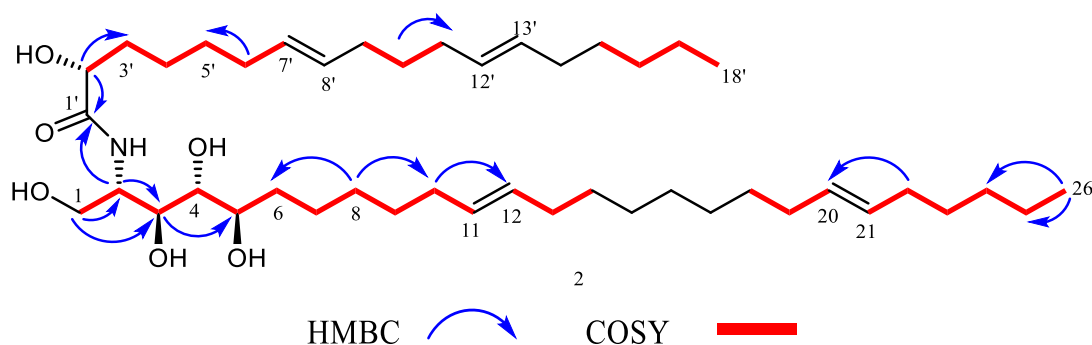


**Figure 83 : Pics d'ions fragments issus du clivage de CAE7 (UPLC)**

Les observations précédentes ont été renforcées par l'analyse du spectre HMBC (Fig. 84) : des pics croisés des protons oléfiniques à  $\delta_H$  5,40 avec les atomes de carbone à  $\delta_C$  32,3 et 32,4 (C-10, C-13, C-19 et C-22) d'une part, et d'autre part entre des protons méthylènes adjacents **insaturés** à  $\delta_H$  1,97 et 2,02 avec des carbones oléfiniques à  $\delta_C$  130,4 et 129,9. Les doubles liaisons ont été déterminées comme étant *trans*, selon les déplacements chimiques des carbones allyliques à  $\delta_C$  32,3 et 32,4 (Ngono et al. 2011; Dos santos et al. 2012). Bien que la double liaison en position 11 de la fraction sphingosine ne soit pas caractérisée dans le test précédent (DMDS), l'apparition de la double liaison *trans* oléfinique prédomine à cette position pour la longue chaîne alkyle (Hay et Morrison 1973). Cela a été confirmé par le spectre HMBC, dans lequel le proton H-8 ( $\delta_H$  1,31) corrèle avec les carbones C-6 ( $\delta_C$  31,9) et C-10 ( $\delta_C$  32,4), confortant ainsi l'affirmation susmentionnée. Les déplacements chimiques de **CAE7**, comparés aux données déjà rapportées des sphingolipides naturels (Khedr et al., 2018) ont montré des similitudes qui confirment que **CAE7** est une céramide.



**Figure 84 : Spectre RMN HMBC (400 MHz, MeOD- $d_4$  +  $CDCl_3$ ) de CAE7**



**Schéma 7 : Principales corrélations COSY et HMBC du composé CAE7.**

Quant à la stéréochimie des centres chiraux, elle a déjà été établie dans ce type de molécules (Honda et al., 1991) et après comparaison avec des composés analogues (Khedr et al., 2018; Ramos et al., 2006; Christophe et al., 2008; Sandjo et al., 2008; Dos Santos et al., 2012). Les corrélations NOESY (Fig. 85) observées entre H-2' ( $\delta_H$  4,04) et H-2 ( $\delta_H$  4,12) et aussi entre ce dernier et H-4 ( $\delta_H$  3,52) indiquent que ces protons sont orientés du même côté de la molécule. Ainsi, la stéréochimie relative déduite pour les stéréocentres C-2, C-2', C-3, C-4 et C-5 est présumée être respectivement 2S\*, 2'R\*, 3S\*, 4R\* et 5R\* et cela justifie ainsi la présence d'une base longue chaîne et d'un acide gras à longue chaîne  $\alpha$ -hydroxylé dans le

composé CAE7. De plus, l'activité optique  $[\alpha]_D^{25} = +16,9$  (*c* 0,1 CHCl<sub>3</sub>/MeOH) corrobore cette stéréochimie.

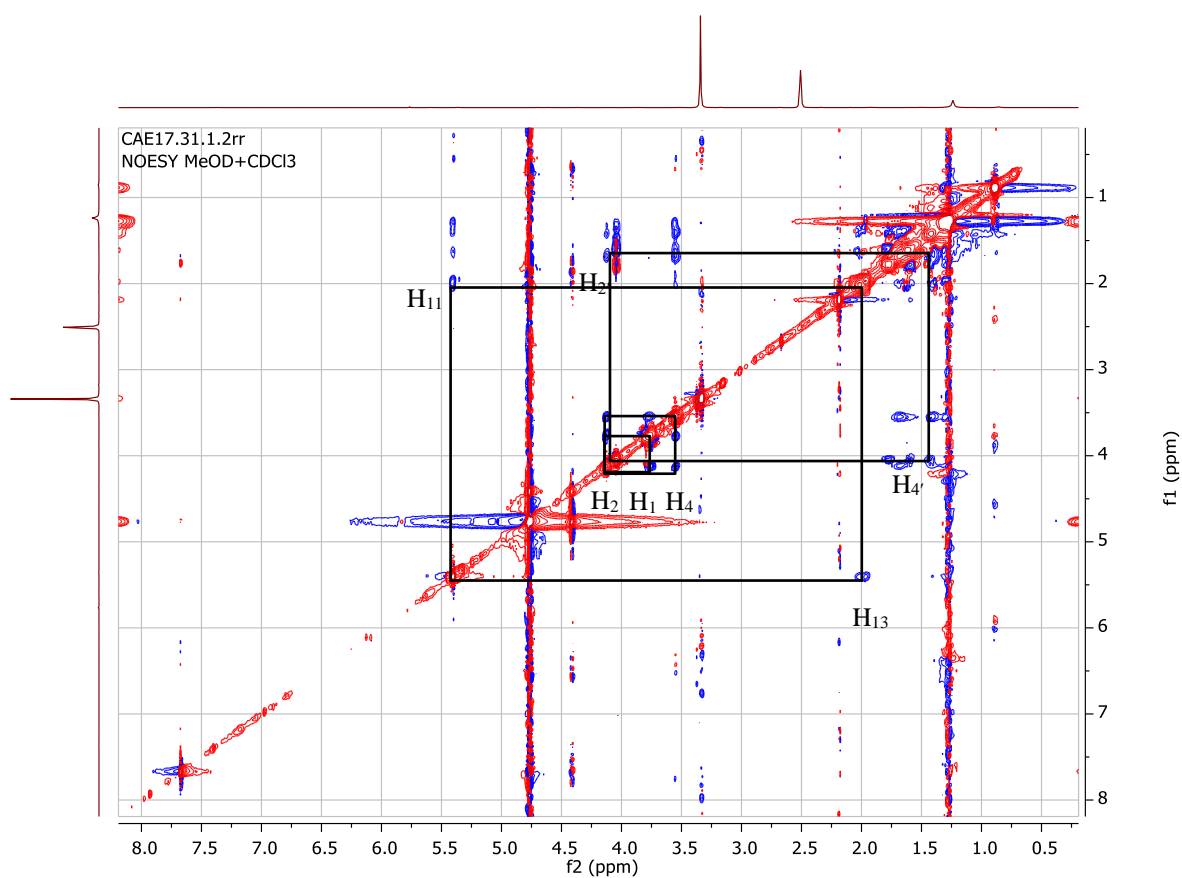
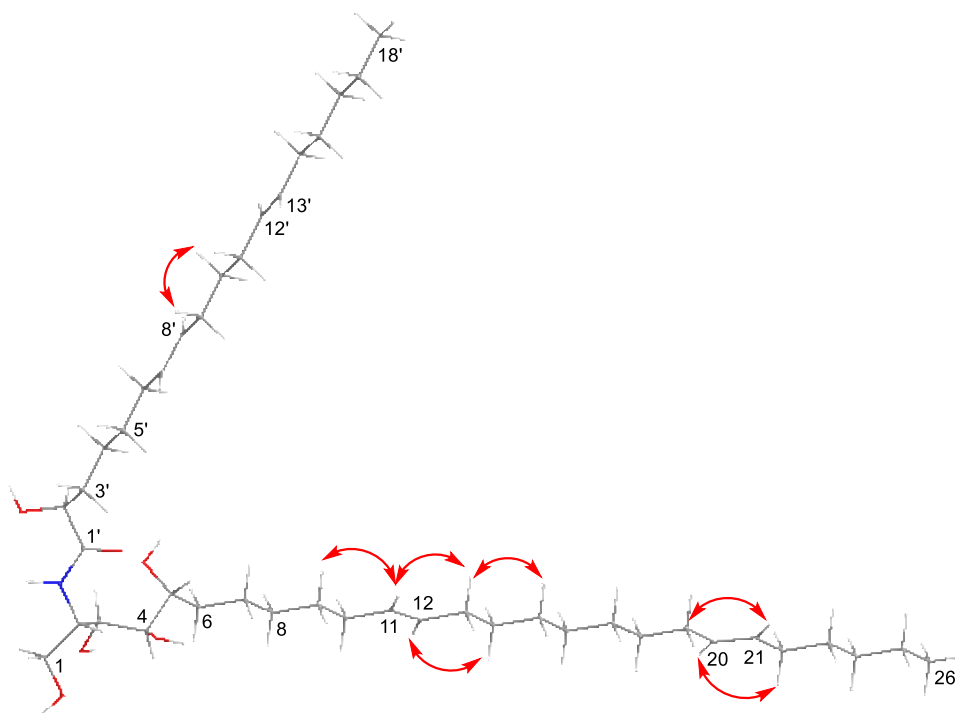


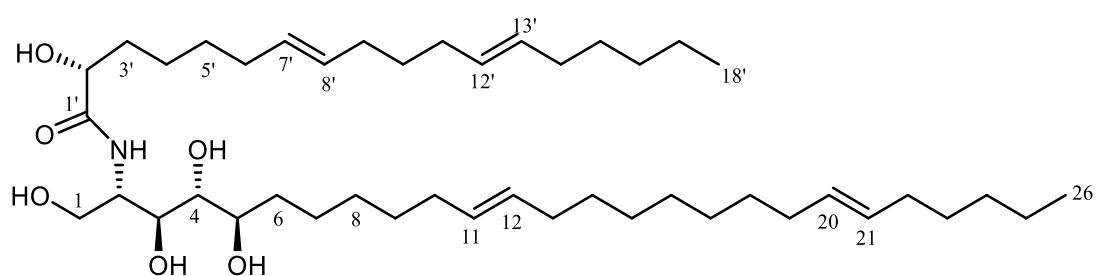
Figure 85 : Spectre RMN NOESY (400 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub> + CDCl<sub>3</sub>) de CAE7





**Schéma 8 : Principales corrélations NOESY observées du composé CAE7**

En conclusion, le composé **CAE7** a été établi comme étant (2S\*,2'R\*,3S\*,4R\*,5R\*,7'E,11E,12'E,20E)-N-[2'-hydroxyoctadeca-7,12-diénoyl]-2-aminohexacos-11,20-diène-1,3,4,5-tétraol (**165**), pour lequel le nom trivial cassiaramide a été proposé. A notre connaissance, ce dérivé de céramide nouveau est isolé pour la première fois du genre *Cassia*.



**165**  
**Cassiaramide**

**Tableau 23 : Données RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) du composé CAE7 dans le MeOD- $d_4$  +  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  en ppm;  $J$  en Hz)**

Position	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ ( $J$ en Hz)	HMBC (C $\rightarrow$ H)
1	60,8	3,77 dd (4,6; 9,9)	
2	51,4	4,12 m	H-1
3	74,9	3,56	H-1 ; H-2
4	72,0	3,52	
5	72,1	3,54	H-3
6	31,9	1,67 m	
		1,40 m	
7	24,9	1,42 m	
8	29,2	1,11 m	
9	29,3	1,27 m	
10	32,4	2,02 m	
11	130,4	5,40 m	
12	130,1	5,40 m	H-10
13	32,3	1,97 m	
14	29,3	1,27 m	
15-18	29,3	1,27 m	
19	32,4	2,02 m	
20	130,1	5,40	H-22
21	130,4	5,40	
22	32,3	1,97	
23	29,2	1,11	
24	31,4	1,28	H-26
25	22,4	1,27	H-26
		0,90	
26	13,4	0,89 t (6,7)	
NH	-	7,38 d (8,0)	
1'	175,6	-	H-1' ; H-2
2'	71,6	4,04 m	
3'	34,4	1,77 m	H-2'
		1,61 m	
4'	24,9	1,44 m	
5'	29,3	1,28	H-6'
6'	29,8	2,17	
7'	130,4	5,40 m	
8'	130,1	5,40 m	
9'	29,8	2,17	
10'	29,4	1,76	
11'	29,8	2,17	
12'	130,4	5,40 m	
13'	130,1	5,40 m	
14'	29,8	2,17	
15'	29,3	1,27 m	
16'	31,5	1,27 m	
17'	22,5	1,29 m	
18'	13,4	0,89 t (6,7)	

#### f) Identification du composé RAR4

Le composé **RAR4**, isolé des racines de *R. affine* (Hook. F.) Tiegh, se présente sous forme de solide cristallin blanc soluble dans le DMSO (PF: 282-284°C). Il répond positivement au test de Ehrlich's révélant ainsi la présence d'un dérivé indole dans la molécule. Sa formule brute  $C_{20}H_{18}N_2O_4$  a été déduite de son spectre de masse HR-ESIMS en mode positif (Fig. 86) qui présente le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  351,1345 (masse calculée 351,1334 pour  $C_{20}H_{19}N_2O_4$ ).

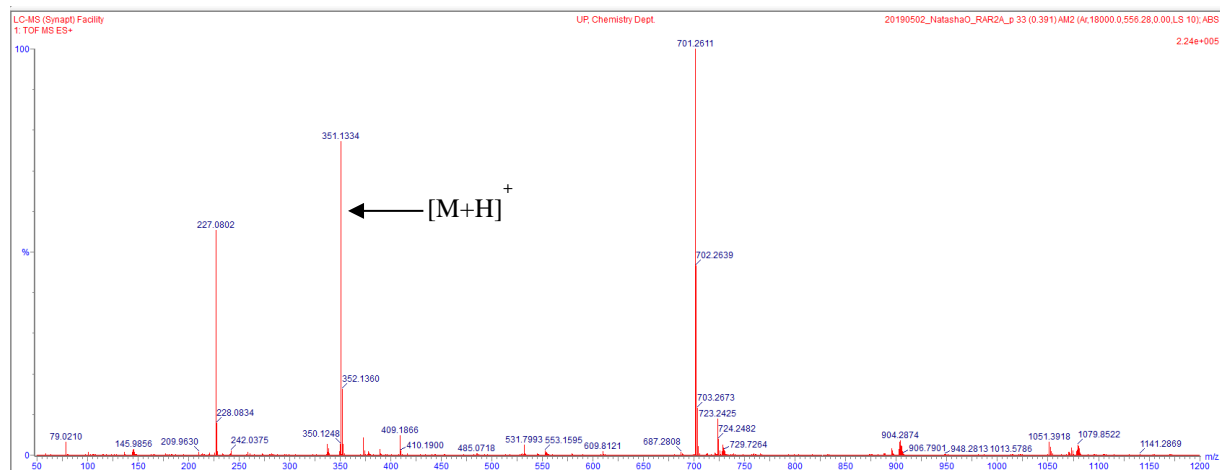


Figure 86 : Spectre HR-ESIMS du composé RAR4

Le spectre RMN  $^1H$  (Fig. 87) indique la présence des systèmes suivants: Un noyau benzénique 1,3,4-trisubstitué formant un système ABX dont les signaux apparaissent à  $\delta_H$  6,84 (1H, *d*,  $J = 8,6$  et  $1,9$  Hz, H-21); 6,99 (1H, *d*,  $J = 1,9$  Hz, H-17) et 6,77 (1H, *d*,  $J = 8,6$  Hz, H-20), un noyau aromatique tétrasubstitué formant un système AB dont les signaux sont observés à  $\delta_H$  7,21 (1H, *d*,  $J = 8,6$  Hz, H-7) et 6,67 (1H, *d*,  $J = 8,6$  Hz, H-6) et portant un noyau dihydrofuranique.

Un système aliphatique de quatre protons méthylènes à  $\delta_H$  4,06 et 3,35 (1H, *m*, H-11) d'une part et à  $\delta_H$  3,04 (1H, *m*, H-10a) et 2,92 (1H, *m*, H-10b) attribuable à la portion  $-CH_2-CH_2-NH-$  de la tryptamine d'autre part. Nous notons également la présence d'un proton indolique observé à  $\delta_H$  9,08 et d'un singulet fin de trois protons du groupement méthoxyle à  $\delta_H$  3,76 ppm. Les déplacements chimiques de tous les carbones protonés ont été assignés grâce au spectre HSQC.

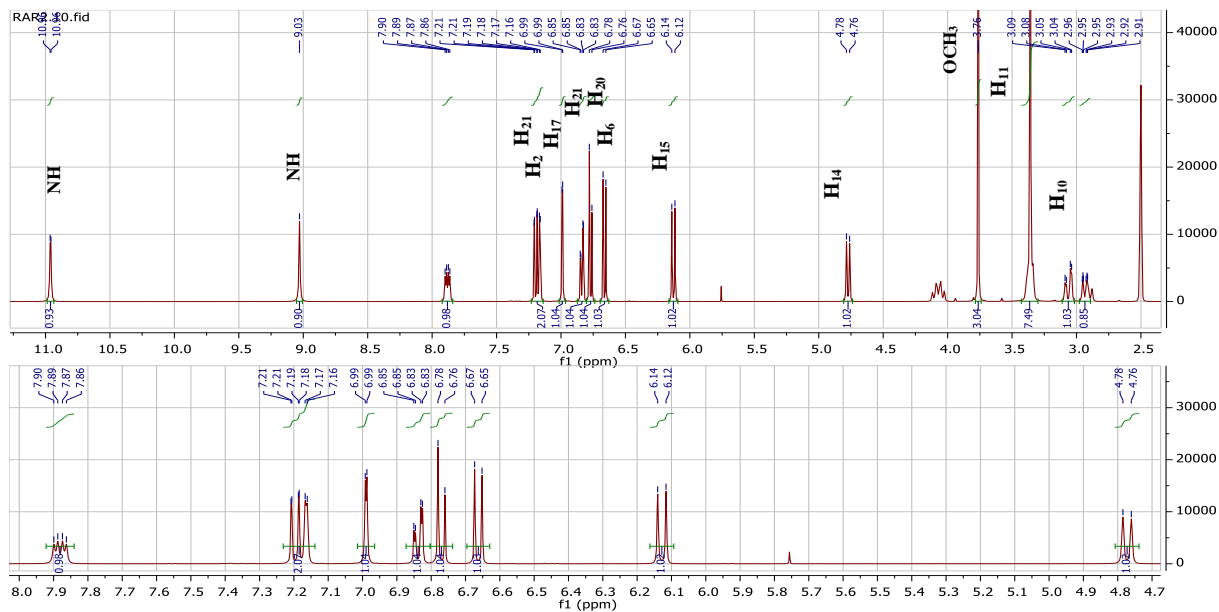


Figure 87 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé RAR4

Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 88) et DEPT 135 (Fig. 89) montrent les signaux d'un carbonyle conjugué à  $\delta_{\text{C}}$  170,5 de 12 carbones aromatiques, de deux méthines aliphatiques (parmi lesquels un oxyméthine) et 53,2 ; d'un méthine oléfinique à  $\delta_{\text{C}}$  125,1 de deux méthylènes à  $\delta_{\text{C}}$  29,4 et 40,5 et d'un méthoxyle à  $\delta_{\text{C}}$  55,5.

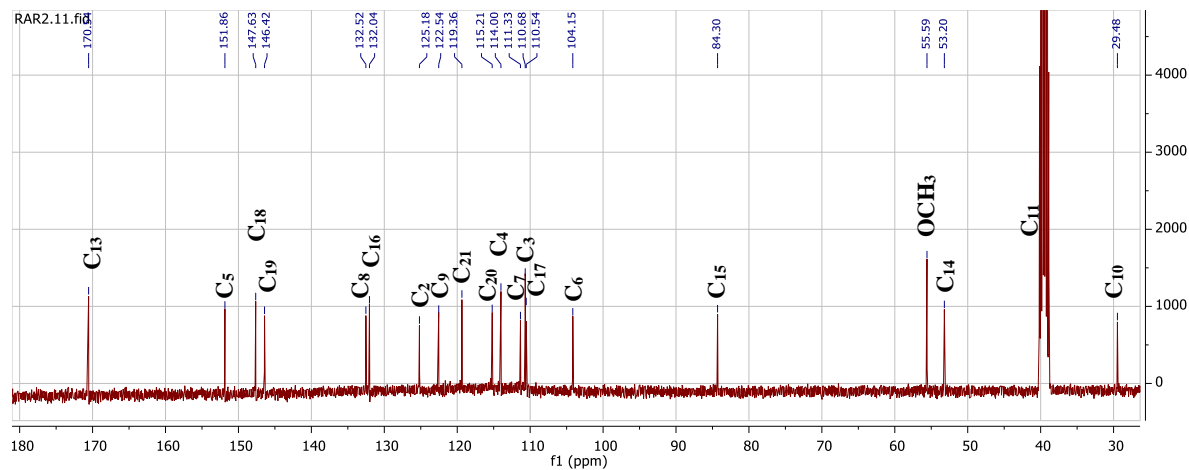


Figure 88 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé RAR4

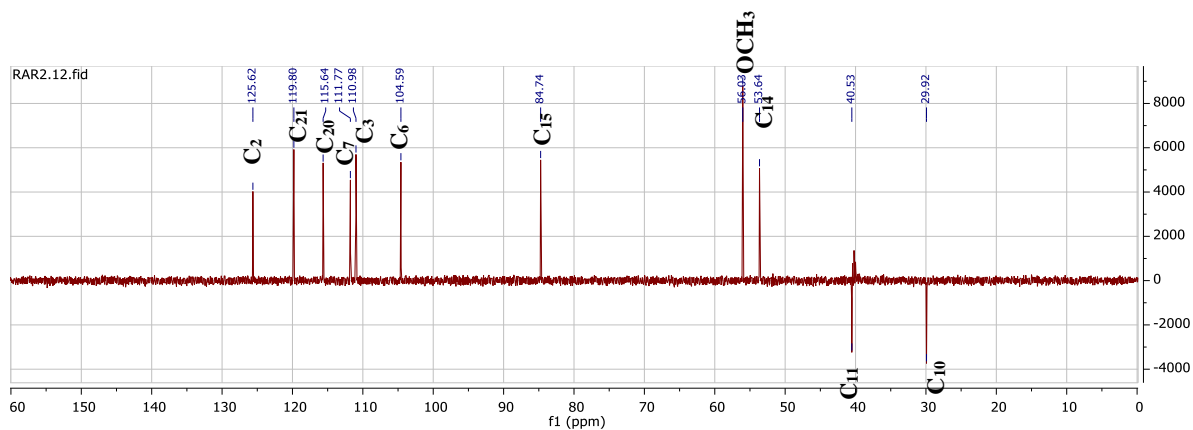
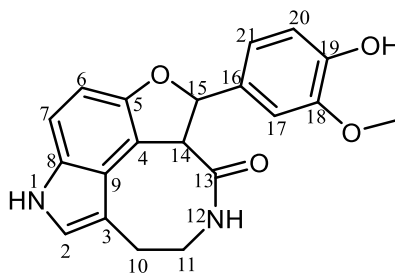


Figure 89 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  DEPT 135 (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) du composé RAR4

De l'analyse précédente, nous sommes arrivés à la conclusion que le composé **RAR4** est un alcaloïde indolique et par comparaison avec les données de la littérature, ce composé a été identifié à la sérotobénine, précédemment isolé de *Centaurea moshata* par Sarker et al. (1997) et de *Rhaphidophora decursiva* par Zhang et al. (2002).



166

Sérotobénine

**Tableau 24 : Comparaison des données RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé RAR4 avec celles de la littérature (Zhang et al., 2002).**

N°	Expérimental (400-100 MHz DMSO- $d_6$ )		Littérature (500-125 MHz pyridine- $d_5$ )		N°	Expérimental (400-100 MHz DMSO- $d_6$ )		Littérature (500-125 MHz pyridine- $d_5$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$		$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	10,96 <i>d</i> (2,6)	-	11,97 <i>m</i>	-	12	9,08 <i>s</i>	-	8,73 <i>dd</i> (10,9 ; 4,4)	-
2	7,17 <i>m</i>	125,1	7,26 <i>m</i>	125,7	13	-	170,5	-	171,8
3	-	110,6	-	111,8	14	4,77 <i>d</i> (9,8)	53,2	5,14 <i>d</i> (9,6)	55,7
4	-	114,0	-	114,9	15	6,13 <i>d</i> (9,7)	84,3	7,14 <i>d</i> (9,7)	85,5
5	-	151,8	-	153,5	16	-	132,0	-	133,9
6	6,67 <i>d</i> (8,6)	104,1	7,09 <i>d</i> (8,5)	105,2	17	6,99 <i>d</i> (1,9)	110,5	7,52 <i>m</i>	110,9
7	7,21 <i>d</i> (8,6)	111,3	7,48 <i>d</i> (8,2)	112,1	18	-	147,6	-	148,8
8	-	132,5	-	134,0	19	-	146,4	-	148,1
9	-	122,5	-	123,8	20	6,77 <i>d</i> (8,6)	115,2	7,30 <i>d</i> (8,1)	116,6
10	3,04 <i>m</i> 2,92 <i>m</i>	29,4	3,17 <i>m</i>	30,5	21	6,84 <i>dd</i> (8,6 ; 1,9)	119,3	7,43 <i>d</i> (8,1)	120,0
11	3,35 <i>m</i>  4,06 <i>m</i>	40,5	3,57 <i>dq</i> (15,9 4,1)  4,15 <i>m</i>	41,1	OCH <sub>3</sub>	3,76 <i>s</i>	55,5	3,70 <i>s</i>	55,6



## 2.2 Activités biologiques des extraits et de quelques composés isolés

### 2.2.1 Introduction

Afin de conforter notre hypothèse de recherche de départ, qui suggère que les plantes sont une source importante pour la découverte de nouveaux médicaments et d'atteindre notre objectif principal qui vise la recherche de composés potentiellement antimicrobiens et cytotoxiques émanant de la biodiversité camerounaise aux fins de lutter contre les phénomènes de résistances et de faible sélectivité des médicaments cytotoxiques, nous avons entrepris soumettre les extraits bruts, ainsi que quelques composés isolés des espèces *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh, *R. affine* (Hook. F.) Tiegh et *C. arereh* Delile, à des tests antimicrobiens et cytotoxiques. De plus, il est ressorti de la revue de la littérature précédente que, plusieurs parties (racines, écorces, feuilles) des espèces appartenant aux genres *Cassia* et *Rhabdophyllum*, sont utilisées dans la pharmacopée traditionnelle, pour le traitement de diverses pathologies parmi lesquelles les infections microbiennes et les maladies cancéreuses (Bouquet, 1969; Prasanna et al., 2009; Yadav et al., 2010; Ngulde et al., 2015). Ainsi, les résultats issus de ces tests pourraient nous permettre également de confirmer ou infirmer ces utilisations en médecine traditionnelle.

### 2.2.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne

#### 2.2.2.1 Résultats

Les activités antimicrobiennes des extraits et de sept composés issus des feuilles *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh ont été réalisées sur six souches microbiennes de la Collection de l'Institut Pasteur et d'isolats cliniques (*Staphylococcus aureus* CIP 4.83, *Enterococcus faecalis* CIP 58.55, *Escherichia coli* CIP 54.127, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*) en utilisant la méthode de disque ou diffusion en gélose (Murray et al., 1995 ; NCCLS, 2002) et avec la gentamicine et la nystatine comme agents antimicrobiens de référence.

L'activité antimicrobienne des extraits bruts de racines (*R. affine*) et des écorces du tronc (*C. arereh*), ainsi que celle de trois métabolites secondaires isolés de *C. arereh*, a été évaluée à l'égard d'isolats cliniques de bactéries à Gram négative (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*) en exploitant la méthode de microdilution en milieu liquide (CLSI, 2013) et la lévofloxacine comme contrôle positif.

Les résultats obtenus de ces différents tests sont présentés dans les tableaux 25 et 26 ci-après.

**Tableau 25 : Screening antibactérien et antifongique *in vitro* des différents extraits de feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh**

	Test antimicrobien (zone d'inhibition, mm)					
	<i>S. aureus</i> CIP 4.83	<i>E. faecalis</i> CIP 58.55	<i>E. coli</i> CIP 54.127	<i>B. cereus</i> <sup>a</sup>	<i>B. subtilis</i> <sup>a</sup>	<i>C. albicans</i> <sup>a</sup>
Extrait Cyclohexane	-	-	-	-	-	-
Extrait Ethyl acetate	16	12	-	13	11	-
Extrait Methanol	14	10	-	11	9	-
Gentamicine 50 µg	25	23	26	24	26	
Nystatine 50 µg						28

- : Aucune inhibition observée. Le contrôle négatif (DMSO) n'a montré aucune activité contre toutes les souches testées.

<sup>a</sup>: isolats cliniques

Concentration des extraits : 1 mg/mL

**Tableau 26 : Paramètres d'inhibition (CMI et CMB) (µg/mL) des composés purs et des extraits bruts de *C. arereh* Delile et *R. affine* (Hook. F.) Tiegh sur des isolats cliniques de bactéries**

Composés purs / Extraits bruts	Souches Bactériennes											
	<i>Escherichia coli</i>			<i>Klebsiella pneumoniae</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Haemophilus influenza</i>		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
<b>161</b>	<b>62.50</b>	<b>62.5</b>	1.00	<b>62.50</b>	125	2.00	<b>15.63</b>	<b>15.63</b>	1.00	<b>62.50</b>	125	2.00
<b>158</b>	<b>31.25</b>	125	4.00	<b>31.25</b>	<b>62.5</b>	2.00	<b>15.63</b>	<b>62.50</b>	4.00	125	125	1.00
<b>159</b>	<b>62.50</b>	125	2.00	<b>31.25</b>	<b>62.5</b>	2.00	125	125	1.00	<b>62.50</b>	125	2.00
<b>Extrait CAE</b>	3125	12500	4.00	3125	6250	2.00	1563	6250	4.00	6250	12500	2.00
<b>Extrait RAR</b>	25000	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Lévofloxa- cine	3.91	7.81	2.00	7.81	62.5	8.00	7.81	15.63	2.00	7.81	15.63	2.00

**161** : acide cassiarique ; **158** : bétulinal ; **159** : acide bétulinique ; **Extrait CAE** : Extrait brut des écorces de *C. arereh* ; **Extrait RAR** : Extrait brut des racines de *R. affine* ; **ND** : Non défini

### 2.2.2.2 Discussion

Les activités antimicrobiennes des extraits au cyclohexane, à l'acétate d'éthyle, au méthanol des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh et de sept composés [Arnoldioside A (**150**), Arnoldioside B (**151**), 2''-O-acétyl-7-O-méthylvitexine (**149**), Apigénine (**147**), 7-O-méthylvitexine (**148**), 4',5-dimethoxy-6,7-methylenedioxyisoflavone (**154**) et amentoflavone (**156**)] ont été évaluées sur une large gamme de bactéries et champignon avec pour agents antimicrobiens de référence la gentamicine et la nystatine. La gentamicine est un antibiotique couramment utilisé pour traiter les infections bactériennes. Son activité





bactéricide est basée principalement sur l'inhibition de la synthèse des protéines, altérant ainsi la perméabilité de la membrane cellulaire et entraînant la rupture progressive de l'enveloppe cellulaire puis éventuellement la mort de la cellule (Dobias et Hazen, 1961). La nystatine, quant à elle, est un antifongique utilisé dans le traitement des infections fongiques du tube digestif, du vagin et de la peau. C'est un inhibiteur de la synthèse d'ergostérol, un constituant essentiel de la membrane des champignons. Son action *in vivo* s'exerce essentiellement sur les genres *Candida* et *Geotrichum* (carvalho et al., 2018).

Le diamètre d'inhibition des sept composés de *R. arnoldianum* testés étant quasi nul, cela révèle qu'aucune activité antimicrobienne n'a été observée et que les souches se sont montrées résistantes vis-à-vis des composés de type flavone testés. Ces résultats sont en accord avec les travaux menés par Adamczak et collaborateurs et publiés en 2020, qui ont montré la très faible activité antibactérienne des flavones (apigénine, lutéoline) et leurs dérivés C-glucosides (vitexine, 2''-O-rhamnoside vitexine, isovitexine, orientine et isoorientine) sur quatre isolats cliniques (*S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) avec des CMI comprises entre 500 et 1000 µg/mL. Cette étude a montré que la présence ou la position du groupement osidique sur le squelette de la flavone, n'affectait pas les valeurs des CMI.

Pour ce qui concerne les extraits des feuilles de *R. arnoldianum* testés, ceux à l'acétate d'éthyle et au méthanol ont montré une activité antibactérienne prometteuse contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*) avec un diamètre d'inhibition compris entre 9 et 16 mm. Les critères d'interprétation des diamètres d'inhibition établis par Lee et collaborateurs en 2004, sont les suivants : diamètre = 30 mm (activité très forte); diamètre compris 21–29 mm (activité forte); diamètre compris 16–20 mm (activité modérée); diamètre compris 11–15 mm (faible activité); diamètre de la zone ≤10 mm (peu ou pas d'activité). Ainsi, l'activité antibactérienne optimale a été obtenue de l'extrait à l'acétate d'éthyle sur *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de 16mm, lui conférant une activité inhibitrice modérée sur cette souche. Alors que dans le même temps, toutes les souches bactériennes testées n'ont montré aucune sensibilité vis-à-vis de l'extrait au cyclohexane. Ce qui démontre que l'action antibactérienne de cette plante réside dans ses métabolites secondaires polaires contenus dans les extraits au méthanol et à l'acétate d'éthyle. De l'analyse des résultats qui précèdent, on pourrait donc suggérer comme hypothèse que, compte tenu du fait que les composés isolés des feuilles de *R. arnoldianum* sont ceux majoritaires dans la plante, l'activité antibactérienne des extraits au méthanol et à l'acétate d'éthyle, pourrait être due à l'action synergique de plusieurs de ces composés, qui testés



individuellement se sont révélés inactifs (Fontanay et al., 2008). Ces agents pathogènes (*S. aureus*, *E. faecalis*, *B. subtilis*, *B. cereus*) étant connus pour être en partie responsable d'intoxication alimentaire ou d'infections intra-abdominales, l'action antibactérienne des extraits de *R. arnoldianum* sur ces souches justifie son usage en médecine traditionnelle, notamment contre les maux de ventre.

Concomitamment, aucun extrait testé, y compris ceux polaires (au méthanol et à l'acétate d'éthyle), n'a montré une inhibition sur *E. coli*, la seule bactérie à Gram négatif parmi les souches testées. Cette observation est corroborée par des études antérieures qui montrent que les bactéries à Gram négatif, sont plus résistantes aux antibiotiques que ceux à Gram positif (Epanand et al., 2016 ; Chelkeba et al., 2021). L'une des explications à cela réside dans leur différence morphologique membranaire. En effet, les bactéries à Gram négatif possèdent, en plus de la membrane cytoplasmique d'une bactérie à Gram positif, une membrane externe additionnelle qui renferme un lipopolysaccharide complexe (LPS) dont la partie lipidique agit comme une endotoxine (Epanand et al., 2016). D'où l'hypothèse suivant laquelle, la résistance d'*E. coli* vis-à-vis des extraits polaires de *R. arnoldianum*, serait liée à la nature de sa membrane externe. Toutefois, seule une étude approfondie permettra de comprendre le mécanisme de résistance d'*E. coli* vis-à-vis des extraits des feuilles de *R. arnoldianum*.

L'activité antibactérienne de trois composés isolés des écorces du tronc de *C. arereh* Delile [acide cassiarique (**161**), bétulinal (**158**) et acide bétulinique (**159**)] et de son extrait brut au méthanol, a été testée sur quatre bactéries à Gram négatif (tableau **26**) en utilisant la lévofloxacine comme contrôle positif. C'est un antibiotique à large spectre qui s'utilise dans un traitement contre certaines infections bactériennes telles que les infections de la vessie, des reins, de la prostate, des sinus, de la peau et des poumons (Podder et Sadiq, 2019).

L'extrait au méthanol de *C. arereh* Delile a montré une faible action sur les souches bactériennes utilisées, avec des valeurs de CMI comprises entre 1563 et 6250 µg/mL, tandis que ces souches se sont montrées presque toutes résistantes vis-à-vis de l'extrait de *R. affine*. Selon Kuete (2010), qui considère que l'activité antibactérienne d'un extrait de plante est significative lorsque la CMI < 100 µg/mL, modérée lorsque  $100 \leq \text{CMI} \leq 625$  µg/mL et faible lorsque CMI > 625 µg/mL, on peut dire que l'extrait brut de *C. arereh* Delile a une faible activité antibactérienne, car toutes les souches bactériennes se sont montrées peu sensibles à son action. Ces résultats sont en accord avec des études antérieures qui ont démontré une activité antibactérienne faible ou modérée des extraits des écorces de *C. arereh*, à différents

solvants (méthanol, acétate d'éthyle, chloroforme, éther de pétrole) (De et al., 2009 ; Ngulde et al., 2010 ; Akanbi et al., 2012). Concernant les trois triterpènes testés, ils ont présenté une activité antibactérienne modérée dans l'ensemble, en se référant à la classification faite par Kuété (2010) qui considère, pour un composé pur, les valeurs suivantes : activité significative ( $CMI < 10 \mu\text{g/mL}$ ), modérée ( $10 < CMI \leq 100 \mu\text{g/mL}$ ) et faible ou négligeable ( $MIC > 100 \mu\text{g/mL}$ ). De ces trois composés, le bétulinal (**158**) s'est montré légèrement plus actif avec une CMI moyenne de  $31,25 \mu\text{g/mL}$ . La présence de substituants polaires aux positions 2, 17 et 20 conduit à une perte de pouvoir inhibiteur comme illustré dans l'acide cassiarique (**161**) (qui est le triterpène le plus polaire) et l'acide bétulinique (**159**) (qui est le deuxième le plus polaire) avec les valeurs CMI moyennes de ces composés compris entre  $31,25$  et  $62,50 \mu\text{g/mL}$ . Les deux ont présenté une activité modérée contre tous les micro-organismes et ces résultats sont en accord avec ceux publiés par Vázquez et al. (2012), qui ont testé l'activité antimicrobienne des triterpènes pentacycliques avec une plage de CMI comprise entre  $64$  à  $1088 \mu\text{g/mL}$ . Il est intéressant de noter que la présence d'un substituant aldéhyde en position C-17 (moins polaire que le substituant acide) sur le bétulinal peut conduire à une légère augmentation de l'activité, corroborant des études antérieures qui ont démontré les bons effets inhibiteurs des substituants moins polaires sur les triterpènes de ce type contre les mêmes microorganismes (Selm et Litinas, 2015; Gossan et al., 2016). Toutefois, l'on note que le triterpène nouveau [acide cassiarique (**161**)] a démontré, à l'égard de la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* (une bactérie nosocomiale opportuniste, qui peut s'avérer redoutable chez les sujets immunodéprimés, à l'instar de ceux ayant subies une intervention chirurgicale), une CMB de  $15,63 \mu\text{g/mL}$  identique à celle de la lévofloxacine, antibiotique de référence utilisée, et une CMI de  $15,63 \mu\text{g/mL}$ , faisant de ce composé un bon candidat pour la recherche et le développement d'un potentiel médicament antibactérien. Une modification de sa structure pourrait accroître son activité et élargir son spectre d'action. Concernant les valeurs du rapport  $MBC / MIC$  et selon la classification faite par Fauchère et Avril (2002), on peut dire que l'acide cassiarique (**161**) et l'acide bétulinique (**159**) ont présenté un effet bactéricide ( $1 \leq CMB/CMI < 4$ ) sur toutes les souches testées, tandis que le bétulinal (**158**) a montré un effet bactéricide ou bactériostatique ( $4 \leq CMB/CMI \leq 16$ ) selon les cas. Sur la base des résultats qui précèdent, il est difficile de justifier les utilisations traditionnelles de cette plante pour le traitement des infections bactériennes telles que la diarrhée et la dysenterie entre autres.

Il est à noter que la principale différence entre les antibiotiques bactéricides et bactériostatiques est leur mode d'action. Les antibiotiques bactéricides tuent directement les

bactéries en inhibant la formation de la paroi cellulaire bactérienne. En revanche, les antibiotiques bactériostatiques inhibent la réplication de l'ADN et la synthèse protéique des bactéries et travaillent avec le système immunitaire de l'hôte pour afin d'éliminer les agents pathogènes. Des concentrations élevées d'antibiotiques bactériostatiques peuvent avoir une action bactéricide (Ullah et Ali, 2017).

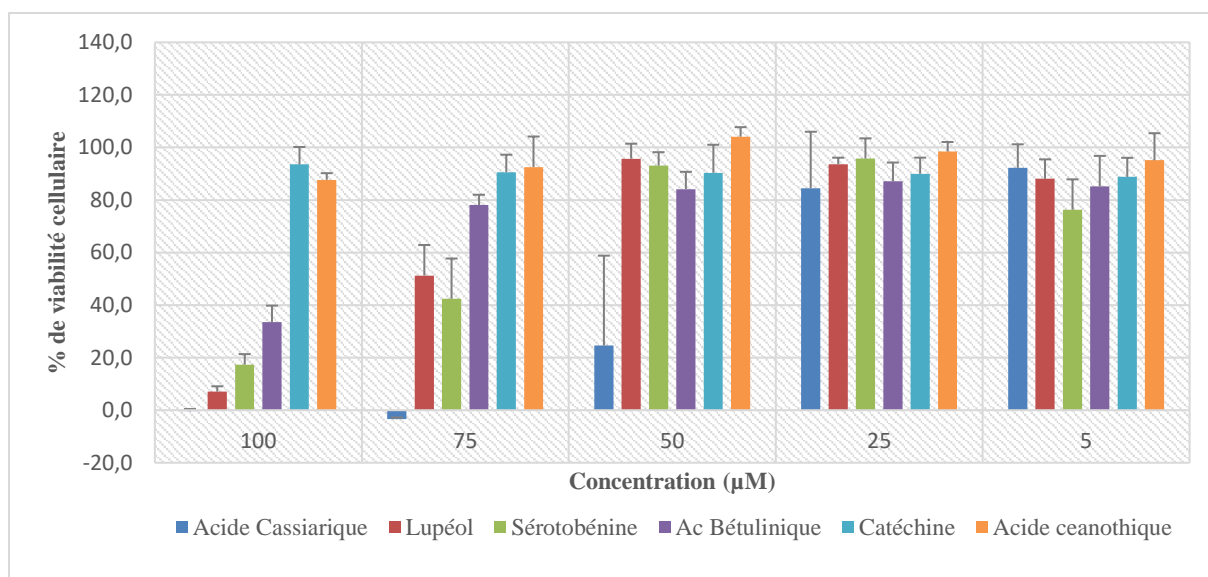
Cependant, sur la base des données précédentes, nous ne pouvons pas expliquer succinctement le mode d'action de l'activité antibactérienne de ces triterpènes. Pour les triterpénoïdes contenant une fonction aldéhyde, l'activité pharmacologique a été étudiée, démontrant leur effet hautement toxique (O'Brien et al., 2005), mais on en sait peu sur leur mécanisme d'action moléculaire.

### 2.2.3 Evaluation de l'activité anticancéreuse

#### 2.2.3.1 Résultats

L'activité cytotoxique de l'acide cassiarique (**161**), du lupéol (**157**), de l'acide bétulinique (**159**), de l'acide ceanothique (**162**), de la catéchine (**152**) et de la sérotobénine (**166**) a été évaluée *in vitro* sur des lignées cellulaires du cancer du col de l'utérus HeLa et du cancer du sein MCF-7 à différentes concentrations en utilisant la méthode MTT (Mosmann, 1983), avec la camptothécine comme contrôle positif. La camptothécine est agent antitumoral cytotoxique qui inhibe la topoisomérase de type I en formant un complexe stable avec l'enzyme et le brin d'ADN avec lequel cette dernière s'est fixée (Joon-Hyung, 2015).

Le pourcentage de cellules vivantes (viabilité cellulaire), après traitement en présence de composés testés à différentes concentrations, est donné à la figure 90. La viabilité cellulaire a été obtenue à partir des absorbances du formazan formé après le traitement au MTT.



La camptothécine est utilisée comme contrôle positif avec une valeur  $CI_{50}$  de  $20\mu M$ . Les données représentent la moyenne  $\pm$  écart-type de trois expériences indépendantes.

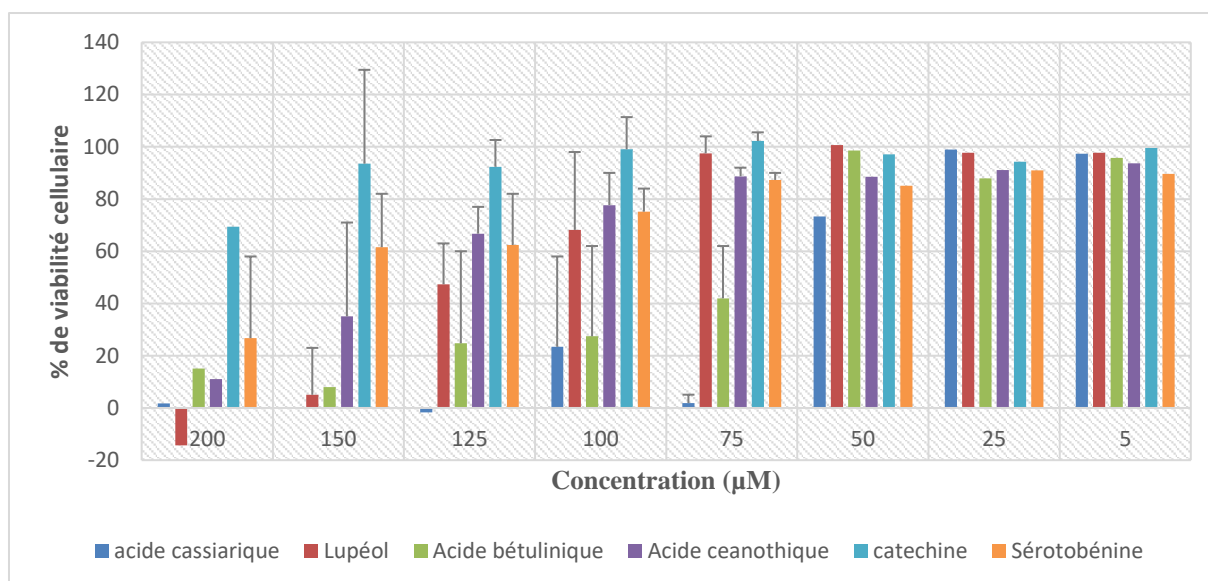
**Figure 90 : Viabilité cellulaire moyenne (%) de la lignée cellulaire HeLa en réponse à 48 heures de traitement avec les composés testés à différentes concentrations.**

**Tableau 27 : Activité cytotoxique ( $CI_{50}$  en  $\mu g/mL$ ) et indice de sélectivité (IS) de quelques composés contre les cellules cancéreuses du col de l'utérus HeLa.**

Composés	Concentrations ( $\mu g/mL$ )		
	Vero $CI_{50}$	HeLa $CI_{50}$	IS
Acide Cassiarique	17,8	19,0	0,9
Lupéol	42,6	32,8	1,3
Sérotobénine	>100	24,9	nd
Acide bétulinique	45,6	41,5	1,1
Catéchine	>100	>100	nd
Acide ceanothique	>100	>100	nd
Camptothécine	6,97	8,71	0,8

Les données sont présentées sous forme de moyennes de trois répétitions  $\pm$  écart type ; nd: non déterminé;  $CI_{50}$ : concentration requise pour inhiber la croissance cellulaire de 50% par rapport aux témoins non traités. IS: indice de sélectivité contre les lignées cellulaires *Vero*. Camptothécine : contrôle positif

Les résultats des tests préliminaires, effectués sur les cellules cancéreuses du sein MCF-7 et évaluant l'effet cytotoxique à différentes concentrations de six composés isolés, sont représentés dans la figure 91 ci-après.



La camptothécine est utilisée comme contrôle positif avec % de viabilité de 2,3 à une concentration de 1μM. Les données représentent la moyenne ± écart-type de trois expériences indépendantes.

**Figure 91: Viabilité cellulaire moyenne (%) de la lignée cellulaire MCF-7 en réponse à 48 heures de traitement avec les composés testés à différentes concentrations.**

### 2.2.3.2 Discussion

De l'analyse des résultats cytotoxiques précédents (tableau 27), il ressort qu'aucun des composés testés sur la lignée cellulaire HeLa n'a présenté une forte activité cytotoxique in vitro, sur la base du critère établi par l'Institut National de Cancer (INC) USA, selon lequel la concentration inhibitrice médiane ( $CI_{50}$ ) doit être inférieure ou égale à 4 μg/mL (après un temps d'incubation compris entre 48 et 72 heures) (Alabsi et al., 2016). Toutefois, l'acide cassiarique (**161**), la sérotobénine (**166**), le lupéol (**157**) et l'acide bétulinique (**159**) ont montré une activité modérée avec des concentrations inhibitrices médianes ( $CI_{50}$ ) à 19,0 μg/mL ; 24,9 μg/mL ; 32,8 μg/mL et 41,5 μg/mL respectivement. En tenant compte des index de sélectivité, la quasi-totalité n'a montré un index de sélectivité (IS) suffisamment élevé, car la valeur IS est considérée comme suffisamment sélective des cellules cancéreuses si  $IS \geq 2$  (Badisa et al, 2009), c'est-à-dire lorsque  $CI_{50}$  du composé dans les cellules normales (Vero) est deux fois plus élevée que  $CI_{50}$  des cellules cancéreuses HeLa. Les composés testés présentant une valeur IS inférieure à 2, cela indique une toxicité générale de ces derniers, réduisant ainsi leur utilisation potentielle dans le traitement du cancer du col de l'utérus. Seule la sérotobénine, qui présente un  $IS > 4$  et une  $CI_{50}$  de 24,9 possède la plus faible toxicité vis-à-vis des cellules saines et révèle ainsi le meilleur potentiel cytotoxique.

Concernant les résultats préliminaires sur les cellules cancéreuses du sein MCF-7 (Figure 93), l'acide cassiarique (**161**), composé nouveau, a présenté une bonne activité antiproliférative avec 99% des cellules cancéreuses éliminées à une concentration de 75  $\mu\text{M}$  après 48 heures d'exposition, tandis que l'acide bétulinique (**159**) inhibait 58% de ces cellules dans les mêmes conditions. Cependant, le lupéol (**157**), l'acide céanothique (**162**), la catéchine (**152**) et la sérotobénine (**166**) n'ont presque pas montré d'effet cytotoxique contre les lignées cellulaires MCF-7 à une concentration inférieure à 100  $\mu\text{M}$ .

Bien que des études antérieures rapportées sur les triterpènes de type lupane tels que la bétuline, l'acide bétulinique et le lupéol aient démontré de multiples bioactivités contre différentes lignées cellulaires cancéreuses (cancers du poumon, du foie, de l'estomac, colorectal et du sein) (Cháirez-Ramírez et al. 2016), notre étude démontrent qu'au-delà des valeurs trouvées pour les triterpènes isolés (acide cassiarique, lupéol et acide bétulinique), ils pourraient perturber le cycle cellulaire et induire la mort cellulaire par apoptose dans les cellules cancéreuses (Rajavel et al. 2017). Une modification structurale ou une substitution de certains groupement pourrait être envisagée afin de réduire cette toxicité et d'optimiser leur potentiel comme alternative de traitement des cancers du col de l'utérus et du sein.

### 2.3 Contribution à l'étude chimiotaxonomique du genre *Rhabdophyllum*

Le genre *Rhabdophyllum* Tiegh. issu de la famille des Ochnaceae, appartient à la sous-tribu des Ouratinae, qui comporte aussi le genre néotropical *Ouratea* Aubl. (Sastre, 1988; 1995) et les genres africains *Campylospermum* Tiegh. et *Idertia* Farron (Kanis, 1968; Farron, 1985). Suite à de nombreuses études réalisées sur la famille des Ochnaceae, Gilg et Van Tieghem ont permis de mettre en exergue les similitudes et différences phylogéniques entre les genres *Rhabdophyllum* et *Campylospermum*. Ces deux genres présentent des dents marginales caduques, des cotylédons incurvés et des nervures secondaires qui se courbent vers le haut longtemps avant d'atteindre la marge. Mais la distinction entre les deux est évidente : *Rhabdophyllum* a des nervures secondaires très denses, fines et parallèles, et des pétales aussi longs que les sépales, tandis que le genre *Campylospermum* possède une nervation secondaire plus lâche et non-parallèle, ainsi que des pétales beaucoup plus longs que les sépales (Sosef, 2008).

Seulement la polémique entre Gilg et Tieghem engagée au début du XX<sup>e</sup> siècle, sur la délimitation générique de ces deux genres, demeure encore aujourd'hui. D'après l'hypothèse de Farron, basée sur ses travaux réalisées en 1963 et 1968, *Rhabdophyllum* serait dérivé à



l'intérieur de *Campylospermum*, laissant alors ce dernier comme genre paraphylétique parfaitement acceptable (Sosef, 1997; Hörandl, 2006). D'où l'intérêt de vérifier si les données moléculaires peuvent confirmer la délimitation de ces genres.

En date, les études phytochimiques réalisées sur dix espèces du genre *Campylospermum* (*C. calanthum*, *C. densiflorum*, *C. dybowskii*, *C. excavatum*, *C. flavum*, *C. glaucum*, *C. mannii*, *C. oliverianum*, *C. vogelii*, *C. zenkeri*), renseignent sur la présence de plusieurs classes de composés polaires tels que les flavonoïdes, les biflavonoïdes, les cyanoglycosides, les alcaloïdes et les stéroïdes glycosylés, avec comme principaux marqueurs chimiques l'amentoflavone (**156**) (biflavonoïde) et la sérotobénine (**166**) (alcaloïde indolique) isolés respectivement de six et sept espèces de *Campylospermum* (Elo et al., 2009 ; Ndongo et al., 2010 ; Ngono et al., 2015 ; Bikobo et al., 2011 ; 2015 ; Bayiha et al., 2017 ; Mbabi et al., 2018). Les cyanoglycosides quant à eux, sont très spécifiques au genre *Campylospermum* dans la famille des Ochnaceae et les tous premiers (campyloside A et B) furent isolés des racines de *C. glaucum* par Abouem et al., (2008). Depuis lors, ces composés se sont révélés être une classe très abondante dans ce genre, isolés dans sept des dix espèces étudiées jusqu'à ce jour (Abouem et al., 2008 ; Ndongo et al., 2010 ; Ngono et al., 2011 ; 2015 ; Bayiha et al., 2017).

A côté de cela, des études plus récentes, menées sur quelques espèces du genre *Rhabdophyllum* (*R. calophyllum* ; *R. arnoldianum* ; *R. affine*) ont permis d'isoler des flavonoïdes, biflavonoïdes, stéroïdes glycosylés et un alcaloïde. On y retrouve également l'amentoflavone et la sérotobénine qui sont des marqueurs chimiques du genre *Campylospermum* et qui laissent entrevoir un lien phylogénique entre ces deux genres. Cependant, l'absence de composés cyanoglycosylés, marqueurs chimiques prépondérant du genre *Campylospermum* dans la famille des Ochnaceae, laisserait penser à une démarcation phylogénique entre ces deux genres, faisant du genre *Rhabdophyllum* un genre paraphylétique parfaitement acceptable selon l'hypothèse formulée par Farron (Sosef, 1997; Hörandl, 2006). Cette hypothèse se voit renforcée par la présence de la lancéolosite A (**163**), un benzoylglucoside isolé de *R. arnoldianum*, alors même qu'aucun composé de cette classe n'a pu être identifié dans le genre *campylospermum* jusqu'en date.

Toutefois, le genre *Rhabdophyllum* Tiegh. comprenant huit espèces connues de l'Afrique tropicale (Sosef, 2008), et le genre *Campylospermum* quarante-huit (Bayiha et al., 2017), cette étude chimiotaxonomique, basée sur l'appréciation de quelques-unes de leurs espèces, ne suffit pas à distinguer de manière irréfutable les genres *Rhabdophyllum* et *Campylospermum*.



**Tableau 28 : Similitudes et différences phylogéniques entre les genres *Campylospermum* Tiegh et *Rhabdophyllum* Tiegh**

Genre <i>Campylospermum</i> Tiegh	Genre <i>Rhabdopyllum</i> Tiegh
<b>Similitudes</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ nervures secondaires courbes</li> <li>✓ des cotylédons incurvés.</li> <li>✓ des dents marginales caduques</li> </ul>	
<b>Différences</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Nervures secondaires plus lâche et non-parallèle</li> <li>✓ Pétales beaucoup plus longs que les sépales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Nervures secondaires très denses, fines et parallèles,</li> <li>✓ Pétales aussi longs que les sépales</li> </ul>

**Tableau 29 : Etude phytochimique comparée des genres *Campylospermum* Tiegh et *Rhabdophyllum* Tiegh**

	Genre <i>Campylospermum</i> Tiegh	Genre <i>Rhabdopyllum</i> Tiegh
<b>Nombre d'espèces étudiées</b>	10 espèces	03 espèces
<b>Flavonoïdes</b>	+ (amentoflavone*)	+ (amentoflavone*)
<b>biflavonoïdes</b>	+	+
<b>alcaloïdes</b>	+ (sérotobénine*)	+ (sérotobénine*)
<b>stéroïdes glycosylés</b>	+	+
<b>cyanoglycosides</b>	+	-
<b>benzoylglucoside</b>	-	+

+ : Présents

- : Absents

\* : Marqueurs chimiotaxonomiques



## CONCLUSION GENERALE

Nos travaux avaient pour but de rechercher des molécules à potentiels cytotoxique et antibactérien, aux fins de palier au faible index de sélectivité et de lutter contre le phénomène de multirésistance aux antimicrobiens, aussi de valider les usages traditionnels de plantes émanant de la biodiversité camerounaise et d'affiner la chimiotaxonomie du genre *Rhabdophyllum*. Ainsi, l'étude phytochimique des trois espèces sélectionnées, à savoir *Rhabdophyllum arnoldianum* (De Wild. & T. Durand), *Rhabdophyllum affine* (Hook. F.) et *Cassia arereh* Delile, a conduit à l'isolement et la caractérisation, au moyen de méthodes physico-chimiques et spectroscopiques, de 20 composés dont 4 nouvellement décrits à savoir : deux flavonoïdes de type flavone [Arnoldioside A (**150**) et B (**151**)], un triterpène de type lupane [acide cassiarique (**161**)] et une céramide [cassiamide (**165**)]. A notre connaissance, les triterpènes acides en C-29 et les céramides n'avaient jamais été isolés du genre *Cassia*.

Au plan biologique, les extraits et quelques composés isolés ont été évalués *in vitro* pour leurs activités cytotoxique et/ou antimicrobienne.

Les extraits de *C. arereh* Delile, *R. arnoldianum* et *R. affine* ainsi que quelques composés purs isolés de ces plantes ont été testés pour leurs activités antimicrobiennes sur neuf souches microbiennes en culture *in vitro* et les extraits des feuilles de *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh ont montré une activité antibactérienne modérée allant jusqu'à un diamètre d'inhibition de 16mm, tendant à justifier son usage en médecine traditionnelle, notamment contre les maux de ventre. L'extrait brut des écorces de *C. arereh* Delile a démontré quant à lui, une faible activité sur les souches testées, rendant ainsi difficile la confirmation de son usage en pharmacopée traditionnelle pour le traitement de maladies bactériennes telle que la diarrhée et la dysenterie. Quant aux composés purs testés, ils ont montré dans l'ensemble une activité modérée, notamment le triterpène nouveau [acide cassiarique (**161**)] qui a démontré, à l'égard de la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*, une CMB de 15,63 µg/mL identique à celle de la lévofloxacine, antibiotique de référence utilisée.

Concernant l'activité cytotoxique évaluée sur les souches cancéreuses du col de l'utérus HeLa, l'acide cassiarique (**161**), triterpène nouveau, a présenté la meilleure cytotoxicité contre la lignée cellulaire Hela avec une CI<sub>50</sub> de 19,0 µg/mL après 48 heures. Cependant, son index de sélectivité (IS) inférieure à 2, traduit une toxicité de ce dernier, réduisant ainsi son utilisation potentielle dans le traitement du cancer du col de l'utérus.

Sur le plan chimiotaxonomique, l'étude comparative des classes de composés et des marqueurs chimiques isolés des genres *Campylospermum* et *Rhabdophyllum*, a permis

d'entrevoir une démarcation chimique entre ces genres, notamment par l'absence de benzoylglucoside dans le genre *Campylospermum*, alors qu'il est trouvé présent dans celui de *Rhabdophyllum*.

Ces travaux confortent ainsi notre hypothèse de départ, selon laquelle les plantes ethnométricinales sont une source pour la découverte de nouveaux agents thérapeutiques, à l'instar du dérivé nouveau, l'acide cassiarique (**161**), qui a démontré des propriétés antibactériennes et cytotoxiques prometteuses, et dont une modification structurale permettrait d'élargir son spectre d'action, d'améliorer son efficacité et son index de sélectivité. Cette découverte a contribué à l'atteinte partielle de notre objectif principal, qui était de rechercher des composés potentiellement antimicrobiens et cytotoxiques émanant de la biodiversité camerounaise aux fins de lutter contre les phénomènes de résistances et de faible sélectivité des médicaments sur le marché. Quant aux objectifs spécifiques, les métabolites secondaires ont été isolés et caractérisés, leurs propriétés cytotoxiques et antimicrobiennes ont été évaluées et les bases d'une démarcation chimique éventuelle entre les genres *Rhabdophyllum* et *Campylospermum*, ont été posées.

Comme perspectives envisagées à l'issue de ce travail, nous nous proposons :

- ✓ d'effectuer des modifications structurales sur l'acide cassiarique dans l'optique d'améliorer non seulement son activité mais aussi son indice de sélectivité ;
- ✓ d'étendre l'élucidation structurale aux composés restants, isolés de *R. affine* (Hook. F.) Tiegh et de parachever l'étude chimique des fractions restantes ;
- ✓ enfin, d'étendre nos travaux sur d'autres espèces du genre *Rhabdophyllum* afin d'affiner davantage leur chimiotaxonomie.



**CHAPITRE 3 :**  
**PARTIE EXPERIMENTALE**

### 3.1 Matériel végétal, extraction et purification des composés

#### 3.1.1 Récolte, séchage, broyage et extraction

Les feuilles *R. arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh ont été récoltées à Fifinda, Département de l'Océan, Région du Sud Cameroun, en Août 2009 et identifiées par M. Victor Nana (botaniste). Un échantillon de référence au N° HNC 31403 se trouve à l'Herbier National du Cameroun.

Les racines de *R. affine* (Hook. F.) Tiegh ont été identifiées et collectées au sommet du Mont Kala, dans le Département de la Méfou-et-Akono, Région du Centre Cameroun en décembre 2016 par M. Victor Nana (botaniste). L'identité du matériel végétal a été confirmée à l'Herbier National du Cameroun où un échantillon de référence s'y trouve au N° HNC 27869.

Les écorces de *C. arereh* Delile ont été prélevées à Yagoua dans Région du Nord Cameroun. L'identité du matériel végétal a été confirmée à l'Herbier National du Cameroun où un échantillon de référence s'y trouve au N° 24093 SFRCAM

Le matériel végétal a été découpé, séché à l'air libre pendant 2 à 3 semaines, ensuite broyé. Les plantes ont ensuite été extraites trois fois par le méthanol (MeOH). Chaque extraction a été effectuée avec au minimum 24 heures d'agitation à température ambiante dans une proportion d'à peu près 1 litre de solvant pour 200 g de plante. Les solvants ont été évaporés à basse pression et les extraits finalement séchés (Tableau 28).

**Tableau 30 : Lieux de récolte et rendements d'extraction des plantes étudiées**

Espèce (Partie)	Lieu de récolte (Date)	N° de référence (HNC)	Poids sec [g]	Poids sec de l'extrait MeOH [g] (rdt)
<i>R. arnoldianum</i> (feuilles)	Fifinda (08.2009)	31403	462,0	90,5 (19,6%)
<i>R. affine</i> (racines)	Mont Kala (12.2016)	27869	412,0	33,5 (8,13%)
<i>C. arereh</i> (écorces)	Yagoua (04.2015)	24093	685,0	52,1 (7,61%)

### 3.1.2 Partition, purification et isolement des composés de l'extrait brut des feuilles de *Rhabdophyllum arnoldianum* (De Wild. & T. Durand) Tiegh

De l'extrait au méthanol obtenu des feuilles de *R. arnoldianum*, 50 g ont été mis en suspension dans le mélange MeOH-H<sub>2</sub>O (8:2) et soumis à une partition liquide-liquide successivement avec le n-hexane (total de 3 L) et l'acétate d'éthyle (total de 3 L) conduisant respectivement à l'obtention de 3,8 g et 17,6 g de fractions à l'hexane et à l'acétate d'éthyle.

#### 3.1.2.1 Traitement de la fraction à l'acétate d'éthyle

La fraction à l'acétate (17,6 g) a été soumise à une colonne de gel de silice en phase normale, éluée avec des mélanges CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH de polarité croissante (30: 1 à 5: 1) puis lavée au MeOH pur. Des sous-fractions de 250 mL ont été recueillies, concentrées puis combinées en sept fractions principales (F1-7) sur la base de la composition de la CCM analytique comme le montre le tableau 29.

**Tableau 31 : Chromatogramme issu de la fraction à EtOAc des feuilles de *R. arnoldianum***

Eluant	Séries	Fractions	Observations
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 30 :1	1-15	F1 (52 mg)	Mélange huileux de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 20 :1	16-36	F2 (86 mg)	Mélange de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 15 :1	37-69	F3 (117 mg)	Mélange de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 12 :1	70-95	F4 (1000 mg)	Mélange de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 10 :1	96-109	F5 (827 mg)	Mélange de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 8 :1	110-129	F6 (114 mg)	Mélange complexe de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 5 :1	130-142	F7 (1000 mg)	Mélange de plusieurs composés

#### a) Purification de la fraction F2

La fraction 2 (86 mg) a été soumise à des chromatographies sur colonne (CC) sur gel de silice répétées avec un gradient CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH pour donner la 4',5-dimethoxy-6,7-methylenedioxyisoflavone (**RAF6** : 11 mg).

#### b) Traitement de la fraction F3

La fraction 3 (117 mg) a été également soumise à une CC sur gel de silice, éluée avec un gradient CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH pour donner un précipité. Ce dernier a été filtré et lavé à l'aide du

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> conduisant à l'apigénine (**RAF5** : 5 mg). Le filtrat de la fraction 3 a été appliqué à une colonne Sephadex LH-20 avec du MeOH pour donner la lancéoloside A (**RAF7** : 10 mg).

#### c) Purification de la fraction F4

La fraction 4 (1,0 g) a été soumise à une CC sur Sephadex LH-20 avec MeOH comme éluant, pour donner les sous-fractions 1-4, qui ont été purifiées par chromatographie flash avec un mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (0-4% MeOH) pour donner la 2''-O-acetyl-7-O-methylvitexine (**RAF3** : 67 mg), la 3''-O-acetyl-7-O-methylvitexine (**RAF1** : 61 mg) et l'amentoflavone (**RAF11** : 15 mg).

#### d) Purification de la fraction F5

La purification de la fraction 5 (827 mg) sur gel de silice, puis par chromatographie sur colonne sur Sephadex LH-20 et chromatographie flash, a donné la 7-O-methylvitexine (**RAF4** : 11 mg), la 3-β-O-D-glucopyranosyl-β-sitostérol (**RAF9** : 8 mg) et la rhusflavone (**RAF10** : 7 mg).

#### e) Purification de la fraction F7

La purification de la fraction 7 (1,0 g) s'est faite sur Sephadex LH-20 en utilisant du MeOH comme éluant, suivi d'une chromatographie flash éluee avec un gradient CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH, pour donner à nouveau la 3''-O-acetyl-7-O-methylvitexine (**RAF1** : 42,4 mg), la 6''-α-rhamnopyranosyl-7-O-methylvitexine (**RAF2** : 20,3 mg) et l'épicatéchine (**RAF8** : 5 mg).

### 3.1.3 Partition, purification et isolement des composés de l'extrait brut des écorces de *Cassia arereh* Delile

L'extrait brut (52,1g) obtenu des écorces de *C. arereh* Delile, a été mis en suspension dans un mélange hydro-méthanolique (MeOH - H<sub>2</sub>O, ratio 2:8) et soumis à une partition liquide-liquide avec EtOAc (250 ml x 8) comme solvant organique, conduisant à une masse d'extrait de 19,5 g.



### 3.1.3.1 Traitement de la fraction à l'acétate d'éthyle

La fraction à l'acétate d'éthyle obtenu (19,5 g) a fait l'objet d'une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale éluée au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> pur, suivi des mélanges CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH de polarité croissante (100:1 à 5: 1). Au système d'éluion CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 50 : 1, après évaporation du solvant, il précipite dans les fractions 8-11, 15-18 et 22-25, des solides sous forme de poudre blanche, qui, après filtration et lavage au n-pentane donnent respectivement trois composés : le lupéol (**CAE5** : 11,5 mg), le bétulinal (**CAE3** : 8,2mg) et l'acide bétulinique (**CAE4** : 40 mg). Aux systèmes d'éluion CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 40 : 1, 30 : 1 et 20 : 1, ils se forment respectivement un solide sous forme d'aiguille de couleur blanche, l'acide céanothique (**CAE6** : 8,5 mg), un solide amorphe blanc la cassiamamide (**CAE7** : 6,2 mg) et un solide de couleur blanche le 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-β-sistostérol (**CAE1** : 12,1 mg) qui ont été lavés et purifiés individuellement à l'acétone.

Les autres sous-fractions ont été combinées en cinq fractions principales (F1-5) sur la base de leurs profils CCM tel que présenté dans le tableau 30 ci-après.

**Tableau 32 : Chromatogramme issu de la fraction à EtOAc des écorces de *C. arereh* Delile**

Eluant	Séries	Fractions	Observations
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> pur CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 100 :1	1-15	F1 (124 mg)	Mélange huileux de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 50 :1 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 40 :1 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 30 :1	16-38	F2 (220 g)	<b>CAE3</b> (8,2 mg) solide blanc <b>CAE4</b> (40 mg) solide blanc <b>CAE5</b> (11,5 mg) solide blanc <b>CAE6</b> (8,5 mg) aiguilles incolores <b>CAE7</b> (6,2 mg) solide amorphe blanc Mélange complexe de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 20 :1 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 15 :1	39-77	F3 (2,2 g)	<b>CAE1</b> (12,1 mg) solide blanc Mélange complexe de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 12 :1 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 10 :1	78-106	F4 (250 mg)	Mélange complexe de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 8 :1 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 5 :1	106-189	F5 (2,7 mg)	Mélange complexe de plusieurs composés



### a) Purification de la fraction F3

La fraction F3 (2,2 g) a été purifiée à répétition sur Sephadex LH-20 à l'aide du MeOH pur comme solvant, pour donner des précipités qui ont été lavés à l'acétone puis filtrés et correspondants à la catéchine (CAE9 : 18,4 mg) et la bétuline (CAE2 : 4,6 mg).

### b) Purification de la fraction F4

La fraction 4 (250 mg) a également été soumise à une chromatographie sur colonne de Sephadex LH-20, éluée au MeOH, pour donner l'acide cassiarique (CAE8 : 11,5 mg), un triterpène nouveau de type lupane.

## 3.1.4 Partition, purification et isolement des composés de l'extrait brut des racines de *Rhabdophyllum affine* (Hook. F.) Tiegh

L'extrait brut (33,5 g) a été mis en solution dans 500 ml d'un mélange MeOH : H<sub>2</sub>O (2 : 8) et a par la suite subi une extraction liquide – liquide à l'aide de l'acétate d'éthyle (250 ml x 4), pour aboutir à une masse de 7,1 g après évaporation du solvant.

### 3.1.4.1 Traitement de la fraction à l'acétate d'éthyle

La fraction à l'acétate d'éthyle (7,1 g) a été soumise à une chromatographie sur colonne flash de gel de silice avec un gradient d'éluion CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH. Des sous-fractions de 150 mL ont été collectées à chaque fois, concentrées et regroupées pour donner 5 fractions principales indexées F1 à 5 comme l'indique le tableau 31 ci-dessous.

**Tableau 33: Chromatogramme issu de la fraction à EtOAc des racines de *R. affine***

Eluant	Séries	Fractions	Observations
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 100 :1 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 50 :1	1-15	F1 (350 mg)	Mélange huileux de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 30 :1 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 20 :1	16-36	F2 (1,2 g)	Mélange complexe de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 15 :1 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 12 :1	96-109	F3 (600 mg)	Mélange complexe de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 10 :1 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 8 :1	110-129	F4 (300 mg)	Mélange complexe de plusieurs composés
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 5 :1	130-142	F5 (150 mg)	Mélange complexe de plusieurs composés

### a) Purification de la fraction F2

La fraction F2 (1,2 g) a été soumise à une CC sur gel de silice et éluée en système isocratique à l'aide du système de solvant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 30/1 pour donner un précipité de couleur blanche, qui filtré et lavé à l'acétone, a permis d'obtenir la sérotobénine (**RAR4** : 21,2 mg).

### b) Purification de la fraction F3

La fraction F3 (600 mg) a été soumise à une CC sur gel de silice à l'aide du système de solvant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (20/1 à 12/1) pour donner deux sous-fractions (F3a et F3b). La sous-fraction F3a (350 mg) a été purifiée par CC sur gel de silice avec le système isocratique CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (20/1) pour donner le 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-β-sistostérol (**RAR3** : 1,9 mg). De même, la sous-fraction F3b (150 mg) a donné l'apigénine (**RAR2** : 4,5 mg), un solide de couleur jaune.

### c) Traitement de la fraction F4

La fraction F4 (150 mg), également soumise à une CC sur gel de silice, nous a permis d'obtenir un solide jaune, la 3''-*O*-acétyl-7-*O*-méthylvitexine (**RAR1** : 2,2 mg).

## 3.2 Méthodes préparatives et chromatographiques

### 3.2.1 Partage liquide-liquide

Les extraits bruts ont d'abord été fractionnés par un partage liquide-liquide selon une procédure proposée par Karioti et al. (2009). L'extrait brut a été mis en suspension dans un volume de MeOH aqueux (MeOH : H<sub>2</sub>O 20:80) et dégraissé à température ambiante avec du n-hexane trois fois. 10 ml de H<sub>2</sub>O ont été ajoutés à la phase aqueuse restante et elle a été extraite par la suite avec l'EtOAc (trois fois). Après évaporation des solvants, ce partage a donc permis d'obtenir trois fractions de polarité croissante : n-hexane, AcOEt et MeOHaq.

### 3.2.2 Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les analyses par chromatographie sur couche mince ont été effectuées avec des plaques fines (0,20 mm) de gel de silice Silicagel 60 F254. Après développement dans des cuves en verre (Canmag), les plaques ont été observées à la lumière du jour, et sous lampe UV à 254 et 366 nm. Selon les cas, elles ont ensuite été révélées par un réactif de détection relativement



polyvalent, celui de la vanilline. La solution de vanilline utilisée comme révélateur est préparée en pesant 1g de vanilline en poudre qui est placé ensuite dans une fiole jaugé de 100ml. Quelques millilitres (environ 20 ml) d'éthanol sont ajoutés pour la dissolution et portés au volume avec de l'éthanol. Enfin est ajouté, goutte à goutte 2 ml d'acide sulfurique concentré. La solution ainsi obtenue ne peut être utilisée que dans les 48 heures qui suivent sa préparation. Les plaques sont pulvérisées avec ce réactif, puis chauffées à l'étuve ou avec un sèche-cheveux jusqu'à apparition de taches de diverses couleurs.

### **3.2.3 Chromatographie sur colonne (CC) ouverte**

Les chromatographies sur colonnes ont été réalisées avec plusieurs types de phases stationnaires 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.

#### **3.2.3.1 Chromatographie d'adsorption**

Des colonnes ouvertes sur gel de silice 60 (0,063 – 0,2 mm E. Merck, Darmstadt, Allemagne) ont été utilisées dans la première ou seconde étape de fractionnement des extraits AcOEt. La taille des colonnes, la granulométrie de la phase solide, le débit de la phase mobile et la taille des fractions ont été adaptés à la quantité et à la nature (extrait, fraction) des échantillons à séparer. Le choix des conditions d'élution, le suivi de la séparation et le rassemblement final des fractions ont été effectués sur la base d'analyses par CCM. Les échantillons ont été introduits sous forme solide en les mélangeant avec de 2,5 à 3 fois leur poids de phase. Des gradients en plateaux de mélanges dichlorométhane : méthanol ont été utilisés comme systèmes d'élution, et les fractions ont été récoltées soit manuellement soit par un collecteur automatique de fractions Bio-Rad model 2110.

#### **3.2.3.2 Chromatographie d'exclusion**

Les chromatographies d'exclusion ou filtration sur gel ont été réalisées dans quelques étapes de purification. Elles ont été effectuées sur Sephadex LH-20 (25-100 µm Sigma Aldrich, South Africa) avec du MeOH comme phase mobile à un débit de 0,3 à 1,0 ml. Les échantillons à séparer ont été introduits sous forme liquide après dissolution dans un volume de méthanol (le plus petit possible) et éventuellement filtration. Le suivi des séparations et le rassemblement



final des fractions ont été faits sur la base d'analyses par CCM. Les fractions ont été récoltées par un collecteur automatique Bio-Rad model 2110.

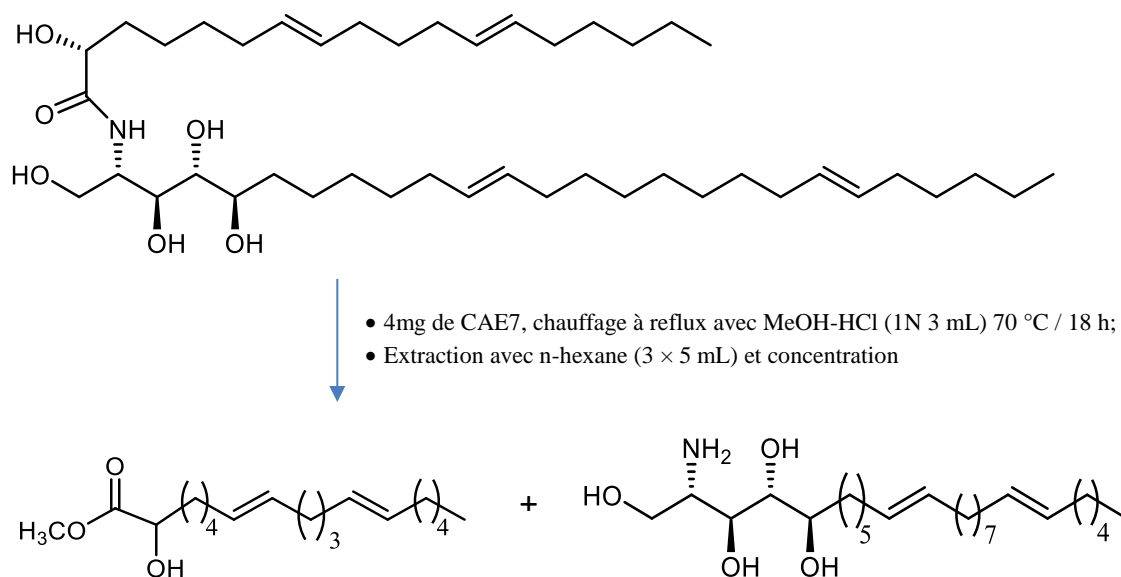
### 3.2.4 Chromatographie flash (CF)

Cette technique utilise des particules de silice de 35 à 70  $\mu\text{m}$  et le solvant s'écoule sous pression d'air comprimé. Le fractionnement a été réalisé par une chromatographie flash sur une colonne de silice (40  $\mu\text{m}$ ) avec un gradient d'éluion  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  à une vitesse de 18 mL/min.

## 3.3 Méthodes de synthèse

### 3.3.1 Réaction de méthanolyse du composé CAE7

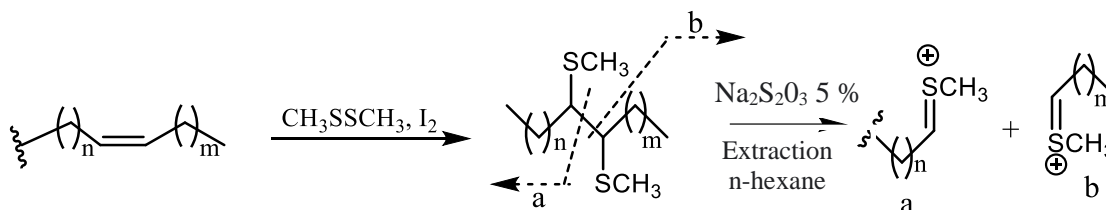
Le composé CAE7 (4 mg) a été soumis à une méthanolyse avec 5% de HCl dans MeOH (3 ml) à 70°C pendant 18 h (Yamada et al., 2001). Le mélange réactionnel a été extrait avec de l'hexane (3  $\times$  5 mL) et concentré sous vide pour obtenir les mélanges d'esters méthyliques d'acides gras (EMAG) qui furent analysés par CG et FABMS.



**Schéma 9 : Réaction de la méthanolyse de la céramide CAE7**

### 3.3.2 Réaction de fragmentation du composé CAE7 par le diméthylsulfure

Le composé CAE7 (2,0 mg) a été dissous dans du DMDS (1 ml) et de l'iode (1,5 mg) a été ajouté à la solution. Le mélange obtenu a été conservé à 60 °C pendant 40 h dans un flacon de petit volume scellé. La réaction a ensuite été introduite dans une solution aqueuse du Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> à 5 %. Le mélange a été extrait avec du n-hexane (3 x 5 ml). L'extrait a été concentré pour donner les dérivés de DMDS. Le spectre de masse à impact électronique a été mesuré pour chaque dérivé



**Figure 92 : Réaction de fragmentation des chaînes alcényles de la céramide CAE7 par le diméthylsulfure (DMDS)**

### 3.4 Méthodes physico-chimiques

Une fois les composés purs isolés, plusieurs appareils et méthodes physico-chimiques ont été utilisés dans le but de les caractériser.

#### 3.4.1 Point de fusion (P.F.)

L'appareil de point de fusion Gallenkamp a été utilisé pour la détermination du point de fusion dans des tubes capillaires ouverts.

#### 3.4.2 Spectres Infra-rouge (IR)

Les données infra-rouges des composés isolés ont été recueillies à l'aide d'un spectrophotomètre Bruker Alpha Platinum-ATR.

#### 3.4.3 Spectres de masse (SM)

Les analyses de masse ont été effectuées sur le système de spectrométrie de masse haute définition (HDMS) Waters® Synapt G2 avec analyse par injection de flux (FIA) en utilisant une sonde d'ionisation par électrospray (ESI).

Les données MS ont été acquises et traitées sur le logiciel MassLynx™ (version 4.1).

### 3.4.4 Spectres de résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres RMN ont été mesurés à 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) et 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) avec des spectromètres Bruker Avance III 400, Bruker DRX500 (500 MHz pour  $^1\text{H}$  et 125 MHz pour  $^{13}\text{C}$ ) et la Bruker DRX600 (600 MHz pour  $^1\text{H}$  et 150 MHz pour  $^{13}\text{C}$ ). Les spectres DEPT-135, ainsi que les expériences bidimensionnelles NOESY, COSY, HSQC et HMBC, ont été enregistrés à l'aide de séquences impulsionsnelles spécifiques. Les échantillons ont été dissous dans des solvants deutérés  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  ou  $\text{DMSO-d}_6$ . Les déplacements chimiques  $\delta$  ont été exprimés en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane (TMS), utilisé comme référence interne.

### 3.5 Méthodes biologiques

Les tests biologiques sont nécessaires pour guider le processus de fractionnement, d'isolement des substances actives et pour évaluer l'activité des composés purs isolés. Ces tests doivent être simples, peu coûteux et rapides afin de pouvoir analyser un grand nombre d'échantillons. Par ailleurs, ils doivent être suffisamment sensibles car les principes actifs sont généralement de faible concentration.

Dans la phase biologique de notre recherche, nous avons effectué des tests antimicrobiens sur plusieurs souches antimicrobiennes en culture *in vitro* dont certaines étaient des souches référencées (*Staphylococcus aureus* CIP 4.83, *Enterococcus faecalis* CIP 58.55, *Escherichia coli* CIP 54.127) et d'autres, des isolats cliniques (*B. cereus*, *B. subtilis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *H. influenza*, *C. albicans*). Des tests cytotoxiques ont été pratiqués sur des lignées de cellules tumorales mammaires (MCF-7) et du col de l'utérus (HeLa).

Les activités antimicrobiennes des composés purs et extraits ont été réalisées à l'aide de la méthode de microdilution en milieu liquide du CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*) (CLSI, 2013) et la méthode de disque ou diffusion en gélose (Murray et al., 1995 ; NCCLS, 2002). Pour l'évaluation de l'activité cytotoxique, nous avons utilisé le test colorimétrique au 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium (MTT) (Mosmann, 1983).

Ces tests biologiques ont été effectués dans différents laboratoires :

Au laboratoire de Génétiques du Département de Biochimie, Génétiques et Microbiologie de l'Université de Pretoria (Afrique du Sud), pour les tests cytotoxiques ;

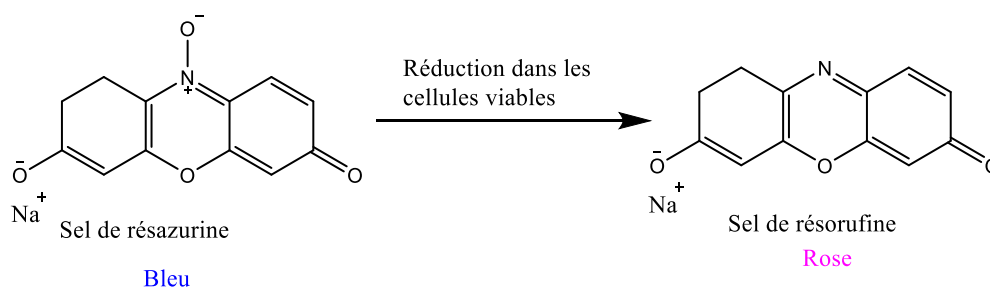
Au Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Yaoundé I (Cameroun) et au Département de Microbiologie (Faculté de Pharmacie) de l'Université de Tours (France) pour les tests antimicrobiens.

### 3.5.1 Activité antimicrobienne

#### 3.5.1.1 Principes des méthodes utilisées

##### a) Méthode de microdilution en milieu liquide

Cette méthode colorimétrique est basée sur la capacité qu'ont les cellules viables à métaboliser la résazurine, forme oxydée du Bleu Alamar, par réduction en résorufine forme réduite du Bleu Alamar. Le mécanisme réactionnel de réduction est présenté par le schéma 10 ci-après.



**Schéma 10 : Mécanisme de réduction du Blue Alamar (Lancaster et Fields, 1996).**

L'indicateur redox Blue Alamar, sous forme oxydée (résazurine) de couleur bleue, est réduit en présence des cellules fongiques/bactériennes en croissance, en forme réduite (résorufine) de coloration rose ou rouge. Lorsque la croissance des cellules fongiques/bactériennes est complètement inhibée par un extrait ou un composé pur, la coloration bleue est maintenue (Lancaster et Fields, 1996).

##### b) Méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode de disque)

Cette méthode est basée sur le principe que le disque imprégné d'antibiotique, placé sur de la gélose préalablement inoculée avec la bactérie test, capte l'humidité et l'antibiotique diffuse radialement vers l'extérieur à travers le milieu gélose produisant un gradient de concentration d'antibiotique. La concentration de l'antibiotique au bord du disque est élevée et diminue progressivement à mesure que l'éloignement du disque augmente jusqu'à un point où elle n'est plus inhibitrice pour l'organisme, qui se développe alors librement. Une zone ou un

anneau clair se forme autour d'un disque antibiotique après l'incubation, si l'agent inhibe la croissance bactérienne (NCCLS, 2002).

### **3.5.1.2 Protocole de la méthode par microdilution en milieu liquide :**

#### **a) Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)**

Dans chaque puits d'une microplaque contenant 96 puits, un volume de 100  $\mu\text{L}$  du milieu liquide a été introduit. Puis 100  $\mu\text{L}$  de solution mère d'un extrait/composé pur à tester ou de la lévofloxacine ont été introduits dans les 03 premiers puits de la première colonne (lignes A, B et C). Ensuite dans les colonnes 1 à 11, des dilutions successives suivant une progression géométrique de raison 2 ont été réalisées (à partir des puits A, B et C) jusqu'au onzième puits, ce qui a fait varier la gamme de concentration de 50 000  $\mu\text{g/mL}$  à 48,8  $\mu\text{g/mL}$  pour les extraits et de 500  $\mu\text{g/mL}$  à 0,48  $\mu\text{g/mL}$  pour les composés purs et la lévofloxacine. Enfin, 100  $\mu\text{L}$  d'inoculum bactérien ont été introduits dans chaque puits faisant varier les concentrations finales de 25 000 à 24,4  $\mu\text{g/mL}$  pour les extraits et de 250  $\mu\text{g/mL}$  à 0,24  $\mu\text{g/mL}$  pour les composés purs et la lévofloxacine. Ainsi, le volume final était de 200  $\mu\text{L}$  par puits et tous les essais négatifs ont été effectués en triplicate. La quatrième ligne de la microplaque a été utilisée comme témoin négatif de l'activité des extraits/composés purs renfermant uniquement le milieu de culture et les extraits/composés purs tandis que les puits de la colonne 12 eux ont été utilisés comme témoins positifs de croissance microbienne.

La microplaque ainsi réalisée a été recouverte avec son couvercle et scellée d'un papier film puis incubée à 27°C pendant 24 H.

Après incubation, la croissance bactérienne a été mise en évidence par ajout de 20  $\mu\text{L}$  d'une solution de Bleu Alamar dans deux ou trois puits des lignes tests, suivi d'une incubation pendant 30 minutes. Les puits de la troisième ligne ont servi pour la détermination de la CMB. La CMI était définie comme la plus petite concentration en extrait ou composé pur ou lévofloxacine pour laquelle il n'y a pas eu de croissance microbienne visible à l'œil nu (CLSI, 2013).

#### **b) Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB)**

Pour la détermination de la CMB, 50  $\mu\text{L}$  de chaque puits de concentration supérieure ou égale à la CMI ont été prélevés puis ajoutés dans 150  $\mu\text{L}$  de bouillon. L'ensemble a été incubé dans les mêmes conditions que les CMI puis révélé au Blue Alamar. La CMB est considérée





comme le puits de plus petite concentration d'extrait, composé pur ou de lévofloxacine ne présentant pas de changement de coloration (CLSI, 2013).

### c) Détermination des rapports CMB/CMI

Ce rapport est utilisé pour distinguer les composés/extraits bactéricides ( $1 \leq \text{CMB/CMI} < 4$ ), des composés/extraits bactériostatiques ( $4 \leq \text{CMB/CMI} \leq 16$ ) et tolérantes ( $\text{CMB/CMI} > 16$ ) (Fauchère & Avril, 2002).

#### 3.5.1.3 Protocole de la méthode de disque ou diffusion en gélose

A la surface d'une grande plaque de gélose Mueller-Hinton (150 mm de diamètre), un inoculum bactérien d'environ  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL a été appliqué. Les composés et extraits bruts ont été dissouts dans le DMSO. La concentration des extraits était de 1 mg/mL et de 250 µg/mL pour les composés. Les disques des antimicrobiens de référence (gentamycine pour les bactéries et nystatine pour les champignons) ont été préparés en utilisant les concentrations appropriées pour obtenir des disques contenant 50 µg de médicament. Les plaques ont été incubées pendant 24 h à 37 °C pour les bactéries et 48 h à 27 °C pour les champignons et l'activité antimicrobienne a été déterminée par la présence d'une zone claire d'inhibition autour des références/extraits testés. Les zones d'inhibition ont été mesurées en millimètres et l'expérience a été répétée deux fois (Murray et al., 1995 ; NCCLS, 2002).

## 3.5.2 Activité cytotoxique

### 3.5.2.1 Culture des cellules

Les lignées de cellules cancéreuses HeLa et MCF-7 ont été obtenues de Cellonex et Highveld Biological (Afrique du Sud) respectivement. Ces cellules ont été cultivées à 37°C avec 5% de CO<sub>2</sub> dans un milieu DMEM riche en glucose (4,5 g/L) dans un environnement humidifié, contenant la L-glutamine (4 mM) et le pyruvate de sodium (Hyclone) complété avec 10% (v/v) de sérum foetal bovin (Capricorn Scientific GmbH, South America). Les lignées cellulaires *African Vero Monkey* ont été maintenues à 37°C et 5% de CO<sub>2</sub> dans un milieu DMEM riche en glucose (4,5 g/L) à l'environnement humidifié, contenant la L-glutamine (Lonzia, Belgique) complété avec 5% (v/v) de serum foetal bovin (Capricorn Scientific GmbH, South America et 1% de gentamycine (Vibrac ; USA).



### 3.5.2.2 Principe de la méthode

Pour l'évaluation de l'activité cytotoxique de nos composés, nous avons utilisé le test colorimétrique au 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium (MTT). Il s'agit d'un test de détection colorimétrique permettant d'évaluer la viabilité des cellules en présence d'un composé ou de déterminer par extension la mortalité cellulaire induite par le composé testé.

Ce test est basé sur l'activité d'une enzyme mitochondriale, la succinate déshydrogénase. En présence du substrat MTT de couleur jaune, les sels de tétrazolium du substrat sont transformés en cristaux insolubles de formazan de couleur violette grâce à l'activité de la succinate déshydrogénase. L'intensité de cette coloration est proportionnelle au nombre de cellules vivantes. La quantité de sel formazan produite par les cellules à partir du MTT est mesurée par la spectrophotométrie (Mosmann, 1983).

### 3.5.2.3 Traitement des cellules, test de cytotoxicité

Les cellules ont étéensemencées à une densité de  $10^4$  cellules par puits sur une plaque de microtitrage à 96 puits, par la suite elles ont été laissées au repos toute la nuit. Plus tard, les cellules ont été traitées avec différentes concentrations (200 ; 150 ; 125 ; 100 ; 75 ; 50 ; 25 et 5  $\mu\text{M}$ ) des composés dissouts dans le DMSO puis dilués dans le milieu de culture frais. Dans chaque expérience, la concentration maximale du DMSO (contrôle négatif) dans le milieu était de 0,5%. Après incubation pendant 48h à 37°C avec 5% de CO<sub>2</sub>, le milieu de culture a été renouvelé par un milieu frais (200  $\mu\text{L}$ ) avec 30  $\mu\text{L}$  de bromure de thiazolyle tétrazolium bleu (5 mg/ mL) dissouts dans une solution saline tamponnée au phosphate. Après incubation pendant 4h, le milieu a été lentement aspiré et les cristaux de formazan ont été dissouts dans 50  $\mu\text{L}$  de DMSO et laissé dans le noir pendant 15 min à température ambiante. L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 570 nm sur un lecteur de microplaque (SpectraMax Paradigm Microplate). Le nombre de cellules vivantes, après 24 et 48 h d'incubation en présence ou non des composés à tester ou de produits de référence, est directement proportionnel à l'intensité de la coloration violette mesurée.

### 3.5.2.4 Analyse des données

Le pourcentage de viabilité cellulaire (pourcentage de cellules restantes après le traitement) a été calculé à l'aide de Microsoft Excel en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ Viabilité cellulaire} = \frac{\text{Absorbance (échantillons traités)} - \text{Absorbance (blanc)}}{\text{Absorbance (échantillons non traités)} - \text{Absorbance (blanc)}} \times 100$$



La concentration d'inhibition de la croissance de 50% (CI<sub>50</sub>) des cellules cancéreuses et cellules normales ont été déterminées par le tracé du graphe du pourcentage des cellules survivantes en fonction de la concentration.

Les valeurs de l'indice de sélectivité (IS) ont été calculées pour chaque composé en divisant la CI<sub>50</sub> de chaque cellule normale par la CI<sub>50</sub> des cellules cancéreuses dans la même unité.

Toutes les expériences ont été réalisées 3 fois et les résultats sont présentés comme des valeurs moyennes (± écart-type).

### 3.6 Constantes physiques et données spectrales des composés isolés

#### 3''-O-acétyl-7-O-méthylvitexine

Aspect physique : Cristal jaune pâle

Solubilité: Acétone

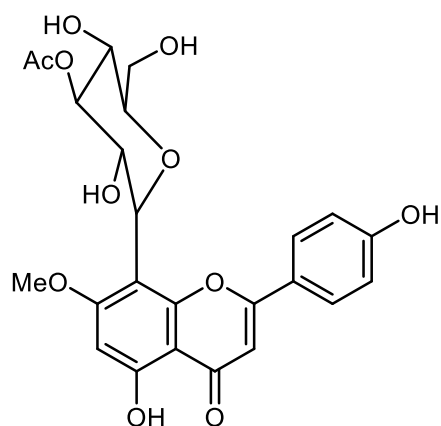
Formule Brute : C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>O<sub>11</sub>, PM : 488

PF: 160-161°C (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH)

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3246, 1717, 1651, 1572, 1442, 1232, 1176, 1018, 831, 568 cm<sup>-1</sup>.

HRESIMS:  $m/z$  489,1408 [M+H]<sup>+</sup> (calculée pour C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>O<sub>11</sub>:  $m/z$  489,1397)

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) et <sup>13</sup>C (125 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>): Voir tableau 11



#### 6''-α-rhamnopyranosyl-7-O-méthylvitexine

Aspect physique : Cristal jaune pâle

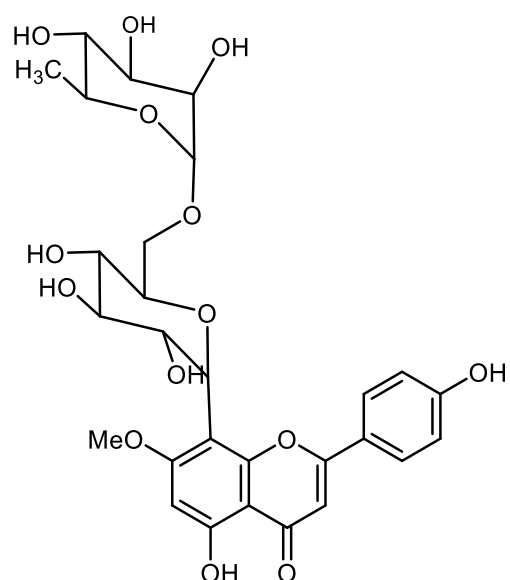
Solubilité: MeOH

Formule Brute : C<sub>28</sub>H<sub>33</sub>O<sub>14</sub>, PM : 592

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3270, 1640, 1592, 1178 cm<sup>-1</sup>

HRESIMS:  $m/z$  593,1868 [M+H]<sup>+</sup> (calculée pour C<sub>28</sub>H<sub>35</sub>O<sub>14</sub>:  $m/z$  593,1870)

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) et <sup>13</sup>C (125 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>): Voir tableau 12



## 2''-O-acétyl-7-O-méthylvitexine

Aspect physique : Cristal jaune

Solubilité: Acétone

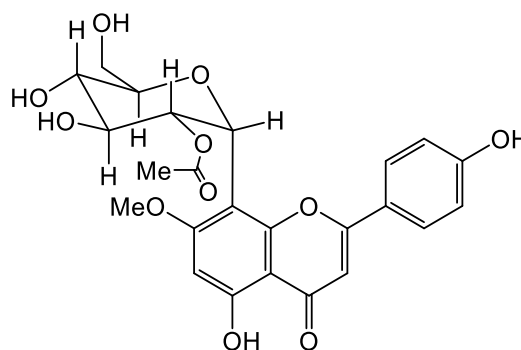
Formule Brute : C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>O<sub>11</sub>, PM : 488

PF: 180-181°C (AcOEt) ;  $[\alpha]_D^{25}$  : -63°

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3400, 1745, 1655 cm<sup>-1</sup>

HRESIMS:  $m/z$  489,1395 [M + H]<sup>+</sup> (calculée pour C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>O<sub>11</sub> :  $m/z$  489,1397)

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) et <sup>13</sup>C (125 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) : Voir tableau 10



## 7-O-méthylvitexine

Aspect physique : solide jaune amorphe

Solubilité: DMSO

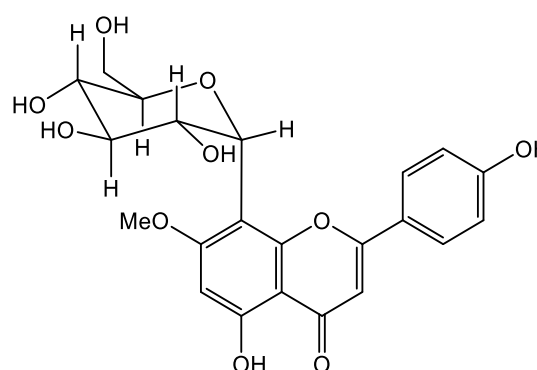
Formule Brute : C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>O<sub>10</sub>, PM : 446

PF : 285–286°C

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3230, 1654, 1561, 1180 cm<sup>-1</sup>

HRESIMS:  $m/z$  447,12848 [M+H]<sup>+</sup> (calculée pour:  $m/z$  447,12857)

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) et <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) : Voir tableau 9



## Apigénine

Aspect physique : solide jaune amorphe

Solubilité: Acetone

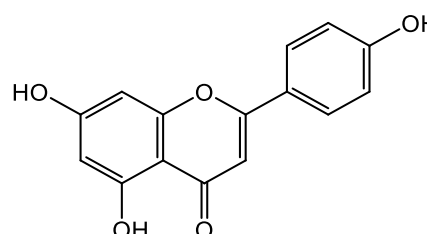
Formule Brute : C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>, PM : 270

PF : 335-338°C

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3297-3095, 2922-2617, 1654, 1608-1500, 1445, 1354, 1298, 1267 cm<sup>-1</sup>

HRESIMS:  $m/z$  271,0601 [M+H]<sup>+</sup> (calculée pour C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>O<sub>5</sub> :  $m/z$  271,0606)

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) et <sup>13</sup>C (125 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) : Voir tableau 8



## Catéchine

Aspect physique : Solide incolore

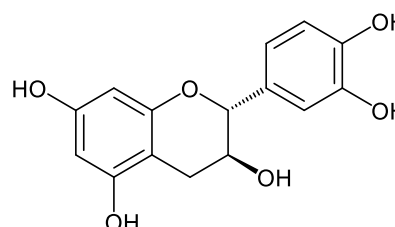
Solubilité: Acetone

Formule Brute : C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>, PM : 290

PF : 175-187°C ;  $[\alpha]_D^{25}$  : +14°

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3313, 1621, 1514, 1285, 1243, 1180, 1145, 1112, 1073

RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) et <sup>13</sup>C (150 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) : Voir tableau 14



## Epicatéchine

Aspect physique : solide jaune amorphe

Solubilité: Méthanol

Formule Brute : C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>, PM : 290

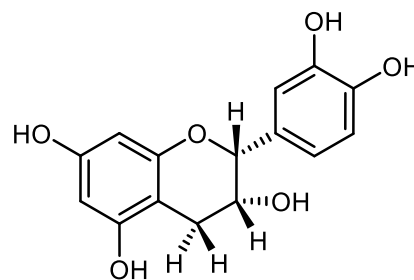
PF : 238-239°C ;  $[\alpha]_D^{25}$  : -56.9

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3293, 2910, 1607 cm<sup>-1</sup>

HRESIMS:  $m/z$  291.0859 [M+H]<sup>+</sup> (calculée:  $m/z$  291,0869)

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>) et <sup>13</sup>C

(125 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) : Voir tableau 13



## 4',5-dimethoxy-6,7 methylenedioxyisoflavone

Aspect physique :

Solubilité:

Formule Brute : C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>, PM 326

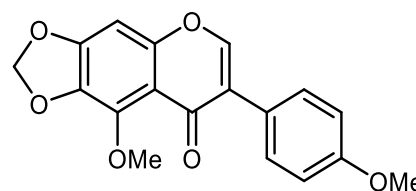
PF : 180-183 °C ;

IR (KBr):  $\nu_{\max}$

HRESIMS:  $m/z$

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) et <sup>13</sup>C

(125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) : Voir tableau 20



## Rhusflavone

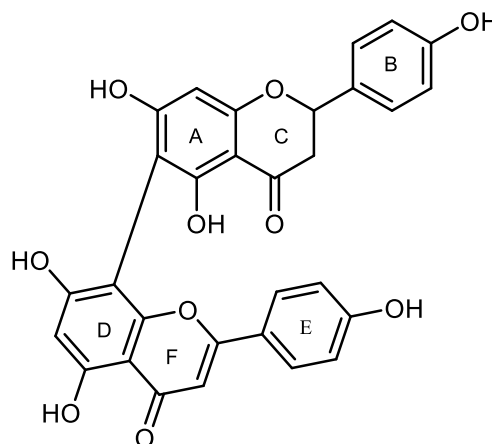
Aspect physique : solide jaune

Solubilité : Méthanol

Formule Brute : C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>, PM : 540

PF : 230-232 °C ;  $[\alpha]_D^{25}$  : -113

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3300, 3178, 1640, 1621, 1578, 1225



## Amentoflavone

Aspect physique : solide jaune

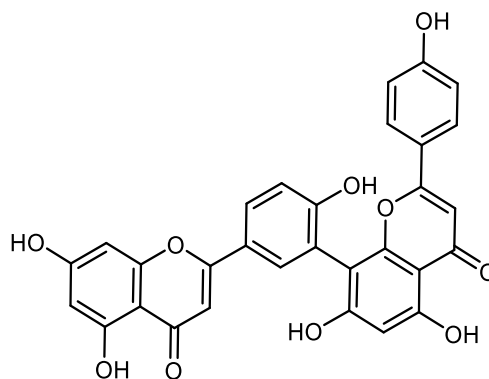
Solubilité: Méthanol

Formule Brute : C<sub>31</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>, PM : 536

PF : 254-256 °C

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>) et <sup>13</sup>C

(125 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>) : Voir tableau 15



## Lupéol

Aspect physique : Solide blanc

Solubilité: Chloroforme

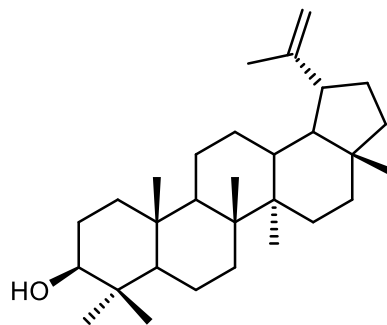
Formule Brute :  $C_{30}H_{50}O$ , PM : 426

PF : 212-214°C ;

IR (KBr):  $\nu_{max}$  3311, 2946, 2870, 1638, 1464, 1189, 1035, 996, 680  $cm^{-1}$

RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ) et  $^{13}C$  (100 MHz,  $CDCl_3$ )

: Voir tableau 16



## Bétulinal

Aspect physique : solide blanc

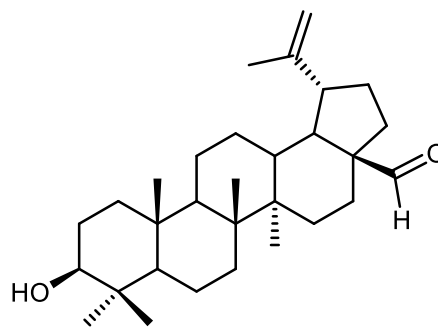
Solubilité: Chloroforme

Formule Brute :  $C_{30}H_{48}O_2$ , PM : 440

PF : 182-185°C ;

HRESIMS:  $m/z$  441.3156  $[M+H]^+$  (calculée 441.3733 pour  $C_{30}H_{49}O_2$ )

RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ) et  $^{13}C$  (100 MHz,  $CDCl_3$ ) : Voir tableau 17



## Acide Betulinique

Aspect physique : Cristal blanc

Solubilité: MeOH

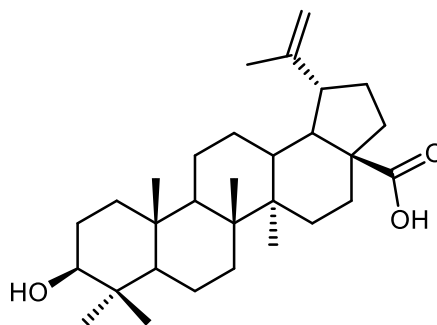
Formule Brute :  $C_{30}H_{48}O_3$ , PM : 456

PF : 275-278°C  $[\alpha]_D^{23}$  : +7,9°

HRESIMS:  $m/z$

455,3531  $[M-H]^-$  (calculée 455,3525 pour  $C_{30}H_{47}O_3$ )

RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ) et  $^{13}C$  (100 MHz,  $CDCl_3$ ) : Voir tableau 18



## Bétuline

Aspect physique : cristal blanc

Solubilité:

Formule Brute :  $C_{30}H_{50}O_2$  PM : 442

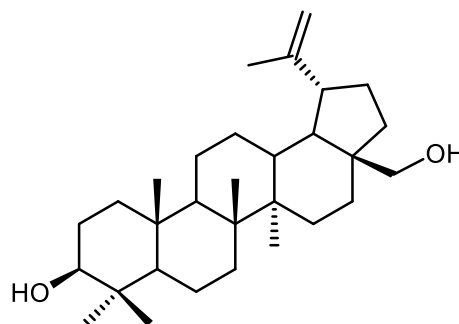
PF : 246-248°C

Test de Liebermann-Burchard positif

IR (KBr):  $\nu_{max}$  3400, 2950, 1650, 1460, 1350, 1020  $cm^{-1}$

HRESIMS:  $m/z$  443,3166  $[M+H]^+$

RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ) et  $^{13}C$  (100 MHz,  $CDCl_3$ ) : Voir tableau 19



### Acide cassiarique

Aspect physique : Solide blanc

Solubilité: MeOH

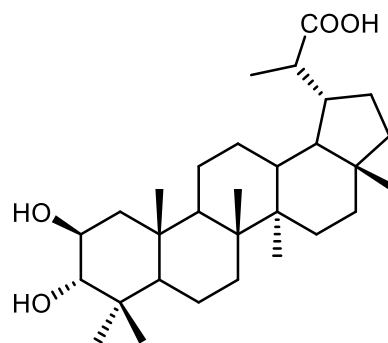
Formule Brute : C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub>, PM : 474

PF : 230-232°C ;  $[\alpha]_D^{25}$ : -113

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3467, 2942, 1672, 1457, 1376, 1239, 1035, 885, 722 cm<sup>-1</sup>

HRESIMS:  $m/z$  473,3649 [M-H]<sup>-</sup> (calculé pour C<sub>30</sub>H<sub>49</sub>O<sub>4</sub>: 473,3631)

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): voir tableau 20



### Acide ceanothique

Aspect physique : Solide blanc

Solubilité: Méthanol

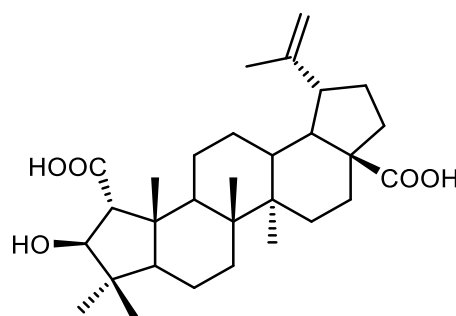
Formule Brute : C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O<sub>5</sub>, PM 486

PF : 324-327°C ;  $[\alpha]_D^{25}$ : -16,3° (MeOH)

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3432, 2925, 2854, 1710, 1641, 1462, 1377, 1271, 1124, 1072, 883, 741 cm<sup>-1</sup>

HRESIMS:  $m/z$  487.3427 [M+H]<sup>+</sup> (calculée 487.3423 pour C<sub>30</sub>H<sub>47</sub>O<sub>5</sub>)

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) et <sup>13</sup>C (125 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) : Voir tableau 21



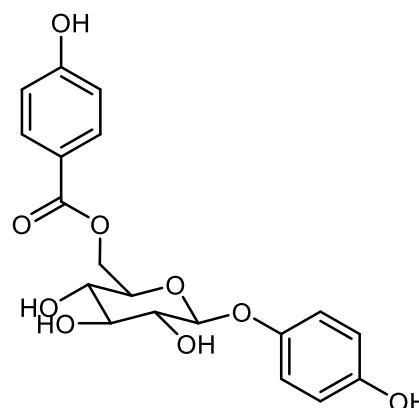
### Lancéoloside A

Aspect physique : Solide amorphe jaune

Solubilité: Méthanol

Formule Brute : C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>, PM : 392

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3325, 1632, 1560, 1540, 940, and 860 cm<sup>-1</sup>



### 3-O-β-D-glucopyranosyl-β-sistostérol

Aspect physique : Cristal incolore

Solubilité: Méthanol

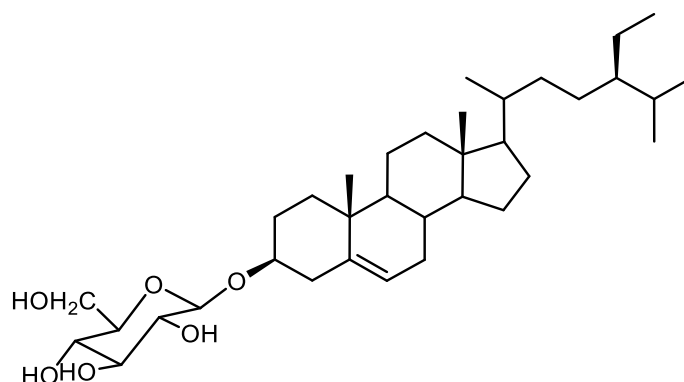
Formule Brute : C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>O<sub>6</sub>, PM 576

PF : 203-205°C ;  $[\alpha]_D^{22,1}$ : -33,6° (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N)

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3430, 2931, 2865, 1629, 1465, 1375, 1100, 1055, 883 cm<sup>-1</sup>

HRESIMS:  $m/z$  577,4469 [M+H]<sup>+</sup> (calculée 577.4468 pour C<sub>35</sub>H<sub>61</sub>O<sub>6</sub>)

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) : Voir tableau 22



## Cassiaramide

Aspect physique : Solide blanc

Solubilité : Méthanol+CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

Formule Brute : C<sub>44</sub>H<sub>81</sub>NO<sub>6</sub>,

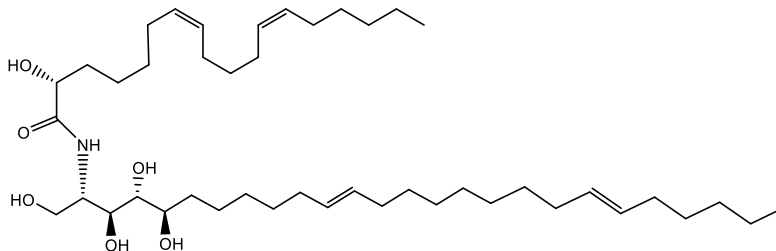
PM : 719 PF : 123-125°C

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3331, 1622, 1544, 1067, 1022, 964, 722 cm<sup>-1</sup>

HRESIMS:  $m/z$  718,6014

([M-H]<sup>-</sup> (calculée pour C<sub>44</sub>H<sub>80</sub>NO<sub>6</sub>: 718,6017)

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub> + CDCl<sub>3</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub> + CDCl<sub>3</sub>) : Voir tableau 23



## Sérotobenine

Aspect physique : Solide blanc

Solubilité: DMSO

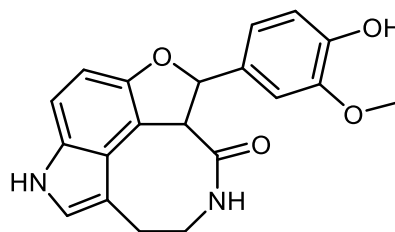
Formule Brute : C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, PM 719

PF : 282-284,5°C

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  3400, 2950, 1655, 1520. cm<sup>-1</sup>

HRESIMS:  $m/z$  351,1345 [M+H]<sup>+</sup> (calculée 351,1334 pour C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) et <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) : Voir tableau 24





# **REFERENCES**

## RÉFÉRENCES

- Abbas A.Y., Muhammad F.I., Dallatu M.K., Abubakar A.L., Sahabi S.M. (2017) Hepatoprotective and antioxidant activity of methanolic leaves extract of *Cassia arereh* in CCl<sub>4</sub>-induced rat liver damage. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6:1346-1353.
- Abbas Z., Rehman S. (2018) An Overview of Cancer Treatment Modalities. *Neoplasm*, 140-157.
- Abo K., Adeyemi A.A. (2002) Seasonal accumulation of anthraquinones in leaves of cultivated *Cassia podocarpa* Guill. et Perr. *African Journal of Medicine and Medical Sciences*, 31:171-173.
- Abo K., Lasaki S.W., Adeyemi A. (1999) Laxative and antimicrobial properties of *Cassia* species growing in Ibadan, Nigeria. *Nigerian Journal of Natural Products and Medicine*, 3:47-50.
- Abouem Z.A., Ngono B.D.S., Atchade T.A, Ngo Mbing J. (2008) Nitrile glucosides and serotobenine from *Campylospermum glaucum* and *Ouratea turnarea*. *Phytochemistry*, 69:2209-2213.
- Aboya M.J.L. (2013) Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. Sciences agricoles. Université de Bretagne occidentale - Brest, France. 214p.
- Adam JG. (1971) Flore descriptive des monts Nimba. Muséum National d'Histoire Naturelle. Paris. 204p.
- Adamczak A., Ozarowski M., Karpinski T.M. Antibacterial Activity of Some Flavonoids and Organic Acids Widely Distributed in Plants. *Journal of Clinical Medicine*, 9:109-126
- Adnyana K.I., Tezuka Y., Banskota A.H., Xiong Q., Tran K.Q., Kadota S. (2000) Quadransides I-V, New Triterpene Glucosides from the Seeds of *Combretum quadrangulare*. *Journal of Natural Product*, 63:496-500.
- Ado K., Garba S, Salihu L. (2014) Fundulopanchax gardneri Test: A convenient method of bioassay for active constituents of natural products. *Natural Products Chemistry & Research*, 2:133-136.
- Ahmed S.I., Hayat M.Q., Tahir M., Mansoor Q., Ismail M., Keck K., Bates R.B. (2016) Pharmacologically active flavonoids from the anticancer, antioxidant and antimicrobial extracts of *Cassia angustifolia* Vahl. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16:460-468.
- Akah P.A., Orisakwe D.E., Gamaniel K.S., Shittu A. (1998) Evaluation of Nigerian traditional medicines: II. Effects of some Nigerian folk remedies on peptic ulcer. *Journal of Ethnopharmacology*, 62:123-127.
- Akah P.A., Orisakwe O.E., Gamaniel, K.S., Shittu A. (1998) Evaluation of Nigeria traditional medicine: II. Effects of some Nigerian folk remedies on peptic ulcer. *Journal of Ethnopharmacology*, 62:123-127.
- Akanbi O.B., Nnakaogu C.J. (2012) Phytochemical screening and antimicrobial property of *Cassia arereh*. *Researcher*, 4:96-100.
- Akhtar T.A., Matsuba Y., Schauvinhold I., Yu G., Lees H.A., Klein S.E., Pichersky E. (2013) The tomato cis-prenyltransferase gene family. *Plant Journal*, 73:640-652.
- Alabsi A.M., Lim K.L., Paterson I.C., Ali-Saeed R., Muharram B.A. (2016) Cell Cycle Arrest and Apoptosis Induction via Modulation of Mitochondrial Integrity by Bcl-2 Family Members and Caspase Dependence in *Dracaena cinnabari*-Treated H400 Human Oral Squamous Cell Carcinoma. *BioMed Research International*, 2016:1-13.

- Al-Khlil S., Al-Eisawi, D., Kato M., Linuma M. (1994) New isoflavone from *Iris nigricans*. *Journal of Natural Products*, 57:201-205.
- Amaral M.C. (1991) Phylogenetische Systematik der Ochnaceae. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie*, 113:105-196.
- Amaral M.C., Britton V. (2005) Ochnaceae, in Kubitzki, K. The families and genera of vascular plants, Berlin : Springer Verlag, 236 p.
- Amaral R.G., dos Santos S.A., Andrade L.N., Severino P., Carvalho A.A. (2019) Natural Products as Treatment against Cancer: A Historical and Current Vision. *Clinical Oncology*, 4:1562-1566.
- Amina B. (2016) Criblage phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiaceae). Thèse de Doctorat national, Université Mohammed V. 199 p.
- Andersson C.M., Hallberg A., Högborg T. (1996) Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Advances in Drug Research*, 28:65-180.
- Andolfi A., Cimmino A., Villegas A.M., Tuzi A., Santini A., Melck D., Rubiales D., Evidente A. (2013) Lentisone, a New Phytotoxic Anthraquinone Produced by *Ascochyta lentis*, the Causal Agent of Ascochyta Blight in *Lens culinaris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61:7301-7308.
- Andras K., Curt L.B., William F.J. (2008) A molecular perspective on terpene variation in Australian Myrtaceae. *Australian Journal of Botany*, 56:197-213.
- Ansari K. (1997) The free radicals-the hidden culprits-an update. *Indian Journal of Medical Sciences*, 51:319-336.
- Anton R., Jiang Y., Weniger B., Becker J.P, Rivier L. (1993) Pharmacognosy of *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret. *Journal of Ethnopharmacology*, 38:153-157.
- Anuradha V., Sriniva P.V., Rao R.R., Manjulatha K., Purohit M.G., Rao J.M. (2006) Isolation and synthesis of analgesic and anti-inflammatory compounds from *Ochna squarrosa*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14:6820-6826.
- Aquino R., Ciavatta M.L., De Tommasi N., Gacs-Baitz E. (1992) Tetranorditerpenes from *Detarium microcarpum*. *Phytochemistry*, 31:1823-1825.
- Aramendia M.A., Borau V., Garcia I., Jimenez C., Lafont F., Marinas J.M. (1995) Determination of isoflavones by capillary electrophoresis/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, 9:503-508.
- Arbonnier M. (2004) Trees, shrubs and lianas of West African dry zones. Montpellier : CIRAD MNHN, 579p.
- Ashraf M.A. (2020) Phytochemicals as Potential Anticancer Drugs: Time to Ponder Nature's Bounty. *BioMed Research International*, 2020:1-7.
- Awouafack M.D, Tane P., Spitteller M., Eloff J.N. (2015) *Eriosema* (Fabaceae) species represent a rich source of flavonoids with interesting pharmacological activities. *Natural Product Communications*, 10:1325-1330.
- Ayatollahi S.A., Shojaii A., Noori F., Fathi M., Choudhari M.I. (2009) Terpenes from aerial parts of *Euphorbia splendida*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3:660-665.



- Ayo R., Amupitan J.O., Zhao Y. (2007) Cytotoxicity and antimicrobial studies of 1,6,8-trihydroxyl-3-methyl-anthraquinone (emodin) isolated from the leaves of *Cassia nigricans* Vahl.. *African Journal of Biotechnology*, 6:276-1279.
- Ayo R.G, Amupitan, J., Oyewale A.O. (2009b) Isolation, characterization and antimicrobial activity of a steroidal ester from the leaves of *Cassia nigricans* Vahl. *Research Journal of Medicinal Plants*, 3:69-74.
- Ayo R.G. (2010) Phytochemical constituents and bioactivities of the extracts of *Cassia nigricans* Vahl: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4:1339-1348.
- Ayo R.G., Amupitan, J., Ndukwe I.G., Audu O.T. (2009a) Some chemical constituents of the leaves of *Cassia nigricans* Vahl. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 3:208-211.
- Baba-Aïssa, F. (2011) Encyclopédie des plantes utiles. Flore Méditerranéenne (Maghreb, Europe méridionale). Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Alger : *El Maarifa*, 471 p.
- Badisa B.R., Darling-reed S.F., Joseph P., Cooperwood J.S., Latinwo L.M., Goodman C.B. (2009) Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. *Anticancer Research*, 29:2993-2996.
- Bais S., Abrol N., (2016) Review on chemistry and pharmacological potential of amentoflavone. *Current Research in Neuroscience*, 6:16-22.
- Baleba M.R., Tih E.A., Ghogomu T.R. (2016) Biflavonoids constituents from the leaves of *Rhabdophyllum Calophyllum* (Hook. F.) Tiegh (Ochnaceae). *Der Pharma Chemica*, 8:165-169.
- Bamps P., Farron C. (1967) Ochnaceae. Flore du Congo, du Rwanda et du Burundi. Bruxelles : *Jardin botanique national de Belgique*, 66 p.
- Bayiha B.N.G., Bartholomeusz T.A., Bikobo D.N., Foroozandeh M., Shivapurkar R., Christen P., Pegnyemb D.E., Jeannerat D. (2013). Structure and Dynamic of Three Indole Alkaloids from the *Campylospermum* Genus (Ochnaceae). *Helvetica Chimica Acta*, 96:1298–1304.
- Bayiha B.N.G., Grougnet R., Efstathiou A., Smirlis D., Genta-Jouve G., Michel S., Mbing N.J., Kritsanida M. (2017) A nitrile glucoside and biflavones from the leaves of *Campylospermum excavatum* (Ochnaceae). *Chemistry & Biodiversity*, 14 :1-11.
- Beckmann C., Rattke J., Sperling P., Heinz E., Boland W. (2003) Stereochemistry of a bifunctional dihydroceramide  $\Delta^4$ -desaturase/hydroxylase from *Candida albicans*; a key enzyme of sphingolipid metabolism. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 1:2448-2454.
- Bejoy G. (2002) The medicinal plants of the Sikkim Himalaya. Gurung Jasmin Bejoy. 468-469.
- Benjamin T.V., Lamikanra A. (1980) Investigation of *Cassia alata*, a plant used in Nigeria in the treatment of skin diseases. *Journal of African Medicinal Plants*, 3:135-136.
- Bhakta T., Mukherjee P., Saha K., Pal M., Saha B.P. (1998) Studies on in-vivo wound healing activity of *Cassia fistula* Linn. (Leguminosae) leaves in rats. *Natural Product Sciences*, 4:84-87.
- Bhakta T., Mukherjee P.K., Saha K., Pal, M. Saha P.B. (1997) Hypoglycaemic activity of *Cassia fistula* Linn. (Leguminosae) leaf (methanol extract) in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnobotany*, 9:35– 38.
- Bilia A.R., Ciampi L., Mendez J., Morelli I. (1996) Phytochemical investigations of *Licania* genus. Flavonoids and triterpenoids from *Licania carii*. *Pharmaceutics Acta Helveticae*, 71:199- 204.



- Bjarnholt N., Rook F. Motawia M.S., Jorgensen C., Olsen C.E., Jaroszewski J.W., Bak S., Moller B.L. (2008) Diversification of an ancient theme: hydroxynitrile glucosides. *Phytochemistry*, 69:1507–1516.
- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K. (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a Review. *Annals of Botany*, 91:179-194.
- Bohlmann J., Phillips M., Ramachandiran V., Katoh S., Croteau R. (1999). cDNA cloning, characterization, and functional expression of four new monoterpene synthase members of the Tpsd gene family from grand fir (*Abies grandis*). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 368:232-243.
- Bolza E., Keating W.G. (1972) African timbers-the properties, uses, and characteristics of 700 species. Melbourne, Australia: *Division of Building Research*, 723 p.
- Bombardelli E., Bonati A., Gabeta B., Mustich G. (1974) Flavonoids of *Brackenridgea zanguibarica*. *Phytochemistry*, 13:295–297.
- Borris R.P., Blaskó G., Cordell G. (1988) Ethnopharmacologic and phytochemical studies of the Thymelaeaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 24:41–91.
- Botineau M. (2010) Botanique systématique et appliqué des plantes à fleurs. Lavoisier, Paris. *Editions TEC & DOC*, 1336 p.
- Bouayyadi L., El Hafian M., Zidane L. (2015) Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale dans la région du Gharb, Maroc. *Journal of Applied Biosciences*, 93:8760-8769.
- Bouquet A. (1969) Féticheurs et médecine traditionnelle du Congo (Brazzaville). Paris: *ORSTOM*, 282 p.
- Bruneton J. (1987) Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Technique et Documentation. Paris: *Lavoisier*, 585 p.
- Bruneton J. (1999) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition éd. Paris: *éditeur Technique et Documentation*, 1120 p.
- Bubonja-Sonje M., Giacometti J., Abram M. (2011) Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*, 127:1821-1827.
- Calixto J.B. (2019) The role of natural products in modern drug discovery. *The Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 91:1-7.
- Carvalho M.G., Suzart L.R., Cavatti L.C., Kaplan M.A. (2008) New Flavonoids and other Constituents from *Ouratea hexasperma* (Ochnaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 19:1423–1428.
- Carvalho R.S., Carollo C.A., de Magalhães J.C., Palumbo J.M., Boaretto A.G., Nunes e Sá I.C., Ferraz A.C., Lima W.G., de Siqueira J.M., Ferreira J. M. (2018) Antibacterial and antifungal activities of phenolic compound-enriched ethyl acetate fraction from *Cochlospermum regium* (mart. Et. Schr.) Pilger roots: Mechanisms of action and synergism with tannin and gallic acid. *South African Journal of Botany*, 114:181–187.
- Castinetti F., Brue T. (2009) Radiothérapie et radiochirurgie des adénomes hypophysaires. *La Presse Médicale*, 38:133–139.
- Cavin A. (2007) Contribution à la connaissance taxonomique et chimique de fruits africains du genre *Detarium* (Fabaceae - Caesalpinioideae) : *Detarium microcarpum* Guill. et Perr. et des formes



- comestibles et toxiques de *Detarium senegalense* J.F. Gmel. Thèse de Doctorat, Université de Genève, 277 p.
- Cháirez-Ramírez M.H., Moreno-Jiménez M.R., González-Laredo R.F., Gallegos-Infante J.A. Rocha-Guzmán NE. (2016) Lupane-type triterpenes and their anti-cancer activities against most common malignant tumors: A review. *EXCLI Journal*, 15:758–771.
- Chari V., Ilyas M., Wagner H., Naszmelyi A., Chen F.C., Chen L.K., Lim Y.C. (1977) <sup>13</sup>C spectroscopy of biflavonoids. *Phytochemistry*, 16:1273–1278.
- Chase M.W., Zmazty S., Lledé M.D., Wurdack K.J., Swensen S.M., Fay M.M. (2002) When in doubt put it in Flacourtiaceae: a molecular phylogenetic analysis based on plastid rbcL DNA sequences. *Kew Bulletin*, 57:141–181.
- Chaurasia N., Wichtl M. (1987) Sterols and steryl glycosides from *Urtica dioica*. *Journal of Natural Product*, 50:881–885.
- Cheesman M.J., Ilanko A., Blonka B., Cock I.E., (2017) Developing new antimicrobial therapies: Are synergistic combinations of plant extracts/compounds with conventional antibiotics the solution? *Pharmacognosy Reviews*, 11:57-72.
- Chelkeba L., Melaku T., Mega T.A., (2021) Gram-negative bacteria isolates and their antibiotic-resistance patterns in patients with wound infection in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *Infection and Drug Resistance*, 2021:277-302.
- Chen F., Lin Y., Wu J.C. (1974) Rhusflavone: a new flavanoflavone from *Rhus succedanea*. *Phytochemistry*, 13:1571–1574.
- Chidume F.C., Gamaniel K., Amos S., Akah P., Obodozie O., Wambele C. (2001) Pharmacological activity of the methanolic extract of *Cassia nigricans* leaves. *Indian Journal of Pharmacology*, 33:350-356.
- Chidume F.C., Kwanashie H.O., Adekeye J.O., Wambebe C., Gamaniel K.S. (2002) Antinociceptive and smooth muscle contracting activities of the methanolic extract of *Cassia tora* leaf. *Journal of Ethnopharmacology*, 81:205-209.
- Chiy R.C., Hung W.C., Chi I.C. (2008) D:C-Friedooleanane type triterpenoids from *Lagenaria siceraria* and their cytotoxic activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56:385-388.
- Chopra R.N., Chopra I.C., Handa K.L., Kapur L.D. (1958) *Tribulus terrestris*. Chopra's Indigenous drugs of India. Kolkata : *U N Dhur & Sons Private Limited*, 430 p.
- Christophe C.F., Kouam S.F., Poumale H.M., Simo I.K., Ngadjui B.T. (2008) Benjaminamide: a new ceramide and other compounds from the twigs of *Ficus benamina* (Moraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 36:238-243.
- Christophe M., Nkenfou C., Perfusion A., Gustave N., Ernestine N., Patrica D., Blaise L., Mermoze F., Vernyuy T. (2017) Gastroprotective, Antioxidant and Antibacterial Properties of the Aqueous Root Bark Extract of *Cassia arereh* Del. (Caesalpinaceae) in a Wistar Rat Model. *Journal of advances in biology and biotechnology*, 12:1-13.
- Chu W., Lim Y., Radhakrishnan A., Lim P. (2010) Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10:2-8.

- Cichewicz R., Kouzi S. (2004) Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection. *Medicinal Research Reviews*, 24:90-114.
- CLSI (2013) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 23th informational supplement M100-S23 Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cohen J., Kristal A., Stanford, J. (2000) Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*, 92:61-68.
- Cos P., Vlietinck A., Vanden B. (2006) Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger *in vitro* 'proof-of-concept'. *Journal of Ethnopharmacology*, 106:290-302.
- Cronquist A. (1981) An integrated system of classification of flowering plants. New York: *Columbia University Press*, 1262p.
- Culioli G., Mathe C., Achier P., Vieillescazes C. (2003) A lupane triterpene from frankincense (*Boswellia* sp., Burseraceae). *Phytochemistry*, 62:537-541.
- Da Silva L., Faqueti L., Reginatto F., Santos A.D., Barison A., Biavatti M.W. (2015) Phytochemical analysis of *Vernonanthura tweedieana* and a validated UPLC-PDA method for the quantification of eriodictyol. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25:375-381.
- Dacosta E. (2003) Les phytonutriments bioactifs. Paris: *Yves Dacosta*. 318 p.
- Dade J.M., N'guessan J.I., Komlaga G., Say M., Okpekon T.A., Boti J.B., Kablan B.J., Bamba E-H. (2016) Pyrrolidine alkaloids and their glycosylated derivatives from the root bark of *Dichrostachys cinerea* (L) Wight & Arn. (Fabaceae). *Phytochemistry Letters*, 16:268-276.
- Dalziel J. (1948) Useful Plants of West Tropical Africa. London: *Crown Agents for the Colonies*, 612 p.
- David B., Wolfender J., Dias D.A. (2015) The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochemistry Reviews*, 14:299-315.
- Davis A., Cai Y., Davies A., Lewis J. R. (1996) <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR Assignments of Some Green Tea Polyphenols. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 34:887-890.
- Dawaye D.A., Djaouda M., Bakwo E.M. (2021). Diversité des mouches synanthropes et leur potentiel de transmission des maladies diarrhéiques à Maroua (Extrême-Nord, Cameroun). *Pan African Medical Journal*, 38:1-15.
- De Martel C. (2012) Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Oncology*, 13: 607-15
- De N., Maori L., Ardo H. (2009) A study on antimicrobial effect of extracts of *Cassia arereh* (Del.) on some clinical isolates. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3:116 -119.
- DeFilipps R., Maina S., Crepin J. (2004) Medicinal Plants of the Guianas (Guyana, Surinam, French Guiana). Washington, DC : *Department of Botany, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution*, 491 p.
- Dieter H.N., Aileen P. (1996) African ethnobotany : Poisons and drugs. Chemistry, Pharmacology, Toxicology. *Chapman and Hall*. 941 p.
- Diganta, D. (2015) Antibacterial and antitubercular activity of selected plant products against multi drug resistant clinical isolates. Thesis, jadavpur university, India, 251p.



- Dildar A., Hira B., Saman Z. (2012) Seasonal variation of phenolics, flavonoids, antioxidant and lipid peroxidation inhibitory activity of methanolic extract of *Melilotus indicus* and its sub-fractions in different solvents. *International Journal of Phytomedicine*, 4:326-332.
- Dixit P., Chand K., Khan M., Siddiqui J., Tewari D., Ngueguim F.T., Chattopadhyay N., Maurya R. (2012) Phytoceramides and acylated phytosterol glucosides from *Pterospermum acerifolium*. Willd. seed coat and their osteogenic activity. *Phytochemistry*, 81:117-125.
- Dobias B., Hazen E.L. (1961) *Nystatin*. *Chemotherapy*, 3:108–119.
- Dos Santos E., Meira M., Do Vale A.E., David J., De Queiroz L., David J.P. (2012) Isolation and Characterization of New Ceramides from Aerial Parts of *Lepidaploa Cotoneaster*. *Natural Product Communications*, 7:781-783.
- Dougherty T., Pucci M. (2012) Antibiotic discovery and development. New York: *Springer*. 1145 p.
- Dupont C. (1987) Le coût des études toxicologiques d'un nouveau médicament. *The Pharma Letter*, 1:1.
- Durgesh Nandani, Roop N.V., Batra A. (2013) Isolation and identification of quercetin and emodin from *Cassia tora* L. *Annals of Phytomedicine*, 2:96-104.
- Dutra N., Alves H., de Carvalho M., Braz-Filho R. (1992) Constituents of *Ouratea nitida*. *Química Nova*, 15:10–13.
- Dye C. (2014) After 2015 : infectious diseases in a new era of health and development. *Philosophical Transaction of the Royal Society B : Biological Sciences*, 369:1645-1654.
- EL-Emary N., Kobayashi Y., Ogiwara Y. (1980) Two isoflavonoids from the fresh bulbs of *Iris tingitana*. *Phytochemistry*, 19:1878.-1879.
- Elo M.S., Ghogomu R., Blond A., Bodo, B. (2009) Biflavonoid constituents of *Campylospermum mannii*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37:402-404.
- Elujoba A., Abere A., Adelusi S.A. (1999) Laxative activities of *Cassia* pods sourced from Nigeria. *Nigerian Journal of Natural Products and Medicine*, 3:51-53.
- Engler A., Prantl K. (1889) Die natürlichen Pflanzenfamilien. 1st edition éd. Leipzig: *Wilhelm Engelmann*.
- Epand R.M., Walker C., Epand R.F., Magarvey N.A., (2016) Molecular mechanisms of membrane targeting antibiotics. *Biochimica et Biophysica Acta\_ Biomembranes*, 1858:980-987
- Evans W. (1996) *Treas and evans' pharmacognosy*. 4th edition London : *W.B. Saunders Company*. 612 p.
- Fairbairn J., Shrestha A.B. (1967) The distribution of anthraquinone glycosides in *Cassia senna* L. *Phytochemistry*, 6:1203-1207.
- Farron C. (1963) Contribution à la taxinomie des *Ourateae* Engl. (Ochnaceae). *Bulletin de la Société Botanique de la Suisse*, 73:196–217.
- Farron C. (1965) Les genres *Rhabdophyllum* van Tiegh. et *Campylospermum* van Tiegh. (Ochnaceae) en Afrique tropicale (note préliminaire). *Bulletin du Jardin Botanique de l'État*, 35:389–405.
- Farron C. (1968) Contributions à la taxonomie des *Ourateae* d'Afrique. *Candollea*, 23:177–228.
- Farron C. (1985) Les Ouratinae (Ochnaceae) d'Afrique continentale. Cartes de distribution et clés de détermination de tous les genres et espèces. *Botanica Helvetica*, 95:59-72.



- Fauchère J., Avril J. (2002) Bactériologie Générale et Médicale. Paris: *Ellipses éditions*, 368 p.
- Favier A. (2003) Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.
- Felicio J. (1995) Inhibition of lens Aldose reductase by biflavones from *Ouratea spectabilis*. *Planta Medica*, 61:217–220.
- Fidelis Q., Araújo, M., de Carvalho M. (2014) *Ouratea* genus: chemical and pharmacological aspects. *Revisa Brasileira de Farmacognosia*, 24:1-19.
- Fraser P.D., Roer S., Schipton C., Mills P.B., Kiano J.W., Misawa N., Drake R.G., Schuch W., Bramley P.M. (2002) Evaluation of transgenic tomato plants expressing an additional phytoene synthase in a fruit-specific manner. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99:1092-1097.
- Furusawa M. Tanaka T., Ito T., Nishikawa A., Yamazaki N., Nakaya K., Matsuura N., Tsuchiya H., Nagayama N., Linuma N. (2005) Antioxidant activity of hydroxyflavonoids. *Journal of Health Science*, 51:376–378.
- Futura-Science, (2019) Available at: <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-membrane-plasmique-780/> consulté le 03 septembre 2019.
- Ganapaty S., Thomas P.S., Ramana K.V., Vidyadhar K. (2002) A review of phytochemical studies of *Cassia* species. *Journal of Natural Remedies*, 2:102- 120.
- Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D., (2003) Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique*, 91-96.
- Geiger H. (1994) Biflavonoids and triflavonoids. In: Harborne, J. B. (Ed.), *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. *Chapman & Hall*, 95–115.
- Georges K., Jayaprakasam B., Dalavoy S., Nair M.G. (2008) Pest-managing activities of plant extracts and anthraquinones from *Cassia nigricans* from Burkina Faso. *Bioresource Technology*, 99:2037-2045.
- Gershenzon J., Maffei M., Croteau R. (1989). Biochemical and histochemical localization of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of spearmint (*Mentha spicata*). *Plant physiology*, 39:1351-1357.
- Ghanzanfar S. (1989) *Savanna Plants (An Illustrated Guide)*. London: *Macmillan Publishers*. 227 p.
- Ghogomu T., Sondengam B., Martin M., Bodo B. (1989) Structures of Isombambichalcone and Lophirochalcone, Bi and Tetra-flavonoids from *Lophira lanceolata*. *Tetrahedron Letters*, 30:1807–1810.
- Ghogomu T., Tih A., Sondengam B.L., Martin M.T., Bodo B. (1994) Structures of Lophirones I and J, minor cleaved chalcone dimers of *Lophira lanceolata*. *Journal of Natural Products*, 57:142–145.
- Gilg E. (1893) Ochnaceae, in Engler, A. & Prantl, K. (eds), *Die natürlichen Pfl anzenfamilien III*. 131–153.
- Gilg E. (1903) Ochnaceae africanae. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pfl anzengeographie*, 33:231–275.
- Gilg E. (1913) Ochnaceae, in Mildbraed, G. W. J. (ed.) *Wissenschaftliche Ergebnisse der Deutschen Zentral-Afrika Expedition 1907–1908 II*. *Botanik*, 6:556–559.

- Gilg E. (1925) Ochnaceae, in Engler, A. (ed.), Wilhelm Engelmann, Leipzig: *Die natürlichen Pflanzfamilien*, 2<sup>e</sup> ed. 21:73.
- GLOBOCAN (2020) <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/120-cameroon-factsheets.pdf>. Consulté le 08 Juillet 2021.
- Godoy-Vitorino F., Romaguera J., Zhao C., Robles D.V. (2018) Cervicovaginal fungi and bacteria associated with cervical intraepithelial neoplasia and high-risk human papillomavirus infections in a hispanic population. *Frontiers Microbiology*, 9:2533.
- Gonzalez E., Felicio J., Pinto, M., (2001) Biflavonoïds inhibit the production of Aflatoxin by *Aspergillus Flavus*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34:1453–1456.
- Goodwin T.W. (1979) Biosynthesis of terpenoids. *Annual Review of Plant Physiology*, 30:369-404.
- Gossan D., Magid A.A., Yao-Kouassi P.A., Josse J., Gangloff S.C., Morjani H., Voutquenne-Nazabadioko L. (2016) Antibacterial and cytotoxic triterpenoids from the roots of *Combretum racemosum*. *Fitoterapia*, 110:89-95.
- Gottlieb O.R., Mors W.B. (1980) Potential utilization of brazilian wood extractives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28:196-215.
- Grayer R., Chase M., Simmonds M. (1999) A comparison between chemical and molecular characters for the determination of phylogenetic relationships among plant families: An appreciation of Hegnauer's "Chemotaxonomie der Pflanzen". *Biochemical Systematics and Ecology*, 27:369-393.
- Guan X. L., Wenk M.R. (2006) Mass spectrometry-based profiling of phospholipids and sphingolipids in extracts from *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 23:465-477.
- Gulcin I., Huyut Z., Elmastas M., Aboul-Enein H. (2010) Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3:43-53.
- Gunatilaka A., Bolzani V., Dagne E., Hofmann G., Johnson R.K., Mc Cabe F.L., Mattern M.R., Kingston D.G. (1998) Limonoids showing selective toxicity to DNA repair-deficient yeast and other constituents of *trichilia emetica*. *Journal of Natural Products*, 61:179-184.
- Günther H. (1994) La spectroscopie de RMN : Principes de base, concepts et applications de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone-13 en chimie. Masson, Paris, 557 p.
- Gupta M., Lal R., Shukla Y.N. (1981) 5 $\alpha$ -Stigmast-9(11)-en-3 $\beta$ -ol, a sterol from *Costus speciosus* roots. *Phytochemistry*, 20:2557–2559.
- Gupta S., Sharma S.B., Singh U.R., Bansal S.K., Prabhu K.M. (2010) Elucidation of mechanism of action of *Cassia auriculata* leaf extract for its antidiabetic activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Food*, 13:528-534.
- Gurib-Fakim (2006) Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27:1- 93.
- Hanada K. (2005) Sphingolipids in infectious diseases. *Japan Journal of Infectious Diseases*, 58:131-148.
- Hannun Y.A., Obeid L.M. (2008) Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9:139–150.
- Hannun Y.A., Obeid L.M. (2018) Sphingolipids and their metabolism in physiology and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19:175–191.



- Hans F.J., Klaus B. (1973) The Structure of Novel C<sub>35</sub> Pentacyclic Terpenes from *Acetobacter xylinum*. *Biochemistry Journal*, 135:133-143.
- Harborne J., Williams C.A. (2000) Advances in Flavonoid Research since 1992. *Phytochemistry*, 55:481–504.
- Harborne J.B. (1993) The flavonoids: advances in research since 1986. London: *Chapman and Hall Publication*.
- Harborne J.B., Baxter H., Moss G. (1999) *Phytochemical dictionary. A handbook of bioactive compounds from plants*. 2nd edition. London : *Taylor & Francis*.
- Haston E., Richardson J., Stevens P., Chase M., Harry D. (2009) The linear angiosperm phylogeny group (LAPG) III: a linear sequence of the families in APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161:128-131.
- Hay J., Morrison W. (1973) Positional Isomers of cis and trans Monoenoic Fatty Acids from Ox (steer) Perinephric Fat. *Lipids*, 8:94-95.
- Hemen D., Lalita L. (2012) A review on anthraquinones isolated from *Cassia* species and their applications. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 3:291-319.
- Hennebelle T., Weniger B., Joseph H., Sahpaz S., Bailleul F. (2009) *Senna alata*. *Fitoterapia*, 80:385-393.
- Herman F., Donald F., Charles (1978) *Encyclopedia of chemical technology*. 3rd edition éd. New York : *John Wiley and Sons I*.
- Herz W., Bhat S.V., Sudarsanam V. (1972) Sesquiterpene lactones and flavones of *Iva frutescens*. *Phytochemistry*, 11:1829-1831.
- Heywood V. (1978) *Flowering plants of the world*. 1st edition. London: *Oxford University press*. 336 p.
- Heywood V. (1996) *Flowering Plants of the World*. 3th edition. Oxford: *Oxford University Press*. 335 p.
- Hirano T., Abe K., Gotoh M., Oka K.M. (1995) Citrus flavone tangeretin inhibits leukaemic HL-60 cell growth partially through induction of apoptosis with less cytotoxic on normal: lymphocytes. *British Journal of Cancer*, 72:1380-1388.
- Honda M., Ueda Y., Sugiyama S., Komori T. (1991) Synthesis of a new cerebroside from a *Chondropsis* sp. Sponge. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 39:1385-1391.
- Hörandl (2006) Paraphyletic versus monophyletic taxa—evolutionary versus cladistic classifications. *Taxon*, 55: 564–570.
- Hosoe T., Nozawa K., Lumley T.C, Currah R.S, Fukushima K., Takizawa K., Miyaji M., Kawai K. (1999) Tetranorditerpene lactones, potent antifungal antibiotics for human pathogenic yeasts, from a unique species of *Oidiodendron*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 47:1591-1597.
- Hu F. (2003) Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78:544-551.
- Hye M. (2009) Isolation of (+)-catechin from *Acacia catechu* (Cutch tree) by a convenient method. *Journal of Scientific Research*, 1:300-305.



- Igoli J., Ogaji O., Tor-anyiin T., Igoli N. (2005) Traditional medicinal practices among the Igede people of Nigeria (part II). *African Journal of Traditional Compliment and Alternative Medicine*, 2:134-152.
- Ikhiri K., Ilagouma A. (1995) Constituents of *Detarium microcarpum* bark. *Fitoterapia*, 66:274.
- Imam H., Abd Alla A., Sakina M. (2013) Evaluation of the larvicidal, antiplasmodial and cytotoxicity properties of *cassia arereh* Del. Stem Bark. *European Journal of Medicinal Plants*, 3:78-87.
- Irvine F. (1961) Woody Plants of Ghana (With Special Reference to Their Uses). London: *Oxford University Press*.
- Ishii T., Okino T., Mino Y. (2006) A ceramide and cerebroside from the starfish *Asterias amurensis* Lütken and their plant-growth promotion activities. *Journal of Natural Products*, 69:1080-1082.
- Iwalewa E., Lege-Oguntoye L., Rai P., Iyaniwura T.T. (1997) In vivo and *in vitro* antimalarial activity of two crude extracts of *Cassia occidentalis* leaf. *Nigerian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5:23-28.
- Iwalewa E., Lege-Oguntoye L., Rai P.P., Iyaniwura T.T., Etkin N.I. (1990) In-vitro antimalarial activity of leaf extracts of *Cassia occidentalis* and *Guiera senegalensis* on *Plasmodium yoelii senegalensis*. *West African Journal of Pharmacology and Drug Research (Suppl.)*, 4:19-21.
- Jackson B., Locksley H., Scheinmann, Wosltenholme F. (1971) Classification and biogenetic origin of natural biflavonoïds. *Journal of the Chemical Society C*, 3791–3793.
- Jacob D., Odeh S. Otsapa P.B. (2002) Preliminary in vivo studies of the anti-ulcer effects of the crude seed and leaves extracts of *Cassia occidentalis* in albino Wistar rats. *Journal of Medicine in the Tropics*, 4:15-18.
- Jagadeesh S., Krupadanam G., Srimannarayana G. (2000) A new triterpenoid from *Zizyphus xylopyrus* stem wood. *Indian Journal of Chemistry*, 39B:396–398.
- Jain P.G., Jain D.K., Patil P.S., Chaudhari P.M., Baviskar D.T. (2009) Antioxidant activity of ethyl acetate extract of *Cassia auriculata* leaves. *Journal of Pharmacy Research*, 2:1412-1413.
- Jamila N., khairuddean M., Khan N.S., Khan N. (2014) Phytochemicals from the Bark of *Garcinia hombroniana* and Their Biological Activities. *Records of Natural Products*, 8:312-316.
- Jayasutha J., Monic J.N.S., Veerabathini R. (2011) Development of formulation containing extracts of *Aristolochia bracteata* and *Cassia Tora* – Evaluation of antimicrobial activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3:348-350.
- Jin W., Tu P.F. (2005) Preparative isolation and purification of trans-3,5,4'-trihydroxystilbene-4'-O- $\beta$ -d-glucopyranoside and (+)catechin from *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. using high-speed counter-current chromatography by stepwise elution and stepwise increasing the flow-rate of the mobile phase. *Journal of Chromatography*, 241:1019.
- Johnson J., Mukhtar H. (2007) Curcumin for chemoprevention of colon cancer. *Cancer Letter*, 255:170-181.
- Joncas F. (2017) Localisation intracellulaire des isoformes d'Akt dans la chimiorésistance des cancers gynécologiques. Thèse de Doctorat. Université du Québec à Trois-rivières, 129 p.
- Joon-Hyung P. (2015) Mécanisme de production des cassures double-brin de l'ADN lors de la transcription en réponse à la camptothécine. Thèse en Pharmacie, Université Toulouse III - Paul Sabatier.

- Joshi H., Saxena G., Singh V., Ekta Arya S.R. (2013) Phytochemical Investigation, Isolation and Characterization of Betulin from Bark of *Betula Utilis*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2:145-151.
- Juan-Badaturuge M., Habtemariam S., Thomas M.J. (2011) Antioxidant compounds from a South Asian beverage and medicinal plant, *Cassia auriculata*. *Food Chemistry*, 125:221-225.
- Judd W., Campbell C., Kellogg E., Stevens P. (2002) Botanique systématique, une perspective phylogénétique. University of Missouri, St. Louis, and Missouri Botanical Garden. 644 p.
- Jung H.A., Su B.N., Keller W., Mehta R.G., Kinghorn D. (2006) Antioxidant xanthenes from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:2077-2082.
- Jung J., Park J.H., Jung Y.J., Lee C.H. (2014) Isolation and Identification of Triterpenoids from the Mulberry (*Morus alba*) Root Bark. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 57:295-299.
- Kanis A. (1968) A revision of the Ochnaceae of the Indo-Pacific area. *Blumea*, 16:1-83.
- Karadag A., Ozcelik B., Saner S. (2009) Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*, 2:41-60.
- Karan B., Maity T., Pal B.C., Singha T., Jana S. (2018) Betulinic Acid, the first lupane-type triterpenoid isolated via bioactivity-guided fractionation, and identified by spectroscopic analysis from leaves of *Nyctanthes arbor-tristis*: its potential biological activities *in vitro* assays. *Natural Product Research*, 33:3287-3292.
- Karioti A., Vincieri F., Bilia A. (2009) Rapid and efficient purification of naphthodianthrone from St. John's wort extract by using liquid-liquid extraction and SEC. *Journal of Separation Science*, 32:1374-1382.
- Ketsawatsakul U., Whiteman M., Halliwell B. (2000) A reevaluation of the peroxynitrite scavenging activity of some dietary phenolics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 279:692-699.
- Khedr A., Ibrahim S.R., Mohamed G.A., Ross S.A., Yamada K. (2018) Panduramides A-D, new ceramides from *Ficus pandurata* fruits. *Phytochemistry Letters*, 23:100-105.
- Kidah Maimuna I., Kubmarawa D., Aliyu B.A. (2016) Chemical constituents of essential oil of *Cassia arereh* Del. and *Ficus thoningii* blume. *International Research Journal of Natural Sciences*, 4:28-30.
- Kitanaka S., Takido M. (1991) Studies on the constituents of the leaves of *Cassia torosa* Cav. II. The structure of two novel flavones, Torosaflavone C and D. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 39:3254-3257.
- Komatsu M., Tomimori T., Ito M. (1967) Studies on the constituents of *Swertia japonica* I. Structures of swertisin and isoswertisin. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 15:263-269.
- Kpegba K., Agbonon A., Petrovic A., Amouzou E., Gbeassor M., Proni G., Nesnas N. (2011) Epiatzelechin from the root bark of *Cassia sieberiana*: detection by DART mass spectrometry, spectroscopic characterization, and antioxidant properties. *Journal of Natural Products*, 74:455-459.
- Krishna R.R., Seshagiri R.J., Vimaladevi M. (1979) Phytochemical investigation of *Cassia absus* (roots and leaves). *Journal of Natural Products*, 42:299-300.



- Kuete V. (2010) Potential of Cameroonian plants and derived products against microbial infections: A review. *Planta Medica*, 76:1479–1491.
- Kumar M. (2010) Antioxidant flavonoid glycosides from *Evolvulus alsinoides*. *Fitoterapia*, 81:234–242.
- Kumar U., Prakash V. (2012) Comparative analysis of antioxidant activity and phytochemical screening of some Indian medicinal plants. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4:291-295.
- Kumarasamy Y., Fergusson M., Nahar L., Sarker S. (2002) Bioactivity of moschamindole from *Centaurea moschata*. *Pharmaceutical Biology*, 40:307–310.
- Kumari A., Kakkar P. (2008) Screening of antioxidant potential of selected barks of Indian medicinal plants by multiple *in vitro* assays. *Biomedical and Environmental Sciences*, 21:24-29.
- Kuo Y.H., Chiang Y.M. (2000) Six new ursane and oleanane type triterpenes from the aerial roots of *Ficus microcarpa*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 48:593-596.
- Kupchan M.S., Bauerschmidt E. (1971) Cytotoxic flavanols from *Baccharis sarothroides*. *Phytochemistry*, 10:664-666.
- Labayle D. (2001) « Guide Pharmaco », paris : édition lamare, 568 p.
- Lancaster M., Fields R. (1996) Antibiotic and cytotoxic drug susceptibility assays using resazurin and poisoning agents. United States, Patent N° 5 : 501, 959 .
- Laure B., Thibau F., Emmanuel T. (2015) Evaluation of antioxidant activity and protective effect of *Cassia arereh* (caesalpinaceae) extracts against free radical induced oxidative haemolysis. *International Journal of Pharmacy* 5:1026-1036.
- Le K., Chiu F., Kian F. (2007) Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 105:353-363.
- Lee H.K., Lee H.B., Kim C.S., Ahn Y.J. (2004) Anti-*Helicobacter pylori* activity of methanol extracts from Korean native plant species in Jeju Island. *Agricultural Chemistry and Biotechnology* 47 : 91–96
- Lee J., Koo N., Min D. (2004) Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3:21-33.
- Lemmens R., Louppe D., Oteng-Amoako A., Brink M. (2012) Timbers 2. Wageningen, Netherland : PROTA, 804 p.
- Levy A., Carley S. (2012) Cytotoxic activity of hexane extract of *Psidium guajava* L (Myrtaceae) in -1 and OV 2008 cancer cell lines. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11:201-207.
- Lewis W.H., Elvin-Lewis M.P. (1995) Medicinal plants as sources of new therapeutics. *Annals of Missouri Botanical Garden*, 82:16-24.
- Li X., Mehrotra M., Ghimire S., Adewoye L. (2007)  $\beta$ -Lactam resistance and  $\beta$ -Lactamases in bacteria of animal origin. *Veterinary microbiology*, 121:197-214.
- Liang P.H., Ko T.P., Wang A.H. (2002) Structure, mechanism and function of prenyltransferases. *European Journal of Biochemistry*, 269:3339-3354.
- Lichota A., Gwozdziński K. (2018) Anticancer activity of natural compounds from plant and marine environment. *International Journal of Molecular Sciences*, 19:3533.

- LPWG [Legume Phylogeny Working Group] (2013) Legume phylogeny and classification in the 21st century: progress, prospects and lessons for other species-rich clades. *Taxon*, 62:217-248.
- LPWG [Legume Phylogeny Working Group] (2017) A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon*, 66:44–77.
- LSC (Ligue suisse contre le cancer) (2016) 3eme Ed. Ast & Fischer SA, Wabern, revue. pp. 52.
- Mabberley D. (2008) Mabberley plant-book: A portable dictionary of plants, their classification and uses. Cambridge: *Cambridge University Press*, 1040 p.
- Mabry T., Markham K., Thomas M. (1970) The Systematic Identification of Flavonoids. New York: *Springer-Verlag*.
- Maity T.K., Dinda S.C. (2003) Purgative activity of *Cassia tora* leaf extract and isolated aloemodin. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65(1): 93-95.
- Maity T.K., Mandal S.C., Mukherjee P.K., Saha K., Das J., Saha B.P., Pal M. (1997) Evaluation of hepatoprotective potential of *Cassia tora* leaf extract. *Natural Product Sciences*, 3:122–126.
- Maity T., Mandal F.C., Mukherjee P.K., Saha K., (1997) Evaluation of hepatoprotective potential of *Cassia* species leaf extract. *Natural Product Sciences*, 3:122-126.
- Manitto P. (1980) Biosynthesis of natural products, England : *Halsted Press*, 548p.
- Marcia L.N., Fabiano M.C., Maria C.Y.M., Vanderlan S.B. (1999) Complete Assignments of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR Spectra of the 3,4-*seco*-Triterpene Canaric Acid isolated from *Rudgea jasminoides*. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 10:237-240.
- Mario J.J., Joao F.B., Paulo C.V., Maria F.G., Edson R.F. (1999) The Use of <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR in the Structural Elucidation of New *Nor*-Lupane Triterpene. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 10:317-320.
- Markham K., (1994) <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectroscopy of flavonoids and their glycosides in hexadeuterodimethylsulfoxide. In: Harborne JB, editor. The flavonoids: advances in research since 1986. London: Chapman & Hall.
- Markham K.R. (1975) Isolation techniques for flavonoids, in The Flavonoids. Harborne J.B., Mabry T.J., Mabry H., New York : *Academic Press*, p45.
- Markham K.R., (1976) <sup>13</sup>C NMR of flavonoids-II, Flavonoids other than flavone and flavonol aglycones. *Tetrahedron*, 32:2607-2612.
- Markham K.R., Geiger H. (1994) The Flavonoids. Harborne J. B., London. *Capman and Hall, Eds*
- Mbabi N.N., Ngono B.D.S, Abouem Z.A., Betote D.P., Lenta N.B., Pegnyemb D.E., Koert U. (2018) Phytochemical investigation and *in vitro* antimalarial activities of stem barks of *Campylospermum zenkeri* and roots of *Campylospermum vogelii*. *Journal of Pharmacy Research*, 12 :689-693.
- Mbing J., Gueiffier C., Atchade A., Allouchi H., Gangoué J., Mbafor J., Tih G.R., Pothier J., Pegnyemb D.E., Gueiffier A. (2007) Two biflavonoids from *Ouratea nigroviolaceae*. *Phytochemistry*, 67:2666–2670.
- Mbing J., Ndongo T., Gueiffier C., Atchade A., Gangoué J., Tih G.R., Sondengam B., Pothier J., Pegnyemb D.E., Gueiffier A. (2009) Flavonoids from the leaves of *Ouratea zenkeri* and *Ouratea turnerae*. *Asian Chemistry Letters*, 13:81-88.

- Messanga B.B., Ghogomu T.R., Sondengam B.L., Martin M.T., Bodo B. (1994) Biflavonoids from *Ochna calodendron*. *Phytochemistry*, 35:791–793.
- Messanga B.B., Kimbu F.S., Sondengam B.L., Bodo B. (2002) Triflavonoids of *Ochna calodendron*. *Phytochemistry*, 59:435–438.
- Messi A., Ngo Mbing J., Ndongo J., Nyegue M., Tchinda A., Yemeda F., Frederich M., Pegnyemb D.E. (2016) Phenolic compounds from the roots of *Ochna schweinfurthiana* and their antioxidant and antiplasmodial activities. *Phytochemistry Letters*, 17:119-125.
- Mindiédiba J. (2012) Etude phytochimique et activités biologiques des tiges feuillées de *Lantana camara* et de *Lippia chevalieri* Moldenke : deux Verbenaceae du Burkina Faso. Doctorat de Biochimie et Chimie des substances naturelles, Université de Ouagadougou. 199 p.
- Mishra G. (2018) Serious adverse effects of anticancer drugs – A review. *Ideal Research* 3:1-14.
- Mitra P., Ghosh T., Gupta S., Basu B., Mitra P.K. (2016) Isolation and characterization of a compound from the leaves of *Cassia Alata* Linn. *EC Chemistry*, 2:138-144.
- Mondal A. (2014) Phenolic constituents and traditional uses of *Cassia* (Fabaceae) plants: An update. *Journal of Organic and Biomolecular Chemistry*, 3:93 -141.
- Montagnier L. (2009) Oxidative stress in preventive medicine. *Free Radical Research*, 43:S27-97.
- Moradi S., Hasani M., Darvish L., Roozbeh N. (2017) Evaluating cervicovaginal infections and cervical cancer in women with low socioeconomic levels. *Iranian Journal of Public Health*, 46:867-868.
- Moreira I., Sobrinho D., de Carvalho M., Braz-Filho R. (1994) Isoflavanone dimers hexaspermone A, B and C from *Ouratea hexasperma*. *Phytochemistry*, 35:1567-1572.
- Mosmann T. (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth & survival: application to proliferation & cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65:55-63.
- Murray P.R., Baron E.J., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover R.H. (1995) Manual of clinical microbiology. Vol. 6. Washington (DC): ASM
- Musa S., Abdelrasool F.E., Elsheikh E.A., Ahmed L.A.M.N., Mahmoud A.L.E., Yagi S.M. (2011) Ethnobotanical study of medicinal plants in the Blue Nile State, South-eastern Sudan. *Journal of Medicinal Plants research*, 5:4287-4297.
- Natori T., Morita M., Akimoto K., Koezuka Y. (1994) Agelasphins, novel antitumor and immunostimulatory cerebroside from the marine sponge *Agelas mauritanus*. *Tetrahedron*, 50:2771-2784.
- Nauciel C., Vildé J. (2005) Bactériologie médicale. 2ème Ed. Paris : Masson, 272 p.
- NCCLS, 2002. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard-Second Edition. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA
- Ndongo J., Shaaban M., Ngo Mbing J., Ngono B.D., Atchade A.Pegnyemb D.E., Laatsch H. (2010) Phenolic dimers and an indole alkaloid from *Campylospermum flavum* (Ochnaceae). *Phytochemistry*, 71:1872-1878.
- Neelam C., Ranjan B., Komal S., Nootan C. (2011) Review on *Cassia fistula*. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*, 2:426-430.





- Negri G., Oliveira A.F.M., Salatino M., Salatino A. (2004) Chemistry of stem bark of *Amburana cearensis*. *Revista Brasileira de Planta Medicinalis*, 6:1-4.
- Ngono B.D., Abouem Z.A., Mbabi N.N., Atchade A.T., Bahiya N.G., Mosset P., Pegnyemb D.E. (2015) Secondary metabolites from *Campylospermum oliverianum* (Farron), *Campylospermum glaucum* (Tiegh) and *Campylospermum dybowski* (Van Tiegh). *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7:119-127.
- Ngono B.D., Mosset P., Zintchem A.A., Atchadé A., Missi B.M., Nyemeck II M.N., Pegnyemb D.E. (2014) Campylospermine, an N-hydroxy alkaloid from the leaves of *Campylospermum densiflorum* (Ochnaceae). *International Journal of Pharmacognosy and Pharmacognosy Research*, 15:719-728.
- Ngono B.D., Nkot J.L., Mosset P., Atchadé A., Ndongo J.T., Pemha R., Pegnyemb D.E. (2011) Acylsteryl glycosides and other constituents from *Campylospermum densiflorum* (Ochnaceae). *Rasayan Journal of Chemistry*, 4:753-763.
- Ngulde S., Sandabe I., Hussaini U. (2015) Ethnobotanical survey of anticancer plants in Askira/Uba local government area of Borno State, Nigeria. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 9:123-130.
- Ngulde S., Sanni S., Sandabe U., Sani D. (2010) Phytochemical and antimicrobial screening of the aqueous extract of *Cassia arereh* Del. stem-bark. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4:530-534.
- Ngulde S.T., Tijjani M.B., Ihopo J.M., Ya'uba A.M. (2013) Antitrypanosomal Potency of Methanol Extract of *Cassia arereh* Delile Root Bark in Albino Rats. *International Journal of Drug Research and Technology*, 3:1-7.
- Nielsen K., Heitman J. (2007) Sex and virulence of human pathogenic fungi. *Advanced Genetics*, 57:143-173.
- Njock, B.G., Bartholomeusz T., Bikobo N.S.D., Forozaandeh M. (2013) Structure and Dynamic of Three Indole Alkaloids from the *Campylospermum* Genus (Ochnaceae). *Helvetica Chimica Acta*, 96:1298-1304.
- Nkot J., Bikobo N.S.D., Zintchem A.A., Nyemeck II M.N., Ndedi M.F., Diboué B.P., Pegnyemb D.E., Bochet C., Koert U., (2018) Antitubercular evaluation of root extract and isolated phytochemicals from *Lophira lanceolata* against two resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Pharmaceutical Biology*, 56:318-324.
- O'Brien P., Siraki A. Shangari N. (2005) Aldehyde Sources, Metabolism, Molecular Toxicity Mechanisms, and Possible Effects on Human Health. *Critical Reviews in Toxicology*, 35:609-662.
- Obodozie O., Larry C.O., Florence D.T., Abayomi T.O., Joseph I.O., Uford S.I., Edith O.A. & Colin W.W. (2004) Antiplasmodial principles from *Cassia nigricans*. *Pharmaceutical Biology*, 42:626-628.
- Ogbole O., Adeniji J., Ajaiyeoba E., Kamdem R., Choudhary M. (2014) Anthraquinones and triterpenoids from *Senna siamea* (Fabaceae) Lam inhibit poliovirus activity. *African journal of microbiology research*, 8:2955-2963.



- Ogunwande I., Flamini G., Cioni P., Omikerede O., Azeez R., Ayodele A., Ysuff O. (2010) Aromatic Plants growing in Nigeria: Essential Oil Constituents of *Cassia alata* (Linn.) Roxb. and *Helianthus annuus* L. *Records of Natural Products*, 4:211-217.
- Oh J-K., Weiderpass E. (2014) Infection and cancer :Global distribution and burden of diseases. *Annals of Global Health*, 80:384-392.
- Okwu D., Uchenna N. (2011) Cannabinoid dronabinol alkaloid with antimicrobial activity from *Cassia alata* Linn. *Der Chemica Sinica*, 2:247-254.
- Olusola A., Olutayo O., Michael A., Olakunle F. (2011) Elemental analysis and Anti-microbial potentials of the leaf extract of *Cassia arereh* Del. *International Research Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1:188-193.
- Orth G., Sansonetti P. (2006) La maîtrise des maladies infectieuses : Un défi de santé publique, une ambition médico-scientifique. avenue du Hoggar: *EDP Sciences*, 488 p.
- Ozenda P. (2004) Flore et végétation du Sahara. Troisième édition éd. Paris: *CNRS*, 662 p.
- Pacheco A., Alcântara A., Abreu V., Corrêa G. (2012) Relationships Between Chemical Structure and Activity of Triterpenes Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. Varaprasad Bobbarala editor. *A Search for Antibacterial Agents*. Rijeka: in Tech 2012.
- Packer L., Weber S. (2001) The role of vitamin E in the emerging field of nutraceuticals. New York (Marcel Dekker): Kramer K, Hoppe P P and Packer L. *Nutraceuticals in health and disease prevention*, pp 27-46.
- Palanichamy S., Bhaskar E.A., Nagarajan S. (1991) Antibacterial activity of *Cassia alata*. *Fitoterapia*, 62:249–252
- Palanichamy S., Nagarajan S. (1990b) Analgesic activity of *Cassia alata* leaf extract and kaempferol 3-O-sophoroside. *Journal of Ethnopharmacology*, 29:73-78.
- Palanichamy S., Nagarajan S. (1990a) Antiinflammatory activity of *Cassia alata* leaf extract and kaempferol 3-O-sophoroside. *Fitoterapia*, 61:44–47.
- Panneerselvam V., Kannan M., Jayaraja S., Vasanthi N. (2013) Antihyperlipidemic activity of *Cassia auriculata* flowers in triton WR 1339 induced hyperlipidemic rats. *Experimental and toxicologic Pathology* 65:135–142.
- Park Y.-B., Kim S.-B. (2011) Isolation and identification of antitumor promoters from the seeds of *Cassia tora*. *Journal Microbiology and Biotechnology*, 21:1043-1048.
- Parkin D.M. (2011) Cancers attributable to infection in the UK in 2010. *British Journal of Cancer*, 105:49-56.
- Parry O., Mutangadura N., Duri Z.J. (1992) The effects of *Cassia abbreviata* on rat blood pressure. *Central African Journal of Medicine*, 38:435–438.
- Pawar H., Priscilla M. D'mello (2011) *Cassia* species linn : an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9:2286-2291.
- Pegnyemb D., Ghogomu R., Sondengam B.L., Blond A., Bodo B. (2003) Flavonoids of *Ochna afzelii*. *Phytochemistry*, 64:661–664.
- Pegnyemb D., Messanga B.B., Ghogomu R., Sondengam B.L., Martin M.T., Bodo B. (1998) A new benzoylglucoside and a new prenylated isoflavone from *lophira lanceolata*. *Journal of Natural Products*, 61:801-803.



- Pei D., Liu J., Di D. (2010) Cerebroside and ceramide from the pollen of *Brassica napus* L. *Fitoterapia*, 81:838–843.
- Pereira F., Domingues F., Silva A. (1996) triterpenes from *acacia dealbata*. *Natural product letters*, 8:97-103.
- Peshin T., Kar H. (2017) Isolation and Characterization of  $\beta$ -Sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucoside from the extract of the flowers of *Viola odorata*. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 16:1-8.
- Pieme C., Beng V., Nkegoum B., Taziebou P.C.L., Tekwu E.M., Etoa F.X., Ngongang J. (2006) Evaluation of acute and subacute toxicities of aqueous ethanolic extract of leaves of *Senna alata* (L.) Roxb (Ceasalpinaceae). *African Journal of Biotechnology*, 5:283-289.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J. (1999) L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, 4 :148-154.
- Pistelli L., Bertoli A., Giachi I., Morelli I. (2001) Quinolizidine alkaloids from *Genista ephedroides*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29:137-141.
- Podder V., Sadiq N.M. (2019) Levofloxacin. *StatPearls Publishing*. Treasure Island, FL.
- Poisson J.E., (2021) article Alcaloïdes, *Encyclopædia Universalis*, consulté le 22/05/2021. <https://www.universalis.fr/encyclopedie/alcaloïdes/#:~:text=Repr%C3%A9sentant%20les%20principes%20actifs%20de,la%20fin%20du%20xix%20e>
- Prakash C., Prakash I. (2012) Isolation and Structural Characterization of Lupane Triterpenes from *Polypodium Vulgare*. *Research Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1:23-27.
- Prasanna R., Harish C., Pichai R., Sakthisekaran D., Gunasekaran P. (2009) Anti-cancer effect of *Cassia auriculata* leaf extract *in vitro* through cell cycle arrest and induction of apoptosis in human breast and larynx cancer cell lines. *Cell Biology International*, 33:127-134.
- Prateeksha, Yusuf M.A., Singh B.N., Sudheer S, Kharwar R.N., Siddiqui Saba, Abdel-Azeem A.M., Fraceto L.F., Dashora K., Gupta V.K. (2019) Chrysophanol: A Natural Anthraquinone with Multifaceted Biotherapeutic Potential. *Biomolecules*, 9:68-92.
- Pukumpuang W., Thongwai N., Tragoolpua Y. (2012) Total phenolic contents, antibacterial and antioxidant activities of some Thai medicinal plant extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6:4953-4960,
- Quassinti L., Lupidi, G., Maggi, F., Sagratini, G., Papa, F., Vittori, S., Bianco A., Bramucci, M. (2013) Antioxidant and antiproliferative activity of *Hypericum hircinum* L. subsp.majus (Aiton) N. Robson essential oil. *Natural Products Research*, 27:865-868.
- Quave C. (2016) Antibiotics from nature: traditional medicine as a source of new solutions for combating antimicrobial resistance. *AMR Control*, 98-102.
- Rajavel T., Mohankumar R., Archunan G., Ruckmani K., Devi K.P. (2017) Beta sitosterol and daucosterol (phytosterols identified in *Grewia tiliaefolia*) perturbs cell cycle and induces apoptotic cell death in A549 cells. *Scientific Reports*, 7:1–15.
- Rajbhandari A., Roberts F.M. (1983) The flavonoids of *Stevia rebaudiana*. *Journal of Natural Products* 46:194-195
- Ram P. (1998) Compendium of Indian medicinal Plants. CDRI Publications: Lucknow. pp.1970-1979.
- Rambabu P., Ramana V., Ganapaty S. (2011) Isolation and characterization of triterpenes from *Zizyphus glabrata*. *International Journal of Chemical Sciences*, 9:1014-1024.



- Rambo D. F., Renata B., Toson N.S.B., Dresch R.R., Moreno P.R.H., Henriques A.T., (2019) The genus *Erythrina* L.: A review on its alkaloids, preclinical, and clinical studies. *Phytotherapy Research*, 33:1258-1276.
- Ramos F., Takaishi Y., Kawazoe K., Osorio C., Duque C., Acuña R., Fujimoto Y., Sato M., Okamoto M., Oshikawa T., Ahmed S.U. (2006) Immunosuppressive diacetylenes, ceramides and cerebrosides from *Hydrocotyle leucocephala*. *Phytochemistry*, 67:1143-1150.
- Rensen I.V., Wray V., Witte L., Canto P., Greinwald R., Veen G., Veit M., Czygan F.-C. (1993) Ester alkaloids of *Genista cinerea* subspecies *cinerea*. *Phytochemistry*, 35:421-424.
- Rho J., Kim Y. (2005) Isolation and structure determination of three new ceramides from the starfish *Distolasterias nipon*. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 26:1457-1460.
- Ribeiro K., Garcia R., Pereira O., Filho S., Cecon P.R. (2001) Intake and total and partial apparent digestibilities of nutrients, in cattle fed diets containing tifton 85 bermudagrass hays at different regrowth ages. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30:573-580.
- Robinson R. (1955) The structural Relations of Natural Products. Oxford: *Claredon press*. 150 p.
- Rungsimakan S., Rowan M. (2014) Terpenoids, flavonoids and caffeic acid derivatives from *Salvia viridis* L. cvar. Blue Jeans. *Phytochemistry*, 108:177-188.
- Saito S., Silva G., Santos R.X., Gosmann G., Pungartnik C., Brendel M. (2012) Astragalin from *Cassia alata* induces DNA Adducts *in vitro* and repairable DNA Damage in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Molecular Sciences*, 13:2846-2862.
- Sakharkar P.R., Patil A.T. (1998) Antifungal activity of *cassia alata*. *Indian Journal of Natural Products*, 14:23-25.
- Samy R.P., Sethi G., Chow V.T.K. (2013) Purification and biological evaluation of some bioactive metabolomics as antimicrobial agent. *Letters in Drug Design and Discovery*, 10:437-443.
- Sandhar H., Kumar B., Prasher S., Tiwari P., Salhan M., Sharma P. (2011) A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1:25-41.
- Sandjo L., Hannewald P., Yemloul M., Kirsch G., Ngadjui B.T. (2008) Triumfettamide and triumfettoside Ic, two Ceramides and other secondary metabolites from the stems of wild *Triumfetta cordifolia* A. Rich. (Tiliaceae). *Helvetica Chimica Acta*, 91:1326-1335.
- Sang S., Laspley K., Jeong W.S., Lachance P.A., Ho C.T., Rosen R.T. (2002) Antioxidant phenolic compounds isolated from almond skins (*Prunus amygdalus* Batsch). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:2459-2463.
- Sarker S.D., Savchenko T., Whiting P., Sik V., Dinan L. (1997) Moschamin, cis-moschamine, moschamindole and moschamindolol: four novel indole alkaloids from *Centaurea moschata*. *Natural Product Letter*, 9:189-199.
- Sarwar W. (2016) Pharmacological and phytochemical studies on *Acacia modesta* Wall; A review. *The Journal of Phytopharmacology*, 5:160-166.
- Sastre C. (1988) Synopsis generis *Ouratea* Aublet (Ochnaceae). Paris: Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle. 10 : 47-67.
- Sastre C. (1995) Novelties in the Neotropical genus *Ouratea* Aublet (Ochnaceae). *Novon*. 5:193-200.

- Satyral P., Dosoky N.S., Poudel A., Setzer W.N. (2013) Essential oil constituents and their biological activities from the leaves of *Cassia fistula* growing in Nepal. *Open Access Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 3:1-4
- Satyavati G.V., Raina M.K., Sharma M. (1976) Medicinal Plants of India. *Indian Council of Medical Research*, 2:112–118.
- Savarinayagam H., Shanmugavadivelu C. (2019) Phytochemical Analysis of Flower extracts of Different *Cassia* Species by Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *International Journal of Biological Chemistry*, 13:1-11.
- Saxena M., Srivastava S. K. (1986) Anthraquinones from the Roots of *Acacia leucophloea*. *Journal of Natural Products*, 49:205–209.
- Schmelzer G., Arroo R., Gurib-Fakim A., Bosch C. (2008) Ressources végétales de l’Afrique tropicale. Fondation PROTA / Backhuys Publishers. *Plantes médicinales 1*, Tome 1. 869p.
- Schmidt J., Himmelreich U., Adam G. (1995) Brassinosteroids, sterols and lup-20(29)-en-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,28-triol from *Rheum rhabarbarum*. *Phytochemistry*, 40:527-531.
- Sell C.S. (2003) A fragrant introduction to terpenoid chemistry. UK Cambridge : *The royal society of chemistry*, 410p.
- Selm Y., Litinas K. (2015) Cytotoxic and antimicrobial activities of two new triterpenoids from the peels of local Egyptian *Malus domestica* L. *Journal of Chilean Chemical Society*, 60:2896-2899.
- Shahat A., Hidayathulla S., Khan AA, Alanazi AM. (2019) Phytochemical profiling, antioxidant and anticancer activities of *Gastrocotyle hispida* growing in Saudi Arabia. *Acta Tropica*, 191:243–247.
- Sharma S., Chattopadhyay S.K., Singh M., Bawankule D.U., Kumar S. (2014) Novel chemical constituents with anti-inflammatory activity from the leaves of *Sesbania aculeate*. *Phytochemistry*, 100:132-140.
- Shrestha S., Park J.H., Lee D.Y., Cho J.G., Cho S., Yang H.J., Yong H.I., Yoon M.S., Han D.S., Baek N.-I. (2012) *Rhus parviflora* and its biflavonoid constituent, rhusflavone, induce sleep through the positive allosteric modulation of GABAA-benzodiazepine receptors. *Journal of Ethnopharmacology*, 142:213-220.
- Shwe H. (2019) Isolation and Structural Characterization of Lupeol from the Stem Bark of *Diospyros ehretioides* Wall. *International European Extended Enablement in Science, Engineering & Management*, 7:140-144.
- Silva C., Monteiro M.R., Rocha H.M., Ribeiro A.F., Caldeira-de-Araujo A., Leitão A.C., Bezerra R.J.A.C., Pádula M. (2008) Assessment of antimutagenic and genotoxic potential of *Senna* (*Cassia angustifolia* Vahl) aqueous extract using *in vitro* assays. *Toxicology in vitro*, 22:212-218.
- Simon H., Haj-Yehia A., Levi-Schaffer F. (2000) Role of reactive oxygen species (ROS) in the apoptosis induction. *Apoptosis*, 5:415-418.
- Simpson D., Amos S. (2017) Other Plant Metabolites. *Pharmacognosy*, 267–280.
- Singh P., Brindavanam N.B., Kimothi G.P., Verma R., Aeri V. (2016) A validated hplc method for the determination of betulin in the stem bark of *Tectona grandis* linn. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7:719-723.



- Sob S., Wabo H., Tane P., Ngadjui B., Ma D. (2008) A xanthone and a polyketide derivative from the leaves of *Cassia obtusifolia* (Leguminosae). *Tetrahedron*, 64:7999-8002.
- Sob S., Wabo H.K., Tchinda A., Tane P., Ngadjui B., Ye Y. (2010) Anthraquinones, sterols, triterpenoids and xanthones from *Cassia obtusifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38:342-345.
- Sosef M. (2007) Novitates Gabonenses 64. A new species of *Campylospermum* (Ochnaceae) from coastal Gabon. *Blumea*, 52:15-19.
- Sosef M. (2008) Révision du genre africain *Rhabdophyllum* Tiegh. (Ochnaceae), avec sa distribution au Cameroun et au Gabon. *Adansonia. Publications Scientifiques du Muséum national d'Histoire naturelle*, 30:119-135.
- Sosef M. S. M. (1997) Hierarchical models reticulate evolution and the inevitability of paraphyletic supraspecific taxa. *Taxon*, 46:75-85.
- Spek A.L., Kojic-Prodic B., Labadie R.P. (1984) Structure of (-)-epicatechin: (2R,3R) 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-3,5,7-triol, C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>. *Acta Crystallographica Section C*, 40:2068-2071.
- Spichiger R., Savolainen V., Figeat M., Jeanmono D., Perret M. (2002) Botanique systématique des plantes à fleur: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 2ème édition entièrement revue et augmentée: *Presses polytechniques et Universitaires romandes*, 413 p.
- Spichiger R., Savolainen V., Figeat M., Jeanmonod D. (2004) Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. Troisième édition éd. Lausanne: *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes*, 413p.
- Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *A Cancer Journal for Clinicians*, 71:209-249.
- Suzart L., Daniel, J.F., Carvalho, M.G., Kaplan, M.A. (2007) Flavonoidic biodiversity and pharmacologic aspects in the species of the *Ouratea* and *Luxemburgia* genera (Ochnaceae). *Química Nova*, 30:984-987.
- Suzy A.E., Souzan M., Abdel-Rahim S., El-Seoud K.A. (2016) A New Clerodane Diterpene, Flavonoids and Sterols from *Cassia nodosa* Growing in Egypt: Anti-inflammatory Activity of Plant Extracts. *Journal of Pharmaceutical Sciences & Research*, 8:1034-1041.
- Sydiskis R.J., Owen D.G., Lohr J.L., Rosler K.H., Blomster R.N. (1991) Inactivation of enveloped viruses by anthraquinones extracted from plants. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35:2463-2466.
- Tang S., Bremner P., Kotenkamp A., Schlage C. (2003) Biflavonoids with cytotoxic and antibacterial activity from *Ochna macrocalyx*. *Planta Medica*, 69:247-253.
- Thanakijicharoenpath W., Theanphong O. (2007) Triterpenoids from the stem of *Diospyros glandulosa*. *Thai Journal of Pharmacology*, 3:1-8.
- The Angiosperm Phylogeny Group (APG) (2009) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161:105-121.

- The Legume Phylogeny Working Group (LPWG) (2013) Legume phylogeny and classification in the 21st century: Progress, prospects and lessons for other species-rich clades. *Taxon*, 62:217-248.
- Thomson R. (1997) Naturally occurring quinines IV. Recent advances. London, UK: *Chapman & Hall*, 746p.
- Thorne R. (1992) An updated phylogenetic classification of the flowering plants. 13:365-389.
- Tieghem V.P. (1902a) Sur les Ochnaceae. *Annales des Sciences naturelles, Botanique*, 8:161–416.
- Tieghem V.P. (1902d) Constitution nouvelle de la famille des Ochnaceae. *Journal de Botanique*, 16:181–212.
- Tieghem V.P. (1903) Nouvelles observations sur les Ochnaceae. *Annales des Sciences naturelles, Botanique*, 18:1–60.
- Tieghem V.P. (1907) Supplément aux Ochnaceae. *Annales des Sciences naturelles, Botanique*, 5:158–192.
- Tih A., Tih G., Sondengam B.L., Martin M.T., Bodo B. (1988) A new chalcone-dimer from *Lophira alata*. *Tetrahedron Letters*, 29:5797–5800.
- Tincusi B., Jimenez I., Bazzocchi I., Moujir L., Aragon Z., Pinero J., Ravela A, Hernandez B. (2002) Antimicrobial terpenoids from the oleoresin of the peruvian medicinal plant *Copaifera paupera*. *Planta Medica*, 68:808-812.
- Trease G.E., Evans, W.C. (1989) Trease and Evans Pharmacognosy. 13 th Ed éd. London: *Balliere Tindall*, 844p.
- Ullah H., Ali S. (2017) Classification of Anti-Bacterial Agents and Their Functions. *In Antibacterial Agents*,10:1-16.
- Usman A., Thoss V., Nur-e-Alam M. (2016) Isolation of (-) - Epicatechin from *Trichilia emetica* Whole Seeds. *American Journal of Organic Chemistry*, 6:81-85.
- Vázquez L.H., Palazon J., Navarro-Ocana A. (2012) The pentacyclic triterpenes  $\alpha$ ,  $\beta$  amyryns: a review of sources and biological activities. In: Rao, W. (Ed.), *Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*, Toronto, pp. 487–502.
- Velandia J., Carvalho M., Braz-Filho R., Werle A. (2002) Biflavonoids and a glucopyranoside derivative from *Ouratea semiserrata*. *Phytochemical Analysis*. 13:283-292.
- Velioglu Y., Mazza G., Gao L., Oomah B. (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46:4113-4117.
- Ventola C. (2015) The Antibiotic Resistance Crisis Part 1: Causes and Threats. *Pharmacy and Therapeutics*, 40:277-283.
- Viegas C., Bolzani V., Furlan M., Barreiro E.J., Young M.C.M., Tomazela D., Eberlin M. (2004) Further Bioactive Piperidine Alkaloids from the Flowers and Green Fruits of *Cassia spectabilis*. *Journal of Natural Products*, 67:908-910.
- Vijayalakshmi A., Madhira G. (2014) Anti-psoriatic activity of flavonoids from *Cassia tora* leaves using the rat ultraviolet B ray photodermatitis model. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24:322-329.

- Vijayalakshmi D. N., Jayakumari S. (2009) Hypoglycemic and antidiabetic screening of *Cassia fistula* Linn. Bark. *Natural Products: An Indian Journal*, 5:157-161.
- Villaseñor I., Sanchez A. (2009) Cassiaindoline, a New Analgesic and Anti-Inflammatory Alkaloid from *Cassia alata*. *Z. Naturforsch.*, 64c:335–338.
- Villasenor I.M., Canlas A.P., Pascua M.P.I., Sabando M.N., Soliven L.A.P. (2002) Bioactivity studies on *Cassia alata* Linn. Leaf extracts. *Phytotherapy Research*, 16:93–96.
- Virinder S., Kirpal S.B., Sunil K.S., Rajni K.J., Poonam T., Suddham S., Ole S., Per M.B. (1994) Highly oxygenated bioactive flavones from *Tamarix*. *Phytochemistry*, 36:507-511.
- Wallach O. (1887) Knowing about terpenes and essential oils. - *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 238:78-89.
- Walsh C. (2003) Antibiotic: Actions, Origins, Resistance. ASM Press, Washington DC : *Protein Science*, 345 p.
- Wang G., Tian L., Aziz N., Broun P. (2008) Terpene Biosynthesis in Glandular Trichomes of Hop. *Plant Physiology*, 148:1254-1266.
- Wang Q., Ding F., Zhu N., Li H. (2003) Determination of hydroxyl radical by capillary zone electrophoresis with amperometric detection. *Journal of Chromatography A*, 1016:123–128.
- Wang R., Yang X., Zhuxin M., Liu H., Shang M., Zhang Q., Cai S., Park H. (2004) Trollioside, a new compound from the flowers of *Trollius chinensis*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 6:139–144.
- Watson L., Dallwitz M. (1992) The Families of Flowering Plants: Descriptions, Illustrations, Identification, and Information Retrieval.
- Wealth (1963) Raw Material. New Delhi, 4th ed, p. 93.
- Wenzler E., Rodvold K.A. (2015) Telavancin: The Long and Winding Road From Discovery to Food and Drug Administration Approvals and Future Directions. *Clinical Infectious Diseases*, 61:38–47.
- Weston L.A., Mathesius U. (2013) Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere, including allelopathy. *Journal of Chemical Ecology* 39:283–297.
- WHO (2020) WHO Report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all. Consulté le 25 Juillet 2020 <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330745>.
- WHO (2020), Le manque de nouveaux antibiotiques met en péril les efforts mondiaux visant à lutter contre les infections résistantes. Consulté le 21 Mai 2021 <https://www.who.int/fr/news/item/17-01-2020-lack-of-new-antibiotics-threatens-global-efforts-to-contain-drug-resistant-infections>.
- Wilson R.G., Bowie J.H., Williams D.H. (1968) Solvent effects in NMR Spectroscopy : Solvent shifts of methoxyl resonances in flavones induced by benzene; an aid to structure elucidation. *Tetrahedron*, 24:1407–1414
- Wink M. (2013) Evolution of secondary metabolites in legumes (Fabaceae). *South African Journal of Botany*, 89:164–175.
- Winkel-Shirley B. (2001), Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. *Plant Physiology*, 126:485-493.



- Wu H.Y., Hu W., Liu Q., Yu Z. (2016) Three new alkaloids from the twigs of *Cassia siamea* and their bioactivities. *Phytochemistry Letters*, 15:121–124.
- Yacob T., Endriani R. (2010) Daya anti bakteri ekstrak etanol ketepeng china (*Senna alata*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Natur Indonesia*, 13:63-66.
- Yadav J., Arya V., Yadav S., Panghal M., Kumar S., Dhankhar S. (2010) *Cassia occidentalis* L.: A review on its ethnobotany, phytochemical and pharmacological profile. *Fitoterapia*, 81:223-230.
- Yadava R., Vishwakarma U. (2013) New biologically active allelochemical from seeds of *Cassia absus* Linn. *Indian Journal of Chemistry*, 52B:953-957.
- Yamada K., Matsubara R., Kaneko M., Miyamoto R., Higuchi R. (2001) Constituents of *Holothuroidea*. 10. Isolation and structure of a biologically active ganglioside molecular species from the sea cucumber *Holothuria leucospilota*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 49:447–452.
- Yang Y., Lim M., Lee H. (2003) Emodin isolated from *Cassia obtusifolia* (Leguminosae) seed shows larvicidal activity against three mosquito species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:7629-7631.
- Yen G., Chen H., Duh P. (1998) Extraction and identification of an antioxidative component from jue mingzi (*Cassia tora* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46:820-824.
- Yen G., Chuang D. (2000) Antioxidant properties of water extracts from *Cassia tora* L. in relation to the degree of roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48:2760-2765.
- Yu L., Zhao M., Yang B., Jiang Y. (2007) Phenolics from hull of *Garcinia mangostana* fruit and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 104:176-181.
- Yu Q.L., Duan H.Q., Takaishi Y., Gao W.Y. (2006) A Novel Triterpene from *Centella asiatica*. *Molecules*, 11:661-665.
- Zerbo P., Millogo-Rasolodimby J., Nacoulma-Ouedraogo O. (2007) Contribution à la connaissance des plantes médicinales utilisées dans les soins infantiles en pays San, au Burkina Faso. 1:262-274 .
- Zerbo P., Millogo-Rasolodimby J., Nacoulma-Ouedraogo, O. (2011) Plantes médicinales et pratiques médicales au Burkina Faso: cas des Sanan. *Bois et Forêts des Tropiques*, 307:41-53.
- Zhang C.X., Ho S.C., Chen Y., Fu J.H., Cheng S., Lin F. (2009) Greater vegetable and fruit intake is associated with lower risk of breast cancer among Chinese women. *International Journal of Cancer*, 125:181-188.
- Zhang H., Qiu S., Tamez P., Tan G. T., Aydogmus Z., Hung N.V., Cuong N., Angerhofer C., Soejarto D., Pezzuto J., Fong, H. H. S. (2002) Antimalarial Agents from Plants II. Decursivine, A New Antimalarial Indole Alkaloid from *Rhaphidophora decursiva*. *Pharmaceutical Biology*, 40:221-224.
- Zhao Y., Zhao K., Jiang K., Tao S. (2016) A Review of Flavonoids from *Cassia* Species and their Biological Activity. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17:1134-1146.
- Zhong S., Waterman P., Jeffreys J. (1984) Naphtoquinones and triterpenes from African *Diospyros* species. *Phytochemistry*, 23:1067-1072.
- Zintchem A., Ndong J., Bikobo N.S., Nkot J.L. (2014) Biological studies on nitrogen - containing compounds from *Campylospermum oliverianum* and *Campylospermum sulcatum* (ochraceae). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6:252-256.

## PUBLICATIONS

Mbing J., **Missi M.B.**, Ndongo J.T., ba Njock G.B., Atchade A.T., Pegnyemb D.E., Gueiffier A., Enguehard-Gueiffier C. (2014) New flavonoids C-glycosides from *Rhabdophyllum arnoldianum*. *Natural Product Research*, 28:539-544.

**Missi M.B.**, Evina J.N., A Zintchem A.A., October N., Bona A., Moela P., Betote D.P., Bikobo N.D., Pegnyemb D.E. (2021) Antibacterial and cytotoxic activities of undescribed cassiatic acid and other constituents from *Cassia arereh* stem barks. *Natural Product Research* (En cours de publication).

